

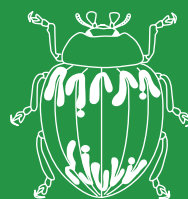
ISSN 0042-1324

Том 143, Номер 5

Сентябрь - Октябрь 2023



# УСПЕХИ СОВРЕМЕННОЙ БИОЛОГИИ



[www.sciencejournals.ru](http://www.sciencejournals.ru)



# СОДЕРЖАНИЕ

Том 143, номер 5, 2023

|                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                         |     |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| Солнечный витамин D3 — многоликий, загадочный, необходимый<br><i>О. А. Гомазков</i>                                                                                                                                                                                                                                                                     | 419 |
| Динамические изменения иммунного статуса и биохимических маркеров крови у больных после кардиохирургического вмешательства в условиях искусственного кровообращения<br><i>М. С. Соловьева, В. М. Земсков, М. Н. Козлова, Н. С. Шишкина, А. В. Балбуцкий, А. Н. Куликова, В. С. Демидова, А. М. Земсков, В. А. Попов, Г. П. Плотников, А. В. Шаранда</i> | 430 |
| Современные методы учета охотничьих животных<br><i>А. Ю. Просеков, А. П. Каледин, С. В. Бекетов, О. Н. Голубева, А. М. Остапчук</i>                                                                                                                                                                                                                     | 439 |
| Изучение корреляционных связей и генетических ассоциаций промеров у самок северных оленей ( <i>Rangifer tarandus</i> ) ненецкой породы<br><i>Г. Р. Свищёва, М. Т. Семина, Е. А. Коноров, Э. А. Николаева, С. Н. Каишанов, К. А. Лайшев, А. А. Южаков, Ю. А. Столповский</i>                                                                             | 454 |
| Органический кремний в растениях как лимитирующий фактор переваримости кормов растительноядных млекопитающих<br><i>Б. Д. Абатуров, М. П. Колесников</i>                                                                                                                                                                                                 | 466 |
| Оценка биомассы детрита в лесных экосистемах<br><i>С. И. Тарасов</i>                                                                                                                                                                                                                                                                                    | 476 |
| <i>rol</i> -гены агробактерий: возможные биологические функции<br><i>Д. Ю. Швец, З. А. Бережнева, Х. Г. Мусин, Э. А. Баймухаметова, Б. Р. Кулуев</i>                                                                                                                                                                                                    | 487 |
| Оценка морфологических аномалий и реакции гена <i>hsp 70</i> на воздействие аристолоховой кислоты у <i>Neocaridina davidi</i> (красная креветка)<br><i>П. Р. Т. Джитин</i>                                                                                                                                                                              | 506 |
| Сохранившаяся в естественном состоянии экосистема оз. Толпанъярви, Западная Карелия<br><i>О. П. Стерлигова, Н. В. Ильмаст, Я. А. Кучко, Е. С. Савосин, Д. С. Савосин</i>                                                                                                                                                                                | 512 |

# Contents

---

**Vol. 143, No. 5, 2023**

---

|                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                        |     |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| Sunny Vitamin D3 – Multifaceted, Mysterious, Necessary<br><i>O. A. Gomazkov</i>                                                                                                                                                                                                                                                                        | 419 |
| Dynamic Changes in the Immune Status and Biochemical Markers of the Blood<br>in Patients after Cardiac Surgery in Conditions of Artificial Circulation<br><i>M. S. Solovyova, V. M. Zemskov, M. N. Kozlova, N. S. Shishkina,<br/>A. V. Balbutskiy, A. N. Kulikova, V. S. Demidova, A. M. Zemskov,<br/>V. A. Popov, G. P. Plotnikov, A. V. Sharanda</i> | 430 |
| Modern Methods of Account of Game Animals<br><i>A. Yu. Prosekov, A. P. Kaledin, S. V. Beketov,<br/>O. N. Golubeva, A. M. Ostapchuk</i>                                                                                                                                                                                                                 | 439 |
| Study of Correlations and Genetic Associations of Body Measurements<br>in Female Reindeer ( <i>Rangifer tarandus</i> ) of the Nenets Breed<br><i>G. R. Svishcheva, M. T. Semina, E. A. Konorov, E. A. Nikolaeva,<br/>S. N. Kashtanov, K. A. Laishev, A. A. Yuzhakov, Yu. A. Stolpovsky</i>                                                             | 454 |
| Organic Silicon in Plants as a Limiting Factor of Forage Digestibility<br>in the Nutrition of Herbivorous Mammals<br><i>B. D. Abaturon, M. P. Kolesnikov</i>                                                                                                                                                                                           | 466 |
| Assessment of Detritus Biomass in Forest Ecosystems<br><i>S. I. Tarasov</i>                                                                                                                                                                                                                                                                            | 476 |
| <i>rol</i> -Genes of Agrobacteria: Possible Biological Functions<br><i>D. Yu. Shvets, Z. A. Berezhneva, Kh. G. Musin,<br/>E. A. Baimukhametova, B. R. Kuluev</i>                                                                                                                                                                                       | 487 |
| Evaluation of Morphological Malformities and <i>hsp70</i> Gene Response<br>on Aristolochic Acid Exposed <i>Neocaridina davidi</i> (Red Shrimp)<br><i>P. R. T. Jithin</i>                                                                                                                                                                               | 506 |
| The Ecosystem of Lake Tolpanjärvi, Western Karelia, Preserved in Natural State<br><i>O. P. Sterligova, N. V. Ilmast, Ya. A. Kuchko, E. S. Savosin, D. S. Savosin</i>                                                                                                                                                                                   | 512 |

---

УДК 577.24

## СОЛНЕЧНЫЙ ВИТАМИН D3 – МНОГОЛИКИЙ, ЗАГАДОЧНЫЙ, НЕОБХОДИМЫЙ

© 2023 г. О. А. Гомазков\*

Научно-исследовательский институт биомедицинской химии им. В.Н. Ореховича, Москва, Россия

\*e-mail: oleg-gomazkov@yandex.ru

Поступила в редакцию 20.04.2023 г.

После доработки 22.04.2023 г.

Принята к публикации 27.04.2023 г.

Рассматривается значение витамина D3 для поддержания уровня здоровья в условиях острой респираторной и сосудистой патологии COVID-19. Физиологический дефицит витамина документируется как негативный прогноз подверженности влиянию вируса и тяжести заболевания. Многие клинические и экспериментальные исследования свидетельствуют, что витамин D3 выполняет функцию контроля гемоваскулярного гомеостаза — эндотелия сосудистой стенки, иммунологических реакций, свертывания и реологических свойств крови, системной гемодинамики и др. Многообразие эффектов определяется транскрипционной ролью рецептора витамина D3, экспрессирующего генные мишени синтеза функциональных белков. Рассматриваются возможности супплементации, поддержания уровня витамина D3 и его химических метаболитов, для профилактической и лечебной стратегии COVID-19.

**Ключевые слова:** COVID-19, витамин D, кальцитриол, иммуномодулирующая роль, транскрипционная функция рецептора, защита сосудистого эндотелия, супплементация витамина D

**DOI:** 10.31857/S0042132423050046, **EDN:** SKOQKG

### ВВЕДЕНИЕ

*Витамин D: от биоразнообразия  
к химической структуре*

“Солнечный” витамин D3, вероятно, оказывается старейшим гормоном, который описывает почти детективную историю уникального природного синтеза — распространения метаболитов в биологическом мире с нарастающим интересом для здоровья человеческой популяции (Göring, 2018; Holick, 2023).

Ранее исследованный как фактор патофизиологических процессов, связанных с костной тканью и остеопорозом, витамин D ныне привлекает внимание при констатации клинических осложнений, связанных с его дефицитом в организме. Особенно значимым представляется этот аспект в период обострения острых респираторных заболеваний и пандемии COVID-19. При просмотре информационной базы данных PubMed число публикаций по запросу “Vitamin D” в период 2000–2020 гг. вырастает в шесть раз. Ориентиром клинического анализа служат результаты поисковых запросов “Vitamin D insufficiency”, “Vitamin D COVID-19”, “Vitamin D supplementation”.

Экологическая компонента комплекса витамина D3, зависимость от солнечной инсоляции и популяционная генетическая специфичность ас-

социируются с клиническими данными пандемии COVID-19. Особенностью заболевания, клинически определяемого как острый респираторный дистресс-синдром (ОРДС), оказывается спектр взаимосвязанных клеточных и молекулярных патологических процессов. В контексте данной статьи рассматриваются свойства метаболитов витамина D3 (холекальциферола) при инфекционном заболевании, вызываемом коронавирусом SARS-CoV-2. Выделяются антибактериальные, иммуномодулирующие и противовоспалительные свойства витамина. В качестве основных компонентов, для контроля которых оказывается важным присутствие витамина D3, рассматриваются факторы гемоваскулярного гомеостаза: функция сосудистого эндотелия, комплекс иммунологических реакций, контроль свертывания и реологических свойств крови, процессы аутофагии для ограничения пермиссивных патогенов и др.

### ФАРМАКОЛОГИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ВИТАМИНА D3

*Многообразие функциональных мишеней*

Исследование витамина D (McCollum, Davis, 1913; Deluca, 2014) открыло группу веществ, которые рассматриваются как система химических со-

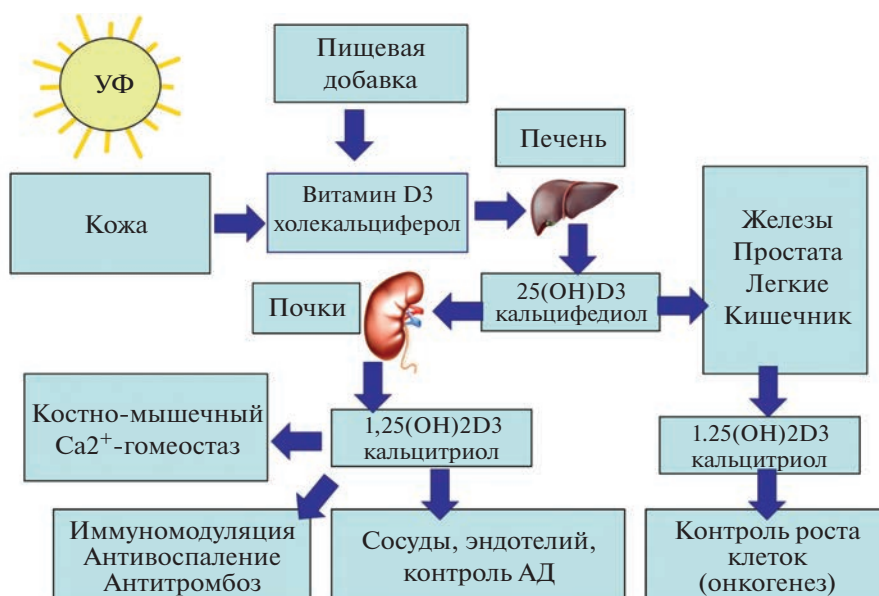


Рис. 1. Витамин D3. Биологический метаболизм и функциональный профиль.

единений, включенных в контроль многих физиологических процессов. Согласно классическому представлению, основная роль витамина D состоит в поддержании уровня кальция и фосфора с влиянием на физиологию костного скелета. Однако экспериментальные и клинические работы последующих десятилетий установили участие витамина D3 и его метаболитов в большом спектре физиологических функций, которые соответствуют его представлению в качестве эндокринного гормона (Геринг, Кожухова, 2015). Эти начальные позиции приобретают масштабную весомость многогранной и необходимой роли компонентов витамина D3 в сложной мозаике патогенеза COVID-19.

Витамин D представляет группу жирорастворимых стероидов, химических метаболитов: эргокальциферол (витамин D2); холекальциферол (витамин D3); кальцифедиол (25-гидроксивитамин D3; 25(OH)D3), кальцитриол (1,25-дигидроксивитамин D3; 1,25(OH)2D3). Воздействие ультрафиолетового излучения на кожу стимулирует превращение предшественника 7-дегидрохолестерола в провитамин, который изомеризуется в холекальциферол, витамин D3. Активация витамина происходит у человека преимущественно в печени, а также в проксимальных канальцах почек, в коже, легких, остеоцитах, плаценте, иммунных клетках и др. Витамин D3 связывается особым белком, транспортирующим его в печень, где он метаболизируется в кальцифедиол (25(OH)D3). Эта основная циркулирующая форма используется в исследованиях как тест нормального физиологического уровня: предпочтительный здоровый диапазон составляет 30–60 нг/мл. Такая форма преобразуется в почках

в биологически активную форму кальцитриола [1,25(OH)2D3] (рис. 1).

#### *Связь витамина D3 с рецептором, экспрессирующим генные мишени*

Отмечается механизм связывания витамина D3 с нуклеарным рецептором, который представляет комплекс транскрипционных молекул, регулирующих экспрессию большого количества генов. У человека рецептор витамина D идентифицирован в сосудах многих тканей; его распространение отражает большой спектр активности и возможностей регулирующего влияния (Lin et al., 2019). Было установлено, что экспрессия рецептора витамина D регулируется транскрипторными микроРНК, ассоциированными с активностью провоспалительных цитокинов (Ионова и др., 2021). Кальцитриол 1,25(OH)2D3, метаболит витамина D3, взаимодействуя с рецептором, влияет на экспрессию генов с образованием специализированных белков дифференцировки клеток и иммунного ответа, важных в контексте биохимических реакций при патологии. Согласно анализу, представленному (Carlberg, 2017), функциональный профиль генов-мишеней витамина D определяет собственный клеточный фенотип. Следовательно, существует большое разнообразие биологических процессов, регулируемых тканевыми рецепторами для поддержания эндокринных функций витамина D3.

Рецептор витамина D3 рассматривается в качестве особого механизма экспрессии генов. Эти данные подтверждают положение, что при активации рецептора витамина D3 экспрессия гена

служит защитой при коронавирусной инфекции. С помощью геномного отслеживания мишеней SARS-CoV-2 было установлено, что витамин D3 при экспрессии определенных генов способствует ограничению негативных реакций ковида, включаясь в коррекцию сопряженных звеньев патогенеза (Glinsky, 2020).

### ВИТАМИН D3: ЭНДОКРИННАЯ ПОДДЕРЖКА ГЕМОВАСКУЛЯРНОГО ГОМЕОСТАЗА

Дефицит витамина D3 и/или дисфункция его рецептора в легочном эпителиальном барьере, по-видимому, нарушают защиту, что приводит к усилению повреждений, вызванных цитокиновой агрессией. Роль рецептора витамина была показана в модельных опытах с острой респираторной патологией, вызываемой липополисахаридом. В экспериментах на мышах с генетическим нокаутом рецептора (то есть нивелированием функции витамина D) отмечались повышенная проницаемость (утечка) легочных сосудов, отек, инфильтрация нейтрофилов, как показателей острого респираторного нарушения. Применение в этих опытах кальцитриола, индуктора рецепторной активности витамина D3, нивелировало картину воспалительного процесса (Kong et al., 2013).

#### *Эндотелий и витамин D3*

Функции сосудистого эндотелия придается большое значение, которое оказывается многогранным в патогенезе инфекции SARS-CoV-2 (Гомазков, 2021). Легкие и легочный эндотелий — особое звено, участвующее в первом же цикле кругооборота крови в теле. Здесь синтезируются субстанции, важные для контроля свертывания крови, регуляции тонуса сосудов и артериального давления, трансоваскулярной функции, метаболического обеспечения мозга, факторы иммунной про- и противовоспалительной систем. Дисрегуляция функций “легочного эндокринного дерева” в легких как первичном звене острой респираторной патологии представляется ключевой в анализе протективной роли витамина D3.

Исследования “доковидного” периода показали, что дефицит витамина D3 ассоциируется с изменениями дилатации сонных артерий — признак, который рассматривается как индикатор эндотелиальной дисфункции и атеросклеротических изменений в сосудах. Этот феномен является типичным для всего ареала сосудистой системы организма (Oz et al., 2013). Доклинические исследования выявили также значение рецепторов витамина D3, активируемых метаболитами 25(OH)D3 и 1,25(OH)2D3. Существенно отметить, что эксперименты продемонстрировали эффекты, которые не зависели от описанного выше геномного меха-

низма, а явились результатом непосредственного влияния витамина D3 на эндотелий.

Таким образом, поскольку витамин D3 и его метаболиты влияют на стабильность эндотелия, негативные корреляции сосудистых заболеваний человека и дефицита витамина D в организме становятся фактом клинической диагностики (Gibson et al., 2015).

#### *Поддержка сердечно-сосудистой функции*

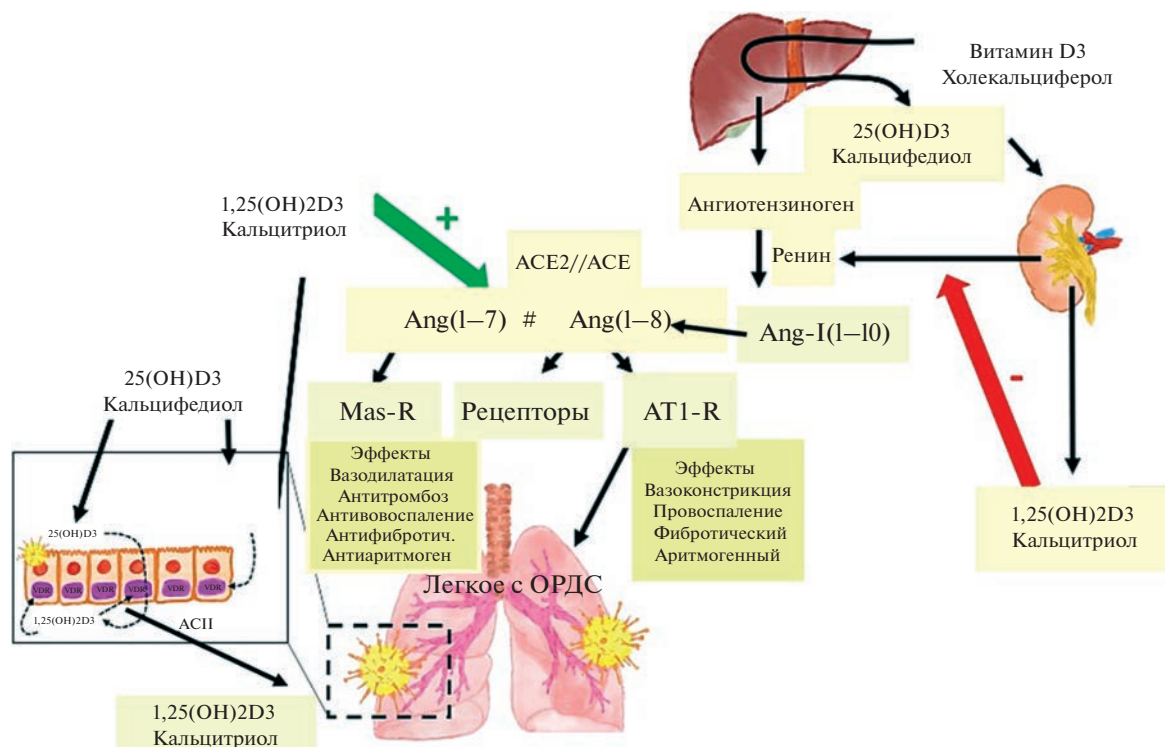
Механизмы протективной миссии витамина D охватывают комплекс патофизиологических процессов, которые складываются в единую сеть. Его дефицит связан с различными факторами риска сердечно-сосудистых заболеваний. Рассматривается ряд механизмов, ассоциированных с нарушениями сосудистого эндотелия, аномальная регуляция оксида азота, окислительный стресс. Защитное соучастие витамина D в отношении сердечно-сосудистой системы включает модуляцию иммунной, воспалительной и эндотелиальной функций (Pilz et al., 2016). Такова информационная “подкладка”, которая определяет значимость витамина D3 при нарушении эндотелия и сосудистой системы в целом.

Несколько экспериментальных работ представили доказательства роли витамина D3 в обеспечении нормальной функции сердца. На модели дефицита витамина D3, вызванного нокаутом рецептора витамина или генов 1- $\alpha$ -гидроксилазы, были выявлены структурные изменения миокарда, гипертрофия и снижение сократительной функции. Добавление кальцитриола 1,25(OH)2D3 снижало пролиферацию и гипертрофию кардиомиоцитов (Simpson et al., 2007; Tishkoff et al., 2008).

#### *Витамин D3 и контроль ренин-ангиотензиновой системы*

Установлена причастность витамина D3 и его компонентов к контролю комплекса ренин-ангиотензиновой системы (РАС), ответственной за изменения тонуса сосудов, эндотелиального барьера, соотношение свертывающей системы крови и фибринолиза. Витамин D играет важную роль в регуляции целостной системы РАС, влияя на уровень ренина и связанные с ним ферментные комплексы (Han et al., 2022). Длительный недостаток витамина D3 в организме приводит к дисбалансу РАС и основных механизмов контроля артериального давления и трансфузионных процессов (Giménez et al., 2020).

Витамин D3 поддерживает сложную функцию гемоваскулярного гомеостазиса за счет влияния на активность ферментов, которые конвертируют ангиотензиноген в активные пептидные блоки различного физиологического назначения (рис. 2). Экспериментально было установлено, что каль-



**Рис. 2.** Влияние метаболитов витамина D3 на функциональные оси ренин-ангиотензиновой системы (по: Quesada-Gomez et al., 2022, адаптировано).

цитриол (1,25(OH)2D3) влияет на баланс процессов, ингибируя ренин и далее каскад  $ACE > Ang(1-8) > ATR-1$ , и, напротив, индуцируя активность позитивной оси  $ACE2 > Ang(1-7) > MasR$ . Следует вывод, что витамин D3 (кальцитриол), влияя на процессы васкулярного гомеостаза, может снизить риск ОРДС (Quesada-Gomez et al., 2022).

Опыты на мышах с нокаутом рецептора витамина D3 показали, что нивелирование транскрипционного сигнала провоцирует гипертензию и гипертрофию кардиомиоцитов за счет “контрастной” активации ренин-ангиотензиновой системы. Применение ингибитора ангиотензин-превращающего фермента (АПФ) каптоприла или антагониста рецептора ATR-1 снимало эти эффекты (Li et al., 2002).

### ИММУНОМОДУЛИРУЮЩАЯ РОЛЬ МОЛЕКУЛЯРНОГО КОМПЛЕКСА ВИТАМИНА D

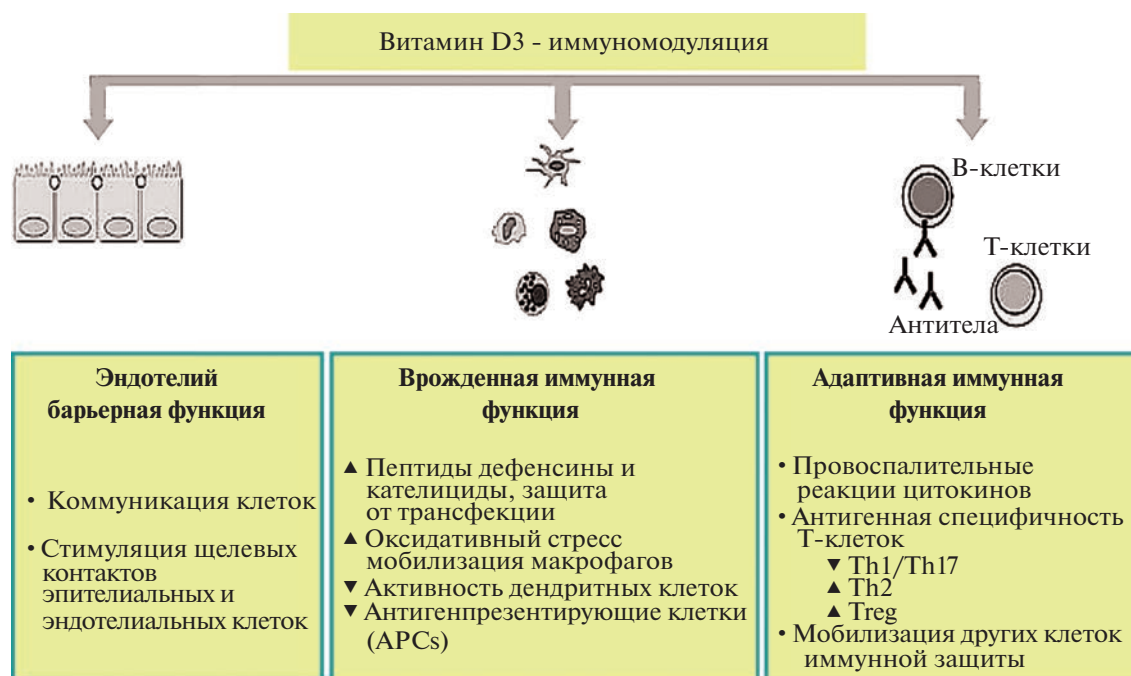
#### *Витамин D и стратегическая функция иммунной защиты*

Значительный список клинических и экспериментальных работ свидетельствует об иммуномодулирующих свойствах витамина D3 и его роли в поддержании системного гомеостаза. Разнообразное влияние витамина D на иммунную систему обозначается как стратегическая функция в

защите организма в норме, а также в острой и постковидной формах COVID-19 (Салухов, Ковалевская, 2020; Xu et al., 2020). Новая терапевтическая концепция представляет, в противовес традиционному мнению о примате гиперкальциемии, идею многосторонней миссии витамина D в поддержании иммунной защиты.

Особую роль витамин D3 играет в клеточных и биохимических механизмах защиты врожденного и адаптивного иммунитета. Весомость такой концепции подкрепляется сведениями о присутствии рецепторов витамина D3 в клетках иммунной системы, включающей моноциты и стимулированные макрофаги, естественные клетки-киллеры и активированные В- и Т-клетки клеточной пролиферации и дифференцировки (Lin, White, 2004). Экспрессия рецепторов за счет транскрипционного сигналинга регулирует синтез функционально ориентированных белков, определяющих иммуномодулирующие, дифференцирующие и антипролиферативные функции (Di Rosa et al., 2011).

При анализе роли витамина D3 в защите от инфекции привлекает внимание механизм продуцирования антимикробных и противовирусных белков. Стимулируемый витамином D3 Toll-подобный рецептор за счет кателицидинов и денфенсинов влияет на блокаду трансфекции и репликации инфицирующего агента. Модельные эксперименты на мышах показали, что эти белки могут дей-



**Рис. 3.** Влияние витамина D3 на основные звенья регуляции иммунной системы (по: Briceno Noriega, 2022, адаптировано).

ствовать непосредственно на вирион возбудителя, более того, у инфицированных вирусом мышей установлены более низкие концентрации провоспалительных цитокинов в легких (Liu et al., 2006; Barlow et al., 2011). Последующие исследования описали ген-ассоциированный механизм активированного витамином D синтеза антимикробных и антивирусных белков. Согласно данным (White, 2022), кальцитриол (1,25(OH)2D3) регулирует экспрессию генов за счет их связывания с рецептором витамина D, индуцируя транскрипцию и промотерный синтез  $\beta$ -дефенсина и кателицидина.

#### *Витамин D3 и защитные механизмы при иммунном стрессе*

Клинический анализ свидетельствует о влиянии витамина D3 на уровень иммунного стресса при COVID-19. У инфицированных пациентов естественные низкие уровни витамина D ассоциируются с увеличенными рисками вирусных заболеваний и прогрессирующей пневмонией (Jenei et al., 2022). При дефиците витамина D3 фиксируется повышенная активность провоспалительных компонентов патогенеза и, наоборот, снижение защитного иммунного потенциала. Отмечается активация клеточного воспаления, нарушения эндотелиальных и сосудистых барьеров, системное поражение органов (Soltani-Zangbar et al., 2022). Как проявление адаптивного ответа витамин D

влияет на баланс субпопуляций Т-хелперов, блокируя эффекторные клетки Th1 и Th17, индуцируя клетки Th2 с усилением клеток Treg (Xu et al., 2020). Этот сценарий иллюстрирует схема влияния витамина D3 на основные звенья врожденного и адаптивного иммунитета (Briceno Noriega, Savelkoul, 2022) (рис. 3).

Участие комплекса витамин D3/рецептор служит коррекции иммунного статуса и предупреждению или ограничению острого респираторного заболевания. Благодаря транскрипционным девиациям за счет рецептора витамина D3, включается механизм лабильной регуляции адаптивного иммунитета, который действует как “реостатный переключатель” протективных функций (Adams et al., 2009). Комплекс таких реакций включает: 1) снижение интенсивности цитокинового и хемокинового шторма; 2) влияние на активность нейтрофилов; 3) поддержание целостности легочного эпителиального барьера; 4) коррекцию компонентов ренин-ангиотензиновой системы, влияющих в целом на тонус сосудов и свертывающую систему крови.

Соответствующая демонстрация причастности витамина D3 и его рецептора к различным звеньям патогенеза позволяет предложить идею генного полиморфизма как объяснение универсальности “солнечного” витамина.

### *Генный полиморфизм как объяснение полифункциональности витамина D3*

Констатация данных о том, что большинство структур иммунной системы (включая макрофаги, В- и Т-лимфоциты, нейтрофилы и дендритные клетки) специфически связываются с транскрипционным рецептором, послужила основным аргументом концепции о плеiotропном влиянии витамина D3 (Baek et al., 2010). Новый взгляд на проблему подразумевает генетическую вариативность влияний витамина D в патогенезе COVID-19. Эта особенность выделяется как генетически обусловленная особенность функционального статуса, значимая для людей с рисками дефицита витамина D. Иммуномодулирующие эффекты рецептора витамина D ограничивают восприимчивость инфекции COVID-19 (Chaoenngam et al., 2023).

Принято считать, что факторами, влияющими на содержание в крови витамина D, служат солнечная инсоляция и обогащенная диета, однако, основываясь на клинко-этнографическом материале, следует также учитывать роль генетических факторов, определяющих большую вариативность фенотипов. Заражение иммунных клеток коронавирусом SARS-CoV-2 может вызывать иммуносупрессию, долговременную персистенцию и распространение вируса на вторичные мишени. В этом смысле витамин D3 служит своеобразным биомаркером здоровья у пациентов острой и пролонгированной стадий COVID-19.

## КОВИД-19 И ВИТАМИН D

### *Патогенез COVID-19: основные черты*

Вирусная инфекция SARS-CoV-2 связана с широким спектром клинических нарушений, которые начинаются с верхних дыхательных путей и развиваются как системная полиорганная патология (ОРДС). Одной из основных причин патогенеза служит нарушение защитных функций иммунной системы, представленных как стохастический цито- и хемокиновый стресс. За счет патогенного взаимодействия вирус SARS-CoV-2 нарушает реакции иммунного и гемоваскулярного контроля с расстройством клеточных и органных систем. На фоне ОРДС развиваются поражения сердца, мозга, почек, печени, других органов, осложненные возрастными и коморбидными причинами.

Доказательная база патогенеза COVID-19 строится на изменениях клинических показателей: высокочувствительный С-реактивный белок, отношения нейтрофилов к лимфоцитам, ферритин и D-димер, которые служат принятыми прогностическими биомаркерами. Анализ клинических и патофизиологических данных свидетельствует, что диссонанс множества факторов — регуляторов тонуса сосудов, проницаемости, гемостаза,

следует рассматривать как ведущую причину деструктивных процессов в патогенезе COVID-19. Симптомы, сопутствующие коронавирусной инфекции (высокое артериальное давление, тромбоз, поражение печени, почек, неврологические расстройства и др.), указывают на то, что SARS-CoV-2 индуцирует множество клеточных и биохимических реакций патогенеза. Таким образом, клиническое течение COVID-19 включает фазы последовательно вовлекаемых процессов: а) острая вирусная трансфекция и гиперактивный характер иммунных и провоспалительных реакций; б) локальные или системные нарушения сосудистого эндотелия; в) тромботические осложнения в больших и мелких сосудах; г) тотальный или избирательный тип органных расстройств.

Сравнительный анализ в целом свидетельствует о большей выраженности клинической картины COVID-19 у больных с низким уровнем витамина D3 (Khojah et al., 2022). В этих условиях дефицит витамина D и сниженная активность рецепторной транскрипции генного промотора подчеркивают восприимчивость вирусной агрессии, тяжесть заболевания и многоплановый характер клеточных и системных дисфункций.

### *Дефицит витамина D и причастность к некоторым заболеваниям*

Дефицит витамина D широко распространен в мире. Анализ публикаций свидетельствует, что около 47% населения в мире имеют показатели умеренного и тяжелого дефицита (Bouillon, 2022). Согласно принятым нормам, нормальный физиологический уровень витамина D определяется как содержание кальцифедиола 25(OH)D3 в крови не ниже 30 нг/мл (75 нмоль/л); недостаточность фиксируется в пределах 20–30 нг/мл (50 нмоль/л); уровень ниже 20 нг/мл рассматривается как выраженный дефицит витамина D3.

Накоплен значительный клинический опыт о корреляции гиповитаминоза D3 и высокой подверженности заболеваниям различной этиологии. Ретроспективные когортные исследования подтверждают связь между дефицитом витамина D3 и клинической историей респираторной патологии: дефицит витамина D служит спутником тяжелой формы ОРДС (Thickett et al., 2015; Dancer et al., 2015). Перечень включает широкий спектр инфекционных заболеваний, аутоиммунные процессы, хроническое клеточное воспаление, сосудистые расстройства, онкологию, пародонтит и др. Низкий уровень витамина D3 часто ассоциируется с патогенезом бактериальных инфекций, гепатитом, расстройствами желудочно-кишечного тракта, другими системными заболеваниями.

*Дефицит витамина D  
как фактор риска при COVID-19*

На основании многих данных ставится вопрос о роли витамина D3 как фактора, являющегося причиной острого патогенеза COVID-19. В обзоре клинических наблюдений, включавших более 3600 пациентов среднего возраста, установлено, что дефицит витамина D статистически связан с более высоким риском развития пневмонии. Часть больных с низким уровнем кальцифедиола ( $\geq 30$  нг/мл) имели большую распространенность гипертонии и сердечно-сосудистых осложнений, аномально высокие уровни тропонина и пиковые уровни D-димера в сыворотке, а также повышенный уровень IL-6 и C-реактивного белка (Chiodini et al., 2021; Ben-Eltriki et al., 2022; Dissanayake et al., 2022). Дефицит/недостаточность витамина D3 рассматривается как сигнал повышенной инфекционной восприимчивости и тяжелой формы патогенеза COVID-19. Это положение имеет определенную закономерность с учетом возрастной категории пациентов (<65 лет) и статуса коморбидности (Jude et al., 2021; Durmuş et al., 2023). Отмечается, что при низком уровне витамина D3 вероятны также неврологические осложнения, особенно выраженные в возрастном контингенте (Gholi et al., 2022).

*COVID-19, сосудистая патология и витамин D3*

В физиологических исследованиях было установлено, что недостаточность витамина D сопровождается артериальной гипертензией, гипертрофией левого желудочка, повышенной жесткостью артерий. Важным компонентом этого патогенетического комплекса, также связанного с дефицитом витамина D, служит нарушение эндотелия с развитием сосудистого воспаления (Wong et al., 2008; Jablonski et al., 2011). Таким образом, дефицит витамина D на фоне коронавирусной инфекции SARS-CoV-2 становится фактором, усугубляющим преморбидный статус больного. Сообщалось о повышенных уровнях кардиальных биомаркеров и электрокардиографических изменениях как свидетелей кардиомиопатии, аритмий, тромботических осложнений. Следует, однако, констатировать, что за счет супплементации витамин D3 играет существенную роль в поддержании сердечно-сосудистой системы, участвуя в регуляции воспалительных процессов, функции эндотелия, контроле пролиферации и миграции клеток, гомеостаза внеклеточного матрикса и сохранении кардиальной системы в целом (Pál et al., 2023).

Отмечается роль витамина D в контроле компонентов ренин-ангиотензиновой системы в патогенезе COVID-19. В нормальных условиях регуляторную роль выполняет функциональное противостояние родственных ангиотензин-конвертирующих ферментов — АПФ и АПФ2, контролирующих ба-

ланс ангиотензиновых пептидных фрагментов. Соотношение активности ферментов определяет контроль вазоконстрикции, цитовоспаления, оксидативного стресса, коагулопатии (рис. 2). Протективный контроль, реализуемый при участии витамина D3, включает ингибирование ренина и, соответственно, реактивацию фермента АПФ2, с “реабилитацией” противовоспалительных, анти-тромботических, вазодилатационных функций, важных для защиты сердечно-сосудистой системы (Malek Mahdavi, 2020; Giménez et al., 2020).

**ТЕРАПЕВТИЧЕСКАЯ СТРАТЕГИЯ  
СУПЛЕМЕНТАЦИИ ВИТАМИНОМ D3**

В исследованиях предыдущего периода с осторожностью высказывалась мысль о возможности использования витамина D3 в качестве супплементации или пищевых добавок для защиты от патологических явлений (Göring, 2018). Эта идея оказывается актуальной в нынешнем рассмотрении патогенеза COVID-19 с манифестацией респираторных и системных поражений. Согласно информационному поиску PubMed за два с половиной года (2001–2003 гг.) по запросу “Vitamin D Supplementation. COVID-19”, было опубликовано около 500 клинических, обзорных и аналитических статей. Применение витамина D3 при инфекционной патологии находит немало подтверждений с детализацией положительных примеров и сомнений.

Поддержание уровня витамина D3 в доклинический период жизнедеятельности и/или на ранних стадиях COVID-19 иллюстрируется сокращением времени пребывания в больнице и менее тяжелой формой патогенеза. Добавки витамина D снижают потребность в интенсивной терапии и искусственной вентиляции легких у больных COVID-19 (Castillo et al., 2020; Cicero et al., 2022; Hosseini et al., 2022). Поддержание концентрации витамина D3 в сыворотке на уровне более 40–60 нг/мл в течение года может снизить риск респираторных заболеваний, включая инфекции SARS-CoV-2 (Shah et al., 2022). В отдельной группе исследований терапия холекальциферолом и кальцифедиолом снижала риск смертности и тяжести заболевания у ослабленных пожилых пациентов (Argano et al., 2023). Отмечается также возможность супплементации витамина D3 для предотвращения когнитивных расстройств, ассоциируемых с ковидной патологией (Chakkeri et al., 2022).

Супплементация витамином D3 может играть защитную роль, стимулируя на ранней стадии вирусной трансфекции синтез противовоспалительных пептидов. Считается, что применение витамина D3 индуцирует механизм, который, создавая новые белки, ограничивает активность респираторных вирусов (Hansdottir et al., 2010). В последующей фазе COVID-19 (Шторм-2) достаточный уровень витамина D3 препятствует дисрегуляции опи-

санной выше “триады” эндотелиально-сосудистого гомеостаза, иммунных комплексов и органных поражений. Кальцитриол, благодаря взаимодействию с рецептором витамина D3 и включению плейотропного транскрипционного механизма, служит реальным обоснованием этой позиции (Renke et al., 2023).

Таким образом, поскольку витамин D обладает множественными иммуномодулирующими свойствами, контроль уровня витамина D3 способствует ограничению заражения и развития тяжелых и осложненных форм COVID-19. Пищевые и лекарственные добавки витамина D могут сбалансировать некоторые негативные последствия COVID-19, такие как дефицит пребывания на солнце и ограничения подвижности, связанные с болезнью (Tang, 2022). Использование в качестве дополнительной терапии витамина D3 далеко не одномерно и зависит от ряда причин, среди которых на первое место выступают выбор доз и длительность супплементации. Отмечается также использование комплексов биологически активных добавок, включающих взаимодополняющие комбинации (Carozzi et al., 2020).

Априори, несмотря на небольшое число публикаций, можно отметить вероятную пользу супплементации витамином D для пациентов в постковидный период — переболевших или в фазе “Long Covid”. В последнем случае, когда довольно типично мозаичное проявление клинических симптомов, большие возможности компенсаторного действия витамина D3, описанные в настоящей статье, могут служить терапевтической стратегией с учетом персонализированных особенностей пациента (Гомазков, 2023; Barrea et al., 2022).

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Многодесятилетнее знакомство с витамином D3 представляет приключенческую историю интереса, сомнений, медицинской значимости. Экспериментальные исследования установили участие витамина в большом спектре физиологических функций, которые соответствовали его определению как эндокринного гормона. С нынешних позиций витамин D3 — сопроводитель и охранник здорового организма. Взрыв интереса в нынешние годы пандемии COVID-19 выделил аспекты особой миссии, значимой как протективная функция. Ключевой в этом раскладе оказывается связь процессов патогенеза, ассоциированных с вирусом SARS-CoV-2, и выявление мишеней “приложения” витамина D3 как терапевтического подспорья.

Представленный в данном обзоре “солнечный” витамин выступает как профилактический, иммунорегуляторный, нейропротективный и кардиотропный фактор вспомогательной терапии. В этом контексте обсуждается возможная роль ви-

тамина D при переходе пандемии COVID-19 в эндемическую стадию за счет мутации коронавируса SARS-CoV-2 и появления других штаммов. По-видимому, вирусные инверсии могут снижать роль адаптивной иммунной системы, однако, в меньшей степени влияют на реакции врожденной иммунной системы. Супплементация витамином D может рассматриваться как потенциальное средство смягчения последствий эндемической стадии COVID-19 (Briceno Noriega, Savelkoul, 2022). Согласно итоговому анализу (Ashique et al., 2023), добавление витамина D в настоящее время стало эффективным вариантом повышения иммунного ответа для всех возрастов и предотвращения распространения инфекции. Подчеркивается важная позиция иммуномодулирующей роли витамина D3, ключевой в терапевтической стратегии “ковидного” патогенеза. Профилактическое действие добавок витамина D (в определенном режиме) было документировано обсервационными исследованиями и клиническими испытаниями по предотвращению вирусных и острых респираторных дисфункций.

В качестве особой позиции можно акцентировать некоторые ключевые положения, иллюстрирующие принципы молекулярной патофизиологии витамина D3.

Многочисленные данные клинических, аналитических и экспериментальных работ создают целостное впечатление весьма тонкой и паллиативной миссии витамина D3 как фактора защиты. Витамин D3 и его метаболиты (комбинации кальцефедиола/кальцитриола) можно рассматривать как дополнительные протективные средства от заражения SARS-CoV-2 и нивелирования цитокинового шторма в начальной стадии чрезмерного иммунного ответа. Данные о роли витамина D3 в ограничении сосудистого поражения, защите эндотелия, нивелирования диссонанса ренин-ангиотензинового комплекса также свидетельствуют о терапевтической значимости.

Плейотропизм витамина D3 демонстрирует значение иммунной системы как парадигмы гомеостаза, защиты или дисрегуляции, в соответствии с характером патогенеза. Констатация, что большинство структур иммунной системы, включая макрофаги, В- и Т-лимфоциты, нейтрофилы и дендритные клетки, могут связываться с особым рецептором, послужило доказательством влияния витамина D на клеточную иммунную систему. Экспрессия рецептора витамина D3 в иммунных клетках приводит к продукции белков, которые выполняют необходимые в защите от поражений антипролиферативные, дифференцирующие и иммуномодулирующие действия.

Следует выделить особый механизм связывания витамина D3 с рецепторами, которые регулируют экспрессию генов. Транскрипционная ре-

цепция витамина D реализуется в форме корегуляторных комплексов, специфичных как для гена, так и для клетки, которые обеспечивают селективность действия для различных типов клеток. Полиморфизм витамина D демонстрирует сложную систему синтеза протеомных единиц определенного функционального назначения. Универсальность транскрипционного механизма, который использует комплекс витамина D3, и его клеточно-тканевая фенотипичность обеспечиваются за счет экспрессии рецептора витамина D во многих тканях.

### БЛАГОДАРНОСТИ

Автор благодарит профессора, члена-корреспондента РАН В.В. Поройкова за долговременное сотрудничество и помощь в работе над этой статьей.

### ФИНАНСИРОВАНИЕ

Работа выполнена в рамках Программы фундаментальных научных исследований в Российской Федерации на долгосрочный период (2021–2030 гг.) № 121102900156-6.

### КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Автор заявляет об отсутствии конфликта интересов.

### СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ СТАНДАРТОВ

Настоящая статья не содержит каких-либо исследований с участием людей и животных в качестве объектов изучения.

### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Геринг Х., Кожухова С. Витамин D – гормон солнца. А если солнца недостаточно? // Биохимия. 2015. Т. 80 (1). С. 14–28.
- Гомазков О.А. Эндотелий – мишень, которую выбирает коронавирус. М.: ИКАР, 2021. 62 с.
- Гомазков О.А. Постковидный синдром. Патофизиология системных дисрегуляций // Успехи соврем. биол. 2023. Т. 143 (3). С. 229–238.
- Ионова Ж.И., Сергеева Е.Г., Беркович О.А. Генетические и эпигенетические факторы, регулирующие экспрессию и функционирование рецептора витамина D у больных ишемической болезнью сердца // Рос. кардиол. журн. 2021. Т. 26 (1S). С. 425.
- Салухов В.В., Ковалевская Е.А. Витамин D – стратегический удар по коронавирусной инфекции // Мед. Совет. 2020. Т. 21. С. 218–228. <https://doi.org/10.21518/2079-701X-2020-21-218-228>
- Adams J.S., Ren S., Liu P.T. et al. Vitamin D-directed rheostatic regulation of monocyte antibacterial responses // J. Immunol. 2009. V. 182. P. 4289–4295. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.0803736>
- Ashique S., Gupta K., Gupta G. et al. Vitamin D – a prominent immunomodulator to prevent COVID-19 infection // Int. J. Rheum. Dis. 2023. V. 26 (1). P. 13–30. <https://doi.org/10.1111/1756-185X.14477>
- Argano C., Bocchio R.V., Natoli G. et al. Protective effect of vitamin D supplementation on COVID-19-related intensive care hospitalization and mortality: definitive evidence from meta-analysis and trial sequential analysis // Pharmaceuticals (Basel). 2023. V. 16 (1). P. 130. <https://doi.org/10.3390/ph16010130>
- Baeke F., Korf H., Overbergh L. et al. Human T lymphocytes are direct targets of 1,25-dihydroxyvitamin D3 in the immune system // J. Steroid. Biochem. Mol. Biol. 2010. V. 121 (1–2). P. 221–227.
- Barlow P.G., Syboda P., Mackellar A. et al. Antiviral activity and increased host defense against influenza infection elicited by the human cathelicidin LL-37 // PLoS One. 2011. V. 6. P. e25333. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0025333>
- Barrea L., Verde L., Grant W.B. et al. Vitamin D: a role also in long COVID-19? // Nutrients. 2022. V. 14 (8). P. 1625. <https://doi.org/10.3390/nu14081625>
- Ben-Eltriki M., Hopefl R., Wright J.M. et al. Association between vitamin D status and risk of developing severe COVID-19 infection: a meta-analysis of observational studies // J. Am. Nutr. Assoc. 2022. V. 41 (7). P. 679–689. <https://doi.org/10.1080/07315724.2021.1951891>
- Bouillon R. Vitamin D status in Africa is worse than in other continents // Lancet Glob. Heal. 2020. V. 8. P. e20–e21.
- Briceno Noriega D., Savelkoul H.F.J. Vitamin D: a potential mitigation tool for the endemic stage of the COVID-19 pandemic? // Front Publ. Health. 2022. V. 10. P. 888168. <https://doi.org/10.3389/fpubh.2022.888168>
- Capozzi A., Scambia G., Lello S. et al. Calcium, vitamin D, vitamin K2, and magnesium supplementation and skeletal health // Maturitas. 2020. V. 140. P. 55–63. <https://doi.org/10.1016/j.maturitas.2020.05.020>
- Castillo M.E., Costa L.M., Barrios J.M. et al. Effect of calcifediol treatment and best available therapy versus best available therapy patients hospitalized for COVID-19: a pilot randomized clinical study // J. Steroid Biochem. Mol. Biol. 2020. V. 203. P. 105751. <https://doi.org/10.1016/j.jsbmb.2020.105751>
- Carlberg C. Molecular endocrinology of vitamin D on the epigenome level // Mol. Cell. Endocrinol. 2017. V. 453. P. 14–21.
- Chakkerla M., Ravi N., Ramaraju R. et al. The efficacy of vitamin D supplementation in patients with Alzheimer's disease in preventing cognitive decline: a systematic review // Cureus. 2022. V. 14 (11). P. e31710. <https://doi.org/10.7759/cureus.31710>
- Charoenngam N., Jaroenlapnopparat A., Mettler S.K. et al. Genetic variations of the vitamin D metabolic pathway and COVID-19 susceptibility and severity: current understanding and existing evidence // Biomedicines. 2023. V. 11 (2). P. 400. <https://doi.org/10.3390/biomedicines11020400>
- Cicero A.F.G., Fogacci F., Borghi C. Vitamin D supplementation and COVID-19 outcomes: mounting evidence and fewer doubts // Nutrients. 2022. V. 14 (17). P. 3584. <https://doi.org/10.3390/nu14173584>
- Chiodini I., Davide Gatti D., Soranna D. et al. Vitamin D status and SARS-CoV-2 infection and COVID-19 clinical

- outcomes // Front Publ. Health. 2021. V. 9. P. 736665.  
https://doi.org/10.3389/fpubh.2021.736665
- Dancer R.C.A., Parekh D., Lax S. et al.* Vitamin D deficiency contributes directly to the acute respiratory distress syndrome // Thorax. 2015. V. 70. P. 617–624.
- Deluca H.F.* History of the discovery of vitamin D and its active metabolites // Bonekey Rep. 2014. V. 3. P. 479.  
https://doi.org/10.1038/bonekey.2013.213
- Di Rosa M., Malaguarnera M., Nicoletti F. et al.* Vitamin D3: a helpful immune-modulator // Immunology. 2011. V. 134 (2). P. 123–139.  
https://doi.org/10.1111/j.1365-2567.2011.03482.x
- Dissanayake H.A., de Silva N.L., Sumanatilleke M. et al.* Prognostic and therapeutic role of vitamin D in COVID-19: systematic review and meta-analysis // J. Clin. Endocrinol. Metab. // 2022. V. 107 (5). P. 1484–1502.  
https://doi.org/10.1210/clinem/dgab892
- Durmuş M.E., Kara O., Kara M. et al.* The relationship between vitamin D deficiency and mortality in older adults before and during COVID-19 // Heart Lung. 2023. V. 57. P. 117–123.  
https://doi.org/10.1016/j.hrtlng.2022.09.007
- Gholi Z., Yadegarynia D., Eini-Zinab H. et al.* Vitamin D deficiency is associated with increased risk of delirium and mortality among critically ill, elderly Covid-19 patients // Complement. Ther. Med. 2022. V. 70. P. 102855.  
https://doi.org/10.1016/j.ctim.2022.102855
- Gibson C., Davis C., Zhu W. et al.* Dietary vitamin D and its metabolites non-genomically stabilize the endothelium // PLoS One. 2015. V. 10. P. e0140370.  
https://doi.org/10.1371/journal.pone.0140370
- Giménez V.M., Sanz R.L., Marón F.J.M. et al.* Vitamin D: RAAS connection: an integrative standpoint into cardiovascular and neuroinflammatory disorders // Curr. Prot. Pept. Sci. 2020. V. 21. P. 948–954.  
https://doi.org/10.2174/1389203721666200606220719
- Glinsky G.V.* Vitamin D, quercetin, and estradiol manifest properties of medicinal agents for targeted mitigation of the COVID-19 pandemic defined by genomics-guided tracing of SARS-CoV-2 targets in human cells // Bio-medicines. 2020. V. 8 (5). P. 129.  
https://doi.org/10.3390/biomedicines8050129
- Göring H.* Vitamin D in nature: a product of synthesis and/or degradation of cell membrane components // Biochemistry (Mosc.). 2018. V. 83 (11). P. 1350–1357.
- Han L., Xu X.J., Zhang J.S., Liu H.M.* Association between vitamin D deficiency and levels of renin and angiotensin in essential hypertension // Int. J. Clin. Pract. 2022. Art. 8975396.  
https://doi.org/10.1155/2022/8975396
- Hansdottir S., Monick M.M., Lovanet N. et al.* Vitamin D decreases respiratory syncytial virus induction of NF-kappaB-linked chemokines and cytokines in airway epithelium while maintaining the antiviral state // J. Immunol. 2010. V. 184 (2). P. 965–974.
- Holick M.F.* The one-hundred-year anniversary of the discovery of the sunshine vitamin D3: historical, personal experience and evidence-based perspectives // Nutrients. 2023. V. 15 (3). P. 593.  
https://doi.org/10.3390/nu15030593
- Hosseini B., El Abd A., Ducharme F.* Effects of vitamin D supplementation on COVID-19 related outcomes: a systematic review and meta-analysis // Nutrients. 2022. V. 14. P. 2134.  
https://doi.org/10.3390/nu14102134
- Jablonski K.L., Chonchol M., Pierce G.L. et al.* 25-Hydroxyvitamin D deficiency is associated with inflammation-linked vascular endothelial dysfunction in middle-aged and older adults // Hypertension. 2011. V. 57. P. 63–69.
- Jenei T., Jenei S., T. Tamás L. et al.* COVID-19 mortality is associated with low vitamin D levels in patients with risk factors and/or advanced age // Clin. Nutr. ESPEN. 2022. V. 47. P. 410–413.  
https://doi.org/10.1016/j.clnesp.2021.11.025
- Jude E.B., Ling S.F., Allcock R. et al.* Vitamin D deficiency is associated with higher hospitalization risk from COVID-19 // J. Clin. Endocrinol. Metab. 2021. V. 106 (11). P. e4708–e4715.  
https://doi.org/10.1210/clinem/dgab439
- Khojah H.M.J., Ahmed S.A., Al-Thagfan S.S. et al.* The impact of serum levels of vitamin D3 and its metabolites on the prognosis and disease severity of COVID-19 // Nutrients. 2022. V. 14 (24). P. 5329.  
https://doi.org/10.3390/nu14245329
- Kong J., Zhu X., Shi Y. et al.* VDR attenuates acute lung injury by blocking Ang-2–Tie-2 pathway and rennin-angiotensin system // Mol. Endocrinol. 2013. V. 27. P. 2116–2125.
- Li Y.C., Kong J., Wei M. et al.* 1,25-Dihydroxyvitamin D<sub>3</sub> is a negative endocrine regulator of the renin-angiotensin system // J. Clin. Invest. 2002. V. 110. P. 229–238.
- Lin R., White J.H.* The pleiotropic actions of vitamin D // BioEssays. 2004. V. 26. P. 21–28.
- Lin L., Zhang L., Li Ch. et al.* Vitamin D and vitamin D receptor: new insights in the treatment of hypertension // Curr. Prot. Pept. Sci. 2019. V. 20 (10). P. 984–995.  
https://doi.org/10.2174/1389203720666190807130504
- Liu P.T., Stenger S., Li H. et al.* Toll-like receptor triggering of a vitamin D-mediated human antimicrobial response // Science. 2006. V. 311. P. 1770–1773.  
https://doi.org/10.1126/science.1123933
- Malek Mahdavi A.* A brief review of interplay between vitamin D and angiotensin-converting enzyme 2: implications for a potential treatment for COVID-19 // Rev. Med. Virol. 2020. V. 30 (5). P. e2119.
- McCollum E.V., Davis M.* The necessity of certain lipins in the diet during growth // J. Biol. Chem. 1913. V. 15. P. 167–175.
- Oz F., Cizgici AY., Oflaz H. et al.* Impact of vitamin D insufficiency on the epicardial coronary flow velocity and endothelial function // Coron. Artery Dis. 2013. V. 24 (5). P. 392–397.  
https://doi.org/10.1097/MCA.0b013e328362b2c8
- Pál É., Ungvári Z., Benyó Z., Várbló S.* Role of vitamin D deficiency in the pathogenesis of cardiovascular and cerebrovascular diseases // Nutrients. 2023. V. 15 (2). P. 334.  
https://doi.org/10.3390/nu15020334
- Pilz S., Verheyen N., Gröbler M.R. et al.* Vitamin D and cardiovascular disease prevention // Nat. Rev. Cardiol. 2016. V. 13 (7). P. 404–417.  
https://doi.org/10.1038/nrcardio.2016.73
- Quesada-Gomez J.M., Lopez-Miranda J., Entrenas-Castillo M. et al.* Vitamin D endocrine system and COVID-19: treat-

- ment with calcifediol // *Nutrients*. 2022. V. 14 (13). P. 2716. <https://doi.org/10.3390/nu14132716>
- Renke G., Starling-Soares B., Thomaz Baesso T. et al. Effects of vitamin D on cardiovascular risk and oxidative stress // *Nutrients*. 2023. V. 15 (3). P. 769. <https://doi.org/10.3390/nu15030769>
- Shah K., Varna V.P., Sharma U. et al. Does vitamin D supplementation reduce COVID-19 severity?: a systematic review // *QJM*. 2022. V. 115 (10). P. 665–672. <https://doi.org/10.1093/qjmed/hcac040>
- Simpson R.U., Hershey S.H., Nibbelink K.A. Characterization of heart size and blood pressure in the vitamin D receptor knockout mouse // *J. Steroid. Biochem.* 2007. Mol. Biol. V. 103. P. 521–24. <https://doi.org/10.1016/j.jsbmb.2006.12.098>
- Soltani-Zangbar M.S., Mahmoodpoor A., Dolati S. et al. Serum levels of vitamin D and immune system function in patients with COVID-19 admitted to intensive care unit // *Gene Rep.* 2022. V. 26. P. 101509. <https://doi.org/10.1016/j.genrep.2022.101509>
- Tang J. COVID-19 Pandemic and osteoporosis in elderly patients // *Aging Dis.* 2022. V. 13. P. 960–969.
- Thickett D.R., Moromizato T., Litonjua A.A. et al. Association between prehospital vitamin D status and incident acute respiratory failure in critically ill patients: a retrospective cohort study // *BMJ Open Respir. Res.* 2015. V. 2. P. 1–8. <https://doi.org/10.1136/bmjresp-2014-000074>
- Tishkoff D.X., Nibbelink K.A., Holmberg K.H. et al. Functional vitamin D receptor (VDR) in the t-tubules of cardiac myocytes: VDR knockout cardiomyocyte contractility // *Endocrinology*. 2008. V. 149. P. 558–564.
- White J.H. Emerging roles of vitamin D-induced antimicrobial peptides in antiviral innate immunity // *Nutrients*. 2022. V. 14 (2). P. 284. <https://doi.org/10.3390/nu14020284>
- Wong M.S., Delansorne R., Man R.Y. et al. Vitamin D derivatives acutely reduce endothelium-dependent contractions in the aorta of the spontaneously hypertensive rat // *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.* 2008. V. 295. P. H289–H296.
- Xu Y., Baylink D.J., Chen C.-S. et al. The importance of vitamin D metabolism as a potential prophylactic, immunoregulatory and neuroprotective treatment for COVID-19 // *J. Transl. Med.* 2020. V. 18 (1). P. 322. <https://doi.org/10.1186/s12967-020-02488-5>

## Sunny Vitamin D3 – Multifaceted, Mysterious, Necessary

O. A. Gomazkov\*

*Orekhovich Research Institute of Biomedical Chemistry, Moscow, Russia*

*\*e-mail: oleg-gomazkov@yandex.ru*

The importance of vitamin D3 for maintaining the level of health in conditions of acute respiratory and vascular infectious pathology COVID-19 is considered. Physiological vitamin deficiency has been documented as a negative predictor of virus exposure and disease severity. A complex of clinical and experimental studies documents that vitamin D3 performs the function of controlling hemovascular homeostasis – the endothelium of the vascular wall, a complex of immunological reactions, coagulation and rheological properties of blood, systemic hemodynamics, etc. The variety of effects is determined by the transcriptional role of the vitamin D3 receptor, which expresses gene targets for synthesis functional protective proteins. The possibilities of supplementation, maintaining the level of vitamin D3 and its chemical metabolites, for the preventive and therapeutic strategy of COVID-19 are considered.

**Keywords:** COVID-19, vitamin D, calcitriol, immunomodulatory role, receptor transcriptional function, vascular endothelial protection, vitamin D supplementation

УДК 616.9-08-071(076.5)

## ДИНАМИЧЕСКИЕ ИЗМЕНЕНИЯ ИММУННОГО СТАТУСА И БИОХИМИЧЕСКИХ МАРКЕРОВ КРОВИ У БОЛЬНЫХ ПОСЛЕ КАРДИОХИРУРГИЧЕСКОГО ВМЕШАТЕЛЬСТВА В УСЛОВИЯХ ИСКУССТВЕННОГО КРОВООБРАЩЕНИЯ

© 2023 г. М. С. Соловьева<sup>1</sup>, В. М. Земсков<sup>1, \*</sup>, М. Н. Козлова<sup>1</sup>, Н. С. Шишкина<sup>1</sup>,  
А. В. Балбуцкий<sup>1</sup>, А. Н. Куликова<sup>1</sup>, В. С. Демидова<sup>1</sup>, А. М. Земсков<sup>2</sup>,  
В. А. Попов<sup>1</sup>, Г. П. Плотников<sup>1</sup>, А. В. Шаранда<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Национальный медицинский исследовательский центр хирургии им. А.В. Вишневского, Москва, Россия

<sup>2</sup>Воронежский государственный медицинский университет им. Н.Н. Бурденко, Воронеж, Россия

\*e-mail: arturrego@yandex.ru

Поступила в редакцию 22.04.2023 г.

После доработки 25.04.2023 г.

Принята к публикации 25.04.2023 г.

На ограниченном контингенте пациентов, умерших и выживших после кардиохирургических вмешательств в условиях искусственного кровообращения рассмотрена общая неспецифическая адаптационная реакция — стресс, развивающаяся при последовательной реализации стадий “тревоги”, “резистентности” и “разрешения”. Рассмотрены иммунные маркеры стрессовой реакции, ее неоднозначные изменения у умерших пациентов и выписанных из клиники с улучшением здоровья. Обнаружены интересные инновации в изменении состояния у пациентов, которые могут быть использованы в оценке и прогнозировании исхода кардиохирургических вмешательств, а также в обосновании использования иммуномодулирующей терапии при альтернативных клинико-иммунологических изменениях состояния здоровья.

**Ключевые слова:** адаптационный синдром, искусственное кровообращение, кардиохирургические операции

**DOI:** 10.31857/S0042132423050071, **EDN:** RDLHAM

### ВВЕДЕНИЕ

Послеоперационные патологические процессы, возникающие после кардиохирургических операций, “запускаются” как самой хирургической травмой, так и благодаря контактам собственных клеток крови с циркуляторным контуром аппарата искусственного кровообращения (ИК) (Knaak et al., 2019). Биологически инертные покрытия контуров ИК и применение современных конструкций оксигенаторов не уберегают от негативных последствий, таких как гипоперфузия и системный воспалительный ответ, приводящих к различным осложнениям вплоть до летального исхода. Литературные данные свидетельствуют о большом количестве работ, посвященных изучению послеоперационных осложнений с позиции общих регуляторных механизмов. Любое осложнение, возникшее в результате оперативного вмешательства, рассматривается либо как частичный срыв адаптации, либо как неспособность организма адаптироваться к повреждению с возможным летальным исходом (Садчиков и др., 2010; Severn, 2001).

Данное сообщение посвящено ретроспективному анализу изменения параметров иммунного статуса и биохимических показателей крови больных, умерших после кардиохирургического вмешательства, проводившегося в условиях ИК, для возможного выявления характеристик, указывающих на развивающиеся фатальные события.

С этой целью выполнено сравнительное изучение изменения исследуемых показателей у умерших больных и у больных, которые впоследствии выписались из отделения с улучшением состояния здоровья. Причем можно думать, что сравнительное исследование будет результативным только тогда, когда оцениваемые группы характеризуются определенной объективной общностью. Иными словами, для того чтобы разобраться, в чем разница между изменением исследуемых показателей у умерших больных и у больных, которые в итоге выжили, необходимо понять, что их объединяет.

### МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Было обследовано и прооперировано 24 больных с различной сердечно-сосудистой патологи-

ей. У этих больных для элиминации негативных последствий ИК при различных типах кардиохирургического вмешательства использовалась методика продолженной высокообъемной управляемой гемофильтрации.

До операции (в день ее проведения) и после кардиохирургического вмешательства на 3 и 10 сут проводили клинико-биохимическую и иммунологическую оценки состояния здоровья больных.

Выполняли фенотипический анализ лимфоидных и фагоцитарных клеток методом проточной цитометрии с помощью моноклональных антител (АТ) фирмы “BD Biosciences, Becton, Dickinson and Co.” (USA), мечеными ФИТЦ (флуоресцеин изотиоцианат) или ФЭ (фикоэритрин), на проточном цитофлуориметре FACSCalibur (Becton Dickinson, USA), для идентификации моноцитов использовали АТ CD14-ФЭ (Земсков и др., 2015). При проведении фенотипического анализа оценивали формулу крови стандартным методом, выполняли аппаратные биохимические исследования общего белка, альбумина, глюкозы, лабораторные параметры — лейкоцитоз, температуру тела, частоту сердечных сокращений и дыхания,  $\text{PaCO}_2$ . Для построения графиков во всех случаях анализа содержания клеток с различными иммунными маркерами у пациентов использовали только статистически значимые различия, определяющие степень иммунной недостаточности или стимуляции, метод анализа достоверности этих степеней разработан нами ранее (Земсков и др., 1997, 2015). Сначала определяли отклоняющиеся иммунные параметры между группами достоверных различий с 2–3 уровнями иммунодефицита (состояние иммунной недостаточности — СИН) или иммуностимуляции (состояние иммунной стимуляции — СИС) по разработанному нами интервалу значений статистического метода, причем достоверным различием считалось превышение или снижение нижней или верхней границ колебаний показателей данного маркера в группе здоровых доноров на  $\geq 34$ –66% (2 СИН или СИС) и на  $\geq 66\%$  (3 СИН или СИС).

На момент проведения операции все больные находились в удовлетворительном состоянии. В изученном аспекте не было выявлено существенных изменений в биохимическом и иммунном статусе больных. Повышенные значения отдельных показателей были связаны с коморбидным состоянием больных.

В результате проведенного лечения 22 пациента выписаны домой с улучшением состояния здоровья, 2 больных умерли.

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Из литературы известно, что течение послеоперационного периода и его исход зависят от иммунных и адаптационных реакций организма. Про-

следим, как менялись клинико-биохимические и иммунные показатели умерших больных с позиции оценки адаптационных реакций организма, вызванных хирургическим вмешательством.

Отметим, что адаптационные или приспособительные реакции развиваются в ответ на какое-либо патогенное или интенсивное физиологическое воздействие на организм и направлены на поддержание постоянства внутренней среды, на функционирование всех органов и систем, необходимое для сохранения жизни.

Данные литературы свидетельствуют, что в ответ на хирургическое вмешательство, наркоз, обширные травмы, бактериальную интоксикацию в организме формируется общая неспецифическая адаптационная реакция — стресс (Селье, 1960; Овечкин, 2008). Она характеризуется автоматизмом, однотипностью и стандартностью реакций, которые не зависят от вида воздействия, а только от его силы, точнее, длительности (Селье, 1979; Гаркави и др., 1990).

Г. Селье (1960, 1979) охарактеризовал стресс как неспецифическую реакцию на любое предъявленное требование к организму. В современной медицине разграничивают их, как носящих физиологический характер и обеспечивающих функционирование организма в пределах нормы (стресс), от требований, которые способствуют развитию деструктивных изменений в организме вплоть до гибели (Загуровский, 2015). Г. Селье обозначал такие изменения, как дистресс, что означает “истощение”, “недомогание”, “горе” (Селье, 1979). В настоящее время оптимальным является использование термина “стрессорная реакция”. Это реакция человека на какое-либо воздействие, приводящее к дезорганизации адаптационных механизмов регуляции, развитию патологического состояния и возможной гибели (Загуровский, 2015). Агенты, способные вызвать эту реакцию, называются стрессорами или стресс-факторами.

В своем исследовании мы будем пользоваться термином “стрессорная реакция” т.к. априори любое хирургическое вмешательство может привести к развитию патологического состояния или даже гибели больного.

Стрессорная реакция в своем развитии проходит три стадии: стадию тревоги, резистентности и разрешения. Выраженность и длительность каждой стадии зависят от силы действия стрессорного фактора и врожденной приспособляемости организма.

Первая стадия стрессорной реакции — это стадия тревоги. Основная задача такого периода получить в короткие сроки энергию для борьбы с повреждающим фактором, причем она осуществляется за счет активации гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой системы. В этот период основным действующим фактором являются глюкокортикоидные гормоны коры надпочечников, в большей степени кортизол. Именно он играет ключевую роль в развитии адаптации. Он повышает мобилизацию и распределяет энергетические ресурсы

организма, усиливает глюконеогенез, вызывая повышение глюкозы в крови и ускоренную утилизацию аминокислот, за счет чего подавляется синтез белка. В периферической крови наблюдается лейкоцитоз, нейтрофилез, эозино- и лимфопении. Подобная стадия возникает сразу после начала действия стрессорного фактора и развивается на протяжении 6–48 ч (Гаркави др., 1990; Загуровский, 2015; Мухина и др., 2022).

Анализируя на 3 сут после операции клинико-биохимические данные всех больных, можно выделить группу из 4 человек, у которых изменения исследуемых показателей свидетельствовали о развитии неспецифической адаптационной стрессорной реакции (рис. 1 и 2). В эту группу вошли и умершие больные (пациенты А и Б).

Неспецифическая адаптационная стрессорная реакция является ответной реакцией всего организма, включающей все его органы и системы (Гаркави и др., 1990). В работе представлена лишь часть ключевых показателей, характеризующих изменения в иммунной и биохимической системах крови, отражающих состояние белкового и углеводного обмена.

Как видно из рис. 1 и 2, у больных на хирургическое вмешательство развился комплекс изменений, характерных для первой стадии стрессорной реакции — лейкоцитоз, нейтрофилез, повышение уровня палочко-ядерных нейтрофилов, лимфопения, отсутствие эозинофилов, резкое снижение количества общего белка и альбумина, повышенный уровень глюкозы (за исключением больного К, у которого уровень глюкозы к 3 сут снизился).

Таким образом, мы определили “группу сравнения” для анализа изменений клинико-биохимических показателей и показателей иммунного статуса умерших больных А и Б, которую составили пациенты К и Д. По законам научного исследования сравниваемые группы должны быть стандартизированы по каким-либо параметрам. Именно поэтому в нашем исследовании было выявлено, что только у больных А, Б, К и Д на 3 сут развился комплекс изменений, характерных для неспецифической адаптационной стрессорной реакции.

Отметим, что совсем не означает, что оперативное вмешательство не вызвало стресс-реакцию у других больных, поскольку, возможно, проведение продолженной высокообъемной управляемой гемодифльтрации во время операции и после нее затормозило развитие этой реакции и ее проявлений у других пациентов. Поэтому допустимо, что организм этих больных “ответил” другим типом адаптационной реакции (Колесник, 2020).

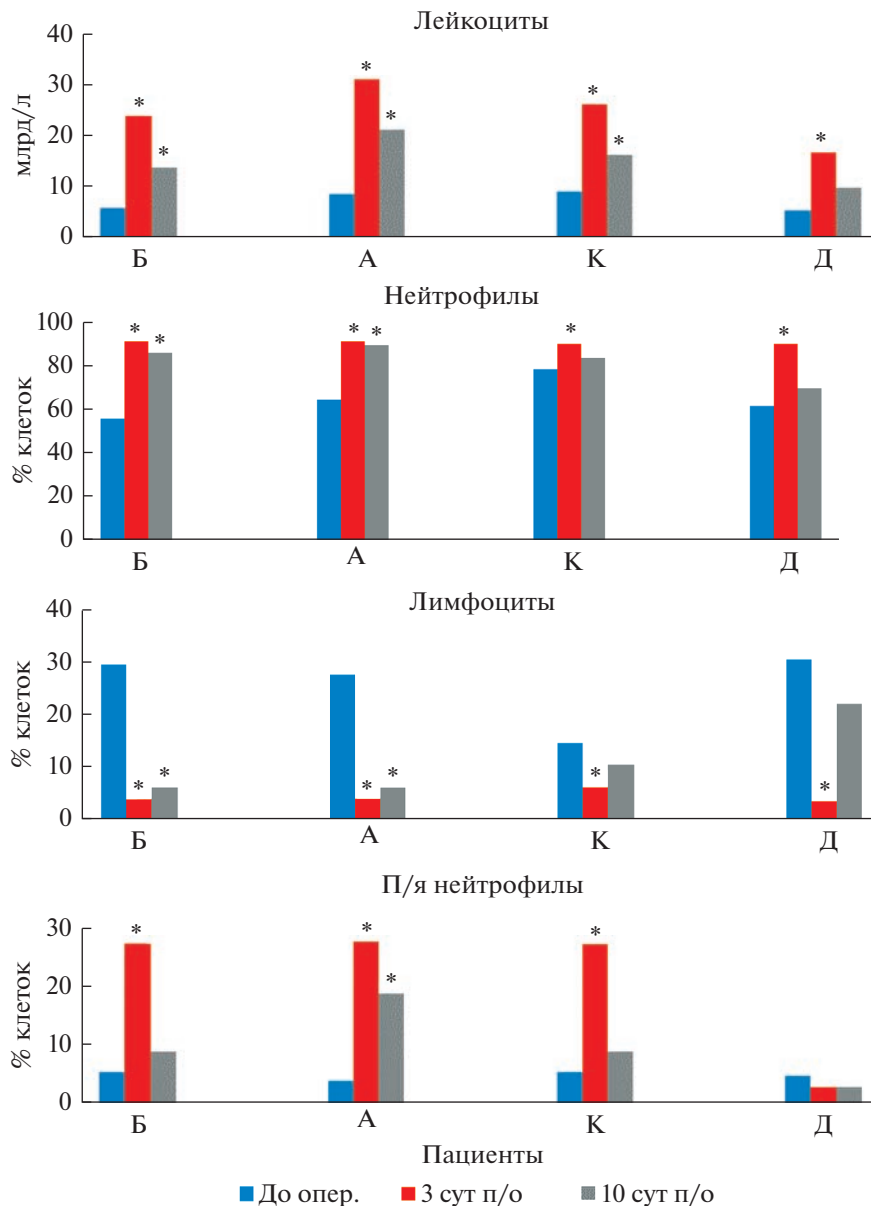
Нашей задачей в данном исследовании было изучение механизмов нарушения иммунного статуса при кардиохирургических операциях в условиях ИК. Мы посчитали логичным оценить силу воздействия на организм по времени, в течение которого больные находились на искусственном кровообращении. Естественно, сила воздействия на организм при кардиохирургической операции

определяется не только временем нахождения на ИК. Сила воздействия по сути является суммарной величиной, составляющими которой оказываются наркоз, хирургическая травма, время нахождения на ИК и т.д. Еще раз отметим, что пациентам в процессе хирургического вмешательства проводили элиминацию негативных последствий ИК, вот почему в качестве стресс-фактора мы условно обозначили время пребывания на ИК. В табл. 1 больные расположены в порядке убывания времени, в течение которого находились на ИК. Причем, самое длительное время пребывания на ИК было у умерших больных Б и А, составившая соответственно 418 и 237 мин.

Несмотря на то, что это время у больных было разным, степень изменения показателей, представленных на рис. 1, была примерно одинаково высокой. Укажем, что соответствующие маркеры состояния организма у умерших пациентов А и Б существенно не отличались по величине значений от соответствующих показателей у больных К и Д, что является наглядным примером индивидуальной чувствительности к поражающему фактору. Однако это не касается резко сниженного содержания альбумина у пациента Б и нормального количества палочко-ядерных лейкоцитов у пациента Д, что в настоящее время объяснить не представляется возможным, хотя это может быть причиной индивидуальной реакции больного. Еще раз отметим, что разное время пребывания на ИК вызвало у пациентов однотипный комплекс изменений.

Стадию тревоги стрессорной реакции у больных К и умерших больных А и Б характеризует развитие синдрома системного воспалительного ответа (ССВО). В большинстве случаев по ряду сообщений он не имеет связи с инфекцией (Усов и др., 2008; Nigai, 2003), поскольку к этому сроку исследования (по крайней мере, в нашей работе) не было клинических доказательств существования инфекционного процесса у этих больных, а также выделения чистой культуры микроорганизмов из внутренних сред организма. Поэтому можно предположить, что в данном случае ССВО является отражением силы повреждающего фактора, то есть времени нахождения на ИК. Очень важно, что ССВО считается состоявшимся (Ивашенко и др., 2012; цит. по: Савельева, Гельфанд, 2006) при наличии хотя бы двух или более признаков, представленных в табл. 1, в которой дана их расшифровка.

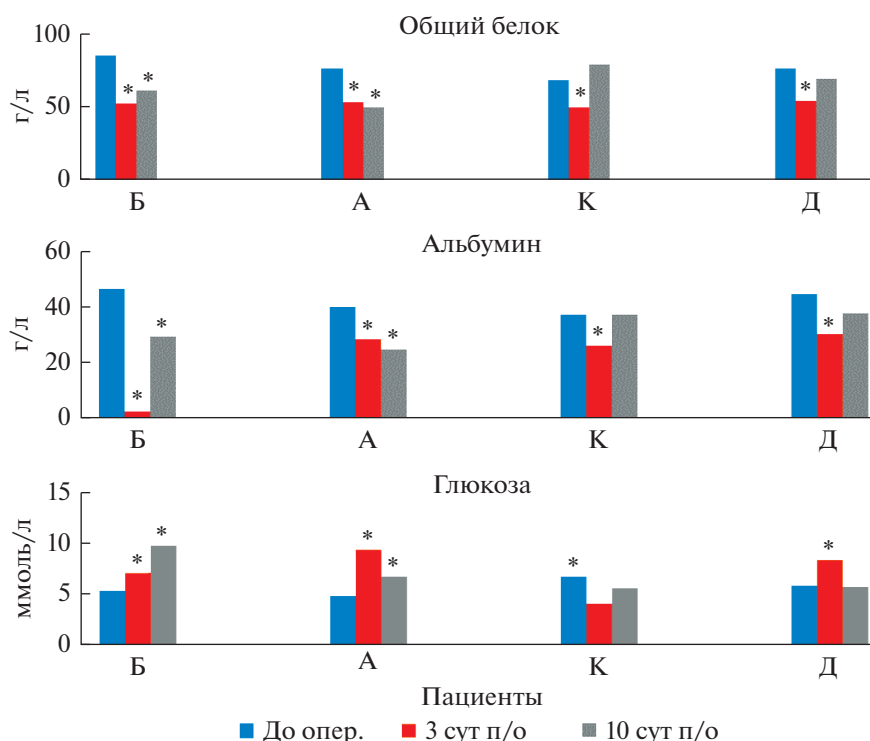
Так, у больного К и умерших больных А и Б на 3 сут отмечался лейкоцитоз свыше 20 тыс., количество палочко-ядерных лейкоцитов больше 20%, частота сердечных сокращений превышала 90 ударов в минуту. Напомним, что значительный лейкоцитоз, левый сдвиг в лейкоцитарной формуле косвенно свидетельствуют о высоком уровне кортизола в крови, тем самым подтверждая тяжелое поражающее действие стрессорного фактора (Ивашенко и др., 2012). Отметим, кстати, что у пациента Д стадия тревоги стрессорной реакции не сопровождалась развитием ССВО, что объясняется ниже.



**Рис. 1.** Динамика маркеров врожденного иммунитета у пациентов, подвергнутых кардиохирургической операции в условиях ИК. Большие буквы обозначают начальную букву фамилии конкретных пациентов, у которых иммунные маркеры были проанализированы в дооперационный период и через 3 и 10 сут после него (здесь и на рис. 3). По оси ординат — содержание клеток в соответствующих единицах (здесь и на рис. 2 и 3). Звездочка над столбиком обозначает достоверные различия маркера в сравнении с показателями у доноров.

Поражающее действие стрессорного фактора было гораздо сильнее у пациента К и у умерших больных А и Б, чем у пациента Д. В связи с этим допустимо предположить, что иногда реакции, развивающиеся в стадию тревоги, а именно системный воспалительный ответ, могут оказаться такой силы, что сами способны выступать в роли повреждающего фактора, вызывающего альтернативную реакцию иммунной системы. Можно думать, что именно в этот период представляется обоснованной терапевтическая модуляция воспалительного ответа, и в этом смысле оказывается оправданным и необ-

ходимым применение иммуномодулирующей терапии. Известно, что вектор эффекта подобной терапии зависит от исходного уровня клинко-иммунологического состояния пациента (Васильев, Коляда, 1990; Земсков, Новиков, 2019). Высокие или даже сниженные значения показателей, характеризующих стадию тревоги стрессорной реакции, по-видимому, будут снижаться или возрастать под действием иммуномодулирующей терапии, тем самым “приглушая” излишнюю, разрушительную силу ответной воспалительной реакции. Очень четко это было нами показано при использовании им-



**Рис. 2.** Динамика биохимических маркеров у пациентов, подвергнутых кардиохирургической операции в условиях ИК. Большие буквы обозначают начальную букву фамилии конкретных пациентов, у которых биохимические маркеры были проанализированы в дооперационный период и через 3 и 10 сут после него.

муномодулирующей терапии габриглобином ожогового сепсиса у пациентов, когда изменения иммунных маркеров врожденного и адаптивного иммунитета характеризовались альтернативными векторами модификаций (Земсков и др., 2012; Zemskov et al., 2017). Так, иммунные маркеры врожденного иммунитета — общие лейкоциты, сдвиг формулы крови влево, индекс эндогенной интоксикации, гиперсодержание  $CD70^+$ -лимфоцитов, экспрессирующих активационный маркер суперсемейства ФНО- $\alpha$ ,  $Gr$  с экспрессией “септического” маркера  $CD64^+$  при септическом процессе характеризовались резкой гиперактивацией. В то же время иммунные маркеры адаптивного иммунитета — общие лимфоциты, естественные киллеры, в том числе и естественные Т-киллеры, регуляторные субпопуляции Т-лимфоцитов (Т-хелперы, цитотоксические Т-лимфоциты),  $HLA-DR^+$ -моноциты и уровни иммуноглобулинов отличались развитием глубокого дефицита. Крайне важно, что применение иммунозаместительной терапии габриглобином в значительной степени нивелировало отмеченные изменения иммунной системы, тем самым подтверждая высказанную нами идею о целесообразности использования иммуномодуляции при резких альтернативных модификациях иммунной системы под влиянием в том числе и стрессовых реакций.

В нашем исследовании мы выделили группу больных из 4 человек, которая по анализу измене-

ния клинко-биохимических показателей была охарактеризована как группа больных, у которых к 3 сут после хирургического вмешательства развился комплекс изменений, характерный для стресс-реакции.

Оценивая показатели клеточного иммунитета этих больных, мы делали акцент только на показатели, которые могли характеризовать развившуюся стрессорную реакцию, то есть изменяться однотипно в ответ на чрезвычайное для организма воздействие. Они представлены на рис. 3.

Как видно, на 3 сут после операции происходило одновременное повышение лимфоцитов с экспрессией  $CD21$ , моноцитов с экспрессией  $CD16$ -маркеров и гранулоцитов с экспрессией  $CD64$  у больных. Исключение составляет пациент Д, у которого содержание моноцитов с экспрессией  $CD16$  не изменялось. У этого же больного отсутствовали и признаки системного воспалительного ответа.

Анализируя данные рис. 3, можно отметить, что изменения показателей клеточного иммунитета у умершего больного Б были такие же, как и у остальных пациентов в группе, только сдвигались к 10 сут после операции.

Логично задаться вопросом, чем отличаются реакции клеточного иммунитета у умерших больных от всех остальных пациентов в группе. В этом смысле обращает на себя внимание резкое снижение содержания  $CD3^-$  и  $CD4^-$ -лимфоцитов у умершего больного А. У другого погибшего паци-

**Таблица 1.** Маркеры синдрома системного воспалительного ответа у пациентов после кардиохирургического вмешательства (по: Савельева, Гельфанд, 2006; Иващенко и др., 2012)

| Показатель                                                    | Пациенты после оперативного вмешательства                               |                                                 |              |              |          |        |              |        |
|---------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------|--------------|--------------|----------|--------|--------------|--------|
|                                                               | Б                                                                       |                                                 | А            |              | К        |        | Д            |        |
|                                                               | сутки после оперативного вмешательства                                  |                                                 |              |              |          |        |              |        |
|                                                               | 3 сут                                                                   | 10 сут                                          | 3 сут        | 10 сут       | 3 сут    | 10 сут | 3 сут        | 10 сут |
|                                                               | продолжительность искусственного кровообращения (мин) во время операции |                                                 |              |              |          |        |              |        |
|                                                               | 418                                                                     |                                                 | 237          |              | 199      |        | 156          |        |
| Лейкоцитоз >12 тыс.                                           | 24.1                                                                    | 14.1                                            | 31.3         | 24.4         | 26.5     | 16.4   | 16.97        | 10.1   |
| Молодые, незрелые формы нейтрофилов (п/я, метамиелоциты) >10% | 27.5 п/я                                                                | 15.5 (9-п/я, 4,5-миелоцитов, 2-метамиело- цита) | 28 п/я       | 19 п/я       | 27.5 п/я | 9 п/я  | 3 п/я        | 3 п/я  |
| Температура тела > 38°C                                       | 36.7°C                                                                  | 36.5°C                                          | 36.6°C       | 36.3°C       | 36.6°C   | 36.5°C | 37.6°C       | 36.7°C |
| ЧСС > 90/мин                                                  | 130/мин                                                                 | 80/мин                                          | 100/мин      | 100/мин      | 100/мин  | 81/мин | 78/мин       | 95/мин |
| ЧДД > 20/мин                                                  | —                                                                       | —                                               | —            | —            | 16/мин   | 17/мин |              |        |
| РаСО <sub>2</sub> < 32 мм рт. ст.                             | 42 мм рт. ст                                                            | 34 мм рт. ст                                    | 33 мм рт. ст | 24 мм рт. ст |          |        | 50 мм рт. ст |        |

Примечание: жирным шрифтом выделены значимые изменения маркеров.

ента Б снижение этих показателей было более постепенным и достигало максимума к 10 сут. Оно также не было столь значительным, как у пациента А, но было ниже границы нормы. У других пациентов снижение маркеров было незначительным и оставалось в пределах физиологических колебаний, то есть нормы.

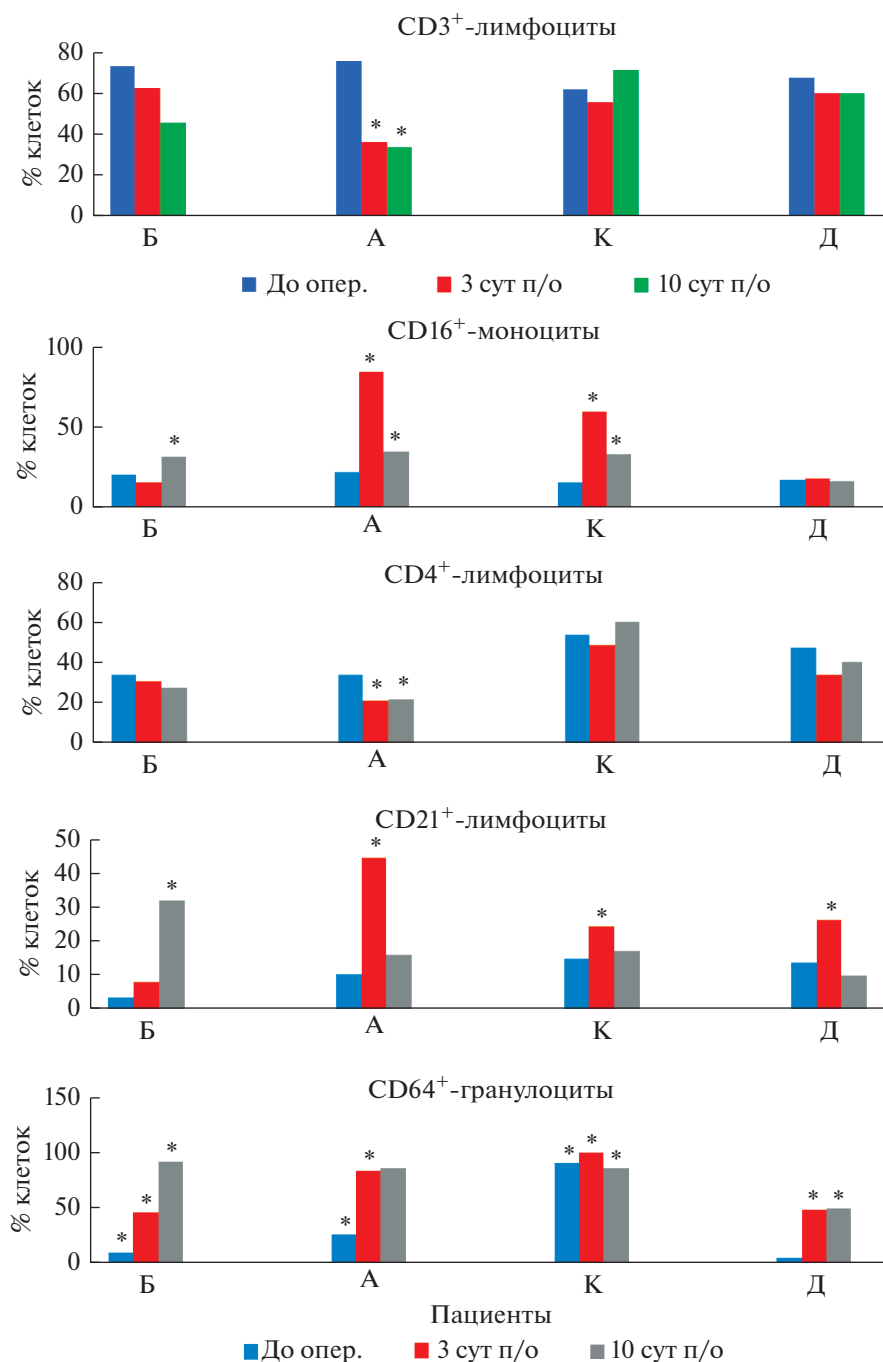
Недостовверные изменения содержания клеток с экспрессией иммунных маркеров CD3<sup>+</sup> и CD4<sup>+</sup> на лимфоцитах у больных Б, К и Д, по-видимому, не свидетельствуют о малой информативности их оценки. Это объясняется тем, что иногда важнее учитывать не достоверность колебаний отдельных показателей, а их взаимосвязь и тенденцию изменения. В литературе имеются сведения о том, что изменения соотношения субпопуляций в процессе развития того или иного заболевания могут не выходить за пределы нормы, что указано в обзоре по фенотипам клеток (Пичугина, 2006; Травникова и др., 2009). В этой связи мы отметили одновременное повышение содержания лимфоцитов с экспрессией CD21<sup>+</sup>- и CD16<sup>+</sup>-моноцитов, более выраженное для гранулоцитов с экспрессией “септического” маркера CD64<sup>+</sup> и снижение CD3<sup>+</sup>- и CD4<sup>+</sup>-лимфоцитов на 3 сут после кардиохирургического вмешательства. Такая одновременность и однотипность изменений иммунных маркеров клеточного иммунитета наблюдалась только у больных, у которых к 3 сут после оперативного вмешательства развился симптомакомплекс, характерный для стрессорной реакции. Подобная взаимосвязь параметров иммунного статуса и биохимических показателей естественно вносит определенный вклад в раскрытие механизмов развития неспецифической адаптационной стрессорной реакции при хирургической патологии.

Естественно следует помнить, что наши результаты получены при анализе маркеров у небольшого контингента больных и, возможно, имеют определенную долю непреднамеренной случайности. Однако, для исключения такого вывода необходимы дальнейшие исследования.

Таким образом, на 3 сут после кардиохирургической операции в условиях ИК у определенной группы больных был выявлен комплекс изменений, характерных для неспецифической адаптационной стрессорной реакции, которые касаются в наибольшей степени выживших пациентов К и Д и умерших А и Б.

Напомним еще раз, что неспецифическая адаптационная стрессорная реакция характеризовалась признаками системного воспалительного ответа у больного К и у умерших пациентов А и Б, и однотипными изменениями маркеров клеточного иммунитета (повышение содержания моноцитов с экспрессией CD16<sup>+</sup>-маркеров, CD21<sup>+</sup>-лимфоцитов и CD64<sup>+</sup>-гранулоцитов). Выраженность проявлений этих реакций была примерно одинаковой у данных больных. Достоверное снижение содержания лимфоцитов с экспрессией CD3<sup>+</sup>- и CD4<sup>+</sup>-маркеров наблюдалось только у умерших больных А и Б. В то же время, у умершего больного Б подобные изменения показателей клеточного иммунитета сдвигались к 10 сут после операции. У больного Д не отмечалось признаков развития системной воспалительной реакции и повышения моноцитов с экспрессией CD16<sup>+</sup>-маркера.

Как известно, стадия тревоги, стрессорной реакции сменяется стадией устойчивости (резистентности). Наступление этой фазы происходит тогда, когда адаптационные возможности организма соизмеримы с силой стрессорного фактора (Мухина и др., 2022).



**Рис. 3.** Динамика клеточных маркеров адаптивного иммунитета у пациентов, подвергнутых кардиохирургической операции в условиях ИК.

Если действие стрессорного фактора, в нашем случае время пребывания на ИК, не угрожало жизни больного, то есть было не чрезмерно сильным, то организм с помощью собственных сил и лечебных мероприятий сопротивляется ему, адаптируется, и признаки реакции тревоги постепенно уходят.

Время нахождения на ИК при хирургическом вмешательстве вызвало у пациентов Д и К и умерших больных А и Б однотипный комплекс изме-

нений, характерный для стрессорной реакции, однако требования, которые “предъявляло” ИК к приспособительной способности организма больных было разным. Оно не было угрожающим для жизни больных Д и К и оказалось совместимым с возможностями адаптации этих пациентов к последствиям ИК. Видимо, по этой причине к следующему сроку клинико-лабораторного исследования организм больных нивелировал признаки реакции

тревоги, вызвав наступление стадии резистентности, адаптации к повреждающему действию ИК. К 10 сут у этих пациентов нормализовались и клинко-биохимические показатели (рис. 1, 2).

У пациента К показатель общих лейкоцитов еще оставался повышенным, однако он был значительно ниже, чем на 3 сут после операции. Умершие больные А и Б дольше всех находились на искусственном кровообращении. Причем время нахождения на ИК у них было самым продолжительным среди всех больных, участвовавших в исследовании. Крайне важно, что к 10 сут у умерших больных не произошло восстановление клинко-биохимических показателей, как и признаков системного воспалительного ответа (рис. 1). Иными словами, организм пациентов еще “не вышел из реакции тревоги”. Это означает, что организм умерших больных А и Б, по-видимому, плохо приспосабливался к стресс-фактору (ИК), продолжая адаптироваться, затрачивая все больше энергетических и пластических материалов, но при этом его ресурсы скорее всего постепенно исчерпывались, и к 10 сут были зарегистрированы признаки полиорганной недостаточности (энцефалопатия, почечно-печеночная недостаточность). Это подтверждается также повышенным уровнем креатинина, мочевины и общего билирубина.

Исследование показателей клеточного иммунитета на 10 сут после операции выявило нормализацию содержания  $CD21^{+}$ -лимфоцитов до исходного уровня у всех пациентов, тогда как уровень  $CD16^{+}$ -моноцитов снизился, но все же еще оставался высоким. Содержание  $CD64^{+}$ -гранулоцитов регистрировалось на достаточно высоком уровне у всех пациентов, а у умерших больных А и Б количество  $CD3^{+}$ - и  $CD4^{+}$ -лимфоцитов практически сохранялось без изменений.

Следует отметить, что не все исследуемые иммунные маркеры клеточного иммунитета пришли в норму у больных, вышедших из реакции тревоги, что может быть связано с формированием в стадии резистентности специфических реакций, характерных для стресс-фактора (время нахождения на ИК), которые накладываются на общий “неспецифический” фон (Гаркави, 1990; Васильев, Коляда, 1990).

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, проведенное сравнительное исследование позволило установить клинко-лабораторные события, которые объединяли больных А, Б и К, Д по развитию общей адаптационной реакции, то есть в ответ на кардиохирургическое вмешательство в послеоперационный период развился комплекс изменений, характерный для неспецифической адаптационной стресс-реакции (лейкоцитоз, нейтрофилез, увеличение палочко-ядерных нейтрофилов, лимфопения, отсутствие эозинофилов, повышение уровня глюкозы, снижение общего белка и альбумина, повышение

содержания  $CD21^{+}$ -лимфоцитов и  $CD16^{+}$ -моноцитов,  $CD64^{+}$ -гранулоцитов и снижение  $CD3^{+}$ - и  $CD4^{+}$ -лимфоцитов у больного А при тенденции к снижению  $CD3^{+}$ - и  $CD4^{+}$ -лимфоцитов у пациентов Б, К и Д). В то же время умершие пациенты А и Б дольше всех в группе находились на искусственном кровообращении во время кардиохирургической операции; комплекс изменений, характерный для неспецифической адаптационной стресс-реакции у умерших больных А и Б сохранялся в течение всего срока исследования в отличие от больных К и Д; синдром системного воспалительного ответа наблюдался у умерших больных А и Б во все сроки исследования в отличие от больных К и Д. В то же время из литературы известно, что более выраженное снижение содержания  $CD3^{+}$  и  $CD4^{+}$  отмечается у пациентов с более сильной воспалительной реакцией, что и наблюдалось у умерших больных А и Б и что является неблагоприятным прогностическим признаком (Ярец, 2020).

Наконец, отметим, что пациенты К и Д благополучно были выписаны из стационара с улучшением состояния здоровья на 3 сут после последнего исследования. В то же время через 10 дней после последнего исследования умер пациент А, а через 33 дня пациент Б.

Надеемся, что полученные результаты позволят внести определенный вклад в изучение роли реакций адаптационного синдрома в оценке состояния больного, прогнозировании течения кардиохирургического вмешательства и целесообразности иммуномодулирующей терапии, тем более, что ее высокая эффективность при альтернативных изменениях иммунной системы в условиях тяжелой ожоговой травмы четко обоснована нами ранее (Земсков и др., 2012; Zemskov et al., 2017).

## ФИНАНСИРОВАНИЕ

Работа выполнялась в рамках Программы плановых исследований НИР в Национальном медицинском исследовательском центре хирургии им. А.В. Вишневского (Москва) и в Воронежском государственном медицинском университете им. Н.Н. Бурденко.

## КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

## СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ СТАНДАРТОВ

Все процедуры, выполненные в исследовании с участием людей, соответствуют этическим стандартам институционального и/или национального комитета по исследовательской этике и Хельсинкской декларации 1964 г. и ее последующим изменениям или сопоставимым нормам этики. Разрешения от каждого из включенных в исследование участников и информированное добровольное согласие не требуются, поскольку пациенты подвергались исследованию в плане оказа-

ния медицинской помощи, предусмотренной Минздравом России в условиях стационарного лечения.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Васильев Н.В., Коляда Т.И. Закон исходного уровня Вильдера и влияние иммуномодуляторов на иммунитет. Реабилитация иммунной системы // Тез. 2-го междунар. симп. Цхалтубо, 1990. С. 15.
- Гаркави Л.Х., Уколова М.А., Квакина Е.Б. Адаптационные реакции и резистентность организма. Ростов н/Д: Изд-во Ростов. ун-та, 1990. 223 с.
- Загуровский В.М. Стресс и его последствия // Новости медицины и фармации в мире. 2015. № 6. 535 с.
- Земсков А.М., Новиков В.Е. Неортодоксальные феномены клинической иммунологии: неортодоксальные феномены иммунокоррекции // Вестн. Воронежского ин-та выс. технол. 2019. № 2 (29). С. 10.
- Земсков В.М., Алексеев А.А., Козлова М.Н. и др. Изучение клинко-иммунологической эффективности иммунозаместительной терапии габриглобином при лечении ожоговой болезни и ее осложнений // Рос. мед. журн. 2012. № 5. С. 216–222.
- Земсков В.М., Алексеев А.А., Козлова М.Н. и др. Иммунная диагностика септических осложнений при ожогах // Успехи соврем. биол. 2015. Т. 135 (6). С. 531–541.
- Земсков А.М., Земсков В.М., Золотодов В.И. Доступные методы оценки и коррекции иммунных нарушений у больных // Клин. лаб. диагностика. 1997. № 3. С. 3–4.
- Иващенко В.В., Чернышев И.В., Перепанова Т.С. и др. Стресс и синдром системного воспалительного ответа // Эксперим. и клин. урол. 2012. № 4. С. 20–22.
- Колесник Е.А. Стресс-реакция как защитный иммунный механизм, направленный на восстановление гомеостаза организма // Вестн. Челябинского ГУ. Образование и здравоохранение. 2020. № 4 (12). С. 5–14.
- Мухина Е.М., Магламан А.А., Луцкий М.В. Общий адаптационный синдром. Стресс и адаптация // Eur. J. Nat. Hist. 2022. № 6. С. 47–52.
- Овечкин А.М. Хирургический стресс-ответ, его патофизиологическая значимость и способы модуляции // Регион. анестезия и лечение острой боли. 2008. Т. 2 (2). С. 49–62.
- Пичугина Л.В. Изменение фенотипа лимфоцитов при некоторых патологиях: обзор литературы. М.: ЗАО БиоХимМак, 2006. 36 с.
- Садчиков Д.В., Пригородов М.В., Вартамян Т.С. Периоперационные осложнения у пациентов высокого анестезиологического-операционного риска (обзор литературы, часть I) // Саратовский науч.-мед. журн. 2010. Т. 6 (3). С. 561–565.
- Селье Г. Очерки об адаптационном синдроме. М.: Медгиз, 1960. 254 с.
- Селье Г. Стресс без дистресса. М.: Прогресс, 1979. 125 с.
- Сепсис в начале XXI века / Ред. В. С. Савельев, Б. Р. Гельфанд. М.: Литтерра, 2006. 176 с.
- Травникова О.Е., Добродеева Л.К., Мартынова Н.А., Калинин А.Г. Модель комплексной оценки иммунных реакций человека // Экол. человека. 2009. № 8. С. 44–49.
- Усов В.В., Обьедеников Т.Н., Тарасов А.Е., Горшеев А.Н. Оценка иммунного статуса у тяжелообожженных // Тихоокеанский мед. журн. 2008. № 1. С. 53–55.
- Ярец Ю.И. Интерпретация результатов иммунограммы. Практ. пособие для врачей. Гомель: ГУ «РНПЦ РМиЭЧ», 2020. 38 с.
- Hirai S. Systemic inflammatory response syndrome after cardiac surgery under cardiopulmonary bypass // Ann. Thorac. Cardiovasc. Surg. 2003. V. 9 (6). P. 365–370.
- Knaak C., Vorderwülbecke G., Spies C. et al. C-reactive protein for risk prediction of post-operative delirium and post-operative neurocognitive disorder // Acta Anaesthesiol. Scand. 2019. V. 63. P. 1282–1289.
- Zemskov V.M., Alekseev A.A., Kozlova M.N. et al. Changes in the immune system depending on the stage of burn disease and the area of thermal destruction. Immunoglobulin replacement therapy with gabriglobin // Int. J. Rec. Sci. Res. 2017. V. 8 (2). P. 15653–15662.
- Severn A. Time to light the grey touchpaper! The challenge of anaesthesia for elderly // Br. J. Anaesthesia. 2001. V. 87. P. 533–536.

## Dynamic Changes in the Immune Status and Biochemical Markers of the Blood in Patients after Cardiac Surgery in Conditions of Artificial Circulation

M. S. Solovyova<sup>a</sup>, V. M. Zemskov<sup>a</sup>, \*, M. N. Kozlova<sup>a</sup>, N. S. Shishkina<sup>a</sup>, A. V. Balbutskiy<sup>a</sup>, A. N. Kulikova<sup>a</sup>, V. S. Demidova<sup>a</sup>, A. M. Zemskov<sup>b</sup>, V. A. Popov<sup>a</sup>, G. P. Plotnikov<sup>a</sup>, and A. V. Sharanda<sup>a</sup>

<sup>a</sup>Vishnevsky National Medical Research Center for Surgery, Moscow, Russia

<sup>b</sup>Burdenko Voronezh State Medical University, Voronezh, Russia

\*e-mail: arturrego@yandex.ru

On a limited contingent of patients who died and survived after cardiac surgery under conditions of artificial circulation, a general nonspecific adaptive reaction is considered — stress, which develops during the sequential implementation of the “anxiety stage”, “resistance” and “resolution”. The immune markers of the stress response, its ambiguous changes in deceased patients and those discharged from the clinic with improved health are considered. Interesting innovations in changes in patients have been discovered that can be used in assessing the condition of patients, predicting the outcome of cardiac surgery, and even substantiating the use of immunomodulatory therapy in alternative clinical and immunological changes in the state of health in patients.

**Keywords:** adaptation syndrome, cardiopulmonary bypass, cardiac surgery

УДК 639.1.053

## СОВРЕМЕННЫЕ МЕТОДЫ УЧЕТА ОХОТНИЧЬИХ ЖИВОТНЫХ

© 2023 г. А. Ю. Просеков<sup>1</sup>, А. П. Каледин<sup>2</sup>, С. В. Бекетов<sup>3, \*</sup>, О. Н. Голубева<sup>4</sup>, А. М. Остапчук<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Кемеровский государственный университет, Кемерово, Россия

<sup>2</sup>Российский государственный аграрный университет — МСХА им. К.А. Тимирязева, Москва, Россия

<sup>3</sup>Институт общей генетики им. Н.И. Вавилова РАН, Москва, Россия

<sup>4</sup>Музей охоты и рыболовства Росохотрыболовсоюза, Москва, Россия

\*e-mail: svbeketov@gmail.com

Поступила в редакцию 22.04.2023 г.

После доработки 22.04.2023 г.

Принята к публикации 07.05.2023 г.

Современные подходы к организации охотничьего хозяйства базируются на принципах устойчивого развития, требующих сочетания сохранения биоразнообразия и экономической эффективности, что невозможно без повышения точности и объективности данных о численности охотничьих животных. В обзорной статье рассматриваются различные виды и методы учета охотничьих животных: зимний маршрутный учет, анкетно-опросный и экспертный методы, учет прогоном, авиаучет, окладный и ленточный учеты. При этом основной акцент сделан на анализе зимнего маршрутного учета животных, как основного метода для оценки численности большинства охотничьих зверей в Российской Федерации. В качестве возможного дополнения или самостоятельной альтернативы учета численности охотничьих животных рассмотрены перспективы применения авиаучета с использованием беспилотных летательных аппаратов.

**Ключевые слова:** охотничьи хозяйства, численность животных, методы учета, зимний маршрутный учет, беспилотные летательные аппараты

**DOI:** 10.31857/S0042132423050058, **EDN:** RDWDXR

### ВВЕДЕНИЕ

Устойчивое развитие охотничьего хозяйства базируется на данных учета и мониторинга численности охотничьих животных как его основного ресурса. Соответственно целью учета животных является обоснованное планирование развития охотничьего хозяйства путем определения допустимых лимитов и квот на добычу. Учет охотничьих животных решает задачи: мониторинга охотничьих ресурсов; определения ресурсной базы охотничье-промысловой фауны; проведения экологической экспертизы материалов по лимитам и квотам добычи; биотехнических мероприятий и оценки их результатов; получения данных о численности охотничьих ресурсов для их стоимостной характеристики; управления популяциями (Жигарев, 2005; Холодова и др., 2014; Большаков, Кузнецова, 2016; Бондарев и др., 2016; Греков, 2019; Каледин, 2023).

Наряду с этим, при более точном учете численности охотничьих животных, появляется возможность определения объема незаконной добычи путем сопоставления данных о динамике по годам с учетом плодовитости, смертности и миграции зверей (Глушков, Скопин, 2020).

К настоящему времени разработано большое количество методов учета охотничьих животных, которые различаются по охвату территории, способам подсчета, используемым техническим средствам, математическому аппарату, видам животных и т.д. (Кузякин, Челинцев, 2005; Челинцев, 2007; Валенцев и др., 2012; Кривошапкин, Аргунов, 2013; Данилкин, 2014; Середовских, Бауэр, 2017; Сено-трусова, Павлова, 2019; Хуснутдинов, 2021).

### ВИДЫ УЧЕТА ОХОТНИЧЬИХ ЖИВОТНЫХ

Как в классической, так и современной охотоведческой литературе различают виды учета, которые можно упорядочить с точки зрения биологического, математического, организационного и географического подходов (Челинцев, 2001; Кузякин, 2017).

В частности, в соответствии с биологическими основами учета различают повидовой и комплексный (несколько видов животных) учеты; непосредственное визуальное выявление животных, обнаружение следов их жизнедеятельности (следы, погрызы, убежища, гнездовья, экскременты, останки жертв хищников), а также маршрутные (линейные), ленточные (пробные маршрутные полосы)

или площадные (картографирование территорий) учеты в зависимости от движения учетчика (Данилкин, 2019).

Математические основы учета включают сплошной учет всей численности животных на обследуемой территории и выборочный учет, который проводится на лентах или пробных площадках, с последующим экстраполированием на всю территорию. По получаемым результатам выделяют относительный (расчет индексов изменения численности) и абсолютный учет (оценка численности охотничьих животных с применением экстраполяции).

В организационном подходе учета в зависимости от применяемой техники различают авиаучет (классическая и беспилотная авиация), наземный учет (пеший, с использованием автомобиля, снегохода и др.); от характера получаемой информации — непосредственный полевой учет и сбор, анкетные опросы охотников, экспертные оценки, массовые учеты с привлечением значительного числа охотников-любителей и специальные учеты небольшими группами специалистов высокой квалификации, а также разовые и регулярные (1 раз в 3–5 лет, 1 раз в год и т.д.) учеты (Забелин, 2020).

Географические основы учета включают учет на малых и больших территориях (охотничье хозяйство, заказник, регион, страна и т.д.); учет по замкнутым участкам с очерченными границами (региональная экстраполяция), по природным контурам или ландшафтам в границах которых отмечают благоприятные для жизни животных условия (типологическая экстраполяция) (Жигарев, 2005).

В действительности, на практике используется ограниченное число преимущественно комбинированных методов, образующих национальную систему учета. К их числу относят зимний маршрутный учет (ЗМУ), анкетно-опросный и экспертный методы, окладный учет, учет прогона, авиаучет, а также некоторые виды ленточных учетов (Зимин, 2021).

**Зимний маршрутный учет (ЗМУ)** в нашей стране является широко применимым и детально разработанным методом. Он выступает основным для учета большинства охотничьих зверей и дополнительным — для отдельных видов, которые учитываются окладным способом или методом прогона на пробных площадках (Юдкин и др., 2015; Скуматов, 2018а, 2018б).

Основная идея, на которой базируется ЗМУ, была сформулирована А.Н. Формозовым (Формозов, 1985), который обратил внимание на то, что число особей на  $1 \text{ км}^2$  ( $Z$ ) прямо пропорционально числу пересечений следов ( $S$ ) и обратно пропорционально средней длине следа (то есть суточного хода зверя) ( $d$ ) и длине учетного маршрута ( $m$ ). Эти закономерности отражает “формула Формозова”, с которой начинался ЗМУ:

$$Z = S/md.$$

В настоящее время основной для современно-го ЗМУ является формула Формозова—Малышева—Перелешина:

$$Z = 1.57S/md.$$

Введение в формулу поправочного коэффициента  $1.57 = \pi/2$  учитывает тот момент, что подавляющее большинство следов животных пересекает маршрут учета под произвольными, а не под прямыми углами. Корректность оценки плотности животных по данной формуле подтверждена имитационным моделированием. Согласно данным о численности популяции соболя (Кондратов, Вашукевич, 2018), сложные формы большинства следов не искажают данные о плотности животных вследствие того, что число пересечений маршрута с следом не зависит от формы последних (Бобренко и др., 2018).

О.К. Гусев на основе моделирования вывел новую формулу ЗМУ, названную формулой Формозова—Гусева:

$$D = n/MH,$$

где  $D$  — оценка плотности населения вида;  $n$  — число особей, следы которых пересекли маршрут учета;  $M$  — общая длина учетных маршрутов;  $H$  — средний диаметр суточного охотничьего участка зверя.

Формула Формозова—Гусева отражает прямую зависимость между вероятностью обнаружения зверя и его суточным ходом. Однако ее использование требует высокой квалификации и добросовестности учетчиков, которые должны различать свежесть следа, направление движения, индивидуальные признаки следа, наличие моче-каловых остатков и др. Например, для точного определения свежести следа учетчику предлагается в течение ночи с интервалом в 2 ч оставлять пробные следы палкой, чтобы оценить, насколько отвердевает каждый след за определенное время и иметь в виду эти ориентиры на маршруте. В связи с чем, формула Формозова—Гусева не получила широкого практического применения.

В свою очередь, С.Г. Приклонским была предложена модификация формулы Формозова—Малышева—Перелешина, основанная на коэффициенте пересчета  $K$  — отношение поправки ( $\pi/2$ ) к длине суточного следа:

$$D = KP_y,$$

где  $P_y$  — число пересечений следов на 10 км маршрута.

При этом для минимизации влияния случайного размещения животных, большое значение имеет равномерное расположение маршрутов на всей обследуемой площади. Кроме того, корректность учета с использованием указанной формулы зависит от качества определения суточных на-

следов достаточно трудоемким методом тропления (прослеживание всего пути животного).

Однако важно помнить, что по своей природе ЗМУ основан на выборочных косвенных данных, корректная интерпретация и экстраполяция которых зависит от знания распределения разных видов животных по территории и его отклонений от нормального, суточных передвижений зверей и факторов, определяющих их различия от года к году и определения репрезентативных для подсчета маршрутов на местности.

**Анкетно-опросный и экспертный методы** предполагают получение оценок непосредственно от специалистов-егерей, лесников, охотоведов, работающих в тех или иных районах. Нередко с помощью таких опросов можно довольно точно определить количество животных на рассматриваемых территориях. Результаты этих методов зависят от количества и уровня компетентности опрошенных, качества анкет, добросовестности опрашиваемых.

При опросе данные об относительном изменении численности зверей могут собираться по принципу “больше — столько же — меньше” (Дворников, 2015).

При наличии высококвалифицированных экспертов могут задаваться вопросы о численности крупных или редких животных, полевой учет которых очень трудоемок или дает искаженные результаты. В работе С.В. Леонтьева и А.П. Бербера по определению ресурсов волка в Казахстане анкетный метод позволил установить, что численность этого животного снижается. Аналогичное исследование, проведенное в Якутии, показало, что данные ЗМУ по волку завышены из-за специфики его перемещений, а общая численность сохраняется стабильной на уровне 3000 особей. Есть примеры применения анкет в учете лосей (Леонтьев, Никулин, 2012; Леонтьев, 2013, 2017; Леонтьева, Бербер, 2018). Однако чаще всего анкетно-опросный метод используется в качестве вспомогательного, дополняющего другие, а также для оценки динамики численности крупных животных.

**Учет прогоном.** Это один из самых ранних методов, первые упоминания о котором относятся к 1914 г., когда под руководством А.К. Саблинского был проведен учет лосей. Суть метода заключается в том, что животные прогоняются с заранее определенных площадок и пересчитываются поголовно (по следам или визуально). Таким образом, осуществляется сплошной непосредственный пересчет всех животных, и их численность определяют напрямую, а не по косвенным данным (Методические указания ..., 2008).

Например, в национальном парке “Куршская коса” (Калининградская обл.) учет косуль методом шумового прогона подтвердил уже известные данные по различию плотности копытных в разных участках парка и численности поголовья (Иваню-

ков, 2015, 2017). В Волгоградской обл. учет прогоном был использован для корректировки квот на добычу копытных (Тунян, 2017). Этот метод позволил установить, что в 2012–2015 гг. численность лосей, благородного оленя и косули завышалась, что потребовало сокращения добычи в 2016 г. Особенно важен учет прогоном в регионах, где снежный покров отсутствует или неустойчив.

В связи с тем, что метод прогона достаточно точен, он рекомендуется к использованию в качестве арбитражного, а также для определения и корректировки пересчетных коэффициентов ЗМУ. Его теоретическая основа и предпосылки максимально просты, устраняют многие ограничения, связанные с применением косвенных данных. Однако в силу больших трудозатрат применение метода прогона ограничено по видам животных и территории учета. Кроме того, реализация метода, как и ЗМУ, существенно зависит от квалификации и мотивации участников, поэтому он используется на относительно малых территориях. В свою очередь, корректность экстраполяции зависит от того, насколько адекватно выбраны пробные площадки.

**Авиаучет.** Этот метод основан на аэровизуальном подсчете зверей по непосредственным наблюдениям или фотоснимкам и позволяет достаточно точно рассчитать численность крупных животных — копытных, волков, а также провести подсчет поселений и гнездовой (Глушков, 2016; Греков, 2016а, 2016б, 2018, 2019; Греков, Еськов, 2019). Авиаучеты делятся на ленточные, выборочные и сплошные, причем последние используются чаще всего (Кузякин, Челинцев, 1989). При сплошных учетах закладывается челночный (зигзагообразный) маршрут с шагом между параллельными курсами 500–1000 м (в зависимости от плотности растительности). Учетчики с борта самолета или вертолета отмечают встреченных животных. Наряду с прямой визуальной фиксацией может использоваться аэрофотосъемка. В этих случаях обеспечивается непосредственный подсчет всех животных, находящихся в пределах обследуемой территории. Ленточный авиаучет проводят на маршрутных лентах, и полученные данные требуют в дальнейшем корректировки. Выбор и прокладка лент связаны с теми же трудностями, что и определение маршрутов для ЗМУ.

Преимущества авиаучета обусловлены тем, что наблюдение с высоты снимает проблему труднодоступности маршрутов, обеспечивает учет самих животных, а не следов их пребывания, обследование проводится быстро со сбором значительного объема материала. Казалось бы, такой подход снимает основную часть методических проблем учета. Однако возможности человеческого зрения и фотосъемки налагают ограничения на размер учитываемых животных, как правило, фактически можно

хорошо различить только крупных зверей, таких как лось, северный олень, волк.

На результаты влияют также характер обследуемых угодий (в хвойном лесу образуется большой недоучет), погодные условия, биологические особенности животных. Например, авиаучет малоприменим для кабана (Воронин, Зайкин, 1986), а в методических указаниях по авиаучету лося отмечается, что авиаучет не может проводиться при сильных морозах, снегопаде и т.д. (Бородулин, 2013).

Исследование по авиавизуальному учету лося в Центральной Якутии в 2016 г. (Григорьева, 2019) показало существенное увеличение его численности по сравнению с 2009 г., а также корреляцию данных ЗМУ и авиаучетов в 2009 и 2016 гг. Проведенный в 2017 г. авиаучет копытных в Амурской обл. позволил подтвердить корректность данных ЗМУ, указывающих на сокращение численности косули, стабилизацию численности изюбря и постоянство численности лося (Тюляндин, 2011; Валенцев и др., 2012; Николаенок, Данильченко, 2013; Данилов и др., 2014; Труш, 2018, 2019; Валенцев, Снегур, 2019).

Тем не менее, несмотря на все преимущества авиаучета, он стал относительно редким с 2000-х гг. из-за высокой стоимости, поэтому дальнейшие перспективы авиаучета в настоящее время связывают с широким применением беспилотных летательных аппаратов.

**Окладный учет.** Обычно двойной или тройной окладный учет основан на расчете численности зверей в пределах участка леса (квартала) по разнице входных и выходных следов. Как и при ЗМУ, в первый день регистрируемые следы затирают (заптыывают), во второй день фиксируют вновь появившиеся (возможно проведение учета и в третий день). Посредством камеральной обработки материалов по разнице “выходных” и “входных” следов определяется численность животных в первый день. Если же выходных следов больше, то зверей в окладе (площадке), вероятнее всего, нет.

В окладном учете существуют две основные проблемы. Первая из них — обоснованный выбор пробных площадок, в границах которых ведется учет, и их репрезентативность. В принципе это же затруднение возникает при ЗМУ и методе пробных площадок для прогона, а решается только путем биологически обоснованного выбора “типичных” площадок.

Вторая проблема вытекает из содержательных особенностей метода, при котором возможно поразному оценить равное количество входных и выходных следов на площадке без учета тех животных, которые не вышли за площадку оклада. Таким образом, принцип окладного учета создает возможность неверной интерпретации даже объективных данных. Снизить вероятность ошибок возможно при наличии квалифицированных

добросовестных специалистов и расширении площади учета, а также при троплении “проблемных” следов, что требует большого объема работ.

**Ленточный учет** в определенной степени сочетает маршрутный учет и прогон животных, при этом лента заданной ширины считается гораздо более репрезентативной, чем пробная площадка. Как отмечалось выше, ленточным может быть и авиаучет, однако чаще встречается наземноеvspугивание животных при прохождении маршрута. Чаще всего наземный ленточный учет применяют для определения численности птиц (Вартапетов, Железнова, 2017, 2018). Метод варьирует в зависимости: от количества учетчиков (один или несколько), приемов вспугивания (шум, волочение веревки), ширины лент, использования транспортных средств. Проблемы применения ленточного учета связаны с рациональной закладкой маршрутов. Кроме того, требуется корректное определение “ареала вспугивания”, который отличается для разных видов, строгое отделение вспугнутых птиц в границах учетной ленты и за ее пределами.

Помимо выше перечисленных методов гораздо реже применяются альтернативные приемы: учет по экскрементам, по гнездовьям, транссектный метод и др.).

В.В. Червонный сопоставил разные методы учета копытных, такие как ЗМУ, авиаучет, учет по экскрементам, опрос и экспертные оценки. По итогам сравнений уровень согласованности результатов учета был оценен им как средний. В частности, результаты ЗМУ и авиаучета лосей в регионах с преобладанием лиственных деревьев отличались на 20–30%, в таежных областях — на 45–60% (Червонный, 2014).

В несколько большей степени были согласованы результаты ЗМУ лосей и учета по экскрементам (отличия составили не более 24%). При сравнении методов ЗМУ, опросов и экспертных оценок численности косули они отличались по годам от 20 до 25%. Важно делать поправку на то, что ЗМУ завышает численность лося, по сравнению с другими видами учетов, тогда как при учете косули такого не наблюдается.

Д.В. Скуматов сопоставлял результаты учета лосей многодневным окладом, прогоном, ЗМУ и авиаучетом на территории трех охотхозяйств. Отличия учета многодневного оклада и ЗМУ составили около 10% (Юдин, Скуматов, 2018). По оценкам В.М. Глушкова сходимость ЗМУ и экспертных оценок учета лося позволяют перейти к проведению ЗМУ один раз в 5 лет, а в остальные годы пользоваться экспертными оценками (Глушков, 2016). Напротив, Г.И. Сухомиров полагает, что результаты ЗМУ радикально отличаются от более корректных, на его взгляд, экспертных оценок, поскольку активность животных в разные дни и в различных угодьях неодинакова и количество

учтенных следов может различаться в разы (Сухомиров, 2018).

Радикальную позицию о неприемлемости ЗМУ охотничьих животных занимает П.П. Наумов. По его мнению, прохождение маршрутов распугивает животных, и учет их следов после затирки некорректен. По этой и другим причинам сравнение данных ЗМУ, площадного учета и авиаучета охотничьих животных в зоне Байкало-Амурской магистрали (БАМ) с 1972 г. и в Прибайкальском национальном парке с 1987 г. на одних и тех же территориях давало существенные расхождения – в 10 и более раз (Наумов, 2015б, 2019). Часть из них могла объясняться тем, что зона строительства БАМа нестандартна по экологическим условиям. К тому же множество тревожащих воздействий масштабного строительства привели к резкому отклонению суточных ходов животных.

При сравнении основных методов учета охотничьих животных можно видеть, что сложившиеся подходы различаются по уровню точности, сфере применения, ограничениям и рискам. Как правило, улучшение результатов предполагает более высокий уровень затрат и требований к квалификации исполнителей, что составляет основную проблему организации учета.

Противоречия между качеством информации, сложностью и затратностью учетных работ, ресурсами и ограничениями обуславливают формирование подвижных систем учета, использующих методы, принимающие во внимание биологические особенности разных видов животных (Приклонский, 1999).

Специфика учета охотничьих животных зависит от их биологических и экологических особенностей, влияющих на суточную активность и территориальное распределение, а также от их охотхозяйственной ценности. Именно биологические закономерности поведения животных могут способствовать обоснованному выбору площадок и маршрутов учета, установлению корректных пересчетных коэффициентов и т.п. (Каледин и др., 2016).

## НЕДОСТАТКИ И ОГРАНИЧЕНИЯ ЗИМНЕГО МАРШРУТНОГО УЧЕТА ЖИВОТНЫХ

Устойчивое развитие охотничьих хозяйств невозможно без повышения точности и объективности данных о численности охотничьих животных (Наумов, 2014, 2015б, 2019; Колесников и др., 2017).

Поскольку по большей части сведения о численности охотничьих животных в нашей стране опираются на ЗМУ, целесообразно наиболее подробно остановиться на его недостатках.

В 2000–2010-х гг. многие специалисты высказывались против реформирования ЗМУ, считая обременительными и не требующими корректировки мето-

дические указания 1990 г. (Кузякин, Челинцев, 2005), авторами которых были известные ученые-охотоведы В.А. Кузякин и Н.Г. Челинцев.

Тем не менее, ряд отечественных охотоведов выступили с обоснованной критикой различных аспектов ЗМУ. Так, наряду с уже упомянутой проблемой применения навигаторов, критические оценки затрагивали многие сугубо методические аспекты ЗМУ – выбор маршрутов, подходы к троплению и др.

Так как вопрос выбора маршрута во многом решающий для репрезентативного учета, то некорректная прокладка маршрута приводит к неверным данным о численности животных, прокладке вновь неверного маршрута и т.д. Б.Н. Кашеваров, отмечая проблему закладки маршрутов, указывал на противоречие между репрезентативностью и возможностью реального прохождения маршрута. Так как маршруты закладываются до проведения ЗМУ, соответственно, любые предположения о численности животных на конкретном маршруте, суждения о его репрезентативности могут быть ошибочными. Кроме того, поскольку плотность населения животных меняется во времени в силу разных причин, маршруты необходимо часто переносить (Кашеваров, 2011).

К тому же маршрут, относительно репрезентативный для одной категории животных, будет резко искажать численность других. Строго говоря, для разных видов охотничьих животных было бы целесообразно дифференцировать маршруты, что практически невозможно из-за организационно-экономических ограничений.

Однако даже при обоснованном выборе маршрута он не всегда будет доступен для учетчика в силу рельефа, густоты растительности и т.п. На практике удобнее использовать постоянную систему маршрутов, где проводится расчистка и обеспечивается реальная возможность прохождения учетчиками.

“Маршрутную проблему” ЗМУ также отмечал И.А. Кондратенков, который полагал, что рост протяженности маршрутов не только экономически недоступен для большинства охотпользователей, но и не дает повышения точности данных (Кондратенков, 2017). Сомнительно также требование отводить на тропление копытных половину всех трудозатрат на тропление, т.к. из материалов троплений лося никак не удастся получить достоверный пересчетный коэффициент по белке (Кашеваров, 2011). Данные троплений непосредственно сказываются на пересчетных коэффициентах для определения численности животных, поэтому методические трудности установления суточного хода искажают результаты учета.

Влияние изменений суточного хода на результаты ЗМУ отмечают и другие авторы. Например, длина суточного хода лося зависит от ряда причин –

глубины снежного покрова, состояния кормовой базы, а также фактора беспокойства, но даже в пределах одного района влияние этих причин различается, поэтому использовать унифицированные коэффициенты влияния толщины снежного покрова на длину суточного хода вряд ли обосновано. Известно, что получить корректные данные о суточном ходе лося можно лишь при условии проведения не менее 50 троплений на район, что очень трудозатратно (Рыков и др., 2010; Мамонтов, 2020).

Развернутой критикой теоретической базы ЗМУ отличаются работы П.П. Наумова (Наумов, 2014, 2015а). Он полагает, что в условиях больших территорий Сибири и Дальнего Востока после первого прохождения маршрута для затирки следов многие животные отходят на определенное расстояние и не возвращаются на маршрут несколько дней, поэтому их численность резко занижается. Наряду с этим для территориального распределения животных не характерны случайный и пуассоновский типы распределения, положенные в основу ЗМУ, поэтому экстраполяция полученных на маршруте данных не вполне корректна. Фактически относительная корректность методологии ЗМУ характерна только для природных условий Русской равнины.

Действительно, с биологической точки зрения распределение животных в границах административно-территориальной единицы, которой является муниципальный район, не является нормальным, т.к. они тяготеют к наиболее благоприятным условиям обитания. Равномерное пересечение маршрутом разных по степени привлекательности угодий является сложной задачей качественного планирования ЗМУ. Отсюда, по мнению Д.Ф. Леонтьева, территориальной единицей учета правильнее считать не административный район, а конкретный природный район, выделяемый на ландшафтной основе (Потупалов, 2018).

В работе А.И. Козореза и А.В. Гуриновича содержится развернутая методологическая критика фундаментальных основ ЗМУ. С точки зрения авторов, доказать достоверность и воспроизводимость этой методики было бы возможно только путем многократно повторяющихся экспериментов на популяции с известным заранее количеством животных, что реализовать на практике невозможно. Некорректно также использовать постоянные или средние переводные коэффициенты, в то время как длину суточного следа необходимо измерять каждый раз в день учета (Козорез, Гуринович, 2019).

Исследования в заповедниках, когда маршрутный учет в научных целях проводился ежедневно, показали, что встречаемость следов лося в разные дни декабря различалась в 24 раза. Соответственно, из-за значительной вариации суточных ходов и некорректности унифицированных пересчетных коэффициентов учет следов сильно искажает

численность животных. Отдельного обсуждения в этом отношении заслуживает проблема воздействия человеческой деятельности на длину суточных ходов животных. Например, в относительно небольших по площади экономически развитых регионах России на поведение животных существенное воздействие может оказывать индустриальный шум и световое загрязнение. Еще одним существенным фактором, влияющим на суточный ход и территориальное распределение животных, является развитие сельскохозяйственного производства.

Например, увеличение посевных площадей сои в Еврейской автономной обл. привело как к росту численности изюбря и кабана, так и к снижению достоверности традиционных методов учета, поскольку искусственная кормовая база существенно изменила передвижение зверей. Подобные ситуативные факторы крайне сложно учесть при оценке суточных ходов животных путем традиционного тропления на следов (Ревуцкая, 2012).

В.М. Глушков, наряду с объективными проблемами, отмечает субъективные ошибки системы учета охотничьих животных в России. С его точки зрения, методическими ограничениями ЗМУ являются нестандартизированное размещение маршрутов, неэффективное структурирование выборки, не использующее стратификацию территории по уровню плотности животных учитываемых видов, применение пересчетного коэффициента и показателя “число пересечений” в формуле расчета плотности, что не отражает реальный уровень плотности. И это, не считая субъективных проблем организационного характера (Глушков и др., 2012; Глушков, 2016, 2017, 2018; Сафонов, Глушков, 2016; Глушков, Кротов, 2016; Сухомиров, 2018; Глушков, Скопин, 2020).

И все же оценивая проблемы ЗМУ в целом, необходимо подчеркнуть, что сам по себе методологический подход, ведущий начало от формулы Формозова, является крупным достижением отечественной науки, корректен и отвечает содержательным биологическим закономерностям. Но определение конкретных коэффициентов, по которым пересчитывают результаты учета, часто оказывается неверным, поскольку для этого нужен большой объем специальных исследований. К тому же альтернативы ЗМУ для учета на больших территориях фактически не разработаны и любые подходы к учету методически небезупречны.

## ИНТЕНСИФИКАЦИЯ ТЕХНОЛОГИЙ УЧЕТА ЧИСЛЕННОСТИ ЖИВОТНЫХ

Принципиальные инновации в учете охотничьих животных возможны при условии внедрения новых технологий выявления и пересчета зверей и птиц, действующих на иных технических и (или) биологических принципах (Арамилева и др., 2020).

В современных условиях это, в первую очередь, цифровые технологии. Потенциал цифровых технологий практически в любой отрасли связан с возможностью создания цифровых копий реальных объектов, анализа больших объемов данных, принятия наиболее обоснованных решений и выполнения конкретных действий автоматически, без участия человека.

Экстраполируя данные положения на охотничье хозяйство и непосредственно на проблему учета охотничьих животных, логично предположить, что существуют возможности оцифровки природных ландшафтов и животного мира, автоматизации процессов учета, повышения его точности.

В нашей стране началом использования цифровых технологий в отечественных работах по учету охотничьих животных, по-видимому, можно считать применение GPS-навигации при проведении ЗМУ. В 2009 г. было рекомендовано использование GPS-навигаторов при прохождении маршрутов, а в 2012 г. оно стало обязательным. В памяти навигатора маршрут фиксируется как трек, на котором помечаются все пересечения со следами животных. Затем записи маршрута загружаются в специализированную программу, где они обрабатываются и распечатываются, а схема учетного маршрута включается в состав отчета.

Существует мнение, что использование навигаторов позволяет обеспечить контроль фактического прохождения маршрутов. Кроме того, цифровизация ЗМУ по мере накопления информации дала бы возможность со временем перейти к анализу больших данных по количеству следов животных (Глушков, 2016).

Однако несмотря на определенные преимущества с использованием навигаторов можно проконтролировать только сам факт прохождения маршрута по установленной траектории, но не корректность учета. По-прежнему, даже при добросовестном прохождении маршрута нельзя исключать фальсификацию данных по числу следов, существует также техническая возможность подделки треков.

Кроме GPS-навигации в последние годы активно развивается изучение различных животных и следов их жизнедеятельности с использованием беспилотных летательных аппаратов (БПЛА).

По сравнению с традиционной авиацией применение БПЛА существенно дешевле, они передвигаются с более низкой скоростью, более маневренны и имеют минимальное шумовое воздействие на окружающую среду, что важно для учета животных. Для БПЛА не нужны аэродромы и традиционная сложная инфраструктура и они могут использоваться практически в любых труднодоступных районах. Установка на БПЛА тепловизионной техники дополняет в учетной прак-

тике признак, по которому фиксируется животное (Шалыгин и др., 2012; Дианов, 2019).

Как пример, беспилотную авиационную систему с использованием фотокамер применяли для подсчета численности животных на юге Буркина-Фасо. Результаты показали, что слоны четко идентифицируются на снимках с высоты 100 м, причем БПЛА не беспокоит животных и не вызывает их отклонений от традиционных маршрутов. Однако копытных животных и бабуинов идентифицировать не удалось, а издержки на учет с БПЛА оказались выше, чем у традиционного легкого самолета (Lisein et al., 2013). Однако уже в исследовании (Ratcliffe et al., 2015) применение БПЛА при подсчете численности пингвинов на Фолклендских о-вах показало, что стоимость его использования может быть ниже, чем у традиционной авиации. Пингвины в основном не обращали внимания на БПЛА, тогда как пилотируемый вертолет их сильно беспокоил. Сходные результаты дала и съемка касаток, которая показала, что даже небольшой и дешевый коптер с шестью винтами вертолетного типа точно идентифицирует крупных морских млекопитающих и их размеры (Durban et al., 2013).

Впоследствии была сформулирована основная проблема использования БПЛА для подсчета численности крупных животных — это компромисс между качеством данных, стоимостью учета и беспокоеющим воздействием. Иными словами, чем больше технические возможности системы, тем она дороже, а чем больше беспокоящее воздействие, тем с более высокой степенью вероятности звери будут прятаться (Pomeroy et al., 2016).

В дальнейшем, при аэросъемке оленя карибу был получен ряд уравнений логистической регрессии, показавших наиболее подходящие условия для использования БПЛА (вечерние полеты, открытая среда обитания и т.д.) (Patterson et al., 2016).

С точки зрения возможностей авиационного картографирования мест обитания животных интересна работа (Junda et al., 2015), где с помощью БПЛА с вертолетным винтом были картографированы гнезда четырех видов хищных птиц. Для рациональной организации полета были разделены функции управления БПЛА и непосредственного наблюдения за реакцией птиц на обследование. Анализ показывает, что по мере развития технологии БПЛА стоимость обследований существенно снижается, а точность и качество полученных данных становится выше, чем у традиционных методов картографирования гнезд (Кузякин, 2015). Так, сопоставление учета гнезд суматранского орангутана традиционным наземным способом и на основе БПЛА показало высокую степень соответствия между полученными результатами (Wich et al., 2016).

Авторы (Chabot, Bird, 2015), изучая результаты около шестидесяти исследований по наблюдению

за животными с БПЛА, опубликованных к 2015 г., пришли к следующим выводам:

– наилучшие, часто уникальные результаты были получены при съемке морских млекопитающих, поскольку БПЛА не только удешевили исследования, но и позволили вести авиаучет там, где это было недоступно для традиционной авиации, устранив риск для исследователя, который всегда существует при нахождении рядом с крупными животными;

– менее успешным следует считать наблюдение с помощью БПЛА за крупными наземными млекопитающими (слон, носорог, бизон, а также гнезда орангутанов), поскольку длительность полета используемых БПЛА оказалась пока недостаточной для проведения съемки на большой территории;

– сложилось два подхода к проведению исследований с помощью БПЛА – сплошное обследование относительно больших территорий на БПЛА с фиксированным крылом и более детальное наблюдение за отдельными объектами на БПЛА с вертолетным винтом.

Следует отметить, что в большинстве исследований с применением БПЛА в качестве средства обнаружения животных использовали фото- или видеокamеры, что требует обработки большого количества визуальной информации. Так, при изучении крокодилов для обследования территории площадью 8.2 км<sup>2</sup> понадобилась обработка около 11.8 тыс. изображений с БПЛА. Благодаря такому объему информации удалось получить точные результаты по численности крокодилов с видовым различием болотного крокодила (*Crocodylus palustris*) и гангского гавиала (*Gavialis gangeticus* L.) (Thapa et al., 2018).

Как отмечалось выше, важным аспектом учета является минимизация влияния измерительной процедуры на нормальное поведение животных. Было установлено, что БПЛА, как и традиционные учетные методы, могут беспокоить птиц. Однако при использовании электрических двигателей с достаточной дистанцией до животных шум может не оказывать существенного влияния на их поведение (Mulero-Pázmány et al., 2017). Важно также принимать во внимание, чтобы БПЛА визуально не напоминал силуэт хищника. Однако даже с соблюдением этих условий применение БПЛА для картографирования гнезд может существенно беспокоить птиц (Саловаров, 2018). Тем не менее, по мере налаживания регулярного учета животные, судя по некоторым исследованиям, привыкают к проводимой съемке и перестают реагировать на БПЛА. Так, если в первых облетах территории с БПЛА частота сердечных сокращений американского черного медведя увеличивалась в четыре раза, то при многократном обследовании стресс у животного практически прекращался.

Появляются исследования по выбору наиболее рациональных конфигураций учетных систем. Так, сравнение результатов обследования длинномордых тюленей, проведенное с помощью БПЛА с фиксированным крылом и винтом вертолетного типа, показало, что разница между двумя типами летательных аппаратов при учете взрослых особей составила 1% и детенышей – 3.7%.

Использование при изучении животных с БПЛА фото- и видеокамер существенно не меняет принципиальных основ традиционного авиаучета, применяется только иной технический принцип полета и исключается влияние человеческого фактора. В то же время, цифровые технологии при накоплении и обработке визуальной информации позволяют существенно улучшить качество и точность учетных данных, что исключает субъективные ошибки исполнителей при работе с большим объемом информации (Емельянов и др., 2009; Дунишенко, Жуков, 2017; Чугреев и др., 2018; Еськов, Греков, 2018; Дианов, 2019; Каледин и др., 2020).

По сравнению с фото- и видеосъемкой совершенно новые возможности обнаруживаются при применении термографического метода обнаружения животных (либо комбинации двух видов съемок). Основное преимущество тепловизора в том, что ему практически не мешает наличие какого-либо плотного растительного или иного покрова, в котором располагаются животные. Если визуально различить лося в хвойном лесу очень сложно, то тепловая сигнатура (инфракрасные волны) в холодное время года идентифицируется при любой плотности растительности. В 2016 г. была апробирована система из БПЛА, тепловизионной камеры и бортового компьютера для передачи пользователю координат животных (Ward et al., 2016). Гудей с соавт. сопоставили результаты подсчета прибрежных морских млекопитающих с БПЛА при использовании фотофиксации и инфракрасной камеры. Обследование позволило выявить больше особей морского котика, чем фотографирование (Gooday et al., 2018).

Применение ночной инфракрасной съемки позволило довольно точно идентифицировать крупных копытных в одном из национальных парков Польши (Witczuk et al., 2018). Использование БПЛА с тепловизором дало хорошие результаты в лесной зоне при оценке численности приматов коаты Жоффруа (*Ateles geoffroyi* L.) (Spaan et al., 2019). Этот метод обследования позволил выявить на 17% больше особей, по сравнению с наземным обследованием фото- или тепловизорами.

С помощью БПЛА с тепловизором обнаруживали койотов, енотов, американских норок и ласок. В исследовании показано, что такой подход дает лучшие результаты по сравнению с традиционными наземными наблюдениями. В то же вре-

мя, обследование 29.5 га территории потребовало около 200 полетов в течение полутора месяцев, что увеличило затраты на учет (Bushaw et al., 2019).

Хорошие перспективы имеет сочетание традиционной и тепловизионной съемки с БПЛА, т.к. это позволяет дополнить и сопоставить разноплановую информацию, преодолеть ограничения двух разных способов по обнаружению животных, что было подтверждено при выявлении редких птиц в Гренландии и Кореи (Lee et al., 2019).

При обработке результатов наблюдений с БПЛА важно внедрение искусственного интеллекта, что имеет большие преимущества перед ручной обработкой данных (Sorgogan et al., 2019). В работе по мониторингу птиц продемонстрировано использование нейронных самообучающихся сетей для выявления их скоплений на большом массиве аэрофотоснимков (Hong et al., 2019). Обработка 393 фотографий позволила обнаружить 13986 изображений птиц с точностью от 85.01 до 95.44% (в зависимости от использованных методик машинного обучения).

Данные, полученные с БПЛА, даже при таком сложном объекте учета, как птицы, в среднем на 43–96% оказываются точнее результатов традиционных наземных обследований (в отечественной терминологии – маршрутных и ленточных учетов) (Hodgson et al., 2018).

В то же время подавляющее большинство зарубежных работ, посвященных использованию БПЛА для учета животных – это биологические и экологические исследования, проводимые сугубо научными целями. Применение БПЛА для прикладных задач охотничьего хозяйства пока еще незначительно. На Западе в охотничьем менеджменте в большей степени используют БПЛА для обнаружения браконьеров, а не для оценки численности охотничьих животных (Kamminga et al., 2018).

Признавая определенную ценность зарубежных работ, необходимо учитывать климатические, географические и биологические особенности учета животных в нашей стране. Например, существенно отличаются природные ландшафты и степень транспортной доступности тех или иных территорий. В свою очередь, наличие длительного периода низких температур позволяет использовать у нас менее чувствительное тепловизионное оборудование, поскольку разница температур тела животного и окружающей среды зимой более чем значительная.

В России начало применения беспилотных летательных аппаратов для учета животных относится к 2009–2010 гг., когда ФГБУ “Центрохотконтроль” использовал БПЛА для проведения опытной аэрофотосъемки копытных в Ивановской, Ярославской и Вологодской обл. В 2013 г. сопоставлялись данные авиаучета с БПЛА и ЗМУ. Результаты этих работ были обобщены в 2016 г.

(Моргунов, Ломанова, 2015; Моргунов и др., 2016; Чугреев и др., 2018, 2019). В ходе проведенных обследований было установлено, что в Ярославской обл. наблюдается высокая степень соответствия с данными ЗМУ, а в Ивановской обл. данные расходятся в 5 раз. Также обнаружилась более высокая экономическая эффективность БПЛА при обследовании небольших территорий.

В настоящее время в ФГБУ “Федеральный центр развития охотничьего хозяйства” (бывший ФГБУ “Центрохотконтроль”) разработаны, но официально не утверждены “Методические рекомендации по проведению авиаучета копытных животных (лось и сибирская косуля)” (Методические рекомендации ..., 2019), которые опираются на традиционные для российского авиаучета подходы, разница состоит лишь в том, что животные фиксируются не учетчиком, а на фотоснимках. Допускается одновременное применение БПЛА и традиционных пилотируемых летательных аппаратов.

Техническим аспектам использования дирижаблей и БПЛА при учете охотничьих животных посвящен ряд работ Е.К. Еськова и О.А. Грекова (Греков, 2016, 2018; Еськов и др., 2015). Было показано, что аэрофотосъемка с БПЛА и дирижабля позволила произвести учет численности лоса на обследуемой территории Ногинского охотничьего хозяйства, которая оказалась ниже, по сравнению с данными ЗМУ (Греков, 2016; Греков, Еськов, 2019). При исследовании численности лоса в Рязанской обл. были подтверждены технические и экономические преимущества беспилотной авиации при обследовании больших территорий.

Тепловизионная съемка с БПЛА в зимних условиях в зоологическом заказнике “Калтайский” (Томская обл.) позволила преодолеть большинство ограничений авиаучета (Запасной и др., 2015), в последующем была обоснована целесообразность тепловизионной съемки для идентификации гладкошерстных копытных в зимний период (Греков, Еськов, 2019).

В.А. Кузякин отстаивает идею конструирования БПЛА, специально предназначенных для учета диких животных (Кузякин, 2015). Он полагает, что для полного обследования сравнительно небольших территорий могут использоваться наиболее простые и дешевые БПЛА с винтом вертолетного типа (коптеры), но для маршрутного ленточного учета нужен крупный БПЛА с бензиновым двигателем и эхолотом.

Другими отечественными авторами отмечается целесообразность использования БПЛА самолетного типа для больших (порядка 100 тыс. га) территорий и БПЛА с вертолетным винтом – для малых площадей (до 1 тыс. га). Наиболее перспективно при этом обнаружение в зимний период гладкошерстных копытных (лось, благородный олень, пятнистый олень, косуля, марал, изюбрь) посред-

ством тепловизионной съемки. Малые БПЛА вертолетного типа представляют интерес также для картографирования мест обитания животных.

Некоторый опыт использования БПЛА наработан в ряде заповедников России. В заповеднике «Заповедное Приамурье» сотрудниками используется несколько квадрокоптеров (БПЛА с четырьмя вертолетными винтами), с помощью которых картографируют гнезда редких птиц, а также ведется учет дальневосточной черепахи в береговых полосах в брачный период. Как показывает опыт, квадрокоптер практически не беспокоит дальневосточного аиста в отличие от традиционного обследования, после которого некоторые птицы оставляли гнезда. Проблемы использования БПЛА связаны только с ограниченным временем работы имеющихся у заповедника моделей, особенно во время ветра.

В Центрально-Лесном государственном природном биосферном заповеднике (Тверская обл.) также широко используются квадрокоптеры. С их использованием проведено картирование троп и следов бурого медведя и лося. Это открывает перспективу проведения тропления без наземных обследований, что положительно скажется на результатах учета. Кроме того, БПЛА используются при поиске поселений речного бобра в труднодоступных или недоступных участках (Дёжкин и др., 1986).

Однако число отечественных работ по учету охотничьих животных с БПЛА как с помощью аэрофото-, так и тепловизионной съемки на большой территории обследования по видам учитываемых животных крайне мало и находится на начальном уровне. В основном объектом учета становится лось.

При этом наиболее разработанным аспектом учета охотничьих животных можно считать технический, то есть выбор моделей БПЛА, камер, тепловизоров, систем управление БПЛА.

В биологических основах учета существует значительный, но пока практически не используемый потенциал расширения данных о поведении животных, например, о их суточном передвижении (Мирутенко и др., 2009; Методические рекомендации ..., 2014; Дунищенко и др., 2016).

Еще один важный аспект использования цифровых технологий — незамедлительный учет и определение численности животных при экстремальных воздействиях на популяции (спонтанные миграции, вызванные, например, масштабными пожарами), а также появление опасных для человека и сельского хозяйства видов животных на определенной территории (Дворников, 2015).

Следует отметить также, что авиачет животных с БПЛА и цифровая обработка данных не являются единственно возможной технологией, потенциально применимой в охотничьем хозяйстве. Существенную положительную роль в развитии

охотничьего хозяйства страны могли бы сыграть, например, технологии распределенного реестра — блокчейна для подтверждения легальности добытых трофеев и ортофотопланы охотничьих угодий для прокладки маршрутов.

Технологии предиктивной аналитики и анализа больших данных, полученных в результате учета животных (как традиционными, так и цифровыми методами), потенциально способны привести к получению новых сведений о суточных маршрутах, активности, распределении животных в зависимости от особенностей территории, что существенно повысит точность учетов в дальнейшем.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В теории и практике учета охотничьих животных сложились принципиальные противоречия, которые невозможно разрешить в рамках традиционных подходов, что требует внедрения новых технологий, в первую очередь цифровых, которые в какой-то степени заменяли бы отдельные элементы ЗМУ и отчасти способствовали более полному и точному определению пересчетных коэффициентов.

Новые методы выявления и идентификации охотничьих животных, такие как тепловизионная съемка, устраняют многие ограничения традиционных методов, снимают проблему неверной интерпретации следовой и иной косвенной информации, т.к. учитываются сами животные. Замена или дополнение традиционной фотокамеры тепловизором и обработка результатов с использованием современных программных средств в значительной степени исключает недоучет, минимизируется влияние ошибок человека-учетчика (Запасной и др., 2015).

Цифровой учет, проводимый независимыми операторами беспилотной авиации позволит обеспечить объективный внешний контроль за охотпользователями, деятельностью охотуправлений, а также исключить преднамеренные искажения учетных данных (Кузьмин и др., 1984; Декалин, Нечаева, 2019).

На уровне охотничьих хозяйств и других территориально компактных природных районов съемку с БПЛА можно рассматривать как ведущий метод учета (Королев и др., 2018; Камбалин, Пономарев, 2018). Если говорить об учете охотничьих животных на больших территориях, то здесь необходим гибкий подход к внедрению цифровых технологий в общегосударственную систему мониторинга, анализ различных вариантов их применения в разных компонентах учета.

## КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

# СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ СТАНДАРТОВ

Настоящая статья не содержит каких-либо исследований с участием людей и животных в качестве объектов изучения.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Арамилева Т.С., Смирнов Н.В., Сицко А.А.* Каким быть государственному мониторингу охотничьих ресурсов // Вестн. охотоведения. 2020. Т. 17 (3). С. 151–160.
- Бобренко Е.Г., Сидорова Д.Г., Бобренко М.И.* Изменение численности популяции соболя (*Martes zibellina*) на территории Омской области // Вестн. Омского гос. аграр. ун-та. 2018. № 1. С. 5–11.
- Большаков В.Н., Кузнецова И.А.* Опыт мониторинга состояния природной среды особо охраняемых природных территорий Свердловской области // Биосфера. 2016. Т. 8 (2). С. 164–169.
- Бондарев А.Я., Дежкин А.В., Павлов П.М.* О методах учета численности барсуков // Состояние среды обитания и фауна охотничьих животных России и сопредельных территорий / Мат. II междунар., VII Всерос. конф. Балашиха: Рос. гос. аграр. заоч. ун-т, 2016. С. 42–47.
- Бородулин В.А.* Подходы к выбору способа количественной оценки населения лося на северо-западе лесной зоны // Изв. Санкт-Петербургской лесотехн. акад. 2013. № 205. С. 25–41.
- Валенцев А.С., Снегур П.П.* Численность и систематический статус камчатского волка // Вестн. охотоведения. 2019. Т. 16 (3). С. 211–218.
- Валенцев А.С., Жаков В.В., Пуртов С.Ю.* Наземный учет численности бурого медведя *Ursus arctos* на Камчатке // Сохранение биоразнообразия Камчатки и прилегающих морей / Мат. XIII междунар. науч. конф., посвященной 75-летию со дня рождения известного отечественного специалиста в области лесоведения, ботаники и экологии д.б.н. С.А. Дыренкова. Петропавловск-Камчатский: Камчатпресс, 2012. С. 129–131.
- Вартапетов Л.Г., Железнова Т.К.* Пространственная организация населения птиц Притомья // Вестн. Томского гос. ун-та. Биология. 2017. № 40. С. 116–131.
- Вартапетов Л.Г., Железнова Т.К., Юдкин В.А.* Пространственная организация населения птиц средней тайги Западно-Сибирской равнины // Изв. РАН. Серия биол. 2018. № 1. С. 71–78.
- Воронин А.А., Зайкин С.М.* К методике учета кабана на юге Нечерноземья // Всесоюз. совещание по проблеме кадастра и учета животного мира / Тез. докладов: в 2 частях. Ч. 1. М.: [б.и.], 1986. С. 116–117.
- Глушков В.М.* О внедрении новой системы мониторинга и квотирования в практику государственного мониторинга // Теор. и приклад. экол. 2016. № 1. С. 73–81.
- Глушков В.М.* Охотничьему хозяйству РФ необходим профессиональный мониторинг // Гум. аспекты охоты и охот. хозяйства. 2017. № 3. С. 152–159.
- Глушков В.М.* Уменьшение норматива длины учетного маршрута с помощью двойного расслоения выборки // Аграр. наука Северо-Востока. 2018. № 2. С. 85–89.
- Глушков В.М., Кротов Ю.В.* Пригодность многофункциональных мобильных устройств для регистрации данных учета охотничьих животных // Аграр. наука Северо-Востока. 2016. № 3. С. 66–69.
- Глушков В.М., Скопин А.Е.* Основные положения методики количественной оценки сезонных перемещений // Вестн. охотоведения. 2020. Т. 17 (4). С. 277–292.
- Глушков В.М., Кантор Г.Я., Колесников В.В.* Принципы планирования добычи охотничьих животных // Вестн. охотоведения. 2012. Т. 9 (2). С. 223–232.
- Греков О.А.* Учет численности охотничьих животных с применением современных авиационных платформ, новых технических средств и информационных технологий // Информация и космос. 2016а. № 2. С. 83–89.
- Греков О.А.* Авиационный мониторинг охотничьих животных и элементов среды их обитания с применением современных авиационных платформ, новых технических средств и информационных технологий // Вестн. охотоведения. 2016б. Т. 13 (3). С. 198–206.
- Греков О.А.* К методике проведения авиаучета охотничьих животных с использованием БПЛА // Вестн. охотоведения. 2018. Т. 15 (3). С. 176–186.
- Греков О.А.* Совершенствование способов контроля за состоянием агроценозов современными техническими средствами // Вестн. охотоведения. 2019. Т. 16 (1). С. 58–67.
- Греков О.А., Еськов Е.К.* Мониторинг состояния группировок охотничьих копытных животных при помощи современных аэрокосмических средств // Сб. мат. междунар. науч. конф. “Трансформация экосистем под воздействием природных и антропогенных факторов”, Киров, 16–18 апреля 2019 г. Киров: Вятский гос. ун-т, 2019. С. 192–195.
- Григорьева Н.Н.* Учет промысловых животных в Верхневилуйском улусе Якутии // Инновации природообустройства и защиты окружающей среды / Мат. I нац. науч.-практ. конф. с международным участием. Саратов: КУБиК, 2019. С. 622–626.
- Данилкин А.А.* Косули (биологические основы управления ресурсами). М.: Тов-во науч. изд. КМК, 2014. 339 с.
- Данилкин А.А.* О регулировании численности охотничьих животных // Вестн. охотоведения. 2019. Т. 16 (3). С. 154–162.
- Данилов П.И., Тирронен К.Ф., Белкин В.В. и др.* Бурый медведь и оценка его численности в европейской тайге. Петрозаводск: Изд. дом “ПетроПресс”, 2014. 59 с.
- Дворников М.Г.* К биологическим основам рационального использования ресурсов охотничьих животных // Биологические ресурсы: состояние, использование и охрана / Мат. междунар. науч.-практ. конф., посвященной 50-летию подготовки охотоведов в Вятской ГСХА, Киров, 03–05 июня 2015 года. Киров: Вятская гос. сельскохозяйств. акад., 2015. С. 58–64.
- Декалин А.А., Нечаева О.А.* Воздействие авиационного шума на экологию // E-Scio. 2019. Т. 38 (11). URL:

- <https://cyberleninka.ru/article/n/vozdeystvie-aviatsionnogo-shuma-na-ekologiyu> (дата обращения: 28.02.2021).
- Дёжкин В.В., Дьяков Ю.В., Сафонов В.Г. Бобр. М.: Агропромиздат, 1986. 256 с.
- Дианов И.С. Технические средства видеорегистрации в мониторинге популяции бурого медведя // Гум. аспекты охоты и охот. хозяйства. 2019. Т. 15 (3). С. 49–56.
- Дунишенко Ю.М., Жуков А.Ю. Об арене экстраполяции учетных данных бурого и гималайского медведей // Климат, экология, сельское хозяйство Евразии. Современные проблемы охотоведения / Мат. VI междунар. науч.-практ. конф. и Первого межрегионального симпозиума работников охотничьего хозяйства России. Иркутск: Иркут. гос. аграр. ун-т им. А.А. Ежевского, 2017. С. 67–70.
- Дунишенко Ю.М., Даренский А.А., Долинин В.В. и др. Методики инвентаризации популяции бурого и гималайского медведей // Климат, экология, сельское хозяйство Евразии / Мат. V междунар. науч.-практ. конф. Иркутск: Иркут. гос. аграр. ун-т им. А.А. Ежевского, 2016. С. 184–192.
- Емельянов А.В., Чернова Н.А., Киреев А.А. Анализ методов изучения динамики численности популяции бобра (*Castor fiber*) // Вестн. Тамбов. гос. ун-та. 2009. Т. 14 (2). С. 384–388.
- Еськов Е.К., Греков О.А. Организация авиаучета охотничьих животных с использованием пилотируемых и беспилотных авиационных комплексов // Вестн. охотоведения. 2018. Т. 15 (4). С. 238–241.
- Еськов Е.К., Греков О.А., Сойнова О.Л. и др. Использование дирижаблей и беспилотных летательных аппаратов для учета охотничьих животных в лесной и лесостепной зонах // Климат, экология, сельское хозяйство Евразии / Мат. IV междунар. науч.-практ. конф., посвященной 70-летию Победы в Великой Отечественной войне (1941–1945 гг.) и 100-летию со дня рождения А.А. Ежевского. Иркутск: Иркут. гос. аграр. ун-т им. А.А. Ежевского, 2015. С. 89–93.
- Жигарев И.А. Оценка стабильности численности популяций мелких млекопитающих // ДАН. 2005. Т. 403 (6). С. 843–846.
- Забелин М.М. Охотничий промысел как этологический детерминант для дикого северного оленя (*Rangifer tarandus*) Западного Таймыра // Гум. аспекты охоты и охот. хозяйства. 2020. Т. 26 (1). С. 29–35.
- Запасной А.С., Мироньев А.С., Воробьев С.Н. и др. Применение тепловизионной съемки с БПЛА для контроля популяции диких животных // Изв. высш. уч. заведений. Физика. 2015. Т. 58 (8–2). С. 42–44.
- Зимин С.В. Результаты использования фотоловушек для наблюдения за охотничье-промысловыми животными в заповеднике “Вишерский” // Вестн. охотоведения. 2021. Т. 18 (3). С. 8–12.
- Иванюков К.А. Плотность копытных национального парка “Куршская коса” (по данным мониторинга их численности) // Вестн. Балтийского федерального ун-та им. И. Канта. 2015. Вып. 1. С. 86–91.
- Иванюков К.А. Мониторинг роющей деятельности кабана на территории национального парка “Куршская коса” // Проблемы изучения и охраны природного и культурного наследия национального парка “Куршская коса” / Сб. науч. статей. Калининград: Балтийский фед. ун-т им. Иммануила Канта, 2017. С. 52–64.
- Каледин А.П. Использование охотничьих животных Кемерово: Кемеровский гос. ун-т, 2023. 300 с.
- Каледин А.П., Юлдашбаев Ю.А., Николаев А.А. и др. Вопросы сохранения охотничьих ресурсов и их стоимостной оценки в Российской Федерации и Московской области // Междунар. техн.-эконом. журн. 2016. № 4. С. 24–30.
- Каледин А.П., Юлдашбаев Ю.А., Филатов А.И., Остапчук А.М. Моделирование динамики популяций охотничьих животных в Ленинградской области: формирование и верификация модели, прогноз развития популяции // Аграр. наука. 2020. № 3. С. 91–95. <https://doi.org/10.32634/0869-8155-2020-336-3-91-95>
- Камбалин В.С., Пономарев Г.В. Тенденции в оценке использования основных видов охотничьих зверей Сибири // Гум. аспекты охоты и охот. хозяйства. 2018. Т. 7 (1). С. 48–55.
- Кашеваров Б.Н. Об изменениях в организации проведения зимних маршрутных учетов // Вестн. охотоведения. 2011. Т. 8 (2). С. 236–239.
- Козорез А.И., Гуринович А.В. Непреодолимые противоречия зимнего маршрутного учета диких животных // Тр. Белорус. гос. технол. ун-та. Серия 1. 2019. № 2. С. 149–154.
- Колесников В.В., Дворников М.Г., Зарубин Б.Е. и др. Научно обоснованные предложения для государственной системы мониторинга основных видов охотничьих животных в Российской Федерации. Киров: ФГБНУ ВНИИОЗ им. проф. Б.М. Житкова, 2017. 97 с.
- Кондратенков И.А. Вопросы повышения точности учета охотничьих животных на небольших территориях // Поволжский экол. журн. 2017. № 3. С. 275–283.
- Кондратов А.В., Ващукевич Е.В. Современное состояние ресурсов соболя северного Предбайкалья // Вестн. ИРГСХА. 2018. № 84. С. 75–84.
- Королев А.Н., Иванов В.А., Бабкин Н.Ю. и др. К вопросу о пространственном распределении бурого медведя (*Ursus arctos* Linnaeus, 1758) в республике Коми // Вестн. охотоведения. 2018. Т. 15 (4). С. 261–265.
- Кривошапкин А.А., Аргунов А.В. Численность сибирской косули (*Capreolus pygargus* L., 1771) в Центральной Якутии // Амур. зоол. журн. 2013. Т. 5 (1). С. 97–104.
- Кузьмин И.Ф., Хахин Г.В., Челинцев Н.Г. Авиация в охотничьем хозяйстве. М.: Лесн. промышленность, 1984. 128 с.
- Кузякин В.А. Требования к конструкциям беспилотных летательных аппаратов для учета охотничьих животных // Вестн. охотоведения. 2015. Т. 12 (1). С. 74–78.
- Кузякин В.А. Учет численности охотничьих животных. М.: Тов-во науч. изд. КМК, 2017. 320 с.
- Кузякин В.А., Челинцев Н.Г. Авиачет лесных копытных // Экология, морфология, использование и охрана диких копытных. Ч. 1 / Тез. Всесоюз. совещ., Москва, 20–22 февр. 1989 г. (Отв. ред. Т.Б. Саблина). 1989. С. 18–19.

- Кузякин В.А., Челинцев Н.Г. Учет охотничьих животных. М.: Рос. гос. аграр. заоч. ун-т, 2005. 60 с.
- Леонтьев Д.Ф. Охотничьи угодья: учебное пособие. СПб.: Лань, 2013. 224 с.
- Леонтьев Д.Ф. К возможностям совершенствования учетов численности охотничьих животных // Акт. вопр. аграр. науки. 2017. № 22. С. 52–56.
- Леонтьев Д.Ф., Никулин А.А. Размещение промысловых млекопитающих на смежной с г. Иркутск территории // Вестн. Иркутской гос. сельскохозяйств. акад. 2012. № 53. С. 63–69.
- Леонтьева С.В., Бербер А.П. Оценка состояния биологического ресурса волка в Казахстане // Вестн. охотоведения. 2018. Т. 15 (2). С. 90–98.
- Мамонтов В.Н. Индивидуальные суточные участки обитания и суточные перемещения лесного северного оленя (*Rangifer tarandus Lönnb.*) на востоке Республики Карелия // Вестн. охотоведения. 2020. Т. 17 (4). С. 4–10.
- Методические указания по учету охотничьих животных на площадках методом прогона. Утверждены научно-техническим советом Минсельхоза России от 18.09.2008 г., протокол № 53. URL: [http://ojm.tatarstan.ru/rus/file/pub/pub\\_291907.doc](http://ojm.tatarstan.ru/rus/file/pub/pub_291907.doc) (дата обращения: 01.03.2021).
- Методические рекомендации по определению численности копытных, пушных животных и птиц методом зимнего маршрутного учета. Приложение 1 к приказу ФГБУ “Центрохотконтроль” от 13.11.2014 № 58. URL: [https://www.yarregion.ru/depts/doizm/docsDocuments/Зимний%20маршрутный%20учет\\_13.11.2014\\_%2058.pdf](https://www.yarregion.ru/depts/doizm/docsDocuments/Зимний%20маршрутный%20учет_13.11.2014_%2058.pdf) (дата обращения: 01.03.2021).
- Методические рекомендации по проведению авиаучета копытных животных (лось и сибирская косуля). М.: ФГБУ “Федеральный центр развития охотничьего хозяйства”, 2019. 36 с.
- Мирутенко В.С., Ломанова Н.В., Берсенева А.Е. Методические рекомендации по организации, проведению и обработке данных зимнего маршрутного учета охотничьих животных в России (с алгоритмами расчета численности) М.: Минсельхоз России, ФГУ “Центрохотконтроль”, 2009. 44 с.
- Моргунов Н.А., Ломанова Н.В. Осуществление государственного мониторинга численности охотничьих ресурсов в Российской Федерации // Вестн. Рос. гос. аграр. заоч. ун-та. 2015. № 19. С. 24–27.
- Моргунов Н.А., Кульпин А.А., Ломанова Н.В., Масленников А.В. Опыт применения беспилотных летательных аппаратов для учета диких копытных животных // Вестн. Рос. гос. аграр. заоч. ун-та. 2016. № 20. С. 46–52.
- Наумов П.П. Пути решения проблемы внедрения и применения методик зимнего маршрутного учета охотничьих животных (ЗМУ – 2001–2013 гг.) // Климат, экология, сельское хозяйство Евразии / Мат. III междунар. науч.-практ. конф., посвященной 80-летию образования ИРГСХА. Иркутск: Иркут. гос. сельскохозяйств. акад., 2014. С. 236–244.
- Наумов П.П. Анализ методик зимнего маршрутного учета (ЗМУ) “Центрохотконтроля” учетов охотничьих животных 2001–2014 гг. // Климат, экология, сельское хозяйство Евразии / Мат. IV междунар. науч.-практ. конф., посвященной 70-летию Победы в Великой Отечественной войне (1941–1945 гг.) и 100-летию со дня рождения А.А. Ежевского. Иркутск: Иркут. гос. аграр. ун-т им. А.А. Ежевского, 2015а. С. 133–138.
- Наумов П.П. Проблемы методического обеспечения учета охотничьих животных // Климат, экология, сельское хозяйство Евразии / Мат. IV междунар. науч.-практ. конф., посвященной 70-летию Победы в Великой Отечественной войне (1941–1945 гг.) и 100-летию со дня рождения А.А. Ежевского. Иркутск: Иркут. гос. аграр. ун-т им. А.А. Ежевского, 2015б. С. 138–144.
- Наумов П.П. Воздействие строительства и эксплуатации железных дорог на природные комплексы (на примере ресурсов охотничьих животных западного участка Байкало-Амурской магистрали) // Соврем. технол. Сист. анализ. Моделирование. 2019. № 2 (62). URL: <https://cyberleninka.ru/article/n/vozd-eystvie-stroitelstva-i-ekspluatatsii-zheleznyh-dorog-na-prirodnye-kompleksy-na-primere-resurov-ohotnichih-zhivotnyh-zapadnogo> (дата обращения: 01.03.2021).
- Николаенок В.Т., Данильченко С.И. Морфологические особенности бурого медведя, способы его учета и добычи // Опыт внедрения устойчивого лесопользования и лесоправления в практику / Мат. междунар. науч.-практ. конф. Новгород: Новгород. гос. ун-т им. Ярослава Мудрого, 2013. С. 134–138.
- Потупалов А.О. Учет лося по количеству зимних дефекаций // Научные труды национального парка “Хвалынский” / Мат. III Всерос. науч.-практ. конф. с междунар. участием. Саратов: Амирит, 2018. С. 178–180.
- Приклонский С.Г. Научные основы мониторинга охотничьих животных на больших территориях: специальность 06.02.03 “Ветеринарная фармакология с токсикологией”: Автореф. дис. ... докт. биол. наук. М.: ИПЭЭ им. А.Н. Северцова, 1999. 53 с.
- Ревуцкая О.Л. Влияние климатических факторов (температуры и осадков) на динамику численности копытных (на примере Еврейской автономной области) // Регион. проблемы. 2012. Т. 15 (2). С. 5–11.
- Рыков А.М., Eiken H.G., Aarnes S.G. Оценка состояния группировки бурого медведя Пинежского заповедника (Архангельская область) по материалам многолетнего изучения с учетом данных ДНК-анализа экскрементов медведей // Вестн. охотоведения. 2010. Т. 7 (2). С. 284–289.
- Саловаров В.О. Полевая орнитология (учеты птиц). Иркутск: Иркутск. гос. аграр. ун-т им. А.А. Ежевского, 2018. 150 с.
- Сафонов В.Г., Глушков В.М. О необходимости совершенствования управления ресурсами дичи // Аграрная наука Северо-Востока. 2016. № 1. С. 51–56.
- Сенотрусова М.М., Павлова Е.А. Мониторинг состояния некоторых хищных млекопитающих, отнесенных к объектам охоты Шушенского района Красноярского края // Вестн. Иркутской гос. сельскохозяйств. акад. 2019. № 92. С. 124–131.
- Середовских Б.А., Бауэр А. Особенности применения мониторинга численности охотничьих видов животных в процессе зимнего маршрутного учета на тер-

- ритории природного парка “Сибирские увалы” // Науч. труды Калужского ГУ им. К.Э. Циолковского. Серия: Естест. науки. 2017. С. 277–285.
- Скуматов Д.В. Результаты учета лосей прогоном в процессе охот // Чтения памяти А.А. Силантьева, посвященные 150-летию со дня рождения / Мат. Всерос. конф. СПб.: Санкт-Петербургский гос. лесотехн. ун-т им. С.М. Кирова, 2018а. С. 90–95.
- Скуматов Д.В. Сопоставление результатов учета лосей по методике многодневного оклада (повторного оклада) с результатами учета этих зверей по другим методикам на тех же территориях // Гум. аспекты охоты и охот. 2018б. № 6. С. 66–75.
- Сухомиров Г.И. К вопросу экологической экспертизы проектов лимитов и квот добычи охотничьих животных // Климат, экология, сельское хозяйство Евразии / Мат. VII междунар. науч.-практ. конф. Иркутск: Иркутский гос. аграр. ун-т им. А.А. Ежевского, 2018. С. 59–64.
- Труш Н.В. Морфобиологические особенности лисицы в условиях Амурской области // Агропромышленный комплекс: проблемы и перспективы развития / Мат. Всерос. науч.-практ. конф.: в 2 частях. Благовещенск, 11 апреля 2018 г. Благовещенск: Дальневост. гос. аграр. ун-т, 2018. С. 274–276.
- Труш Н.В. Комплексный подход к сохранению диких животных в Амурской области // Синтез науки и общества в решении глобальных проблем современности / Сб. статей междунар. науч. практ. конф., Самара, 04 октября 2019 г. Самара: Аэтерна, 2019. С. 8–12.
- Туняян Л.В. Эколого-географическая характеристика популяции косули как объекта охоты на территории Волгоградской области // Проблемы экологического образования в XXI веке / Тр. междунар. науч. конф. Владимир: Аркаим, 2017. С. 57–63.
- Туляндин Е.А. Ресурсы бурого медведя (*Ursus arctos* L.) Костромской области и их использование // Вестн. охотоведения. 2011. Т. 8 (2). С. 188–193.
- Формозов А.Н. Среди природы. М.: МГУ, 1985. 286 с.
- Холодова М.В., Корытин Н.С., Большаков В.Н. Роль Урала в формировании генетического разнообразия европейского подвида лоса (*Alces alces*) // Изв. РАН. Серия биол. 2014. № 6. С. 597.
- Хуснутдинов З.Г. Методические рекомендации по учету барсука методом картирования нор. URL: <https://pandia.ru/text/78/129/5414.php> (дата обращения: 24.02.2021).
- Челинцев Н.Г. Биолого-математические основы учета охотничьих животных: специальность 06.02.03 “Ветеринарная фармакология с токсикологией”. Дис. ...докт. биол. наук. М.: Всерос. НИИ охраны природы, 2001. 436 с.
- Челинцев Н.Г. Методика расчета численности сайгаков по данным авиаучетов // Вестн. охотоведения. 2007. Т. 4 (1). С. 25–34.
- Червонный В.В. Сравнительный анализ разных методов учета копытных и оценка их результатов // Науч. ведомости Белгород. гос. ун-та. Серия: Естест. науки. 2014. № 17 (28). С. 86–94.
- Чугреев М.К., Блохин Г.И., Балакирев Н.А. и др. Сравнительный анализ численности и плотности населения лосей (*Alces alces* L., 1758) в Ярославской, Ивановской и Владимирской областях // Естеств. и техн. науки. 2018. № 11. С. 99–105.
- Чугреев М.К., Блохин Г.И., Маловичко Л.В. и др. Роль миграций в формировании после промысловой численности лосей в Ярославской области // Докл. ТСХА. (Москва, 06–08 декабря 2018 г.). М.: Калужский филиал ФГБОУ высшего образования “Российский государственный аграрный университет – МСХА имени К.А. Тимирязева”, 2019. С. 360–364.
- Шалыгин А.С., Лысенко Л.Н., Толпегин О.А. Методы моделирования ситуационного управления движением беспилотных летательных аппаратов. М.: Машиностроение, 2012. 584 с.
- Юдин А.А., Скуматов Д.В. Применение методики многодневного оклада для учета лосей и неадекватность системной основы государственного мониторинга охотничьих ресурсов // Гум. аспекты охоты и охот. хозяйства / Сб. мат. 6-й междунар. науч.-практ. конф. Иркутск: Сиб. зем. конгресс, 2018. С. 13–36.
- Юдкин В.А., Косарева А.М., Фролов И.Г. и др. Алгоритм интеграции результатов зимних маршрутных учетов охотничьих животных в среде ГИС // Совр. пробл. науки и образов. 2015. № 1. С. 1803.
- Bushaw J.D., Ringelman K.M., Rohwer F.C. Applications of unmanned aerial vehicles to survey Mesocarnivores // Drones. 2019. V. 3 (1). P. 28. URL: <https://www.mdpi.com/2504-446X/3/1/28/htm> (дата обращения: 28.02.2021).
- Chabot D., Bird D.M. Wildlife research and management methods in the 21st century: where do unmanned aircraft fit in? // J. Unmann. Veh. Syst. 2015. V. 3 (4). P. 137–155.
- Corcoran E., Denman S., Hanger J. et al. Automated detection of koalas using low-level aerial surveillance and machine learning // Sci. Rep. 2019. V. 9. Art. 3208. URL: [https://www.researchgate.net/publication/331451648\\_Automated\\_detection\\_of\\_koalas\\_using\\_low-level\\_aerial\\_surveillance\\_and\\_machine\\_learning](https://www.researchgate.net/publication/331451648_Automated_detection_of_koalas_using_low-level_aerial_surveillance_and_machine_learning) (дата обращения: 28.02.2021).
- Durban J., Fearnbach H., Barrett-Lennard L. et al. Photogrammetry of killer whales using a small hexacopter launched at sea // J. Unmann. Veh. Syst. 2015. V. 3 (3). P. 131–135.
- Gooday O.J., Key N., Goldstien S., Zawar-Reza P. An assessment of thermal-image acquisition with an unmanned aerial vehicle (UAV) for direct counts of coastal marine mammals ashore // J. Unmann. Veh. Syst. 2018. V. 6 (2). P. 100–108.
- Hodgson J.C., Shane R.M., Baylis M. Drones count wildlife more accurately and precisely than humans // Meth. Ecol. Evol. 2018. P. 1–8.
- Hong S.-J., Han Y., Kim S.-Y. et al. Application of deep-learning methods to bird detection using unmanned aerial vehicle imagery // Sensors (Basel). 2019. V. 19 (7). P. 16–51.
- Junda J., Greene E., Bird D.M. Proper flight technique for using a small rotary-winged drone aircraft to safely, quickly, and accurately survey raptor nests // J. Unmann. Veh. Syst. 2015. V. 3 (4). P. 222–236.
- Kamminga J., Ayele E., Meratnia N., Havinga P. Poaching detection technologies – a survey // Sensors (Basel).

2018. V. 18 (5). P. 1474. URL: [https://www.researchgate.net/publication/325031395\\_Poaching\\_Detection\\_Technologies-A\\_Survey](https://www.researchgate.net/publication/325031395_Poaching_Detection_Technologies-A_Survey) (дата обращения: 28.02.2021).
- Lee W.Y., Park M., Hyun C.U. Detection of two arctic birds in Greenland and an endangered bird in Korea using RGB and thermal cameras with an unmanned aerial vehicle (UAV) // *PloS One*. 2019. V. 14 (9). P. e0222088. URL: <https://www.meta.org/papers/detection-of-two-arctic-birds-in-greenland-and-an/31483842> (дата обращения: 28.02.2021).
- Lisein J., Pierrot-Deseilligny M., Bonnet S., Lejeune P. A photogrammetric workflow for the creation of a forest canopy height model from small unmanned aerial system imagery // *Forests*. 2013. V. 4 (4). P. 922–944.
- Mulero-Pázmány M., Jenni-Eiermann S., Strebel N. et al. Unmanned aircraft systems as a new source of disturbance for wildlife: a systematic review // *PLoS One*. 2017. V. 12 (6). P. e0178448. URL: [https://www.researchgate.net/publication/317794059\\_Unmanned\\_aircraft\\_systems\\_as\\_a\\_new\\_source\\_of\\_disturbance\\_for\\_wildlife\\_A\\_systematic\\_review](https://www.researchgate.net/publication/317794059_Unmanned_aircraft_systems_as_a_new_source_of_disturbance_for_wildlife_A_systematic_review) (дата обращения: 28.02.2021).
- Patterson C., Koski W., Pace P. et al. Evaluation of an unmanned aircraft system for detecting surrogate caribou targets in Labrador // *J. Unmann. Veh. Syst.* 2016. V. 4 (1). P. 53–69.
- Pomeroy P., O'Connor L., Davies P. Assessing use of and reaction to unmanned aerial systems in gray and harbor seals during breeding and molt in the UK // *J. Unmann. Veh. Syst.* 2016. V. 3 (3). P. 102–113.
- Ratcliffe N., Goshen D., Robst J. et al. A protocol for the aerial survey of penguin colonies using UAVs // *J. Unmann. Veh. Syst.* 2015. V. 3 (3). P. 95–101.
- Spaan D., Burke C., McAree O. Thermal infrared imaging from drones offers a major advance for Spider Monkey surveys // *Drones*. 2019. V. 3 (2). P. 34. URL: [https://www.researchgate.net/publication/332344798\\_Thermal\\_Infrared\\_Imaging\\_from\\_Drones\\_Offers\\_a\\_Major\\_Advance\\_for\\_Spider\\_Monkey\\_Surveys](https://www.researchgate.net/publication/332344798_Thermal_Infrared_Imaging_from_Drones_Offers_a_Major_Advance_for_Spider_Monkey_Surveys) (дата обращения: 23.03.2021).
- Thapa G.J., Thapa K., Thapa R. Counting crocodiles from the sky: monitoring the critically endangered gharial (*Gavialis gangeticus*) population with an unmanned aerial vehicle (UAV) // *J. Unmann. Veh. Syst.* 2018. V. 6 (2). P. 71–82.
- Ward S., Hensler J., Alsalam B.H., Gonzalez L.F. Autonomous UAVs wildlife detection using thermal imaging, predictive navigation and computer vision // 6 IEEE Aerospace Conference. MT. USA: IEEE, 2016. P. 1–8.
- Wich S., Dellatore D., Houghton M. et al. A preliminary assessment of using conservation drones for Sumatran orangutan (*Pongo abelii*) distribution and density // *J. Unmann. Veh. Syst.* 2016. V. 4 (1). P. 45–52.
- Witczuk J., Pagacz S., Zmarz A., Cypel M. Exploring the feasibility of unmanned aerial vehicles and thermal imaging for ungulate surveys in forests – preliminary results // *Int. J. Rem. Sens.* 2018. V. 39 (15–16). P. 5503–5520.

## Modern Methods of Account of Game Animals

A. Yu. Prosekov<sup>a</sup>, A. P. Kaledin<sup>b</sup>, S. V. Beketov<sup>c, \*</sup>, O. N. Golubeva<sup>d</sup>, and A. M. Ostapchuk<sup>b</sup>

<sup>a</sup>Kemerovo State University, Kemerovo, Russia

<sup>b</sup>Russian State Agrarian University – Moscow Timiryazev Agricultural Academy, Moscow, Russia

<sup>c</sup>Vavilov Institute of General Genetics, Russian Academy of Sciences, Moscow, Russia

<sup>d</sup>Museum of Hunting and Fishing, Association of Rosokhotrybolovsoyuz, Moscow, Russia

\*e-mail: [svbeketov@gmail.com](mailto:svbeketov@gmail.com)

Modern approaches to the organization of hunting are based on the principles of sustainable development, requiring a combination of biodiversity conservation and economic efficiency, which is impossible without improving the accuracy and objectivity of data on the number of hunting animals. The proposed review article discusses various types and methods of accounting for hunting animals: winter route accounting, questionnaire and expert methods, run-through accounting, air accounting, salary and tape accounting. At the same time, the main emphasis is placed on the analysis of winter route accounting of animals as the main method for estimating the number of most hunting animals in the Russian Federation. As a possible complement or an independent alternative to accounting for the number of hunting animals, the prospects for the use of aerial accounting using unmanned aerial vehicles are considered.

**Keywords:** hunting farms, number of animals, accounting methods, winter route accounting, unmanned aerial vehicles

УДК 575.21

## ИЗУЧЕНИЕ КОРРЕЛЯЦИОННЫХ СВЯЗЕЙ И ГЕНЕТИЧЕСКИХ АССОЦИАЦИЙ ПРОМЕРОВ У САМОК СЕВЕРНЫХ ОЛЕНЕЙ (*Rangifer tarandus*) НЕНЕЦКОЙ ПОРОДЫ

© 2023 г. Г. Р. Свищёва<sup>1,2, \*</sup>, М. Т. Семина<sup>1</sup>, Е. А. Коноров<sup>1</sup>, Э. А. Николаева<sup>1</sup>, С. Н. Каштанов<sup>1</sup>, К. А. Лайшев<sup>1,3</sup>, А. А. Южаков<sup>1,3, \*\*</sup>, Ю. А. Столповский<sup>1, \*\*\*</sup>

<sup>1</sup>Институт общей генетики им. Н.И. Вавилова Российской академии наук, Москва, Россия

<sup>2</sup>Федеральный исследовательский центр, Институт цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук, Новосибирск, Россия

<sup>3</sup>Санкт-Петербургский федеральный исследовательский центр РАН, Санкт-Петербург, Россия

\*e-mail: gulsvi@mail.ru

\*\*e-mail: alyuzhakov@yandex.ru

\*\*\*e-mail: stolpovsky@mail.ru

Поступила в редакцию 07.12.2022 г.

После доработки 25.04.2023 г.

Принята к публикации 01.06.2023 г.

Племенной потенциал оленеводства определяется грамотной работой с генетическими ресурсами, поэтому изучение фенотипических признаков северных оленей необходимо проводить в комплексе с изучением особенностей их генофондов. В работе проведен анализ корреляционных связей и генетических ассоциаций фенотипических признаков у 98 самок северных оленей (*Rangifer tarandus*) ненецкой породы в возрасте от 3 до 9 лет в сравнительном аспекте по основным промерам тела и индексам телосложения, вычисленных по этим промерам. Для анализа использовали панель 16 микросателлитных локусов (BMS1788, RT30, RT1, RT9, C143, RT7, ONEQ, FCB193, RT6, C217, RT24, C32, BMS745, NVHRT16, T40 и C276). Поиск взаимосвязей между генотипом и фенотипом северных оленей был выполнен с помощью регрессионного анализа; только для трех фенотипических признаков — высота в холке, глубина груди и индекс растянутости — была выявлена ненулевая наследуемость. С помощью корреляционного анализа установлено, что живая масса взрослых самок с учетом возраста и генетического родства, имеет высокую положительную корреляцию с высотой в холке ( $r \approx 0.70$ ), обхватом груди ( $r \approx 0.79$ ) и глубиной груди ( $r \approx 0.73$ ).

**Ключевые слова:** северный олень, промеры, индексы телосложения, микросателлиты, генофонд

**DOI:** 10.31857/S0042132423050095, **EDN:** QWUNFY

### ВВЕДЕНИЕ

Фенотип домашнего северного оленя включает в себя комплекс хозяйственно-биологических признаков, имеющих наследственную детерминацию и проявившихся при определенных условиях окружающей среды (при паратипических условиях) у отдельного животного в процессе роста, развития и хозяйственного использования. К фенотипическим признакам животных относятся различные морфобиологические показатели, такие как масть, экстерьер, живая масса, физиологические и биохимические показатели, белки крови и другие. В практической селекции домашних северных оленей из методов классической зоотехники обычно применяют глазомерную балльную оценку экстерьерного профиля и отбор животных по живой массе. Это в первую очередь связано с доступностью зоотехнических методов в услови-

ях содержания и разведения племенных хозяйств и относительно несложными алгоритмами обработки полученных данных. Значительно реже в селекции северных оленей применяют метод индивидуальной оценки по промерам и индексам телосложения, что объясняется более высокой трудоемкостью реализации этого метода и слабой методической подготовленностью специалистов хозяйств. Кроме того, среди практиков существует мнение, что высокая живая масса предполагает хорошее телосложение северного оленя, поэтому для бонитировки животного достаточно одного взвешивания. Данное утверждение верно лишь отчасти, а именно на начальном этапе селекционного процесса, когда индивидуальные колебания/изменения живой массы и экстерьерно-конституциональных особенностей животных в стаде достаточно велики. По мере выравнивания этих показателей глазомерная балльная оценка, в от-

личие от оценки по промерам, не дает возможности улавливать возрастные изменения, поскольку специалисту становится труднее оценивать различия в телосложении животных “на глаз”. Возникает необходимость использования промеров с привлечением более точных и объективных статистических методов оценки селекционного процесса экстерьера животного.

Одним из основных методов статистического анализа взаимозависимости показателей является корреляционный анализ, оценивающий направление и силу взаимосвязи между двумя и более признаками. Этот метод успешно применялся при изучении хозяйственно-полезных признаков пород и географических групп северных оленей (Мухачев, 1968; Деряженцев, Шифнер, 1978). Из более поздних исследований можно отметить работу (Рожков, Проняев, 1992), в которой у различных пород северных оленей была выявлена более высокая изменчивость промеров, по сравнению с пропорциями телосложения, определяемыми визуально. С помощью корреляционного анализа была выявлена статистически достоверная феногеографическая изменчивость северных оленей (Южаков, 2003).

Позднее были проведены исследования по изучению генетической изменчивости признаков, связанных с ростом оленят (Muuttoranta et al., 2013, 2014). Также была выявлена значимая генетическая изменчивость в отношении признаков, связанных с показателями массы тела, скоростью и интенсивностью прироста (Holand et al., 2020). Однако у других копытных анализ наследуемости массы животного показал, что наследуемость уменьшается по мере увеличения возраста взвешиваемого животного, что может быть связано с различиями в интенсивности и скорости роста, с различиями в кормлении и содержании животных (Wilson et al., 2005; Muuttoranta et al., 2010). У северных оленей такой зависимости не наблюдалось, наследуемость массы тела при рождении значительно не отличалась от наследуемости массы тела через год (Muuttoranta et al., 2014).

В одном из наших исследований тундровых северных оленей Ямало-Ненецкого автономного округа (АО) был проведен анализ эффективности отбора животных по живой массе путем определения повторяемости и ее наследуемости (Южаков и др., 2017). Был установлен невысокий, но статистически достоверный коэффициент корреляции  $r$  между живой массой матерей и живой массой их потомства в шестимесячном возрасте. У северных оленей показатели живой массы в шестимесячном и полуторогодовалом возрастах положительно и статистически достоверно коррелируют ( $r \approx 0.6$ ). Коэффициент корреляции между показателями живой массы оленей в 1.5- и 2.5-летних возрастах сохранялся на среднем уровне, в диапазоне 0.4–0.5. Однако генетическая архитектура (в частности, наследуемость) других количественных признаков северного оленя недостаточно изучена.

В данной работе мы представляем результаты анализа основных показателей домашних северных оленей Ямало-Ненецкого АО на генетическом уровне. Для оценки степени генетической дифференциации животных была использована мультиплексная панель микросателлитов. Эта панель была успешно применена при изучении генетической структуры и генетической дифференциации между дикими и домашними формами северных оленей, включая популяцию ненецкой породы (Svishcheva et al., 2022). Использование генотипических данных повысит уровень информативности фенотипов, благодаря возможности идентификации животных, оценке их генетического разнообразия, вычисления степени инбридинга и внедрения полученных результатов в селекционные программы для работы с видом.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

### *Выборка животных*

Для изучения фенотипической и генетической изменчивости была сформирована выборка животных ненецкой породы из стада Ямальской опытной станции (г. Салехард). В октябре 2020 г. были обследованы 98 важенков (взрослых самок) в возрасте от 3 до 9 лет, здоровых, без пороков телосложения и имевших теленка. У отобранных животных были сделаны зоотехнические промеры. Для генетических исследований у тех же животных отобраны пробы хрящевой ткани из уха, помещенные в пробирки с 70%-ным этиловым спиртом.

### *Извлечение ДНК и анализ фрагментов*

Выделение ДНК проводилось из образцов хрящевой ткани наборами Qiagen (QIAwave DNA Blood & Tissue Kit). Мультиплексный ПЦР-анализ микросателлитных локусов, содержащих короткие tandemные повторы, проводился биотехнологической компанией CoRDiSc (Гордис, Москва, Россия), сертифицированной на соответствие стандарту ISO 9001:2015. Генотипирование микросателлитных локусов выполняли методом мультиплексного ПЦР-анализа с последующим обнаружением флуоресцентно меченых фрагментов методом капиллярного электрофореза. Разработанная мультиплексная STR-панель состояла из 10 динуклеотидных (RT6, BMS1788, RT30, RT1, RT9, RT7, RT24, FCB193, BMS745 и NVHRT16) и 6 тетра-нуклеотидных маркеров (ONEQ, T217, C32, T40, C276 и C143), описательные характеристики которых детально представлены в работах (Семина et al., 2022; Stolpovsky et al., 2020; Dodokhov et al., 2021; Svishcheva et al., 2022). Все локусы были протестированы на соответствие требованиям, обеспечивающим высокую эффективность специфической амплификации ДНК, полиморфизм, отсутствие конфликта между праймерами различных маркеров при комбинации в одной реакции и распре-

ление длин микросателлитных аллелей таким образом, чтобы диапазон длин не перекрывался.

### Статистический контроль микросателлитных данных

Анализ данных на основе генотипирования проводили в программной среде R (Team 2017) с использованием пакетов adegenet (Jombart, 2008), pegas (Paradis, 2010), poppr (Kamvar et al., 2014), PopGenReport (Adamack, Gruber, 2014; Gruber, Adamack, 2015) и Hierfstat (Goudet, 2005). Для различения животных определено минимальное количество локусов, для которых должны быть измерены генотипы, используя кривую накопления генотипов (poppr::gac; 10000 перестановок). Основываясь на этих результатах, в анализ включены только те животные, у которых было успешно амплифицировано  $\geq 15$  локусов. Далее, было оценено неравновесие по сцеплению для парных локусов, используя стандартизированный индекс ассоциации  $r_d$  (Agarow, Burt, 2001) (poppr::pair.ia; 10000 перестановок), протестированы отклонения от равновесия Харди-Вайнберга (Hardy-Weinberg equilibrium, HWE), используя точный тест хи-квадрат, основанный на Монте-Карловских пермутациях аллелей (pegas::hw.test; 10000 перестановок). Полученные статистики были поправлены для контроля частоты ложноположительных результатов (false discovery rate, FDR) с помощью функции stats::p.adjust. Мы также оценивали наличие нулевых аллелей, которые могут проявляться как дефицит микросателлитной гетерозиготности в соответствии с вычисленными частотами, выполненными с помощью функции PopGenReport::null.all. Коэффициент инбридинга каждого животного вычислили с помощью функции adegenet::inbreeding. Филогенетическое дерево было построено на основе генетических расстояний Нея методом ближайшего соседа с помощью функции poppr::nei.dist.

### Фенотипические данные

В качестве фенотипических признаков рассматривались хозяйственно-полезные показатели, полученные нами при зоотехническом обследовании. Живую массу и промеры тела у северных оленей определяли согласно рекомендациям отдела оленеводства НИИСХ Крайнего Севера (Дьяченко, 1970). Вес животных (weight) был измерен на динамометрических электронных весах с точностью до 1.0 кг. Для анализа были взяты следующие зоотехнические промеры с точностью измерения до 1.0 см:

высота в холке (height\_at\_withers), высота в локте (elbow\_height), глубина груди (chest\_depth) и ширина груди (chest\_width) за лопатками, измеренные с помощью мерной палки;

косая длина туловища (body\_length) и обхват груди (bust), измеренные с помощью мерной ленты;

ширина в маклоках (width\_in\_makloks) и длина головы (head\_length), измеренные с помощью мерного циркуля.

На основе выполненных промеров были вычислены основные индексы телосложения животных:

| Индексы телосложения                                                                                               | Формула расчета ( $\times 100\%$ )                                                                     |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 1. <i>Индекс длинноногости</i> характеризует развитие ног в длину                                                  | $\frac{\text{высота в холке} - \text{глубина груди}}{\text{высота в холке}}$                           |
| 2. <i>Индекс растянутости</i> характеризует развитие туловища в длину                                              | $\frac{\text{косая длина туловища}}{\text{высота в холке}}$                                            |
| 3. <i>Индекс тазо-грудной</i> характеризует развитие груди в ширину относительно тазовой области                   | $\frac{\text{ширина груди за лопатками}}{\text{ширина в маклоках}}$                                    |
| 4. <i>Индекс грудной</i> характеризует общее развитие грудной части                                                | $\frac{\text{ширина груди}}{\text{глубина груди}}$                                                     |
| 5. <i>Индекс сбитости</i> характеризует компактность телосложения                                                  | $\frac{\text{обхват груди}}{\text{косая длина туловища}}$                                              |
| 6. <i>Индекс большеголовости</i> характеризует развитие головы в длину                                             | $\frac{\text{длина головы}}{\text{высота в холке}}$                                                    |
| 7. <i>Индекс массивности 1</i> служит показателем силы и развития массы тела по отношению к росту                  | $\frac{\text{обхват груди}}{\text{высота в холке}}$                                                    |
| 8. <i>Индекс массивности 2</i> характеризует соотношение веса и роста                                              | $\frac{\text{Вес}}{(\text{высота в холке})^3}$                                                         |
| 9. <i>Индекс узкотелости (лептосомии)</i> или <i>широкотелости (эйрисомии)</i> указывает на конституциональный тип | $\frac{\text{длина туловища} + \text{высота в холке}}{\text{ширина груди} + \text{ширина в маклоках}}$ |

### Модель

Для поиска ассоциаций между признаками и генотипами была построена линейная регрессионная модель, показывающая зависимость между признаком и микросателлитным локусом:

$$y = X\alpha + G_m\beta + \varepsilon, \quad (1)$$

где  $y$  —  $(n \times 1)$ -вектор значений признака, измеренных у  $n$  животных;  $X$  —  $(n \times 2)$ -матрица ковариат (первый столбец — возраст, а второй — вектор единиц (для учета интерсепта));  $G_m$  —  $(nL_m)$ -матрица генотипов  $m$ -го микросателлитного локуса, где  $L_m$  — число аллельных вариантов в  $m$ -ом локусе, а элемент матрицы,  $G_{mj}$ , показывает дозу (0, 1 или 2)  $j$ -ого аллеля в  $m$ -ом локусе у  $i$ -ого животного,  $\alpha$  —  $(2 \times 1)$ -вектор фиксированных эффектов возраста и интерсепта на признак,  $\beta$  —  $(L_m \times 1)$ -вектор фиксированных эффектов аллельных вариантов микросателлитного локуса на признак,  $\varepsilon$  —  $(n \times 1)$ -вектор случайных значений, детерминированный полигенными и средовыми факторами. Предполагается, что  $\varepsilon$  нормально распределен с нулевым вектором матожиданий и корреляционной матрицей  $V = h^2 R + (1 - h^2) I$ , где  $h^2$  — коэффициент наследуемости признака,  $R$  — матрица генетического родства между животными и  $I$  — единичная матрица. Нулевая модель (1) предполагает отсутствие генетических ассоциаций признака с анализируемым микросателлитным локусом,  $\beta \neq 0$ .

Для проведения статистического анализа, прежде всего, необходимо оценить параметры модели при нулевой гипотезе (интерсепт, эффект возраста на признак, дисперсия и наследуемость признака) и проверить условие о нормальности распределения значений признака после его стандартизации и коррекции на родство. Параметры модели при нулевой гипотезе были оценены методом максимального правдоподобия, а нормальность распределения проверяли тестом Шапиро-Уилка, с помощью функции NullMixedModel() из R-пакета FREGAT (Belonogova et al., 2016).

Для модели (1), использовали  $F$ -распределенную тестовую статистику:

$$F = \frac{n-r}{r} \frac{R^2}{1-R^2}, \quad (2)$$

которая зависит от объема выборки животных ( $n$ ), максимального числа независимых столбцов матрицы  $G$  ( $r = (\text{rank}(G))$  коэффициента детерминации ( $R^2$ ), вычисленного как

$$R^2 = \frac{1}{n} \bar{y}^T \bar{G}_m (\bar{G}_m^T \bar{G}_m)^{-1} \bar{G}_m^T \bar{y},$$

где  $\bar{y}$  и  $\bar{G}$  — стандартизованные значения фенотипов и генотипов, поправленные с учетом родства.

Для построения адекватной модели наследования, учитывающей полигенную компоненту в формировании признака, необходимо оценить матрицу

генетического родства между анализируемыми животными.

### Генетическое родство между животными

Поскольку для анализируемых самок не велось никаких учетных записей по родословной, мы оценили матрицу генетического родства  $R$  между животными как матрицу идентичности по состоянию (identity-by-state, IBS), где ее элементом является доля общих аллелей у пары животных  $i$  и  $j$ . Построение IBS-матрицы основано на матрице генотипов,  $G = (G_1, G_2, \dots, G_m, \dots, G_M)$ :

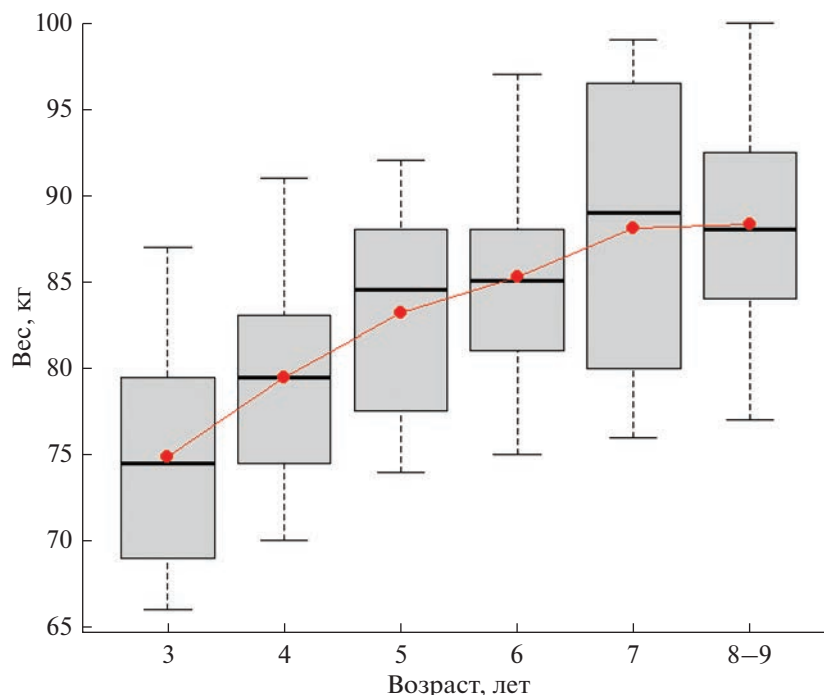
$$R_i(G^i, G^j) = \frac{1}{M} \sum_{m=1}^M \left( 1 - \frac{1}{4} \sum_a |G_{ma}^i - G_{ma}^j| \right), \quad (3)$$

где  $M$  — число микросателлитных локусов,  $G_{ma}^i$  — доза аллеля  $a$  (0, 1 или 2) в  $m$ -ом локусе у  $i$ -ого животного.

### Корреляции между признаками

Корреляционный анализ, как известно, не выявляет причинных связей между переменными, он лишь дает количественную оценку тесноты связи между изучаемыми показателями и подтверждает достоверность суждений о наличии связи. Однако знание корреляционных связей между признаками необходимо при отборе, поскольку селекция ведется одновременно по десяткам хозяйственно-полезных признаков. Причинный характер корреляций выясняют с помощью логических рассуждений, раскрывающих механизм связей и заложенных в вероятностные модели, описывающие наследование признаков. При проведении корреляционного анализа предполагают, что фенотипические признаки являются случайными и выбранными из генеральной совокупности, распределенной по нормальному закону. Стоит отметить, что с помощью корреляционного анализа оценивают не только тесноту связи между признаками, но и решают задачи отбора факторов, оказывающих наиболее существенное влияние на зависимый признак.

Коэффициент корреляции ( $r$ ) варьирует от  $-1$  до  $1$ . При положительных корреляциях предполагается, что с увеличением одного признака увеличивается и другой. Отрицательная корреляция, наоборот, показывает, что увеличение одного признака приводит к уменьшению другого. Коэффициент корреляции на уровне  $0.5$  представляется достаточно высоким. Можно предположить, что при такой корреляции совпадение вариации двух переменных должно быть в  $50\%$  случаев. В реальности так не бывает и поэтому степень линейной зависимости в вариации двух переменных более точно измеряется квадратом коэффициента корреляции — коэффициентом детерминации ( $r^2$ ), который варьируется от  $0$  до  $1$ . В случае линейной связи



**Рис. 1.** Визуализация распределения реальных показателей живой массы животных по возрастным категориям от 3 до 9 лет с помощью диаграмм “box plot”. Границы прямоугольников (box) показывают нижний и верхний квартили; линиями внутри прямоугольников отмечены медианы; “усы” показывают диапазон разброса значений; кружками отмечены нетипичные данные, выбросы. Красными точками отмечены средние значения показателей веса.

коэффициент детерминации указывает на долю изменчивости одной переменной, которая обусловлена изменчивостью другой переменной (и наоборот). Тогда  $(1 - r^2)$  отображает остаточную долю изменчивости одного признака, обусловленную всеми другими, не учтенными в эксперименте, причинами. Так, например, если коэффициент корреляции между двумя признаками равен 0.5, только 25% изменчивости одного признака объясняется изменчивостью другого признака (степень связности). По остальной же части изменчивости соотношение между признаками считается случайным. Таким образом,  $(r \geq 0.7)$  свидетельствует о тесной связи,  $(r < 0.5)$  указывает на слабую связь, а  $(0.5 \leq r < 0.7)$  – на среднюю.

## РЕЗУЛЬТАТЫ

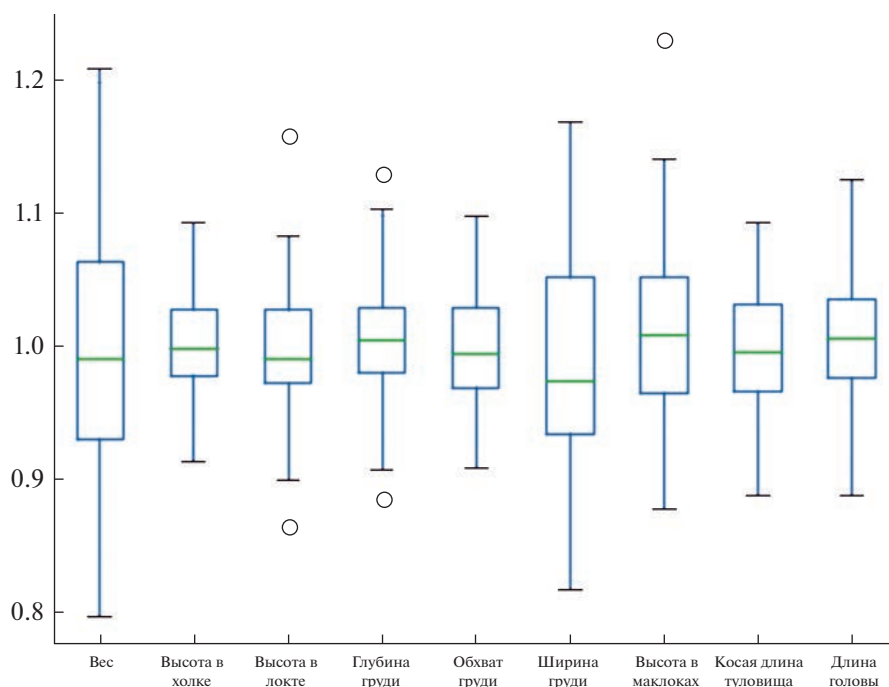
Распределение по возрастным категориям показателя живой массы животного, который варьируется от 66 до 100 кг среди исследуемых самок, показано на рис. 1. Как видно, этот показатель медленно растет с увеличением возраста животных и выходит на плато к 7–9 годам. Отметим, что из-за малочисленности возрастной группы самок в возрасте 9 лет (2 самки), эта группа была объединена с группой 8-летних самок.

Относительно всей выборки, среднее значение показателей веса составило  $82.61 \pm 0.80$  кг, высоты в холке –  $94.97 \pm 0.36$  см, высоты до лок-

тевого сустава –  $54.4 \pm 0.25$  см, глубины груди –  $40.71 \pm 0.20$  см, обхвата груди –  $115.37 \pm 0.50$  см, ширины груди –  $25.63 \pm 0.21$  см, ширины в маклоках –  $22.76 \pm 0.14$  см, косой длины туловища –  $102.26 \pm 0.47$  см и длины головы –  $33.72 \pm 0.17$  см. Кроме того, были вычислены средние значения индексов телосложения: индексы длинноногости –  $57.13 \pm 0.14$ , растянутости –  $107.73 \pm 0.44$ , тазо-грудной –  $112.78 \pm 0.88$ , грудной –  $63.00 \pm 0.50$ , сбитости –  $112.98 \pm 0.59$ , большеголовости –  $35.53 \pm 0.17$ , массивности –  $121.5 \pm 0.50$  и узкотелости –  $408.84 \pm 2.48$ . Оценки веса, промеров и индексов телосложения согласуются с соответствующими показателями, полученными для взрослых самок той же породы в работе (Югай, 2009).

Для сравнения распределений признаков были построены диаграммы “box plot” для значений, шкалированных на дисперсию (рис. 2). Наибольший разброс значений наблюдается по показателям “вес” и “ширина груди”. Практически по всем показателям, кроме показателей глубины груди, высоты в маклоках и высоты в локтевом суставе, отсутствуют выбросы, которые могут быть вызваны погрешностями в измерении животных.

У животных, генотипированных по 16 микросателлитам, обнаружено 119 аллелей. Число аллелей на локус варьировалось от 2 до 13. Наиболее полиморфным является локус OheQ с 13 аллелями, а наименьший уровень разнообразия обнаружен в локусе C217, имеющем 2 аллеля. Параметры



**Рис. 2.** Диаграммы “box plot” для значений признаков, шкалированных на дисперсию. Границы прямоугольников (box) показывают нижний и верхний квартили; линиями внутри прямоугольников отмечены медианы; “усы” показывают диапазон разброса значений; кружками отмечены нетипичные данные, выбросы.

генетического разнообразия для изучаемых локусов представлены в табл. 1.

Для всех локусов отклонений от HWE не обнаружено при выполнении тестирования тремя используемыми методами: 1) точный критерий хи-квадрат; 2) критерий хи-квадрат, поправленный на FDR и 3) критерий хи-квадрат, основанный на перестановке аллелей методом Монте-Карло ( $B = 1.000$  перестановок) и поправленный на FDR (табл. 2). Индекс неравновесия по сцеплению  $rd$  не превышал 0.08.

Животных с высоким уровнем инбридинга не выявлено. Средний коэффициент инбридинга, усредненный по всем самкам, был равен  $0.165 \pm 0.007$ . Теплокарта иллюстрирует генетическое родство между самками, вычисленное по формуле (рис. 3). Разброс коэффициента схожести животных по микросателлитным генотипам (коэффициент родства между животными) варьировал от 0.22 до 0.78, что говорит о высоком уровне общего генетического фона, что очевидно при гаремном образе жизни северных оленей. В качестве альтернативы было построено филогенетическое дерево, где наглядно показано разделение самок на гаремные группы (рис. 4).

В табл. 3 для всех изучаемых промеров и индексов телосложения представлены оценки интерсепта, эффекта возраста, дисперсии и наследуемости.  $p$ -значения теста Шапиро–Уилка для всех признаков, стандартизованных и поправленных с учетом родства между животными, оказались больше 0.05, что указывает на их нормальное

распределение. Для всех промеров, кроме показателя “ширина груди”, мы наблюдаем значимое влияние возраста на признак (табл. 3), а для всех изучаемых индексов телосложения, как и ожидалось, эффект возраста был незначим. Только для трех фенотипических признаков: “высота в холке”, “глубина груди” и “индекс растянутости” была обнаружена ненулевая наследуемость при использовании IBS-матрицы в качестве матрицы генетического сходства.

Анализ ассоциаций, выполненный для каждой пары “локус–признак”, не выявил значимых связей по большинству пар при пороговом  $p$ -значении  $\alpha = 0.05$ . Исключение составили локусы Rt7, Rt30, Rt1, Rt9, OheQ, C217 и C32, для которых обнаружены ассоциации с одним, двумя или тремя признаками (табл. 4). После коррекции Бонферрони, при пороговом  $p$ -значении = 0.003125, значимых ассоциаций не выявлено ни для одной из пар. Ближайшее к порогу  $p$ -значение было для локуса C32 и показателя косой длины туловища ( $p < 0.005$ ).

В ходе анализа корреляционных связей между реальными фенотипическими признаками (табл. 5) нами установлено, что живая масса взрослых самок имеет высокую положительную корреляцию с высотой в холке ( $r \approx 0.70$ ), обхватом груди ( $r \approx 0.79$ ) и глубиной груди ( $r \approx 0.73$ ).

Такой важный промер, как высота в холке, имеет высокую положительную корреляцию с живой массой ( $r \approx 0.70$ ), высотой в локте ( $r \approx 0.81$ ), глубиной груди ( $r \approx 0.79$ ). Обхват груди тесно коррелировал с живой массой ( $r \approx 0.79$ ) и менее тесно

**Таблица 1.** Параметры генетического разнообразия для изучаемых локусов

| Локус   | Число аллелей на локус | Индекс аллельного богатства | Наблюдаемая гетерозиготность | Ожидаемая гетерозиготность |
|---------|------------------------|-----------------------------|------------------------------|----------------------------|
| BMS1788 | 11                     | 10.75                       | 0.8                          | 0.82                       |
| Rt30    | 7                      | 6.63                        | 0.54                         | 0.54                       |
| Rt1     | 9                      | 8.94                        | 0.88                         | 0.84                       |
| Rt9     | 8                      | 7.98                        | 0.81                         | 0.83                       |
| C143    | 3                      | 3.00                        | 0.34                         | 0.36                       |
| Rt7     | 9                      | 8.81                        | 0.67                         | 0.67                       |
| OheQ    | 13                     | 12.66                       | 0.87                         | 0.85                       |
| FCB193  | 7                      | 6.75                        | 0.74                         | 0.77                       |
| Rt6     | 10                     | 9.73                        | 0.74                         | 0.73                       |
| C217    | 2                      | 1.94                        | 0.02                         | 0.02                       |
| Rt24    | 9                      | 8.93                        | 0.73                         | 0.78                       |
| C32     | 5                      | 4.75                        | 0.51                         | 0.55                       |
| BMS745  | 7                      | 6.75                        | 0.7                          | 0.7                        |
| NVHRT16 | 8                      | 7.94                        | 0.83                         | 0.79                       |
| T40     | 5                      | 4.94                        | 0.37                         | 0.41                       |
| C276    | 6                      | 5.93                        | 0.71                         | 0.75                       |

с двумя другими грудными промерами. Косая длина туловища не показала высокой степени корреляции ни с живой массой, ни с одним из полученных промеров ( $r \approx 0.33-0.65$ ). Величина корреляции с такими фенотипическими показателями как живая масса ( $r \approx 0.65$ ), высота в холке ( $r \approx 0.59$ ), глубина груди ( $r \approx 0.50$ ) имеют среднюю величину и позволяют в некоторых случаях использовать промер косой длины туловища в селекции северных оленей на живую массу и крупность. Другие промеры: высота в локте, ширина груди, ширина в маклоках, длина головы — имеют низкую степень сопряженности с живой массой и другими промерами, но и они могут использоваться при возникновении дополнительных задач в селекции оленей.

Генетические корреляции между промерами, поправленными на возраст, интерсепт и генетическое родство, выявленное с помощью IBS-матрицы, в большинстве случаев остались на том же среднем положительном уровне (рис. 5). Отметим, что высокий уровень корреляционной связи показали пары промеров “высота в холке” и “высота в локте” (0.84) и пара “высота в холке” и “глубина груди” (0.72).

### ОБСУЖДЕНИЕ

В нашем исследовании был проведен комплексный корреляционно-регрессионный анализ основных промеров и индексов телосложения у взрослых самок северных оленей ненецкой породы на основе микросателлитных данных. Нами было обнаружено, что для показателя живой массы взрослых самок коэффициент наследуемости, вычисленный как доля дисперсии признака, обусловленная влиянием генетических маркеров, равен нулю. Это может быть следствием высокой возрастной гетерогенности изучаемой выборки самок,

а также следствием различий в оценке наследуемости веса для различных возрастных групп, что может приводить к смещению нашей оценки.

Большое количество фенотипических признаков и отсутствие достаточной выборки животных для исследования этих фенотипов стало причиной осложнения в получении результатов оценки материнского эффекта и, как следствие, сравнения их с предыдущими исследованиями. Однако нам удалось изучить фенотипическое и генетическое разнообразие северного оленя, проанализировать взаимосвязи между экстерьерными признаками (промерами и индексами телосложения) и полиморфизмом микросателлитных маркеров.

**Таблица 2.** *p*-значения для тестирования отклонения от HWE для каждого локуса

| Локус   | Тест 1 | Тест 2 | Тест 3 |
|---------|--------|--------|--------|
| BMS1788 | 0.1409 | 0.8471 | 0.6310 |
| Rt30    | 0.8521 | 0.9997 | 0.9345 |
| Rt1     | 0.3231 | 0.8471 | 0.7636 |
| Rt9     | 0.7266 | 0.9997 | 0.9345 |
| C143    | 0.3818 | 0.8471 | 0.7636 |
| Rt7     | 0.7468 | 0.9997 | 0.9345 |
| OheQ    | 0.8499 | 0.9997 | 0.9345 |
| FCB193  | 0.3543 | 0.9997 | 0.7636 |
| Rt6     | 0.5746 | 0.9732 | 0.9194 |
| C217    | 1.0000 | 0.9997 | 1.0000 |
| Rt24    | 0.0428 | 0.4569 | 0.6310 |
| C32     | 0.1726 | 0.8471 | 0.6310 |
| BMS745  | 0.4686 | 0.8471 | 0.8331 |
| NVHRT16 | 0.8761 | 0.9997 | 0.9345 |
| T40     | 0.1972 | 0.9732 | 0.6310 |
| C276    | 0.1082 | 0.8471 | 0.6310 |

Примечание: тест 1 — точный критерий хи-квадрат; тест 2 — критерий хи-квадрат, поправленный на FDR; тест 3 — критерий хи-квадрат, основанный на перестановке аллелей методом Монте-Карло ( $B = 1.000$  перестановок) и поправленный на FDR.

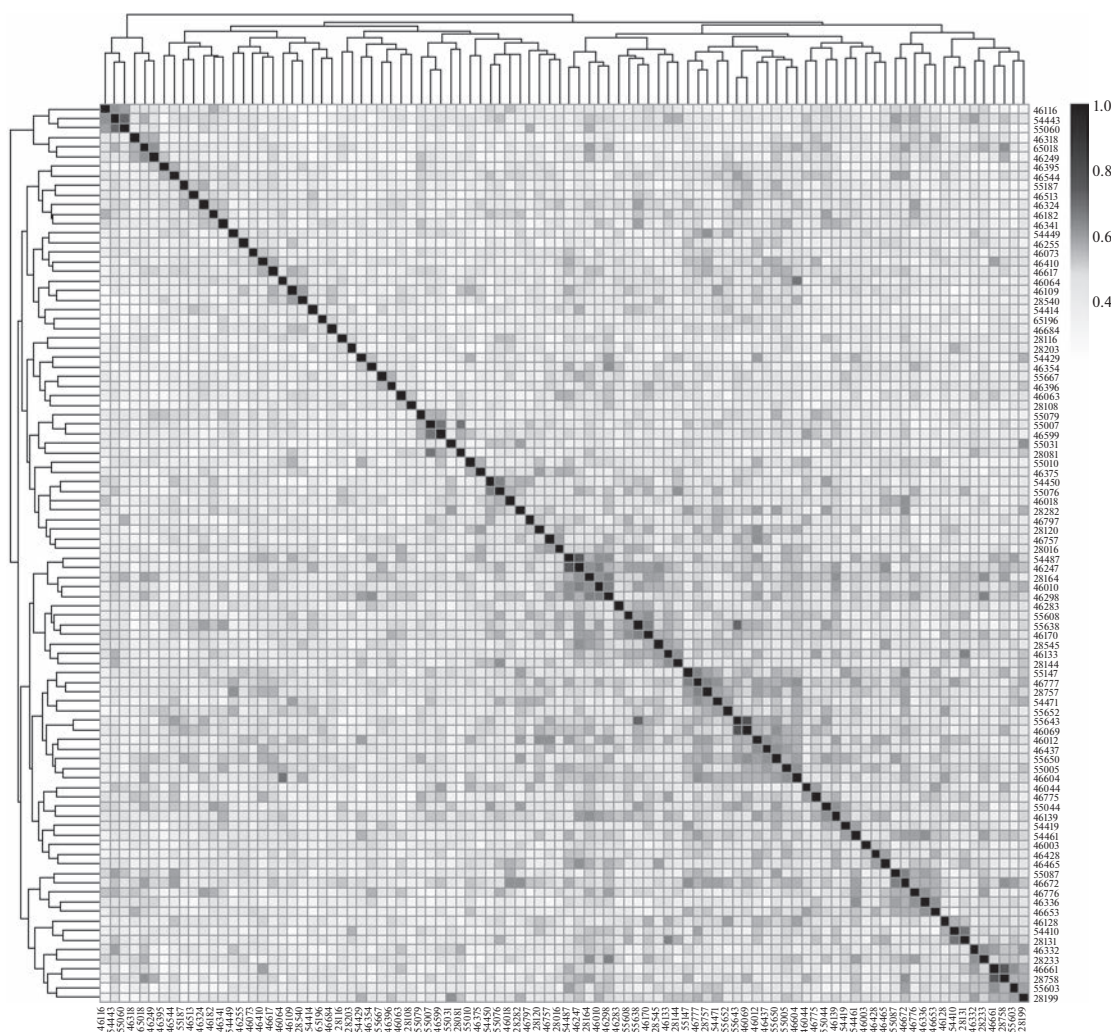


Рис. 3. Теплокарта, иллюстрирующая генетическое родство между индивидами, вычисленное через IBS.

Отсутствие значимых ассоциаций между фенотипами и микросателлитными маркерами в большинстве случаев подтверждает факт нейтральности микросателлитов, невовлеченности их в отбор, таким образом, давая возможность, независимо от факторов отбора и подбора пар, проводить исследования по идентификации пород. Это может быть актуально в виду различий между разными породами и необходимости их идентификации как по экстерьерным показателям, так и по генетическим маркерам. STR-маркеры предположительно находятся в некодирующих участках ДНК и не влияют на приспособленность животных, их продуктивность и экстерьер, однако, могут служить показателями как общего уровня гомозиготности популяции, так и для выявления приват-аллелей у отдельных пород или групп животных.

Корреляционно-регрессионный анализ фенотипических показателей на основе микросателлитных данных у взрослых самок домашних северных оленей показал значительное сходство полученных данных. Вместе с тем, статистиче-

ски значимый уровень коэффициента наследования  $h^2$  обнаружен только для промеров “высота в холке” и “глубина груди”, а также для индекса растянутости. Однако “высота в холке” является одним из основных показателей при отборе животных в других отраслях животноводства, позволяя получать более крупных животных. Промер “глубина груди” при этом выступает показателем массивности, обмускуленности животного и, вероятнее всего, пропорционален повышению выхода мяса за счет хорошо развитого костяка пояса передних конечностей. Однако после коррекции Бонферрони значимых ассоциаций не выявлено ни для одной пары. Вероятнее всего, результаты ассоциации вызваны не вкладом микросателлитного локуса в разнообразие признака, а особенностью гаремного поведения северных оленей, при котором один самец может оплодотворить большое количество самок, тем самым широко распространив свой генотип. Яркие выраженные фенотипические показатели отца передаются потомству вместе с его генетическим профилем

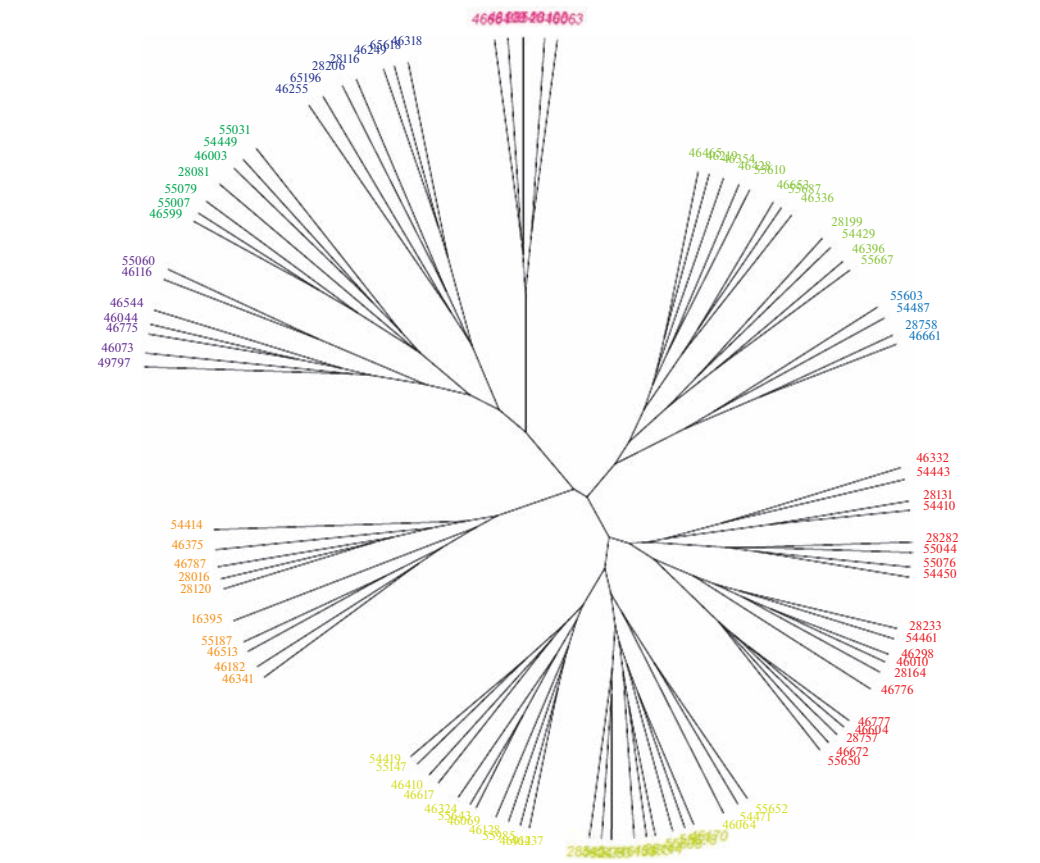


Рис. 4. Филогенетическое дерево, построенное на генетических расстояниях Нея с помощью метода ближайшего соседа.

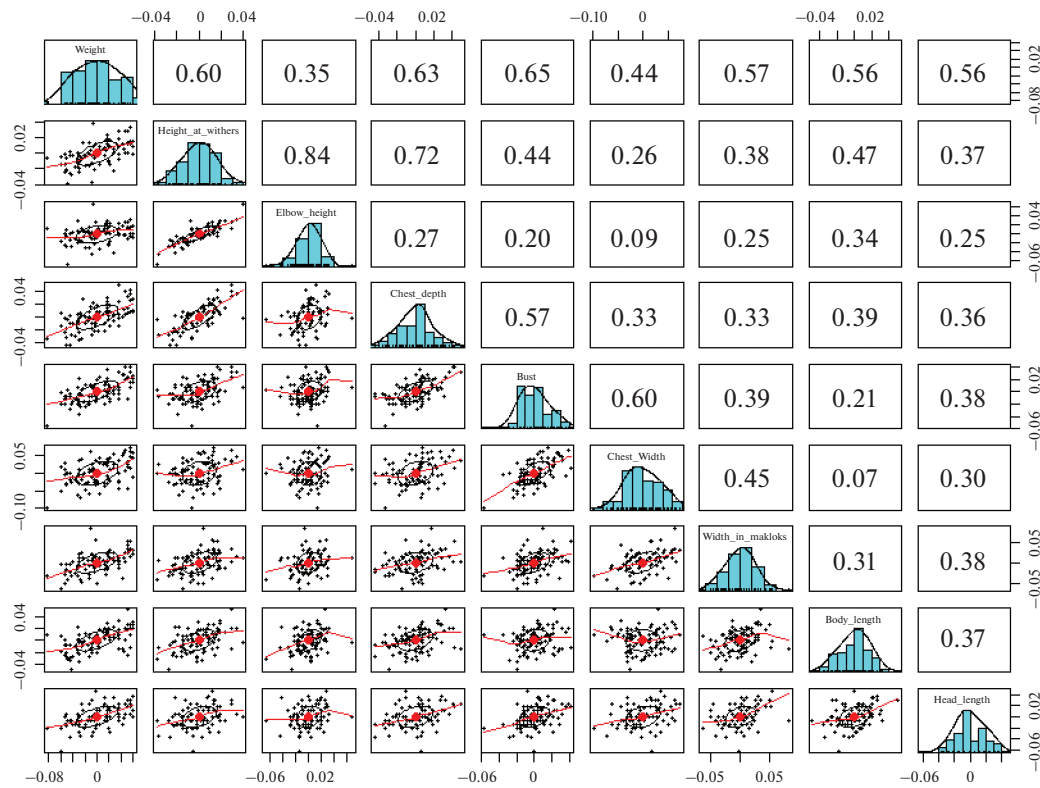


Рис. 5. Корреляции между промерами, поправленными на возраст, интерсепт и IBS.

**Таблица 3.** Оценки параметров нулевой модели наследуемости признаков

| Промеры              | $h^2$ | Var     | Intercept: est(se) | Age: est(se)  | P(intercept) | P(age)  | P.norm |
|----------------------|-------|---------|--------------------|---------------|--------------|---------|--------|
| Вес                  | 0     | 0.00116 | 1.796(0.019)       | 0.171(0.027)  | 1.4E-93      | 6.3E-09 | 0.064  |
| Высота в холке       | 0.29  | 0.00026 | 1.946(0.010)       | 0.041(0.011)  | 1.4E-122     | 5.4E-04 | 0.839  |
| Высота в локте       | 0     | 0.00037 | 1.714(0.011)       | 0.030(0.015)  | 2.9E-114     | 5.1E-02 | 0.045  |
| Глубина груди        | 0.2   | 0.00039 | 1.571(0.012)       | 0.052(0.015)  | 1.1E-106     | 6.0E-04 | 0.514  |
| Обхват груди         | 0     | 0.00029 | 2.028(0.010)       | 0.049(0.013)  | 6.1E-126     | 4.3E-04 | 0.362  |
| Ширина груди         | 0     | 0.0012  | 1.377(0.019)       | 0.044(0.027)  | 1.9E-82      | 1.1E-01 | 0.491  |
| Ширина в маклоках    | 0     | 0.00065 | 1.319(0.014)       | 0.054(0.020)  | 8.6E-93      | 8.2E-03 | 0.683  |
| Косая длина туловища | 0     | 0.00031 | 1.968(0.010)       | 0.059(0.014)  | 2.9E-123     | 4.8E-05 | 0.632  |
| Длина головы         | 0     | 0.00036 | 1.473(0.011)       | 0.079(0.015)  | 1.1E-108     | 9.2E-07 | 0.332  |
| Индексы телосложения | $h^2$ | Var     | Intercept: est(se) | Age: est(se)  | P(intercept) | P(age)  | P.norm |
| Длинноноготь         | 0     | 0.0001  | 1.763(0.006)       | -0.008(0.008) | 4.2E-141     | 2.9E-01 | 0.926  |
| Растянутость         | 0.18  | 0.00032 | 2.021(0.011)       | 0.018(0.013)  | 4.3E-121     | 1.7E-01 | 0.469  |
| Тазо-грудной         | 0     | 0.00107 | 2.058(0.018)       | -0.011(0.026) | 1.3E-100     | 6.8E-01 | 0.609  |
| Грудной              | 0     | 0.00113 | 1.802(0.019)       | -0.006(0.026) | 2.8E-94      | 8.3E-01 | 0.561  |
| Сбитость             | 0     | 0.00048 | 2.060(0.012)       | -0.010(0.017) | 1.5E-116     | 5.5E-01 | 0.387  |
| Большеголовость      | 0     | 0.00039 | 1.522(0.011)       | 0.040(0.016)  | 9.4E-109     | 1.1E-02 | 0.827  |
| Массивность 1        | 0     | 0.00029 | 2.077(0.010)       | 0.010(0.014)  | 1.3E-126     | 4.6E-01 | 0.956  |
| Массивность 2        | 0     | 0.0014  | -2.055(0.021)      | 0.055(0.029)  | 3.2E-95      | 6.5E-02 | 0.374  |
| Узкотелость          | 0     | 0.00065 | 2.611(0.014)       | 0.001(0.020)  | 5.4E-120     | 9.8E-01 | 0.367  |

Примечание:  $h^2$  — наследуемость признака; var — дисперсия признака; intercept est(se) — размер эффекта интерсета на признак и его стандартное отклонение; age и age est(se) — размер эффекта возраста на признак и его стандартное отклонение; P.norm —  $p$ -значение теста нормальности; серым цветом выделены признаки, для которых обнаружена наследуемость.

**Таблица 4.**  $p$ -значения для  $F$ -статистик, вычисленных для пар локус—признак

| Промеры/индексы      | Rt30         | Rt1          | Rt9          | Rt7          | OheQ         | C217         | C32          |
|----------------------|--------------|--------------|--------------|--------------|--------------|--------------|--------------|
| Вес                  | 0.862        | 0.390        | 0.954        | 0.320        | 0.069        | 0.067        | 0.081        |
| Высота в холке       | 0.767        | 0.370        | 0.912        | 0.055        | 0.365        | 0.642        | 0.071        |
| Высота в локте       | 0.777        | 0.083        | 0.479        | <b>0.019</b> | 0.225        | 0.331        | 0.188        |
| Глубина груди        | 0.677        | 0.447        | 0.341        | 0.413        | 0.240        | 0.608        | 0.238        |
| Обхват груди         | 0.869        | 0.725        | 0.330        | 0.900        | 0.095        | 0.355        | 0.162        |
| Ширина груди         | 0.665        | 0.572        | 0.828        | 0.824        | 0.444        | 0.064        | 0.635        |
| Ширина в маклоках    | 0.601        | 0.755        | 0.527        | <b>0.047</b> | 0.385        | 0.242        | <b>0.037</b> |
| Косая длина туловища | 0.898        | 0.949        | 0.414        | 0.633        | <b>0.015</b> | 0.183        | <b>0.005</b> |
| Длина головы         | 0.112        | 0.239        | 0.515        | 0.598        | 0.266        | <b>0.023</b> | 0.248        |
| Длинноноготь         | 0.396        | <b>0.017</b> | <b>0.035</b> | 0.212        | 0.185        | 0.261        | 0.777        |
| Растянутость         | 0.635        | 0.750        | 0.093        | 0.169        | 0.637        | 0.088        | 0.354        |
| Тазо-грудной         | 0.973        | 0.329        | 0.649        | 0.868        | 0.763        | 0.301        | 0.234        |
| Грудной              | 0.267        | 0.641        | 0.687        | 0.780        | 0.862        | 0.099        | 0.716        |
| Сбитость             | 0.941        | 0.860        | <b>0.021</b> | 0.684        | 0.444        | 0.724        | 0.354        |
| Большеголовость      | <b>0.026</b> | 0.515        | 0.283        | 0.307        | 0.855        | <b>0.012</b> | 0.373        |
| Массивность 1        | 0.408        | 0.864        | 0.453        | 0.412        | 0.524        | 0.203        | 0.716        |
| Массивность 2        | 0.077        | 0.163        | 0.301        | 0.093        | 0.181        | <b>0.030</b> | 0.300        |
| Узкотелость          | 0.314        | 0.803        | 0.719        | 0.653        | 0.288        | 0.134        | 0.871        |

Примечание: представлены только те микросателлитные локусы, которые ассоциируют хотя бы с одним из признаков. Предполагается, что  $p$ -значения  $< 0.05$  соответствуют значимым ассоциациям между признаком и локусом. Жирным шрифтом выделены значимые эффекты локусов на признаки.

**Таблица 5.** Корреляции между промерами у важенок

|                      |      |                |              |                      |                |               |              |                   |
|----------------------|------|----------------|--------------|----------------------|----------------|---------------|--------------|-------------------|
| Высота в холке       | 0.7  |                |              |                      |                |               |              |                   |
| Обхват груди         | 0.79 | 0.57           |              |                      |                |               |              |                   |
| Косая длина туловища | 0.65 | 0.59           | 0.41         |                      |                |               |              |                   |
| Высота в локте       | 0.38 | 0.81           | 0.26         | 0.43                 |                |               |              |                   |
| Глубина груди        | 0.73 | 0.79           | 0.73         | 0.5                  | 0.38           |               |              |                   |
| Ширина груди         | 0.67 | 0.4            | 0.71         | 0.33                 | 0.37           | 0.67          |              |                   |
| Ширина в маклоках    | 0.64 | 0.5            | 0.52         | 0.46                 | 0.44           | 0.57          | 0.66         |                   |
| Длина головы         | 0.68 | 0.46           | 0.57         | 0.47                 | 0.44           | 0.68          | 0.22         | 0.3               |
|                      | Вес  | Высота в холке | Обхват груди | Косая длина туловища | Высота в локте | Глубина груди | Ширина груди | Ширина в маклоках |

по микросателлитным маркерам, из-за чего возможно выявление подобных корреляций.

### ЗАКЛЮЧЕНИЕ

С помощью корреляционно-регрессионного анализа промеров и индексов телосложения северных оленей из оленеводческого хозяйства Ямало-Ненецкого АО только для трех анализируемых признаков (высота в холке, глубина груди и индекс растянутости) выявлена наследуемость, объясняемая генетическим родством между животными. Установлено, что живая масса взрослых самок с учетом возраста и генетического родства между животными имеет высокую положительную корреляцию с высотой в холке, глубиной груди и обхватом груди. Анализ поиска ассоциаций, выполненный для каждой пары локус—признак с использованием поправки Бонферрони, не выявил значимых ассоциаций ни для одной из пар локус—признак, что подтверждает гипотезу о селективной нейтральности микросателлитов. Это дает возможность проводить исследования по идентификации пород независимо от факторов отбора и подбора пар, как по экстерьерным показателям, так и по STR-маркерам. Микросателлиты предположительно находятся в некодирующих участках ДНК и не влияют на приспособленность животных, их продуктивность и экстерьер, однако могут служить объективным инструментом как для оценки общего уровня гомозиготности популяции, так и для выявления приват-аллелей у отдельных групп животных.

### ФИНАНСИРОВАНИЕ

Работа выполнена при финансовой поддержке гранта РНФ № 22-16-00062 и частично в рамках государственных заданий Минобрнауки РФ “Изучение генофондов сельскохозяйственных животных” — АААА-А16-116111610182-7 и “Разработка фундамен-

тальных, методологических и технологических основ увеличения производства сельскохозяйственной продукции на Северо-Западе и в Арктической зоне РФ, обеспечивающие продовольственную и экологическую безопасности регионов” — 122041900025-6.

### КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют, что у них нет конфликта интересов.

### СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ СТАНДАРТОВ

Все применимые международные, национальные и/или институциональные принципы ухода и использования животных были соблюдены.

### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Деряженцев В., Шифнер К. Наследственность и коррелятивные связи некоторых хозяйственно-полезных признаков северных оленей / Науч. тр. Магадан. зон. НИИСХ Северо-Востока. 1978. Вып. 7. С. 4—11.
- Дьяченко Н. Рекомендации по племенной работе в северном оленеводстве. Норильск: НИИСХ Крайнего Севера, 1970. 82 с.
- Мухачев А. Морфологические особенности и мясная продуктивность северных оленей Полярного Урала: Дис. ... канд. биол. наук. М.: ВСХИЗО, 1968. 240 с.
- Рожков Ю., Проняев А. Коэффициент сходства между популяциями по количественным признакам и генотипам // С.-х. биол. 1992. № 6. 26—35.
- Семина М., Кашианов С., Бабаян О. и др. Анализ генетического разнообразия и популяционной структуры ненецкой аборигенной породы северных оленей на основе микросателлитных маркеров // Генетика. 2022. Т. 58 (8). С. 954—966.
- Югай В. Экстерьерные особенности северных оленей в условиях Ямала // Аграр. вестн. Урала. 2009. № 10 (64). С. 48—51.
- Южаков А. О наследуемости и повторяемости живой массы у северных оленей // Сиб. вестн. с.-х. науки. 2003. № 3 (149). С. 165—168.

- Южаков А., Романенко Т., Лайшев К. Феногеографическая изменчивость северных оленей ненецкой породы // Изв. СПб. гос. аграр. ун-та. 2017. № 2 (47). С. 115–122.
- Adamack A.T., Gruber B. PopGenReport: simplifying basic population genetic analyses in R // Meth. Ecol. Evol. 2014. V. 5 (4). P. 384–387.
- Agapow P.M., Burt A. Indices of multilocus linkage disequilibrium // Mol. Ecol. Notes. 2001. V. 1 (1–2). P. 101–102.
- Belonogova N.M., Svishcheva G.R., Axenovich T.I. FRE-GAT: an R package for region-based association analysis // Bioinformatics. 2016. V. 32 (15). P. 2392–2393. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btw160>
- Dodokhov V., Pavlova N., Rumyantseva T., Kalashnikov L. Genetic characteristics of the even breed of deer in Yakutia // IOP Conference Series: Earth and Environmental Science / Int. sci. and technol. conf. “Earth science”. Vladivostok, Russian Federation, 08–10 December, 2020. Vladivostok: IOP Publishing Ltd, 2021. V. 666 (2). Art. 032063.
- Goudet J. HIERFSTAT, a package for R to compute and test hierarchical F-statistics // Mol. Ecol. Notes. 2005. V. 5 (1). P. 184–186.
- Gruber B., Adamack A.T. Landgenreport: a new R function to simplify landscape genetic analysis using resistance surface layers // Mol. Ecol. Res. 2015. V. 15 (5). P. 1172–1178.
- Holand H., Kvalnes T., Røed K. H. et al. Stabilizing selection and adaptive evolution in a combination of two traits in an arctic ungulate // Evolution. 2020. V. 74 (1). P. 103–115.
- Jombart T. adegenet: a R package for the multivariate analysis of genetic markers // Bioinformatics. 2008. V. 24 (11). P. 1403–1405.
- Kamvar Z.N., Tabima J.F., Grünwald N.J. Poppr: an R package for genetic analysis of populations with clonal, partially clonal, and/or sexual reproduction // Peer J. 2014. V. 2. P. e281.
- Muuttoranta K., Holand Ø., Røed K.H. et al. Genetic and environmental effects affecting the variation in birth date and birth weight of reindeer calves // Rangifer. 2013. V. 33 (1). P. 25–35.
- Muuttoranta K., Holand Ø., Røed K.H. et al. Genetic variation in meat production related traits in reindeer (*Rangifer t. tarandus*) // Rangifer. 2014. V. 34 (1). P. 21–36.
- Muuttoranta K., Nieminen M., Mäki-Tanila A. Estimating maternal effects on growth of reindeer (*Rangifer t. tarandus*) // Proc. of the 9th World congress on genetics applied to livestock production, Leipzig, Germany, 1st–6th August, 2010. 2010. 4 p.
- Paradis E. Pegas: an R package for population genetics with an integrated-modular approach // Bioinformatics. 2010. V. 26 (3). P. 419–420.
- Stolpovsky Y.A., Babayan O., Kashtanov S. et al. Genetic evaluation of the breeds of reindeer (*Rangifer tarandus*) and their wild ancestor using a new panel of STR markers // Russ. J. Genet. 2020. V. 56 (12). P. 1469–1483.
- Svishcheva G., Babayan O., Sipko T. et al. Genetic differentiation between coexisting wild and domestic reindeer (*Rangifer tarandus* L. 1758) in Northern Eurasia // Genet. Res. 2022. V. 3 (6). P. 1–14.
- Wilson A.J., Kruuk L.E., Coltman D.W. Ontogenetic patterns in heritable variation for body size: using random regression models in a wild ungulate population // Am. Nat. 2005. V. 166 (6). P. E177–E192.

## Study of Correlations and Genetic Associations of Body Measurements in Female Reindeer (*Rangifer tarandus*) of the Nenets Breed

G. R. Svishcheva<sup>a, b, \*</sup>, M. T. Semina<sup>a</sup>, E. A. Konorov<sup>a</sup>, E. A. Nikolaeva<sup>a</sup>, S. N. Kashtanov<sup>a</sup>, K. A. Laishev<sup>a, c</sup>, A. A. Yuzhakov<sup>a, c, \*\*</sup>, and Yu. A. Stolpovsky<sup>a, \*\*\*</sup>

<sup>a</sup>Vavilov Institute of General Genetics, Russian Academy of Sciences, Moscow, Russia

<sup>b</sup>Federal Research Center, Institute of Cytology and Genetics, Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences, Novosibirsk, Russia

<sup>c</sup>St. Petersburg Federal Research Center, Russian Academy of Sciences, St. Petersburg, Russia

\*e-mail: gulsvi@mail.ru

\*\*e-mail: alyuzhakov@yandex.ru

\*\*\*e-mail: stolpovsky@mail.ru

The breeding potential of reindeer husbandry is determined by competent work with genetic resources; therefore, the study of the phenotypic traits of reindeer must be carried out in combination with the study of the features of their gene pools. In this work, we analysed the correlations and genetic associations of phenotypic traits in 98 female reindeer (*Rangifer tarandus*) of the Nenets breed aged from 3 to 9 years in a comparative aspect according to the main body measurements and physique indexes calculated from these measurements. A panel of 16 microsatellite loci (BMS1788, RT30, RT1, RT9, C143, RT7, OHEQ, FCB193, RT6, C217, RT24, C32, BMS745 NVHRT16, T40 and C276) was used for analysis. The search for associations between the genotype and phenotype of reindeer was performed using regression analysis; only for three phenotypic traits, height at the withers, chest depth and the index of prolixity, non-zero heritability was revealed. Using correlation analysis, it was found that the live weight of adult females, taking into account age and genetic relationship, has a high positive correlation with the height at the withers ( $r \approx 0.70$ ), chest girth ( $r \approx 0.79$ ) and chest depth ( $r \approx 0.73$ ).

**Keywords:** reindeer, measurements, physique indices, microsatellites, gene pool

УДК 591.53.036.531.1

## ОРГАНИЧЕСКИЙ КРЕМНИЙ В РАСТЕНИЯХ КАК ЛИМИТИРУЮЩИЙ ФАКТОР ПЕРЕВАРИМОСТИ КОРМОВ РАСТИТЕЛЬНОЯДНЫХ МЛЕКОПИТАЮЩИХ

© 2023 г. Б. Д. Абатуров<sup>1</sup>, \*, М. П. Колесников<sup>2</sup>, \*\*

<sup>1</sup>Институт проблем экологии и эволюции им. А.Н. Северцова РАН, Москва, Россия

<sup>2</sup>Институт биохимии им. А.Н. Баха РАН, Москва, Россия

\*e-mail: abaturovbd@mail.ru

\*\*e-mail: mpk200549@mail.ru

Поступила в редакцию 04.04.2023 г.

После доработки 25.04.2023 г.

Принята к публикации 08.05.2023 г.

Исследовано влияние органических форм кремния, содержащихся в тканях растений, на переваримость корма растительноядных млекопитающих. В процессе пищеварения усваивается крайне малая часть потребленного кремния, что позволяет использовать его в качестве индикатора переваримости растительного корма. Естественно содержащийся в растениях органический кремний снижает переваримость корма, ставит предел ферментации потребленного растительного субстрата и его структурных компонентов (клетчатки, лигнина). При увеличении доли кремния в потребленной растительности на единицу переваримость линейно снижается на одну треть или четверть. Предел ферментации устанавливается при содержании кремния в корме на уровне 3–4% сухой массы. Среди основных групп кормовых растений (злаки и разнотравье) количество кремния значительно выше в злаках (соответственно 1.70% и 0.91%). По этой причине переваримость злаков у всех сравниваемых животных (верблюды, лошади Пржевальского, бизоны, сайгаки) в 1.2–1.4 раза ниже, чем переваримость разнотравья. При увеличении доли злаков в корме на 1% переваримость корма у животных с разными типами пищеварения (жвачные, моногастричные) одинаково снижается в среднем на 0.16%. Разная переваримость злаков и разнотравья вызывает разделение травоядных по пищевой специализации. Потребители разнотравья (сайгаки) избегают потребления злаков и нежизнеспособны при их господстве в пастбищной растительности. Специфические особенности пищеварения злаковоядных (Лошадиные, Бычьи) обеспечивают повышенный объем потребления, компенсирующий пониженную переваримость злаков.

**Ключевые слова:** кремний, кремнийорганические соединения, растительные корма, растительноядные млекопитающие, переваримость растений, индикаторы переваримости

DOI: 10.31857/S0042132423050034, EDN: QWFUPU

### ВВЕДЕНИЕ

Переваримость корма — важнейший показатель качества пищи. Не так важно количество потребленного корма, как его усвоенная часть, зависящая от переваримости. Клетчатка — составная часть клеточной структуры растительных тканей — издавна используется как главный показатель качества корма растительноядных млекопитающих. Однако в настоящее время признано, что “сырая клетчатка дает лишь приблизительное представление о различиях в степени переваримости кормов” (Нормы и рационы..., 2003, с. 283). Известно, что помимо клетчатки (целлюлозы) важнейшими ограничителями переваримости растительного материала, в том числе самой клетчатки, выступают инертные, слабо переваримые лигнин и кремне-

зем. Кремний в разных физических и химических формах содержится в структурных субстанциях растительных клеток, прежде всего в клеточных стенках и, соответственно, во всех частях растений (листья, стебли, корни, кора, генеративные части) (Колесников, 2001; Handreck, Jones, 1968; Shewmaker et al., 1989). Количество кремния неодинаково в разных частях и видах растений, меняется в зависимости от их фенологического состояния (возраста), что ощутимо отражается на переваримости кормов. Показано, что при увеличении содержания кремния в сухой массе растений переваримость снижается в соотношении три единицы на единицу кремния (Van Soest, Jones, 1968).

Кремний, содержащийся в тканях растений, слабо переварим, при прохождении через пищеварительный тракт почти в том же количестве вы-

деляется с неперевавленными остатками, что позволило использовать его в качестве индикатора переваримости (Gallup et al., 1929, 1945; Jones, Handreck, 1965). Однако применение кремния с этой целью требовало специального химического анализа, отделяющего его естественные органические формы от минеральных, поступающих в корм с почвой и пылью. Отсутствие пригодного химического анализа заставило отказаться от использования кремния как индикатора переваримости (Ефимов, 1935; Пшеничный и др., 1935; Van Soest, Jones, 1968; Streeter, 1969). Появление в настоящее время пригодного метода анализа, разработанного М.П. Колесниковым (Колесников, Абатуров, 1997; Колесников, 2001; Гинс и др., 2012) дало возможность использовать кремний в качестве индикатора переваримости кормовых растений (Абатуров и др., 1997, 2003).

Степень переваримости растительных кормов зависит от количества кремния в кормовой растительности, которое в свою очередь меняется в широких пределах в разных растениях. Возникает необходимость понять, как и в какой степени переваримость растительного корма зависит от содержания в нем органических форм кремния и от состава различающихся содержанием кремния потребляемых растений. Оценим с этой целью зависимость переваримости растений от содержания в них кремния и переваримость корма (рациона) — от состава разных по содержанию кремния растений в питании нескольких видов млекопитающих, различающихся спецификой пищеварения.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Определение в течение ряда лет (1996–2018 гг.) содержания кремния в пастбищных растительных кормах (в качестве индикатора переваримости) позволило накопить массовый материал по усвоению (коэффициенту переваримости) кормовой растительности несколькими видами млекопитающих (сайгак *Saiga tatarica*, двугорбый верблюд *Camelus bactrianus*, лошадь Пржевальского *Equus przewalskii*, американский бизон *Bison bison*), а также оценить содержание органических форм кремния в разных видах и группах пастбищных растений. В процессе выполнения этих работ в каждой географической точке (месте) исследований одновременно попарно отбирали образцы поедаемых растений свободно пасущимися подопытными животными и выделяемых ими неперевавленных остатков (кала) с последующим определением содержания в них органических форм кремния. За весь период работ были проведены определения для 28 парных образцов потребления и выделения кремния сайгаками, 20 — верблюдами, 17 — лошадьми Пржевальского и 7 — полуволовыми бизонами. Сбор образцов от пасущихся сайгаков проведен на естественных пастбищах сухих степей и полу-

пустынь Северного и Северо-Западного Прикаспия в Волгоградской обл., Республике Калмыкия, Приманьчских огороженных пастбищах Ассоциации “Живая природа степи” (охранная зона Ростовского биосферного заповедника) в течение 1996–2018 гг.; а также от верблюдов, лошадей Пржевальского и бизонов на пастбищах Ассоциации “Живая природа степи” в 2012–2018 гг. (Абатуров и др., 1997, 1998, 2008, 2015, 2019; Ларионов и др., 2008; Казьмин и др., 2016; Джапова и др., 2020).

Состав потребляемых видов растений и их соотношение в кормовой массе определены на основе микрогистологического кутикулярного анализа фекалий животных (Абатуров и др. 2003), широко применяемого в настоящее время при изучении питания растительноядных млекопитающих (Storr, 1961; Scotcher, 1979; Holechek et al., 1982; Chapuis et al., 2001; и др.). Для идентификации кутикулярных фрагментов в клеточной структуре анализируемых образцов растений и фекалий использованы атласы фотографий микрогистологической клеточной структуры растений, распространенных на исследуемых пастбищах (Розенфельд, 2011; Джапова и др., 2019).

Определение переваримости выполнено прямым методом по соотношению естественных инертных (непереваримых) маркеров в потребленном корме (рационе) и фекалиях (Абатуров и др., 2003). В качестве маркера использован органический кремний поедаемых растений (Streeter, 1969). Анализ количественного содержания кремния проведен на основе кислотного ( $\text{HNO}_3$ ) гидролиза образцов растений и фекалий с использованием колориметрического метода кремнемолибденовой сини (Колесников, Абатуров, 1997; Колесников 2001; Гинс и др., 2012; Абатуров, 2021). Анализ исключает посторонний кремний, поступающий в корм из окружающей среды (с почвой и пылью). Для оценки содержания кремния в съеденном корме использовали его средневзвешенное содержание в рационе путем учета доли потребленных видов растений и концентрации кремния в каждом из них. Коэффициент переваримости сухого вещества корма ( $D$ , %) и отдельных питательных веществ ( $D'$ , %) рассчитан по формулам:

$$D = (1 - v/f) \times 100; \quad D' = 100 - (100 \times v/f \times a/b),$$

где  $v$  и  $f$  — содержание кремния соответственно в корме и в фекалиях,  $a$  и  $b$  — содержание исследуемого питательного вещества соответственно в фекалиях и в корме.

## РЕЗУЛЬТАТЫ

### *Кремний и переваримость растений*

Анализ материалов по питанию исследованных видов млекопитающих (сайгак, двугорбый

верблюд, лошадь Пржевальского), различающихся спецификой пищеварения, показал отрицательную, одинаковую по величинам связь переваримости с количеством кремния в съеденном растительном корме (рис. 1). Эта зависимость описывается близкими по значениям уравнениями регрессии соответственно для сайгака (1), верблюда (2), лошади Пржевальского (3), а также для их объединенной группировки с включением бизона (4):

$$y = -24.502x + 92.399, \quad (1)$$

$$y = -29.372x + 100.74, \quad (2)$$

$$y = -21.02x + 89.005, \quad (3)$$

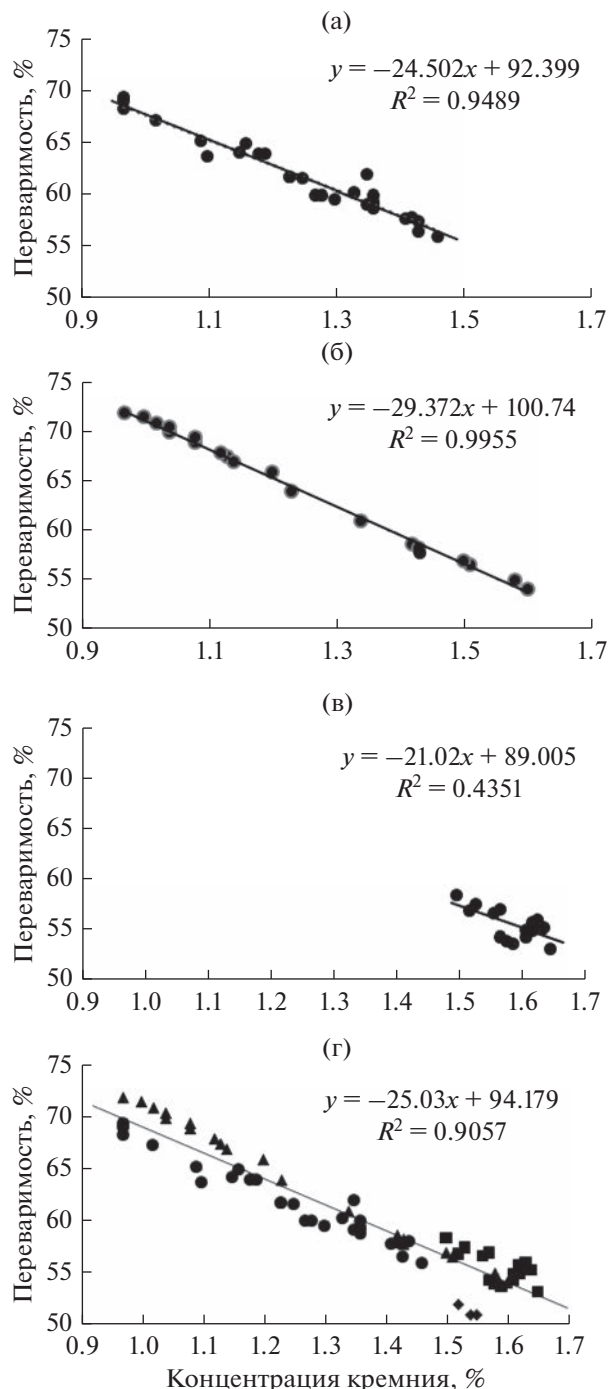
$$y = -25.03x + 94.179, \quad (4)$$

где  $y$  — коэффициент переваримости корма (%),  $x$  — содержание кремния в корме (%).

При условном исключении кремния из уравнений ( $x = 0$ ), расчетная (условная) переваримость достигает предела у всех видов (89–100%). Для объединенной группы животных в среднем она равна 94%. Характерно, что изменение переваримости в расчете на единицу кремния у разных животных колеблется от 21.0 до 29.4%, а в среднем, для объединенной группы, составляет 25.0%. Доля этой величины по отношению к отмеченной выше условной переваримости у всех видов постоянна и колеблется от 3.43 до 4.23, а для объединенной группы составляет 3.76 единицы. То есть при увеличении содержания кремния в корме на единицу переваримость сухого вещества корма снижается почти на четыре единицы (точнее, 3.76). Очевидно, переваримость под влиянием кремния у данной группы млекопитающих изменяется на одну треть или на четверть при смене кремния на единицу. Заметим, что по оценкам Ван Соеста и Джонса (Van Soest, Jones, 1968) переваримость разных растений изменялась в соотношении 3 единицы на единицу кремния, то есть почти так же.

Добавим к сказанному, что при широкой изменчивости содержания кремния в потребляемых растениях (от 0.6 до 2.0%) его количество в фекалиях (непереваренных остатках) во всех случаях, в том числе у всех видов животных, относительно постоянно и колеблется в пределах всего 3.10–3.80% (табл. 1). Очевидно, эти значения в органической субстанции корма отражают пороговую (предельную) величину содержания кремния, ограничивающую дальнейшую ферментацию корма и отражающую его переход в формат непереваренных остатков (фекалий).

Помимо кремния известным ограничителем переваримости растений выступает лигнин. При определении переваримости с одновременным использованием в качестве маркеров лигнина и кремния ее оценки в том и другом случаях были близкими и практически не отличались от измеренной стандартным балансовым методом (табл. 2). Оче-



**Рис. 1.** Зависимость переваримости корма от содержания органогенного кремния в рационе свободно-пасущихся сайгаков (а); верблюдов (б), лошади Пржевальского (в); объединенной группировки животных (г) на степном пастбище. Метки объединенной группировки: ▲ — верблюды, ● — сайгаки, ■ — лошади Пржевальского, ◆ — бизоны (по: Абатуров, 2021).

видно, их совместная оценка переваримости имеет, как было отмечено Ван Соестом и Джонсом (Van Soest, Jones, 1968), аддитивный характер.

**Таблица 1.** Содержание органических форм кремния в корме и в фекалиях. Среднее ( $\bar{x} \pm S_{\bar{x}}$ ) за 2015–2016 гг. (по: Абатуров и др., 2019)

| Животные             | Сезон года                | Содержание органогенного кремния, % |                        | Переваримость съеденного корма, % |
|----------------------|---------------------------|-------------------------------------|------------------------|-----------------------------------|
|                      |                           | в рационе ( $n = 7$ )               | в фекалиях ( $n = 6$ ) |                                   |
| Верблюды             | Весна (апрель)            | $1.50 \pm 0.20$                     | $3.43 \pm 0.02$        | $56.2 \pm 5.8$                    |
|                      | Лето (июнь, июль)         | $1.15 \pm 0.18$                     | $3.49 \pm 0.01$        | $67.0 \pm 5.1$                    |
|                      | Осень (сентябрь, октябрь) | $1.09 \pm 0.19$                     | $3.53 \pm 0.02$        | $69.1 \pm 5.34$                   |
| Лошади Пржевальского | Весна (апрель)            | $1.64 \pm 0.10$                     | $3.61 \pm 0.03$        | $54.6 \pm 2.8$                    |
|                      | Лето (июнь, июль)         | $1.55 \pm 0.21$                     | $3.61 \pm 0.03$        | $57.1 \pm 5.7$                    |
|                      | Осень (сентябрь, октябрь) | $1.59 \pm 0.23$                     | $3.67 \pm 0.01$        | $56.7 \pm 6.21$                   |
| Сайгаки              | Весна (апрель)            | $1.39 \pm 0.18$                     | $3.31 \pm 0.02$        | $58.0 \pm 5.4$                    |
|                      | Лето (июнь, июль)         | $1.19 \pm 0.1$                      | $3.37 \pm 0.01$        | $64.7 \pm 2.9$                    |
|                      | Осень (сентябрь, октябрь) | $1.27 \pm 0.12$                     | $3.22 \pm 0.02$        | $60.5 \pm 3.7$                    |

**Таблица 2.** Переваримость корма (%), определенная разными методами (по: Абатуров и др., 2003)

| Животные             | Пол   | Кормовое растение                 | Балансовый метод | Метод инертных индикаторов |        |
|----------------------|-------|-----------------------------------|------------------|----------------------------|--------|
|                      |       |                                   |                  | кремний                    | лигнин |
| Сайгаки              | Самец | Латук татарский (листья, побеги)  | 55.4             | 55.2                       | 54.7   |
|                      |       | Вяз мелколистный (листья)         | 57.2             | 56.1                       | 55.9   |
| Овцы                 | Самка | Вяз мелколистный (листья)         | 59.8             | 56.7                       | 58.5   |
|                      | Самка | Вяз мелколистный (листья, побеги) | 57.1             | 56.4                       | —      |
|                      | Самка | Вяз мелколистный (листья, побеги) | 59.1             | 56.0                       | —      |
| Лошади Пржевальского | Самец | Зеленые злаки (пырей) и осоки     | 48.7             | 51.9                       | 52.3   |
|                      | Самка | Зеленые злаки (пырей) и осоки     | 48.6             | 51.8                       | 51.6   |

Таким образом, именно кремний, содержащийся в структурных компонентах кормовой растительности, в рассматриваемых случаях определяет степень переваримости потребленного животными растительного корма и устанавливает (ограничивает) ее предел. Следует признать, что кремний выполняет функцию ограничителя переваримости не только в целом для всего растительного субстрата, но и для его отдельных органических компонентов, в том числе для клетчатки (целлюлозы) и для лигнина, с каждым из которых находится в форме органических соединений (Колесников, 2001). Возможно, функции клетчатки и лигнина, широко используемые в качестве показателей качества (переваримости), обязаны именно лимитирующему действию содержащегося в них кремния.

#### *Кремний и переваримость кормовых злаков и разнотравья*

Содержание кремния в разных видах растений изменяется в больших пределах, что отражается

на неоднородности показателей переваримости разных видов и групп кормовых растений. В настоящее время пастбищные растительные корма разделяют на различающиеся по кормовым свойствам группы: злаковые (grasses), веточные древесно-кустарниковые (browse) и разнотравье (forbs) (Калашников и др., 1985; Holechek, 1984; Hofmann, 1989, 1991; The ecology of ..., 2008). Злаковая пастбищная группа представлена однодольными растениями и включает преимущественно представителей сем. Злаков и Осок; веточные включают в основном кустарниковые и древесные жизненные формы растений; разнотравье состоит из двудольных травянистых растений. Злаковые растения и разнотравье составляют основу рассматриваемых нами пастбищных кормовых растений.

Для злаков характерна система механических тканей с продольными волокнистыми структурами. Их клеточная структура отличается повышенной прочностью клеточных оболочек, инкрустированных и пропитанных солями кремния, кальция. Все это придает злаковым растениям повышенную

прочность и устойчивость к внешнему механическому воздействию. Двудольные травянистые растения (разнотравье) отличаются от злаков полигональной структурой тканей, более низкой инкрустацией клеточных стенок кремнеземом и лигнином, и все это вместе приводит к пониженной прочности растительной ткани, меньшему сопротивлению на механическое воздействие (жвачку травоядных) и обеспечивает более высокую переваримость (Калашников и др., 1985; Clauss et al., 2008).

Вместе с тем наиболее значимое различие между злаками и разнотравьем связано с неодинаковым количеством кремнезема в их тканях, что отражается на их переваримости. Злаки отличаются повышенным содержанием кремния (Колесников, 2001; Van Soest, Jones, 1968; Clauss et al., 2008). Действительно, в выборке из 33 видов степных злаков и разнотравья, включающей 107 кормовых образцов, среднее содержание кремния в кормовом наборе злаков было ощутимо выше, чем в разнотравье (соответственно 1.71 и 0.91%) (табл. 3). Заметим, что содержание другого инертного соединения — лигнина, также используемого в качестве индикатора переваримости, в злаках лишь незначительно выше, чем в разнотравье (19.5 и 18.2%) (Абатуров, 2021). Хотя считается, что злаки вообще уступают разнотравью по содержанию лигнина (Clauss et al., 2008). Понятно, что относительно высокое содержание кремния в злаках служит причиной их пониженной переваримости и, наоборот, более низкое содержание кремния в разнотравье определяет повышенную переваримость этих кормов.

Разница в переваримости злаков и разнотравья в итоге отражается на переваримости потребляемого растительного корма. Регрессионный анализ показал тесную отрицательную связь между переваримостью корма и обилием в нем злаков (рис. 2). У сайгаков (1), верблюдов (2), лошадей Пржевальского (3), а также в их объединенной группировке (с включением бизона) (4) она описывается следующими уравнениями регрессии:

$$\begin{aligned} y &= -0.1723x + 67.185 \\ R^2 &= 0.724; \quad p < 0.01; \quad n = 30, \\ y &= -0.1678x + 71.12 \\ R^2 &= 0.851; \quad p < 0.01; \quad n = 23, \\ y &= -0.1143x + 66.141 \\ R^2 &= 0.500; \quad p < 0.05; \quad n = 23, \\ y &= -0.155x + 68.277 \\ R^2 &= 0.743; \quad p < 0.01; \quad n = 83, \end{aligned} \quad (1) \quad (2) \quad (3) \quad (4)$$

где  $y$  — коэффициент переваримости потребленного корма (%),  $x$  — доля злаков в потребленном корме (%),  $R^2$  — коэффициент детерминации,  $p$  — уровень статистической значимости,  $n$  — число наблюдений.

Из уравнений следует, что при изменении доли злаков в составе рациона у сравниваемых животных, отрицательно и почти в равной мере линейно меняется переваримость съеденного корма. При увеличении доли злаков в корме на 1% (единицу) доля переваренного корма снижается у разных видов на 0.114–0.172% (единиц), в объединенной группе в среднем на 0.155% (единиц). Легко рассчитать, что при условном исключении (из уравнения) злаков ( $x = 0$ , то есть корм состоит только из разнотравья) переваримость у всех животных максимальна и сходна (66.1–71.1%). И, наоборот, если корм состоит только из злаков ( $x = 100$ ), переваримость ощутимо снижена (49.9–54.7%). При этом условная переваримость разнотравья в этом случае у разных животных будет в 1.21–1.38 раза выше, чем злаков.

Примечательно, что при другой форме расчета переваримости злаков и разнотравья, а именно по уравнениям связи переваримости с количеством кремния в растениях (рис. 1) и по содержанию кремния отдельно в злаках и в разнотравье (табл. 3), показатели переваримости злаков и разнотравья остаются практически теми же: разнотравье 69.9–74.0%, злаки 50.7–53.3%. Соответственно переваримость разнотравья превышает злаки в 1.31–1.45 раза. Так или иначе, переваримость злаков во всех случаях (у всех сравниваемых животных) в 1.2–1.4 раза ниже, чем переваримость разнотравья. Вероятно, злаки за счет более высокого содержания в них кремния, заметно менее переваримы по сравнению с разнотравьем. Безусловно, от обилия злаков в рационе ощутимо меняется и переваримость потребляемого корма.

## ОБСУЖДЕНИЕ

Инертные, слабо переваримые, химические соединения, как естественно содержащиеся в растительных тканях (лигнин, кремнезем), так и искусственно вносимые в корм (окись хрома, сульфат бария и др.), применяемые в качестве индикаторов переваримости корма, обычно воспринимаются как посторонние, структурно и функционально не связанные с органической субстанцией растительного корма. В этом случае функциональная роль этих соединений в биологических процессах, в том числе в пищеварительной ферментации корма, обычно не принимается во внимание. Что касается кремния, то на самом деле он выступает постоянным и необходимым компонентом клеток и органов растений, химически связан с органическими субстанциями растительных тканей, участвует в их функционировании. Более того, кремний усваивается организмом животных, является обязательным и необходимым элементом в их метаболизме и функционировании (Воронков, Лукевич, 1969; Воронков, Кузнецов, 1984; Колесников, 2001; Van Soest, Jones, 1968). В рассматриваемом нами

**Таблица 3.** Содержание органогенного кремния в кормовой массе злаков и разнотравья на степных пастбищах (% от абсолютно сухой массы)

| Растения                                                                                                                                | Содержание Si, %          |           |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------|-----------|
|                                                                                                                                         | $\bar{x} \pm S_{\bar{x}}$ | <i>n</i>  |
| <b>Злаки (Grasses)</b>                                                                                                                  |                           |           |
| Житняки ( <i>Agropyron cristata</i> , <i>A. desertorum</i> )                                                                            | 1.85 ± 0.038              | 11        |
| Пырей ( <i>Elytrigia repens</i> )                                                                                                       | 1.71 ± 0.699              | 2         |
| Типчак ( <i>Festuca valesiaca</i> )                                                                                                     | 1.71 ± 0.073              | 7         |
| Мятлик луковичный ( <i>Poa bulbosa</i> )                                                                                                | 1.58 ± 0.025              | 6         |
| Ковыли ( <i>Sipa sareptana</i> , <i>S. capillata</i> )                                                                                  | 1.55 ± 0.069              | 3         |
| Тонконог ( <i>Koeleria cristata</i> )                                                                                                   | 1.59 ± 0.049              | 2         |
| Острец ( <i>Leymus ramosus</i> )                                                                                                        | 1.84 —                    | 1         |
| Осока ( <i>Carex stenophylla</i> )                                                                                                      | 1.50 ± 0.06               | 2         |
| <b>Среднее для злаков</b>                                                                                                               | <b>1.70 ± 0.03</b>        | <b>34</b> |
| <b>Разнотравье (Forbs)</b>                                                                                                              |                           |           |
| Прутьяк простертый ( <i>Kochia prostrata</i> )                                                                                          | 1.13 ± 0.106              | 9         |
| Лебеда ( <i>Atriplex tatarica</i> , <i>A. prostrata</i> , <i>A. aucheu</i> )                                                            | 0.91 ± 0.120              | 5         |
| Бассия ( <i>Bassia sedodes</i> )                                                                                                        | 0.85 ± 0.219              | 2         |
| Петросимония трехтычинковая ( <i>Petrosimonia triandra</i> )                                                                            | 0.91 ± 0.13               | 3         |
| Солянка лиственничная ( <i>Salsola laricina</i> )                                                                                       | 0.75 ± 0.125              | 4         |
| Биоргун ( <i>Anabasis salsa</i> )                                                                                                       | 1.11 ± 0.360              | 2         |
| Ромашник тысячелистниковый ( <i>Tanacetum achilleifolium</i> )                                                                          | 0.91 ± 0.066              | 3         |
| Тюльпан Биберштейна ( <i>Tulipa biebersteiniana</i> )                                                                                   | 0.45 ± 0.018              | 4         |
| Ферула каспийская ( <i>Ferula caspica</i> )                                                                                             | 1.03 ± 0.284              | 2         |
| Кермек сарептский ( <i>Limonium sareptanum</i> )                                                                                        | 0.81 ± 0.086              | 7         |
| Полыни ( <i>Artemisia pauciflora</i> , <i>A. austriaca</i> , <i>A. lerchiana</i> )                                                      | 1.00 ± 0.055              | 10        |
| Грудница волосистая ( <i>Galatella villosa</i> )                                                                                        | 0.80 ± 0.041              | 10        |
| Резак обыкновенный ( <i>Falcaria vulgaris</i> )                                                                                         | 0.45 ± 0.018              | 4         |
| Лапчатка двулистная ( <i>Potentilla bifurca</i> )                                                                                       | 0.63 ± 0.11               | 2         |
| Рогач песчаный ( <i>Ceratocarpus arenarius</i> )                                                                                        | 1.12 —                    | 1         |
| Сем. Крестоцветные ( <i>Descurainia sophii</i> , <i>Lepidium perfoliatum</i> , <i>Sisymbrium loeselii</i> , <i>Erysimum canescens</i> ) | 1.39 ± 0.520              | 7         |
| <b>Среднее для разнотравья</b>                                                                                                          | <b>0.91 ± 0.035</b>       | <b>74</b> |

случае кремний является важным фактором, влияющим на переваримость кормовых растений. Он тем или иным путем ограничивает и ставит предел ферментации потребленного растительного материала. Механизмы этих форм влияния, очевидно, пока не ясны. Возможно, с одной стороны, кремний служит “сшивающим” агентом молекулярных структур, вызывает инкрустацию клеточной стенки, обеспечивая этим ее механическую прочность и устойчивость к пищеварительным ферментам, с другой — обладает возможным целлюлолитическим эффектом (Van Soest, Jones, 1968; Колесников, 2001).

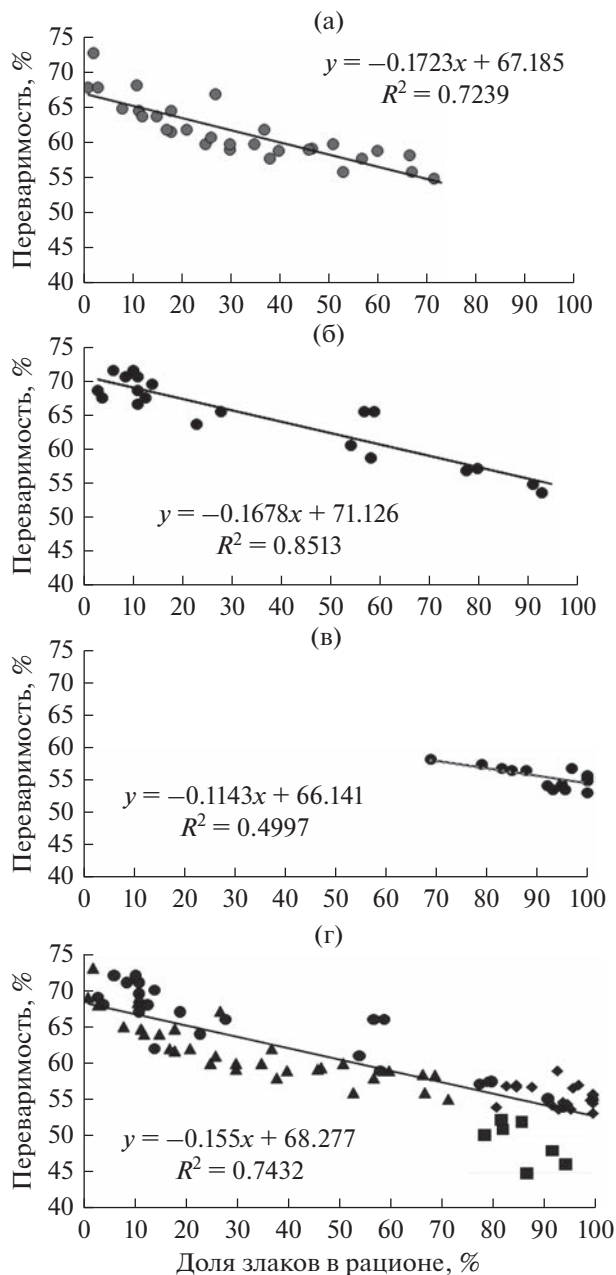
Все это, прежде всего усвоение и метаболизация животными органических форм кремния, казалось бы, противоречит возможности его ис-

пользования в качестве индикатора переваримости. Однако, как было показано, животные усваивают (ассимилируют) лишь крайне малую долю потребленных кремнийорганических соединений, поступающих с кормом. Подавляющая их часть (92–99%) не усваивается животными и остается в неперевааренном кормовом остатке, сохраняя тем самым функции индикатора переваримости. По имеющимся оценкам у сайгаков возврат кремния с неперевааренными остатками изменялся в пределах 97.7–99.5%, у овец — 92.9–98.3% от потребленного его количества, у лошадей Пржевальского — около 100% (Абатуров и др., 1997, 2003). При этом у сайгаков из 10.4 г потребленного в сутки кремнезема усваивалось всего 100 мг, у овец со-

ответственно из 11.0–12.9 г потребленного кремния — лишь 190–900 мг. Известно, что человеку в сутки требуется всего 20–50 мг биофильного  $\text{SiO}_2$ . Очевидно, существуют механизмы, блокирующие более высокое усвоение животными токсичного по свойствам органогенного кремния (аналогичные апоферритину слизистой оболочки кишечника, блокирующему избыточное всасывание железа). Именно такое столь ограниченное усвоение потребленного кремния позволяет с полным правом использовать кремний в качестве индикатора переваримости кормовой растительности, с одной стороны, и, с другой, — объясняет его функциональную роль как ограничителя переваримости растительных компонентов корма, в том числе самой клетчатки и других химических компонентов, с которыми кремний находится в органической связи.

Важнейшее функциональное свойство кремния в растительных кормах проявляется в его отрицательном влиянии на переваримость растительного субстрата. Степень усвоения (переваримости) растительного корма по отношению к единице кремния, содержащегося в растительной субстанции, одинакова у разных видов трав и животных. Вместе с тем содержание кремния в разных растениях и связанная с ним переваримость изменяется в широких пределах. Пастбищные травянистые растения по этому показателю отчетливо разделяются на две группы: злаки (однодольные растения) и разнотравье (двудольные). Первые богаче кремнием, вторые заметно им обеднены. Соответственно, злаки менее переваримы, чем разнотравье. Как выше показано, при увеличении доли злаков в корме на 1% (единицу) доля переваренного корма снижается у разных животных в среднем на 0.15% (единиц). Именно по этой причине для переваримости травоядных млекопитающих характерна практически в равной мере отрицательная зависимость от доли злаков в потребляемом корме.

В свою очередь разная переваримость злаков и разнотравья вызывает разделение травоядных по типам питания и пищевой специализации на несколько групп. Выделяются потребители преимущественно разнотравья, в том числе кустарниковых и древесных растений (browsers), и потребители в основном злаков (grazers) (Holechek, 1984; Hofmann, 1991). Потребители разнотравья, к которым относятся, в частности, сайгаки, избегают потребления злаков и нежизнеспособны при их господстве в пастбищной растительности (Абатуров, Джапова, 2015). Злаководные, в основном крупные по размерам животные, предпочитают злаки, несмотря на их низкую переваримость. Большой по размерам рубец у жвачных (Бычьи), заднекишечный тип ферментации у лошадей обеспечивает им повышенный объем потребления, компенсирующий пониженную переваримость при



**Рис. 2.** Зависимость переваримости корма от доли злаков в рационе сайгаков (а), верблюдов (б), лошадей Пржевальского (в) и объединенной группировки (г) на степных пастбищах Северного и Северо-Западного Прикаспия и Кумо-Манычской впадины в 1996–2016 гг. Метки объединенной группировки: ▲ — сайгаки, ● — верблюды, ◆ — лошади Пржевальского, ■ — бизоны (по: Абатуров и др., 2019).

доминировании злаков в пастбищных кормах. Кроме того, предпочтение в выборе злаков вызвано высокой токсичностью многих представителей разнотравья, которая отсутствует среди злаков (Абатуров, Скопин, 2019).

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Кремний химически связан с органическими компонентами растительной ткани, в разных физических и химических формах содержится в структурных субстанциях растительных клеток, прежде всего в клеточных стенках. Органические формы кремния оказывают лимитирующее воздействие на пищеварительную ферментацию растительного корма. Переваримость корма у растительноядных млекопитающих тесно и отрицательно связана с количеством кремния в растительном материале. Увеличение содержания кремния на единицу сопровождается снижением переваримости у травоядных млекопитающих в среднем на 3–4 единицы. Предел усвоения корма у разных видов млекопитающих устанавливается при содержании кремния, равном 3.10–3.80%, то есть до значений, близких к его содержанию в переваренных остатках.

Содержание кремния в субстрате большинства видов кормовых растений меняется в больших пределах (0.5–2.0%). Повышенным содержанием кремния (в среднем 1.70%) отличаются однодольные растения (злаки). В двудольных растениях (разнотравье) содержание кремния существенно ниже (0.91%). В соответствии с этим, злаки менее переваримы, разнотравье превышает переваримость злаков в 1.3–1.4 раза.

Переваримость корма тесно и отрицательно связана с долей злаков в потребленном животными растительном корме. Увеличение доли злаков в потребленной растительности на 1% сопровождается линейным снижением переваримости в среднем на 0.16%. Изменение переваримости одинаково у животных с разными типами пищеварения (жвачные, моногастричные).

Кремний в форме органических соединений присутствует во всех структурных субстанциях растительности, является необходимым элементом для функционирования живых организмов, усваивается в процессе пищеварения животными — потребителями растительности. Однако доля усвоенного кремния крайне мала, не превышает немногих единиц или долей процентов от потребленного с кормом. Остальная неусвоенная часть потребленного кремния сохраняется в корме и практически в прежнем количестве возвращается с переваренной частью корма. Эта особенность потребленного животными кремния позволяет, с одной стороны, использовать его в качестве естественного индикатора (меры) переваримости кормовой растительности, с другой, — объясняет его функциональную роль как ограничителя переваримости растительных компонентов корма, в том числе самой клетчатки и других химических компонентов, с которыми находится в органической связи.

## БЛАГОДАРНОСТИ

Авторы искренне признательны Р.Р. Джаповой, Е.Ч. Аюшевой, В.В. Джаповой (Калмыцкий государственный университет), О.Г. Бембеевой (Институт комплексных исследований аридных территорий, г. Элиста), В.Д. Казмину (Ростовский государственный заповедник) за постоянное участие в совместных работах по грантам РФФИ, материалы которых легли в основу настоящей статьи, а также директору Ростовского государственного заповедника Л.В. Клец и научному руководителю заповедника А.Д. Липковичу, руководителям Ассоциации “Живая природа степи” (Ростовская обл.) В.И. Данькову и Н.И. Медяникову, руководителям Джангубекского стационара Института лесоведения РАН М.Л. Сиземской и М.К. Сапанову за создание благоприятных условий для полевых исследований.

## КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

## СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ СТАНДАРТОВ

Настоящая статья не содержит каких-либо исследований с участием людей и животных в качестве объектов изучения.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Абатуров Б.Д. Питание и кормовые ресурсы диких растительноядных млекопитающих в степных экосистемах. М.: Тов-во науч. изд. КМК, 2021. 208 с.
- Абатуров Б.Д., Джапова Р.Р. Кормовая обеспеченность и состояние сайгаков (*Saiga tatarica*) на степных пастбищах с разным соотношением злаков и разнотравья // Изв. РАН. Сер. биол. 2015. № 2. С. 207–214.
- Абатуров Б.Д., Скопин А.Е. Злаки и разнотравье на степных пастбищах, их токсические свойства и сравнительная роль в питании растительноядных млекопитающих // Журн. общей биол. 2019. Т. 80 (3). С. 226–237.
- Абатуров Б.Д., Колесников М.П., Лихнова О.П. и др. Использование лигнина и кремния кормовой растительности в качестве индикаторов переваримости для количественной оценки потребления пищи свободнопасущимися сайгаками // Зоол. журн. 1997. Т. 76 (1). С. 104–113.
- Абатуров Б.Д., Петрищев Б.И., Колесников М.П., Субботин А.Е. Сезонная динамика кормовых ресурсов и питание сайгака на естественном пастбище в полупустыне // Успехи соврем. биол. 1998. Т. 11 (5). С. 564–584.
- Абатуров Б.Д., Колесников М.П., Никонова О.А., Позднякова М.К. Опыт количественной оценки питания свободнопасущихся млекопитающих в естественной среде обитания // Зоол. журн. 2003. Т. 82 (1). С. 104–114.
- Абатуров Б.Д., Ларионов К.О., Джапова Р.Р., Колесников М.П. Качество кормов и обеспеченность сайгаков (*Saiga tatarica*) пищей в условиях восстановитель-

- ной смены растительности на Черных землях Калмыкии // Зоол. журн. 2008. Т. 87 (12). С. 1524–1530.
- Абатуров Б.Д., Казьмин В.Д., Колесников М.П. Питание бизонов (*Bison bison*), верблюдов (*Camelus bactrianus*) и лошадей (*Equus caballus*) при совместной пастбе на изолированном степном пастбище // Зоол. журн. 2015. Т. 94 (12). С. 1470–1478.
- Абатуров Б.Д., Джапова Р.Р., Казьмин В.Д. и др. Сравнительные особенности питания лошади Пржевальского *Equus przewalskii*, двугорбого верблюда *Camelus bactrianus* и сайгака *Saiga tatarica* на степном изолированном пастбище // Изв. РАН. Серия биол. 2019. № 6. С. 625–639.
- Воронков М.Г., Лукевиц Э.Я. Биологически активные соединения кремния // Успехи химии. 1969. Т. XXXVIII. Вып. 12. С. 2173–2177.
- Воронков М.Г., Кузнецов И.Г. Кремний в живой природе // Изв. СО АН СССР. Серия: История, филол. и философия. 1984. 157 с.
- Гинс М.С., Колесников М.П., Гинс В.К., Кононков П.Ф. Методика анализа органической и минеральных (растворимой и полимерной) форм кремния в овощных культурах. М.: РУДН, 2012. 38 с.
- Джапова Р.Р., Аюшева Е.Ч., Бембеева О.Г. и др. Атлас эталонных образцов кутикулярной структуры эпидермиса различных видов растений степной и пустынной зон. Элиста: Изд-во Калм. ун-та, 2019. 94 с.
- Джапова В.В., Бембеева О.Г., Аюшева Е.Ч. и др. Кормовая избирательность полувольных бизонов (*Bison bison*) в дерновиннозлаковой степи долины западного Маныча // Аридн. экосистемы. 2020. Т. 26. № 4 (85). С. 59–65.
- Ефимов Ф.Ф. Определение переваримости кормов с помощью кремнекислоты // Пробл. животноводства. 1935. Вып. 9. С. 116–118.
- Казьмин В.Д., Абатуров Б.Д., Демина О.Н., Колесников М.П. Кормовые ресурсы и питание полувольных бизонов (*Bison bison*) на степном пастбище долины западного Маныча // Зоол. журн. 2016. Т. 95 (2). С. 234–244.
- Калашиников А.П., Клейменов Н.И., Баканов В.И. и др. Нормы и рационы кормления сельскохозяйственных животных: Справочное пособие / Ред. А.П. Калашиников, Н.И. Клейменов. М.: Агропромиздат, 1985. 352 с.
- Колесников М.П. Формы кремния в растениях // Успехи биол. хим. 2001. Т. 41. С. 301–332.
- Колесников М.П., Абатуров Б.Д. Формы кремния в растительном материале и их количественное определение // Успехи соврем. биол. 1997. Т. 117 (5). С. 534–548.
- Ларионов К.О., Джапова Р.Р., Розенфельд С.Л., Абатуров Б.Д. Питание сайгаков (*Saiga tatarica*) на пастбищах Черных земель Калмыкии в условиях восстановительной смены растительности и остепнения // Зоол. журн. 2008. Т. 87 (10). С. 1259–1269.
- Нормы и рационы кормления сельскохозяйственных животных. Справочное пособие. 3-е изд. перераб. и доп. / Ред. А.П. Калашиников, В.И. Фисинин, В.В. Щеглов, Н.И. Клейменов. М.: Россельхозакадемия, ВГНИИ животноводства, 2003. 456 с.
- Пшеничный П.Д., Ворошилов М.Ф., Василенко А.М. О методике определения переваримости кормов по кремнекислоте // Пробл. животноводства. 1935. Вып. 4. С. 160–163.
- Розенфельд С.Б. Атлас микрофотографий кутикулярной структуры эпидермиса кормовых растений позвоночных фитофагов тундровой и степной зон Евразии (электронное издание). М.: Тов-во науч. изд. КМК, 2011. Точка доступа: [http://www.sevin.ru/menues1/index\\_rus.html?../news/501.html](http://www.sevin.ru/menues1/index_rus.html?../news/501.html)
- Chapuis J.L., Bousses P., Pisanu B., Reale D. Comparative rumen and fecal diet microhistological determinations of European mouflon // J. Range Manag. 2001. V. 54 (3). P. 239–242.
- Clauss M., Kaiser T., Hummel J. The morphophysiological adaptations of browsing and grazing mammals // The ecology of browsing and grazing / Eds I.J. Gordon, H.H.T. Prins. Berlin, Heidelberg: Springer, 2008. P. 47–88.
- Gallup W.D. A note on the determination of the digestibility of protein by Bergeims method // J. Biol. Chem. 1929. V. 81. P. 321–324.
- Gallup W.D., Hobbs C.S., Briggs H.M. The use of silica as a reference substance in digestion trials with ruminants // J. Anim. Sci. 1945. V. 4 (1). P. 68–71.
- Handreck K.A., Jones L.H.P. Studies of silica in oat plant: IV. Silica content of plant parts in relation to stage of growth, supply of silica and transpiration // Plant Soil. V. 29. 1968. P. 449–459.
- Hofmann R.R. Evolutionary steps of ecophysiological adaptation and diversification of ruminants: a comparative view of their digestive system // Oecologia. 1989. V. 78. P. 443–457.
- Hofmann R.R. Die Wiederkauer // Biol. Unserer Zeit. 1991. B. 21 (2). S. 73–80.
- Holechek J.L. Comparative contribution of grasses, forbs, and shrubs to the nutrition of range ungulates // Rangelands. 1984. V. 6. P. 261–263.
- Holechek J.L., Gross B.D., Dabo S.M., Stephenson T. Effects of sample preparation, growth stage and observer on microhistological analysis // J. Wildl. Manage. 1982. V. 46. P. 502–505.
- Jones L.H., Handreck K.A. The relation between the silica content of the diet and the excretion of silica by sheep // J. Agric. Sci. 1965. V. 65 (1). P. 129–134.
- Scotcher J.S.B. A review of faecal analysis techniques for determining the diet of wild grazing herbivores // Proc. Grassld. Soc. Afr. V. 14. 1979. P. 131–136.
- Shewmaker G.E., Mayland H.F., Rosenau R.C., Asay K.H. Silicon in C-3 grasses: effects on forage quality and sheep preference // J. Range Manag. 1989. V. 42 (2). P. 122–127.
- Storr G.M. Microscopic analysis of feces, a technique for ascertaining the diet of herbivorous mammals // Aust. J. Biol. Sci. 1961. V. 14. P. 157–164.
- Streeter Ch.L. A review of techniques used to estimate the *in vivo* digestibility of grazed forage // J. Anim. Sci. 1969. V. 29 (5). P. 757–768.
- The ecology of browsing and grazing / Eds I.J. Gordon, H.H.T. Prins. Berlin, Heidelberg: Springer, 2008. 330 p.
- Van Soest P.J., Jones L.H.P. Effect of silica in forages upon digestibility // J. Dairy Sci. 1968. V. 51. P. 1644–1648.

## Organic Silicon in Plants as a Limiting Factor of Forage Digestibility in the Nutrition of Herbivorous Mammals

B. D. Abaturov<sup>a, \*</sup> and M. P. Kolesnikov<sup>b, \*\*</sup>

<sup>a</sup>*Severtsov Institute of Ecology and Evolution, Russian Academy of Sciences, Moscow, Russia*

<sup>b</sup>*Bach Institute of Biochemistry, Russian Academy of Sciences, Moscow, Russia*

<sup>\*</sup>*e-mail: abaturovbd@mail.ru*

<sup>\*\*</sup>*e-mail: mpk200549@mail.ru*

The effect of organic forms of silicon contained in plant tissues on the digestibility of feed for herbivorous mammals has been studied. In the process of digestion, an extremely small part of the consumed silicon is assimilated, which makes it possible to use organic silicon naturally contained in plants as an indicator of the digestibility of plant foods. The consumed silicon reduces the digestibility of the feed, puts a limit on the fermentation of the consumed vegetable substrate and its structural components (fiber, lignin). With an increase in the part of silicon in the consumed vegetation per unit, the digestibility decreases linearly by 3–4 units. The fermentation limit is set when the silicon content in the feed is within 3–4% of the dry weight. Among the main groups of forage plants (grasses and forbs), the amount of silicon is significantly higher in grasses (1.70 and 0.91%, respectively). For this reason, the digestibility of grasses in all compared animals (camels, Przewalski's horses, bison, saiga) is 1.2–1.4 times lower than the digestibility of forbs. With an increase in the proportion of grasses in feed per unit, the digestibility of feed in animals with different types of digestion (ruminant, monogastric) decreases linearly by an average of 0.16 units. The different digestibility of grasses and forbs causes the separation of herbivores by types of nutrition and food specialization. Consumers of various forbs (saigas) avoid the consumption of grasses and are not viable with their dominance in pasture vegetation. The specific features of the digestion of herbivores (Equidae, Bovidae) provide an increased volume of consumption, compensating for the reduced digestibility of grasses.

**Keywords:** silicon, organosilicon compounds, plant feeds, herbivores, plant digestibility, indicator of digestibility, grasses, forbs

УДК 630.114.35-047.43

## ОЦЕНКА БИОМАССЫ ДЕТРИТА В ЛЕСНЫХ ЭКОСИСТЕМАХ

© 2023 г. С. И. Тарасов\*

*Институт биологии Коми НЦ УрО РАН, Сыктывкар, Республика Коми, Россия*

*\*e-mail: tarasov@ib.komisc.ru*

Поступила в редакцию 04.04.2023 г.

После доработки 25.04.2023 г.

Принята к публикации 08.05.2023 г.

Проведен анализ существующего в настоящее время метода оценки биомассы мертвого органического вещества в лесных экосистемах. Основное внимание уделяется исследованию адекватности измерительных математических моделей, используемых для оценки плотности разлагающейся древесины. Показана несостоятельность традиционного подхода при оценке показателя плотности как для отдельного разлагающегося мертвого дерева, так и при расчете среднего показателя, характеризующего плотность древесины совокупности мертвых деревьев. Рассматривается возможность применения понятия эффективной плотности для оценки биомассы отмерших древесных остатков, как наиболее соответствующего их гетерогенной структуре. Предлагается метод, основанный на представлениях интервального анализа, позволяющий, используя стандартные значения плотности здоровой древесины, оценить показатель плотности гниющей древесины соответствующего класса разложения системы классификации дебриса.

**Ключевые слова:** древесный детрит, крупные древесные остатки, плотность, биомасса, гетерогенность, интервальный анализ

**DOI:** 10.31857/S0042132423050101, **EDN:** RDMYCD

### ВВЕДЕНИЕ

В экологических исследованиях одним из важнейших структурных показателей, позволяющим установить соотношение между компонентами экосистемы, является количество живого вещества, входящего в отдельные элементы ее структуры, или биомасса. Признание мертвого органического вещества важным структурным элементом лесных экосистем, играющим существенную роль в глобальном углеродном цикле, стимулировало включение детрита в сферу интересов экологов и лесоводов и сделало определение биомассы мертвой органики объектом многочисленных исследований (Sollins et al., 1987; Harmon, Sexton, 1996; Delaney et al., 1998; Beets et al., 1999; Shorohova, Shorohov, 2001; Newton, 2007; Chao et al., 2008; Merganičová et al., 2012).

Как и для большинства разделов естествознания, связанных с обработкой опытных данных, надежность получаемых оценок параметров в экологии остается предметом особого внимания. Проблема неопределенности оценок биомассы детрита является частью общей проблемы неопределенности оценки глобального углеродного бюджета (Jonas et al., 1999). Одной из причин такой неопределенности результатов является неадекватность методов оценки параметров, входящих в математическую модель физических свойств био-

массы детрита (Moss, Schneider, 2000; Nilsson et al., 2007).

Очевидно, что в силу невозможности учета всех связей и отношений, присущих реальным объектам, любые методы и модели выделяют только те из них, которые значимы в данной, конкретной ситуации, и во всех других случаях не являются важными. Некритическое применение той или иной модели, может привести к неверному результату. Так, в частности, оценка биомассы детрита основана на методе, используемом для оценки массы товарной древесины (Creed et al., 2004; Harmon et al., 2008). Однако, взгляд на отмершие древесные растения только как на материал (или вещество) является неоправданным упрощением. В данном случае, следствием такого формализма является не столько увеличение неопределенности результата, сколько его неадекватность. Поэтому выбор соответствующих методов (или разработка новых), отвечающих особенностям мертвого органического вещества, должен предшествовать любым другим действиям, направленным на уменьшение неопределенности оценок биомассы детрита.

При оценке биомассы детрита плотность разлагающейся древесины является ключевым свойством, характеризующим мертвое органическое вещество. Вследствие этого основным содержанием настоящей работы является анализ методов

определения данного параметра на всех уровнях организации лесной экосистемы. Цель работы – разработка метода оценки плотности разлагающейся древесины.

## ТЕОРИЯ (АНАЛИЗ МЕТОДОВ ОЦЕНКИ БИОМАССЫ ДЕТРИТА)

### *Оценка биомассы крупных древесных остатков в лесных экосистемах*

В лесных экосистемах наиболее значимым резервуаром мертвого органического вещества являются отмершие древесные остатки, большая часть которых приходится на долю крупных древесных остатков (КДО).

Количественная оценка биомассы древесного детрита основана на классическом подходе, использующем известную связь между плотностью вещества и его объемом (Wood handbook..., 2010; Shmulsky, Jones, 2011), и практически реализуется в виде базовой математической модели оценки биомассы:

$$M_{\Sigma} = \rho V_{\Sigma}, \quad (1)$$

где  $M_{\Sigma}$  – суммарная масса древесных остатков,  $\rho$  – плотность вещества древесных остатков,  $V_{\Sigma}$  – суммарный объем древесных остатков. Суммарный объем может быть выражен через объемы отдельных экземпляров КДО, так, если количество экземпляров КДО равно  $N$ , то их суммарный объем будет равен  $V_{\Sigma} = V_1 + \dots + V_N$ . Тогда (1) запишется как:

$$M_{\Sigma} = \rho (V_1 + \dots + V_N). \quad (2)$$

Невозможность приписать каждому экземпляру КДО единого показателя плотности  $\rho$  ведет к естественному развитию модели (2), основанному на следующей концепции.

Выпадение деревьев в древостое происходит постоянно и обусловлено, в первую очередь, физиологической продолжительностью жизни дерева данного вида. Естественная смерть дерева является нерегулярным, случайным событием, как во времени, так и в пространстве (Franklin et al., 1987; Swaine et al., 1987; Newton, 2007). В общем случае, естественная смерть отдельного дерева не синхронизирована с гибелью других особей в древостое. Соответственно, момент начала деструкции отдельного мертвого дерева также является случайной величиной и не синхронизирован с процессами разложения других отмерших деревьев.

Количественно ферментативную деструкцию древесины выражают как потерю массы, или учитывая связь массы и плотности, как изменение показателя плотности древесины. Следовательно, в лесной экосистеме КДО могут рассматриваться как остатки мертвых деревьев на различных стадиях разложения или как остатки мертвых

деревьев с различной плотностью древесины (Nils-son, 1973; Hukka, Viitanen, 1999; Shortle, Dudzik, 2012). Ряд значений плотности древесины совокупности из  $N$  экземпляров КДО можно представить как множество случайных значений  $\rho_1, \dots, \rho_n$  или случайную последовательность  $\rho = \{\rho_i; i = 1, \dots, N\}$ . Тогда выражение (2) переписывается следующим образом:

$$M_{\Sigma} = (\rho_1 V_1 + \rho_2 V_2 + \dots + \rho_N V_N) = \sum_{i=1}^N \rho_i V_i, \quad (3)$$

где  $\rho_i$  – плотность древесины  $i$ -го экземпляра КДО,  $V_i$  – объем  $i$ -го экземпляра КДО.

Поскольку, в общем случае  $N \rightarrow \infty$ , то практическое применение модели (3) связано с трудоемкостью получения оценок  $\{\rho_i\}$ . Нерациональность получения показателя плотности для каждого экземпляра КДО в силу неисчислимости данного свойства, приводит к необходимости создания измерительной модели на основе использования обобщенных характеристик. Практическое воплощение такой измерительной модели – это объединение однотипных экземпляров КДО, степень разложения которых с точки зрения наблюдателя различается незначительно, в группы, и присвоение каждой выделенной группе среднего показателя плотности.

### *Система классификации детрита*

Задача выделения из множества экземпляров КДО однородных подмножеств (групп, классов) решается с использованием классификационных построений. В основе таких построений лежит, во-первых, установление списка признаков (свойств), подлежащих учету на отдельных элементах множества, который позволял бы различать один элемент от другого. Во-вторых, определение для каждого выделенного свойства множества его проявлений, элементы которого находятся в определенных логических соотношениях, и определяют множество возможных состояний каждого элемента (Belton, Stewart, 2002; Doumpos, Zorounidis, 2004; Roy, 2013). Для системы классификации КДО множеством наблюдаемых объектов, очевидно, является множество экземпляров КДО.

Наряду с потерей массы, деструкция древесного растения приводит к изменению его морфологических характеристик, которые также могут использоваться как индикатор степени разложения древесины. В соответствии с этим, в качестве наблюдаемого множества свойств, характеризующего разложение элементов КДО, принимают совокупность морфологических признаков, а именно: наличие или отсутствие листьев, коры, кроны, тонких веток, ветвей, структурная целостность ствола, качество древесной текстуры (Maser et al., 1979).

Иногда, такими признаками выступают биологические индикаторы: степень регистрируемого контакта с почвой, степень захвата корнями, наличие произрастающей растительности на поверхности КДО (Fogel et al., 1973).

Правила упорядочения элементов множества КДО или отношения, позволяющие сравнивать их между собой, устанавливаются с помощью заданных критериев для каждого свойства (признака). Такими критериями для выделенных свойств элементов КДО являются: отношение эквивалентности — наличие или отсутствие некоторого признака (свойства) (например: листья, кора — есть/нет); отношение порядка — качественная оценка (например: степень твердости древесины — твердая, менее твердая, полутвердая, частично мягкая, порошкообразная).

Сопоставление каждому классу (подмножеству множества элементов КДО), выделенному в соответствии с принятыми критериями, положительного действительного числа включает в классификацию числовое множество. Наиболее распространена 5-классная система классификации, которой соответствует числовое множество {1, 2, 3, 4, 5}.

Совокупность числового множества, множества наблюдаемых объектов, их свойств и отношений образуют конечное множество, все элементы которого расположены в установленном с помощью нумерации элементов порядке, или систему классификации КДО по степени разложения.

Введение 5-классной системы классификации позволяет оценивать запас КДО в древостое, используя следующую измерительную модель:

$$M_{\Sigma} = \hat{\rho}_1 \sum_{j=1}^J V_{1j} + \hat{\rho}_2 \sum_{k=1}^K V_{2k} + \dots + \hat{\rho}_5 \sum_{l=1}^L V_{5l}, \quad (4)$$

где  $\hat{\rho}_1, \hat{\rho}_2, \dots, \hat{\rho}_5$  — оценка показателя средней плотности мертвой древесины соответствующего класса разложения,  $\sum V_{..}$  — суммарный объем мертвой древесины соответствующего класса разложения.

Математическая модель (4) в настоящее время является общепринятой схемой оценки биомассы мертвых древесных остатков.

В свою очередь, данная модель объединяет две подмодели: модель измерения объема КДО и модель измерения средней плотности древесины КДО, соответствующей определенному классу разложения. Для дальнейшего анализа основной интерес представляет именно модель измерения средней плотности древесины КДО.

Стандартная схема измерения средней плотности древесины КДО, характеризующей определенный класс разложения детрита, хорошо известна и подробно описана в литературе (Harmon, Sexton, 1996; Harmon et al., 2008). Можно выделить два ключевых этапа измерения средней плотности КДО определенного класса разложения: оценка

плотности единичного экземпляра КДО и оценка средней плотности совокупности экземпляров КДО, относящихся к одному классу разложения.

#### *Анализ оценки плотности вещества единичного экземпляра КДО*

Измерительной процедуре оценки плотности экземпляра КДО соответствует следующая последовательность операций: выбор экземпляра КДО, идентификация его принадлежности определенному классу разложения на основе системы классификации; отбор от экземпляра КДО одного или нескольких фрагментов; определение массы фрагмента; определение геометрических характеристик (объема) фрагмента; вычисление плотности фрагмента с использованием данных значений объема и массы. Полученное в результате значение интерпретируется как плотность экземпляра КДО. В случае отбора нескольких фрагментов от экземпляра КДО определяется средняя арифметическая плотность всех фрагментов, которая принимается за оценку плотности экземпляра КДО.

Приведенная измерительная схема полностью соответствует стандартной методике определения плотности товарной древесины, в основе которой лежит классическое определение плотности, согласно которому плотность однородного вещества определяется как масса данного вещества в единице объема. Если  $M$  — масса и  $V$  — объем образца вещества, то математической моделью, описывающей такое свойство вещества как плотность  $\rho$ , является выражение:

$$\rho = \frac{M}{V}. \quad (5)$$

В соответствии данному определению, плотность здоровой (товарной) древесины (в том числе в древостое) вводится как физическая величина, определяемая массой натуральной древесины в единице объема (Wood handbook ..., 2010; Shmulsky, Jones, 2011). (Здесь и далее рассматривается плотность абсолютно сухого вещества древесины. Плотность древесины, содержащей влагу, требует специального рассмотрения; тем не менее, степень влажности древесины не меняет содержания дальнейших выводов).

В экологической и лесоводческой практике данное определение плотности переносится на плотность разлагающейся древесины. Обоснование такого переноса не задекларировано. Однако в мертвом растении, в отличие от живого, здорового дерева, процессы деструкции оказывают непосредственное влияние на такое свойство древесины, как плотность. В свою очередь, трансформация любого свойства изучаемого объекта предполагает обязательную модернизацию существующих подходов его количественной оценки. Осмыслить необходимость и степень модернизации методов

оценки плотности КДО позволяет взгляд на детрит как на один из иерархических уровней лесной экосистемы.

Остатки древесных растений являются частью структуры лесной экосистемы и могут быть выделены как иерархический уровень этой системы или подсистема (Jørgensen, 2006; Ecosystem ecology, 2009). В свою очередь, подсистема также является системой, структура которой может быть детализирована. Единичный экземпляр КДО при такой детализации будет соответствовать нижнему иерархическому уровню системы, совокупность экземпляров КДО — верхнему уровню. Нижний уровень системы — экземпляр КДО — образован, по крайней мере, двумя элементами: собственно экземпляром КДО (или веществом древесины) и деструктором.

Изменение плотности экземпляра КДО (наблюдаемого свойства нижнего уровня выделенной системы) происходит только в объеме занятом деструктором. Скорость распространения деструктора конечна, следовательно, изменение свойства (плотность) не происходит одновременно во всем объеме экземпляра КДО, что, в свою очередь, определяет пространственную неоднородность его структуры, выражающуюся в наличии, по крайней мере, двух состояний (или, используя терминологию теории гетерогенных сред, фаз) вещества древесины в составе экземпляра КДО. Таким образом, структура вещества мертвого древесного растения существенно неоднородна и обладает всеми признаками гетерогенной среды (Creed et al., 2004; Milton, 2004). В то же время, как следует из определения плотности, однородность вещества является необходимым условием адекватности модели (5).

Кроме гетерогенности структуры мертвой древесины, важным следствием иерархической организации детрита является его подчиненность принципу эмерджентности: а именно, несводимости свойств системы к сумме свойств составляющих ее подсистем.

Таким образом, взгляд на детрит как на экосистему естественным образом приводит к ряду вопросов.

Каким образом неоднородность структуры детрита влияет на его плотность? Как определить плотность неоднородного экземпляра КДО? Может ли сумма плотностей фаз экземпляра КДО (или их среднее арифметическое) рассматриваться как его характеристика? Какой физический смысл имеет понятие средняя плотность нескольких тел, например, экземпляров КДО? Ответы на эти вопросы неоднозначны.

Как известно, плотность вещества является интенсивной величиной (Яворский, Детлаф, 1979; Scott, Suppes, 1958; Bunge, 2012). Если однородное физическое тело разделить, например, на две ча-

сти, то плотность каждого из полученных в результате тел не изменится, и будет равна плотности исходного тела. Наоборот, объединяя (любым способом) два тела с различающейся плотностью, невозможно получить тело, плотность которого равнялась бы арифметической сумме плотностей тел его образующих. Другими словами, такое свойство физического тела как плотность не является аддитивным свойством, несмотря на то, что численное, выраженное математическим языком, отображение данного свойства может суммироваться.

С этой точки зрения, суммирование показателей плотности фаз вещества экземпляра КДО (как и нахождение их среднего арифметического, в том числе и для совокупности экземпляров КДО) является чисто умозрительной операцией, не имеющей содержательного, физического смысла. Однако в теории измерений не существует единого мнения — наследуют числовые выражения атрибутов эмпирических объектов свойства этих атрибутов или являются реальными числами, обладающими всеми свойствами, необходимыми для арифметических манипуляций (Hand, 1996). Поэтому рассмотрим данную проблему с практической точки зрения. Поскольку целевой величиной при изучении детрита является биомасса мертвого органического вещества, логично рассмотреть вопрос о том, насколько близка оценка массы тела, имеющего гетерогенную структуру (или оценка биомассы КДО), к истинному значению, если используется показатель плотности, полученный по стандартной методике.

Для простоты будем рассматривать абстрактное физическое тело. Очевидно, что для физического тела, имеющего гомогенную структуру, математическая модель плотности не меняется при изменении объема этого тела: если имеются два тела одного и того же вещества с объемами  $v$  и  $V$ , и, соответственно с массами  $m$  и  $M$ , то плотности в обоих случаях будут равны:

$$\rho = \frac{m}{v} = \frac{M}{V}. \quad (6)$$

Это позволяет, зная плотность данного вещества, определить массу любого объема данного вещества. Справедливо ли это для физического тела с гетерогенной структурой?

Пусть тело, имеющее гетерогенную структуру, объемом  $V$  и массой  $M$  состоит из двух веществ, при этом масса и объем одной фазы вещества равны  $M_1$  и  $V_1$ , второй —  $M_2$  и  $V_2$ ,  $V = V_1 + V_2$  и  $M = M_1 + M_2$ . Соответственно плотности веществ, образующих тело, равны  $\rho_1 = \frac{M_1}{V_1}$  и  $\rho_2 = \frac{M_2}{V_2}$ . Плотность вещества такого тела согласно определению (5) будет равна:

$$\rho = \frac{M}{V} = \frac{M_1}{V} + \frac{M_2}{V} = \frac{M_1 V_1}{V_1 V} + \frac{M_2 V_2}{V_2 V} = \frac{\rho_1 V_1}{V} + \frac{\rho_2 V_2}{V}. \quad (7)$$

Как видим, плотность тела, имеющего гетерогенную структуру, не является простой арифметической суммой плотностей фаз и зависит от структуры вещества: чем больше объемная доля одной фазы, тем ближе значение общей (суммарной) плотности к плотности вещества этой фазы. (Отметим: при  $V_1 = V_2$  имеем тривиальный случай  $\rho_1 = \rho_2$ ). Величину, определяемую выражением (7), часто называют средней плотностью, однако, на самом деле, это — взвешенная средняя (Hardy et al., 1952; Design and ..., 2001) или эффективная (Torquato, 2000; Design and ..., 2001; Milton, 2004) плотность. Фактически, полученная характеристика является уникальной характеристикой конкретного физического тела, имеющего гетерогенную структуру. Массу физического тела с другим соотношением фаз вещества, используя данное значение плотности, определить невозможно.

Отделим от рассматриваемого тела образец объемом  $v$  и массой  $m$ , включающий обе фазы вещества так, что масса, объем и плотность первой фазы равны  $m_1$ ,  $v_1$ ,  $\rho_1$ , второй —  $m_2$ ,  $v_2$ ,  $\rho_2$ ,  $v = v_1 + v_2$  и  $m = m_1 + m_2$ . Взвешенная средняя (эффективная) плотность вещества данного образца равна:

$$\rho = \frac{m}{v} = \frac{m_1}{v} + \frac{m_2}{v} = \frac{m_1 v_1}{v_1 v} + \frac{m_2 v_2}{v_2 v} = \frac{\rho_1 v_1}{v} + \frac{\rho_2 v_2}{v}. \quad (8)$$

Тогда массу тела, от которого взят образец, объемом  $V$  можно определить двумя способами:

$$1) M = M_1 + M_2 = \rho_1 V_1 + \rho_2 V_2, \quad (9)$$

и

$$2) M = \rho V = \frac{m_1 + m_2}{v} V = \left( \frac{\rho_1 v_1}{v} + \frac{\rho_2 v_2}{v} \right) V = \frac{\rho_1 v_1}{v} V + \frac{\rho_2 v_2}{v} V. \quad (10)$$

Очевидно, что масса тела, рассчитанная с помощью эффективной плотности (уравнение (8)), будет принимать различные значения в зависимости от соотношения  $v_1$  и  $v_2$  в образце. Следовательно, тождественность результатов, полученных с помощью (9) и (10), обеспечивается, только, если  $\frac{v_1}{v} = \frac{V_1}{V}$  и  $\frac{v_2}{v} = \frac{V_2}{V}$ , то есть, если соотношение объемов фаз веществ и в образце, и в теле, от которого взят образец, одинаково.

С практической точки зрения это означает, что невозможно определить массу тела, имеющего гетерогенную структуру, используя эффективную плотность, рассчитанную для части этого тела (не

говоря уже об определении массы других тел сходной структуры), если соотношения фаз веществ в исходном теле и во взятой от него части различаются. Отметим, что, в силу трудоемкости, определение соотношения здоровой и разлагающейся древесины в экземпляре КДО нецелесообразно с практической точки зрения.

Вопрос о применимости средней арифметической плотности рассмотрим на следующем примере. Пусть имеется  $N$  физических тел с объемами  $V_1, V_2, \dots, V_n$  и соответственно с массами  $M_1, M_2, \dots, M_n$  и плотностями  $\rho_1, \rho_2, \dots, \rho_n$ .

Суммарная масса всех  $n$  тел по определению равна:

$$M_\Sigma = M_1 + M_2 + \dots + M_n = \rho_1 V_1 + \rho_2 V_2 + \dots + \rho_n V_n. \quad (11)$$

Суммарная масса, вычисленная с использованием средней плотности, равна:

$$M_\Sigma = \bar{\rho} (V_1 + V_2 + \dots + V_n) = \frac{(\rho_1 + \rho_2 + \dots + \rho_n)(V_1 + V_2 + \dots + V_n)}{n}, \quad (12)$$

где средняя плотность есть

$$\bar{\rho} = \frac{\rho_1 + \rho_2 + \dots + \rho_n}{n}. \quad (13)$$

Истинность выражения (11) может быть верифицирована элементарным взвешиванием. В то же время, выражение (12) тождественно выражению (11) только если  $V_1 = V_2 = \dots = V_n$ , или  $\rho_1 = \rho_2 = \dots = \rho_n = \bar{\rho}$ .

Точно так же, как

$$M_i = \rho_i V_i, \quad i = 1, 2, \dots, n \quad (14)$$

тождественно

$$M_i = \bar{\rho} V_i = \frac{\rho_1 + \rho_2 + \dots + \rho_n}{n} V_i, \quad (15)$$

если выполняется  $\rho_1 = \rho_2 = \dots = \rho_n = \bar{\rho}$ .

Это означает, что, хотя определение средней плотности в виде (13) возможно, практического значения эта величина не имеет. Для однородных по структуре и составу физических тел определение средней плотности лишено практического смысла. Для тел с различной плотностью величина, рассчитанная как средняя арифметическая плотность этих тел, не является плотностью (в смысле классического определения) и не может использоваться для определения массы этих тел, то есть не имеет физического смысла.

Переходя от абстрактных физических тел к крупным древесным остаткам, можно резюмировать следующее.

Гетерогенной структуре вещества КДО соответствует методика определения плотности с уче-

том объемной доли веществ, входящих в состав древесины КДО (Milton, 2004), однако практическое ее внедрение связано со значительными затратами и, поэтому, нецелесообразно. С другой стороны, в силу гетерогенности структуры мертвой разлагающейся древесины эффективная плотность вещества части экземпляра КДО не является характеристикой всего экземпляра КДО. Эффективная плотность вещества единичного экземпляра КДО является уникальной характеристикой только данного экземпляра КДО.

Нахождение средней арифметической плотности совокупности экземпляров КДО, хотя и является формально допустимой операцией, не имеет практического смысла, т.к. получающаяся в результате усреднения величина не может быть использована для определения массы любого экземпляра КДО из совокупности. Таким образом, стандартная методика определения плотности однородного вещества не является адекватной по отношению к мертвому органическому веществу.

Формальный перенос математической модели плотности однородного вещества (5) на свойство гетерогенной среды не единственная проблема существующей методики оценки биомассы детрита. Еще одна проблема возникает на следующем иерархическом уровне системы КДО — это необоснованность применяемой статистической модели, не учитывающей структурные особенности пула КДО, обусловленные спецификой его формирования.

#### *Оценка плотности вещества совокупности экземпляров КДО*

Как показывает практика, задача сопоставления каждому классу разложения КДО показателя плотности решается на основе статистико-вероятностной модели: каждому классу присваивается выборочная оценка показателя плотности. Однако даже если в качестве показателя плотности использовать эффективную плотность экземпляра КДО и усреднение проводить с учетом весов (долей) фаз вещества каждого выборочного экземпляра КДО, тем не менее, такая модель будет противоречить особенностям формирования структуры резервуара КДО в лесной экосистеме.

Если принять концепцию о несинхронности начала деструкции отмерших деревьев, то в лесной экосистеме в любой момент времени значения плотностей экземпляров КДО могут принимать любые значения. За время, начиная с момента смерти дерева до момента его полного разложения, значения плотности разлагающейся древесины мертвого дерева принимает все мыслимые значения в диапазоне, ограниченном с одной стороны значением плотности здоровой (ядровой) древесины, с другой — нулевым значением (нулевая

плотность в данном контексте обозначает отсутствие плотности или полное разложение дерева). Все значения плотности внутри этого диапазона являются равновероятными.

Проиллюстрируем это простейшей моделью, описывающей смерть деревьев и динамику разложения КДО в древостое.

Обозначим плотность экземпляра КДО в произвольный момент времени  $t_i$  как  $\rho(t_i)$  (здесь и далее под плотностью экземпляра КДО понимается эффективная плотность). Соответственно, если  $t_0$  — время наступления смерти дерева, то логично считать, что  $\rho(t_0) = \rho_0$  — плотность древесины здорового дерева; если  $t_N$  — время полного разложения мертвого дерева, то  $\rho(t_N) = 0$  — нулевая плотность. Измеряя (гипотетически) плотность мертвого дерева через заданный интервал времени, множество значений плотности единичного экземпляра мертвого дерева, полученных за весь период разложения, можно представить в виде последовательности  $\rho = \{\rho(t_i); i = 0, \dots, N\}$ , где  $t_0 < \dots < t_N, t_i \in T, T \subseteq R$ . Пусть интервал времени между соседними измерениями равен  $h$ , тогда множество возможных значений плотности отдельного дерева за весь период разложения можно представить в виде следующего временного ряда  $\rho = \{\rho_i; i = 0, \dots, N\}$ , где  $i = t_i/h$  и  $\rho_N = 0$ .

Чтобы различать отдельные экземпляры КДО в древостое введем индекс  $k = 1, \dots, M$ , где  $M$  — количество экземпляров КДО в древостое. Тогда последовательность значений плотности  $k$ -го дерева запишется как  $\rho_k = \{\rho_{ki}; i = 0, \dots, N\}$  или, в матричном обозначении, как вектор-строка

$$\rho_{k0}, \rho_{k1}, \rho_{k2}, \dots, \rho_{kN}. \quad (16)$$

Пусть в течение периода  $h$  в древостое умирает одно дерево и одно дерево рождается и время полного разложения одинаково для всех деревьев. Тогда множество значений плотности для двух деревьев в матричном обозначении запишется как:

$$\begin{pmatrix} \rho_{0,0} & \rho_{0,1} & \rho_{0,2} & \dots & \rho_{0,N} & 0 \\ \rho_0 & \rho_{1,0} & \rho_{1,1} & \rho_{1,2} & \dots & \rho_{1,N} \end{pmatrix}, \quad (17)$$

для трех деревьев:

$$\begin{pmatrix} \rho_{0,0} & \rho_{0,1} & \rho_{0,2} & \dots & \rho_{0,N} & 0 & 0 \\ \rho_0 & \rho_{1,0} & \rho_{1,1} & \rho_{1,2} & \dots & \rho_{1,N} & 0 \\ \rho_0 & \rho_0 & \rho_{2,0} & \rho_{2,1} & \rho_{2,2} & \dots & \rho_{2,N} \end{pmatrix}, \quad (18)$$

где  $\rho_0$  — плотность древесины здорового дерева.

Вся совокупность значений плотностей КДО для древостоя в процессе жизнедеятельности, начиная с момента времени  $t_0$ , может быть представлена бесконечной матрицей следующего вида:

$$\left( \begin{array}{cccccccccccccccc}
 \rho_{0,0} & \rho_{0,1} & \rho_{0,2} & \dots & \dots & \dots & \rho_{0,N} & 0 & \dots & \dots & \dots & \dots & \dots & \dots & \dots & \dots \\
 \rho_0 & \rho_{1,0} & \rho_{1,1} & \dots & \dots & \dots & \rho_{1,N-1} & \rho_{1,N} & 0 & \dots & \dots & \dots & \dots & \dots & \dots & \dots \\
 \dots & \rho_0 & \rho_{2,0} & \dots & \dots & \dots & \rho_{2,N-2} & \rho_{2,N-1} & \rho_{2,N} & 0 & \dots & \dots & \dots & \dots & \dots & \dots \\
 \dots & \dots & \dots & \rho_0 & \rho_{k,0} & \dots & \dots & \dots & \dots & 0 & \dots & \dots & \dots & \dots & \dots & \dots \\
 \dots & \dots & \dots & \dots & \dots & \dots & \rho_{k,i} & \rho_{k,i+1} & \rho_{k,i+2} & \dots & \rho_{k,N} & 0 & \dots & \dots & \dots & \dots \\
 \dots & \dots & \dots & \dots & \dots & \dots & \dots & \dots & \dots & \dots & \dots & \dots & \dots & \dots & \dots & \dots \\
 \dots & \dots & \dots & \dots & \dots & \rho_0 & \rho_{M,0} & \rho_{M,1} & \rho_{M,2} & \dots & \dots & \dots & \rho_{M,N} & 0 & \dots & \dots \\
 \dots & \dots & \dots & \dots & \dots & \dots & \rho_0 & \rho_{M+1,0} & \rho_{M+1,1} & \dots & \dots & \dots & \rho_{M+1,N-1} & \rho_{M+1,N} & 0 & \dots \\
 \dots & \dots & \dots & \dots & \dots & \dots & \dots & \rho_0 & \rho_{M+2,0} & \dots & \dots & \dots & \rho_{M+2,N-2} & \rho_{M+2,N-1} & \rho_{M+2,N} & \dots \\
 \dots & \dots & \dots & \dots & \dots & \dots & \dots & \dots & \rho_0 & \dots & \dots & \dots & \dots & \dots & \dots & \dots
 \end{array} \right), \quad (19)$$

здесь  $k = 0, \dots, M, \dots, \infty$ ;  $i = 0, \dots, N$ .

Следовательно, множество значений плотности КДО в древостое в любой момент времени начиная с  $t_N$  можно рассматривать как столбец данной матрицы вида:

$$\begin{pmatrix} 0 \\ \vdots \\ 0 \\ \rho_{k,N} \\ \rho_{k+1,N-1} \\ \vdots \\ \rho_{M+k-2,2} \\ \rho_{M+k-1,1} \\ \rho_{M+k,0} \\ \rho_0 \\ \vdots \end{pmatrix}. \quad (20)$$

Транспонирование и переиндексация, посредством вычитания из индекса номера дерева  $k$ , приводит вектор-столбец (20) к более удобному для восприятия виду:

$$\rho_0, \rho_{0,N}, \rho_{1,N-1}, \dots, \rho_{M-1,1}, \rho_{M,0}, 0. \quad (21)$$

Таким образом, множество значений плотности всех экземпляров КДО в древостое в любой момент времени может быть представлено упорядоченным рядом, число членов которого определяется количеством мертвых деревьев в древостое на момент наблюдения. Для того, чтобы данный ряд мог рассматриваться как статистическая совокупность, необходимо выполнение определенных требований.

Единицами совокупности (21) являются экземпляры КДО, которые характеризуются таким общим свойством (признаком), как плотность древесины. Если данный признак является случайной величиной, то вариация признака у отдельных экземпляров КДО, входящих в рассматриваемую

совокупность, обусловлена совместным влиянием разнообразных факторов (или определенного комплекса условий), которые по-разному сочетаются в каждом отдельном случае. Данная совокупность образована как одновременное испытание многих сходных объектов. Требование неизменности комплекса условий для такой совокупности означает не только одинаковость условий для каждого объекта, но и равную продолжительность воздействия этих условий на объект. Поскольку факторы окружающей среды непрерывно изменяются, то условия разложения для каждого экземпляра КДО различны так же, как и время нахождения в этих условиях. Это не позволяет рассматривать множество экземпляров КДО как однородную статистическую совокупность так же, как и выделить из данного множества несколько статистически однородных подмножеств. В то же время, понятие однородность является одним из принципиальных требований статистической теории (Walter, Pronzato, 1997).

Таким образом, использование статистико-вероятностной модели для оценки плотности разлагающейся древесины не имеет оснований. К тому же, применение такой модели, фактически, означает синхронность разложения экземпляров КДО, то есть независимо от размеров и времени разложения значение плотности КДО определенного класса разложения закономерно остается постоянным в пределах случайной погрешности. Несостоятельность этого утверждения очевидна. Отметим, что неаддитивность плотности также можно рассматривать как несоблюдение условий однородности.

Катастрофы могут привести к образованию статистически упорядоченных выборок в структуре КДО, однако такие образования не будут устойчивыми, что обусловлено зависимостью плотности вещества разлагающейся древесины от времени. Для наблюдателя оценка средней плотности класса КДО, полученная по такой выборке в различные моменты времени, будет иметь разную величину. Использовать такой показатель в качестве признака класса нецелесообразно.

Подводя итог, можно констатировать, что существующая практика оценки плотности разлагающейся древесины не является адекватной как на уровне единичного экземпляра КДО, так и на уровне совокупности экземпляров. В свою очередь, обоснованность исходных положений не только противоречит научному подходу, но, к тому же, приводит к значимому отклонению прогнозируемых результатов от фактических.

В ситуациях, которые характеризуются принципиальным несоблюдением условий статистического ансамбля при сборе информации о моделируемом явлении, одним из наиболее естественных способов описания таких явлений является интервальное представление.

#### *Метод оценки средней плотности вещества КДО на основе интервального анализа*

Существует большое количество прикладных задач, решение которых не может быть найдено в рамках статистико-вероятностного подхода. Общим для таких задач является то, что вариабельность наблюдаемой переменной обусловлена не случайностью, а является проявлением неединственности возможных исходов. Это, в свою очередь, ведет к принципиальному несоблюдению условий статистической совокупности при формировании модельной выборки (Walter, Pronzato, 1997). Переменная, в частности, может, представлять значения, принимаемые интересующей наблюдателя величиной в заданные моменты времени (Jaulin et al., 2001). Неединственность значений наблюдаемой переменной в данном контексте означает, что переменная может принимать любые значения из некоторого интервала, границы которого известны или могут быть установлены. При этом переменной не сопоставляется никакой вероятностной меры. Одним из наиболее естественных способов описания таких явлений является интервальное представление (Neumaier, 2001; Jaulin et al., 2001).

Приложение интервального представления к оценке средней плотности КДО соответствующего класса разложения сводится к последовательному решению двух задач: 1) выделение из множества значений плотности КДО подмножеств, характеризующих определенный класс разложения; 2) оценка средней плотности КДО соответствующего класса разложения.

Пусть  $P$  — упорядоченное множество возможных значений плотности КДО. Если  $k$  — число классов системы классификации, то, для того, чтобы сопоставить каждому классу подмножество значений плотности КДО, необходимо разбить множество  $P$  на  $k$  равных частей.

#### *Выделение из множества значений плотности КДО подмножеств, характеризующих определенный класс разложения*

Рассмотрим множество  $P$  действительных чисел  $p_1, \dots, p_n$ , являющихся значениями плотности КДО и составляющих вектор  $\rho$ . Минимальное значение плотности равно нулю и соответствует полному разложению экземпляра КДО. Максимальное значение естественно оценить как плотность ядровой древесины здорового дерева  $p_0$ .

В контексте интервальных представлений (Neumaier, 2001) можно записать:

$$\rho = [\underline{\rho}, \bar{\rho}], \quad (22)$$

где  $\underline{\rho} = \rho_0$  и  $\bar{\rho} = 0$  соответственно нижняя и верхняя границы интервала  $[\underline{\rho}, \bar{\rho}]$ .

Для определенности, пусть  $k = 5$ . Тогда задача сводится к разбиению интервала  $\rho$  на пять равных интервалов  $\rho_1 = [\underline{\rho}_1, \bar{\rho}_1], \dots, \rho_5 = [\underline{\rho}_5, \bar{\rho}_5]$ , соответствующих классам разложения системы классификации КДО, так, чтобы границы соседних интервалов совпадали.

По определению (Neumaier, 2001) ширина интервала  $\rho = [\underline{\rho}, \bar{\rho}]$  есть

$$w(\rho) = \bar{\rho} - \underline{\rho}. \quad (23)$$

Тогда, с учетом постановки задачи, справедливы очевидные утверждения:

$$w(\rho_1) = \dots = w(\rho_5); \quad (24)$$

$$w(\rho) = w(\rho_1) + \dots + w(\rho_5) = w(5\rho_1) = \dots = w(5\rho_5); \quad (25)$$

$$w(\rho) = 5w(\rho_1) = \dots = 5w(\rho_5). \quad (26)$$

Следовательно, ширина любого из рассматриваемых интервалов равна:

$$w(\rho_1) = \dots = w(\rho_5) = \frac{1}{5}w(\rho) = \frac{\bar{\rho}}{5} - \frac{\underline{\rho}}{5}. \quad (27)$$

Из заданного способа разбиения интервала  $\rho$  следует ряд равенств:  $\underline{\rho} = \underline{\rho}_1$ ,  $\bar{\rho}_1 = \underline{\rho}_2$ ,  $\bar{\rho}_2 = \underline{\rho}_3$ ,  $\bar{\rho}_3 = \underline{\rho}_4$ ,  $\bar{\rho}_4 = \underline{\rho}_5$ ,  $\bar{\rho}_5 = \bar{\rho}$ .

Тогда для интервала  $\rho_5$  справедливо  $w(\rho_5) = \frac{\bar{\rho}}{5} - \frac{\underline{\rho}}{5} = 0 - \frac{\underline{\rho}_0}{5}$ , и, следовательно,  $\rho_5 = \left[\frac{\underline{\rho}_0}{5}, 0\right]$ .

Соответственно, для интервала  $\rho_4$  справедливо

$$w(\rho_4) = \frac{\underline{\rho}_0}{5} - \frac{\underline{\rho}_5}{5} = \frac{\underline{\rho}_0}{5} - \frac{\underline{\rho}}{5} = 0 - \frac{\underline{\rho}_0}{5}, \text{ и, следовательно,}$$

но,  $\underline{\rho}_5 = \frac{2\underline{\rho}_0}{5}$  и  $\rho_4 = \left[\frac{2\underline{\rho}_0}{5}, \frac{\underline{\rho}_0}{5}\right]$ . Действуя аналогично, можно получить границы всех интервалов:

$$\begin{aligned} \rho_1 &= \left[ \rho_0, \frac{4\rho_0}{5} \right], \quad \rho_2 = \left[ \frac{4\rho_0}{5}, \frac{3\rho_0}{5} \right], \quad \rho_3 = \left[ \frac{3\rho_0}{5}, \frac{2\rho_0}{5} \right], \\ \rho_4 &= \left[ \frac{2\rho_0}{5}, \frac{\rho_0}{5} \right], \quad \rho_5 = \left[ \frac{\rho_0}{5}, 0 \right]. \end{aligned} \quad (28)$$

*Оценка средней плотности КДО соответствующего класса разложения*

Оценку средней плотности КДО соответствующего класса разложения будем искать в общем виде. Также рассмотрим множество  $P_k$  действительных чисел  $\rho_{k1}, \dots, \rho_{kn}$ , являющихся значениями плотности разлагающейся древесины КДО  $k$ -го класса и составляющих вектор  $\rho_k$ . Компоненты вектора  $\rho_k$  неизвестны кроме границ его возможных значений. Целью является использование всех доступных сведений для получения оптимальной оценки, наилучшим образом характеризующей плотность  $k$ -го класса разложения или множество  $P_k$ . Интервальная форма описания множества значений вектора  $\rho_k$  состоит в задании нижней и верхней границ для  $\rho_k$ :

$$\rho_k := [\underline{\rho}_k, \overline{\rho}_k] := \{ \tilde{\rho} \in M \mid \underline{\rho}_k \leq \tilde{\rho} \leq \overline{\rho}_k \}, \quad (29)$$

где  $\tilde{\rho}_k$  — истинное значение плотности разлагающейся древесины КДО  $k$ -го класса.

Интервал  $[\underline{\rho}_k, \overline{\rho}_k]$  содержит в себе все возможные точечные оценки величины  $\rho_k$ , соответственно, оценкой может служить любой элемент множества  $P_k$ .

Если в качестве оптимальной оценки  $\hat{\rho}$  принять наиболее широко используемую оценку, минимизирующую сумму квадратов разностей (Walter, Pronzato, 1997), то нахождение такой оценки сводится к минимизации выражения:

$$\sum_{i=1}^n (\hat{\rho} - \rho_{ki})^2 = \min. \quad (30)$$

Дифференцирование (29) по  $\hat{\rho}$  и приравнивание полученного выражения к нулю, дает:

$$\sum_{i=1}^n (\hat{\rho} - \rho_{ki}) = 0. \quad (31)$$

Так как известны (заданы) только верхняя и нижняя границы интервала, то  $n = 2$ ,  $\rho_{k1} = \underline{\rho}_k$ ,  $\rho_{k2} = \overline{\rho}_k$ , и, следовательно:

$$\hat{\rho} = \frac{1}{2} (\underline{\rho}_k + \overline{\rho}_k). \quad (32)$$

Выражение (32) совпадает с определением срединной точки интервала (Jaulin et al., 2001).

Введение, следуя (Neumaier, 2001), радиуса  $\rho_k$

$$\text{rad } \rho_k := \frac{1}{2} (\underline{\rho}_k - \overline{\rho}_k) \geq 0 \quad (33)$$

позволяет преобразовать интервальное представление числа в абсолютную ошибку представления:

$$\tilde{\rho} \in \rho_k \Leftrightarrow |\tilde{\rho} - \hat{\rho}| \leq \text{rad } \rho_k = \Delta, \quad (34)$$

и записать неопределенность переменной  $\tilde{\rho}$  в форме доверительного интервала:

$$\hat{\rho} - \Delta \leq \tilde{\rho} \leq \hat{\rho} + \Delta. \quad (35)$$

Использование описанной методики дает возможность получить следующие оценки средней плотности КДО каждого класса разложения пятиклассной системы классификации:

$$0.9\rho_0 - 0.1\rho_0 \leq \tilde{\rho}_1 \leq 0.9\rho_0 + 0.1\rho_0; \quad (36)$$

$$0.7\rho_0 - 0.1\rho_0 \leq \tilde{\rho}_2 \leq 0.7\rho_0 + 0.1\rho_0; \quad (37)$$

$$0.5\rho_0 - 0.1\rho_0 \leq \tilde{\rho}_3 \leq 0.5\rho_0 + 0.1\rho_0; \quad (38)$$

$$0.3\rho_0 - 0.1\rho_0 \leq \tilde{\rho}_4 \leq 0.3\rho_0 + 0.1\rho_0; \quad (39)$$

$$0.1\rho_0 - 0.1\rho_0 \leq \tilde{\rho}_5 \leq 0.1\rho_0 + 0.1\rho_0. \quad (40)$$

Практический выбор значения  $\rho_0$  определяется видовой принадлежностью древесных остатков.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Одним из параметров, используемых при расчете биомассы мертвого органического вещества, является плотность разлагающейся древесины. Сложившаяся к настоящему времени практика оценки плотности опирается на базовые модели, которые не являются адекватным отражением реальности.

Во-первых, в рамках существующего подхода древесина разлагающихся древесных растений рассматривается как однородное вещество, что приводит к неверной оценке плотности древесины как на уровне отдельного экземпляра КДО, так и на уровне совокупности экземпляров. Гетерогенность структуры вещества КДО и неаддитивность плотности как физической величины препятствуют использованию апробированных методов оценки плотности здоровой древесины.

Во-вторых, согласно действующей методике, пул КДО моделируется как выборка, удовлетворяющая условиям применения статистико-вероятностного подхода, в то время как формирование структуры КДО в лесных экосистемах носит скорее стационарный характер, чем иррегулярный. Иррегулярность, вносимая в динамику формирования совокупности КДО катастрофами, может изменить параметры процесса только на коротком временном отрезке. Стационарность формирования структуры наряду с асинхронностью смерти отдельного древесного растения является причиной того, что совокупности КДО не обладают свойствами статистически однородного ансамбля.

Использование показателя эффективной плотности древесины КДО, методически верное и позволяющее исключить проблемы, связанные с гетерогенностью древесины КДО, усложняет сбор и обработку информации и, однако, не решает проблему сопоставления показателя плотности КДО классу разложения.

Интервальный анализ позволяет получить исковое решение. Применение интервального представления, кроме устранения методического несоответствия, порождает ряд преимуществ. Во-первых, это возможность отказаться от непосредственного экспериментального измерения плотности и определять плотность КДО на основе стандартных значений плотности здоровой древесины. Во-вторых, предлагаемый подход способствует стандартизации методики определения биомассы мертвого органического вещества.

### ФИНАНСИРОВАНИЕ

Работа выполнена в рамках темы НИР “Зональные закономерности динамики структуры и продуктивности первичных и антропогенно-измененных фитоценозов лесных и болотных экосистем европейского Северо-Востока России” (122040100031-8).

### КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Автор заявляет об отсутствии конфликта интересов.

### СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ СТАНДАРТОВ

Настоящая статья не содержит каких-либо исследований с участием людей и животных в качестве объектов изучения.

### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Яворский Б.М., Детлаф А.А. Справочник по физике. М.: ГРФМЛ “Наука”, 1979. 942 с.
- Beets P.N., Robertson K.A., Ford-Robertson J.B. et al. Description and validation of C change: a model for simulating carbon content in managed *Pinus radiata* stands // New Zealand J. Forest. Sci. 1999. V. 29 (3). P. 409–427.
- Belton V., Stewart T.J. Multiple criteria decision analysis: an integrated approach. N.Y.: Kluwer Acad. Publishers, 2002. 372 p. <https://doi.org/10.1007/978-1-4615-1495-4>
- Bunge M. Scientific research II. The search for truth. Studies in the foundations methodology and philosophy of science. Berlin, Heidelberg: Springer, 2012. V. 3/11. 374 p. <https://doi.org/10.1007/978-3-642-48138-3>
- Chao K.-J., Phillips O.L., Baker T.R. Wood density and stocks of coarse woody debris in a northwestern Amazonian landscape // Can. J. Forest Res. 2008. V. 38 (4). P. 795–805.
- Creed I.F., Webster K.L., Morrison D.L. A comparison of techniques for measuring density and concentrations of carbon and nitrogen in coarse woody debris at different stages of decay // Can. J. Forest Res. 2004. V. 34 (3). P. 744–753.
- Delaney M., Brown S., Lug A.E. et al. The quantity and turnover of dead wood in permanent forest plots in six life zones of Venezuela // Biotropica. 1998. V. 30 (1). P. 2–11.
- Design and analysis of ecological experiments / Eds S.M. Scheiner, J. Gurevitch. N.Y.: Oxford Univ. Press, Inc. 2001. 432 p.
- Doumpos M., Zopounidis C. Multicriteria decision aid classification methods. N.Y., Boston, Dordrecht, L., M.: Kluwer Acad. Publishers, 2004. 256 p.
- Ecosystem ecology / Ed. S.E. Jørgensen. Amsterdam: Elsevier B.V., 2009. 521 p.
- Fogel R., Ogawa M., Trappe J.M. Terrestrial decomposition: a synopsis. Internal report 135. Oregon State University; Government Forest Experiment Station, Tokyo; U.S.D.A. Forest Service, Pacific Northwest Forest & Range Experiment Station. 1973. 16 p.
- Franklin J.F., Shugart H.H., Harmon M.E. Tree death as an ecological process. tree death: cause and consequence // BioScience. 1987. V. 37 (8). P. 550–556.
- Hand D.J. Statistics and the theory of measurement // J. R. Statist. Soc. A. 1996. V. 15 (3). P. 445–492.
- Hardy G.H., Littlewood J.E., Pólya G. Inequalities. 2nd ed. Cambridge, U.K.: Cambridge Univ. Press, 1952. 336 p.
- Harmon M.E., Sexton J. Guidelines for measurements of woody detritus in forest ecosystems. Publication № 20. U.S. LTER Network Office: University of Washington, Seattle, WA, USA. 1996. 73 p.
- Harmon M.E., Woodall C.W., Fasth B., Sexton J. Woody detritus density and density reduction factors for tree species in the United States: a synthesis. United States Department of Agriculture Forest Service. Northern Research Station. General Technical Report NRS-29. 2008. 86 p.
- Hukka A., Viitanen H.A. A mathematical model of mould growth on wooden material // Wood Sci. Technol. 1999. V. 33. P. 475–465.
- Jaulin L., Kieffer M., Didrit O., Walter E. Applied interval analysis. L.: Springer-Verlag Limited, 2001. 379 p.
- Jonas M., Nilsson S., Shvidenko A. et al. Full carbon accounting and the Kyoto protocol: a systems-analytical view. The Intergovernmental Panel on Climate Change (IPCC), Interim Report. 1999. 50 p.
- Jørgensen S.E. An integrated ecosystem theory, EAS Publishing House // Science and Education. 2006. P. 19–33.
- Maser C., Anderson R.G., Cromack K Jr. et al. Dead and down woody material // Wildlife habitats in managed forests: the blue mountains of Oregon and Washington. USDA Forest Service Agriculture handbook / Ed. J.W. Thomas. Washington, DC: Wildlife Management Institute: U.S. Dept. of Interior, Bureau of Land Management, 1979. 512 p.
- Merganičová K., Merganič J., Svoboda M. et al. Deadwood in forest ecosystems // Forest ecosystems – more than just trees / Eds J. Blanco, Y.-H. Lo. 2012. 482 p. <https://doi.org/10.5772/1127>
- Milton G.W. The theory of composites. Cambridge, U.K.: Cambridge Univ. Press. 2004. P. 719.
- Moss R.H., Schneider S.H. Uncertainties in the IPCC TAR: recommendations to lead authors for more consistent assessment and reporting // Guidance papers on the

- cross cutting issues of the third assessment report of the IPCC / Eds R. Pachauri, T. Taniguchi, K. Tanaka. Intergovernmental panel on climate change, Geneva, Switzerland. 2000. P. 33–51.
- Neumaier A.* Introduction to numerical analysis. Cambridge, U.K.: Cambridge Univ. Press, 2001. 356 p.
- Newton A.* Forest ecology and conservation: a handbook of techniques. Oxford, U.K.: Oxford Univ. Press, 2007. 454 p.
- Nilsson S., Shvidenko A., Jonas M. et al.* Uncertainties of the regional terrestrial biota full carbon account: a systems analysis // *Water Air Soil Poll. Focus.* 2007. V. 7. P. 425–441.
- Nilsson T.* Studies on wood degradation and cellulolytic activity of microfungi. Department of Forest Products, Royal College of Forestry. Stockholm, Sweden: Studia Forestalia Suecica, 1973. 40 p.
- Roy B.* Multicriteria methodology for decision aiding. N.Y.: Springer, 2013. 293 p.  
<https://doi.org/10.1007/978-1-4757-2500-1>
- Scott D., Suppes P.K.* Foundational aspects of theories of measurement // *J. Symbol. Log.* 1958. V. 23 (2). P. 113–128.
- Shmulsky R., Jones P.D.* Forest products and wood science: an introduction. 6th ed. West Sussex: Wiley-Blackwell, 2011. 496 p.
- Shorohova E.V., Shorohov A.A.* Coarse woody debris dynamics and stores in a boreal virgin spruce forest // *Ecol. Bull.* 2001. V. 49 (49). P. 129–135.  
<https://doi.org/10.2307/20113270>
- Shortle W.C., Dudzik K.R.* Wood decay in living and dead trees: a pictorial overview. U.S. Dept. of Agriculture, Forest Service, Northern Research Station. General technical report NRS, 2012. 97 p.
- Sollins P., Cline S.P., Verhoeven T. et al.* Patterns of log decay in old-growth Douglas-fir forests // *Can. J. For. Res.* 1987. V. 17 (12). P. 1585–1595.
- Swaine M.D., Lieberman D., Putz F.E.* The dynamics of tree populations in tropical forest: a review // *J. Trop. Ecol.* 1987. V. 3. P. 359–366.
- Torquato S.* Modeling of physical properties of composite materials // *Int. J. Struct.* 2000. V. 37. P. 411–422.
- Walter E., Pronzato L.* Identification of parametric models from experimental data. L.: Springer, 1997. 413 p.
- Wood handbook – wood as an engineering material. General Technical Report FPL-GTR-190. Madison, WI: U.S. Department of Agriculture, Forest Service, Forest Products Laboratory, 2010. 508 p.

## Assessment of Detritus Biomass in Forest Ecosystems

S. I. Tarasov\*

\*e-mail: [tarasov@ib.komisc.ru](mailto:tarasov@ib.komisc.ru)

*Institute of Biology, Komi Science Centre, Ural Branch of the Russian Academy of Sciences, Syktyvkar, Russia*

The current method for estimating the biomass of dead organic matter in forest ecosystems is analyzed. The main attention is paid to the study of the adequacy of mathematical models used to estimate the density of decomposing wood. The failure of the traditional approach to estimating the density index, both for an individual decomposing dead tree, and in calculating the average index characterizing the density of the wood of the totality of dead trees is shown. We consider the possibility of applying the concept of effective density to estimate the biomass of dead wood remains as the most corresponding to their heterogeneous structure. We propose a method based on representations of interval analysis, which allows, using standard values of the density of healthy wood, to estimate the density index of rotting wood of the corresponding decomposition class of the debris classification system.

**Keywords:** wood detritus, large wood remains, density, biomass, heterogeneity, interval analysis

УДК 581.1

## **rol-ГЕНЫ АГРОБАКТЕРИЙ: ВОЗМОЖНЫЕ БИОЛОГИЧЕСКИЕ ФУНКЦИИ**

© 2023 г. Д. Ю. Швеца<sup>1, 2, \*</sup>, З. А. Бережнева<sup>1</sup>, Х. Г. Мусин<sup>1</sup>, Э. А. Баймухаметова<sup>1</sup>, Б. Р. Кулуев<sup>1</sup><sup>1</sup>Институт биохимии и генетики — обособленное структурное подразделение Уфимского федерального исследовательского центра Российской академии наук, Уфа, Россия<sup>2</sup>Башкирский государственный медицинский университет, Уфа, Россия

\*e-mail: shvetsdasha99@yandex.ru

Поступила в редакцию 25.03.2023 г.

После доработки 02.05.2023 г.

Принята к публикации 03.05.2023 г.

Гены *rolA*, *rolB*, *rolC* и *rolD* *Agrobacterium rhizogenes*, встраиваясь в геномы растений в составе Т-ДНК при агробактериальной трансформации, обуславливают обильное разрастание волосовидных корней, а при регенерации из них побегов приводят к низкорослости, укорочению междоузлий и формированию морщинистых листьев. Ряд представителей родов *Nicotiana*, *Linaria*, *Ipomoea* и других в своем геноме содержат некоторые *rol*-гены, которые попали в них при горизонтальном переносе генов и эволюционно закрепились. Тот факт, что как в *A. rhizogenes*, так и в природно-трансгенных растениях *rol*-гены консервативны, может говорить о выполнении ими важных биологических функций. Целью данной обзорной статьи является рассмотрение имеющихся на сегодняшний день данных о биологической роли *rol*-генов в волосовидных корнях, трансформированных и природно-трансгенных растениях. На сегодняшний день показано, что экспрессия *rol*-генов как вместе, так и по отдельности оказывает различное влияние на морфологию как трансформированных агробактериями растений, так и природно-трансгенных видов. В обзоре представлены результаты исследований, показавшие позитивное влияние *rol*-генов на вторичный метаболизм, антиоксидантную систему и стрессоустойчивость растений. Также обсуждается вопрос о возможном действии белковых продуктов *rol*-генов через влияние на содержание фитогормонов или чувствительности к ним. Описываются экспериментальные свидетельства о ферментативной активности Rol-белков по отношению к глюкозидам фитогормонов, а также субклеточная локализация Rol-белков. Однако эти эксперименты не дали исчерпывающих ответов, поэтому исследования биологических функций *rol*-генов должны быть продолжены, так как полученные при этом знания могут быть использованы при создании трансгенных и редактированных растений с хозяйственно-ценными признаками.

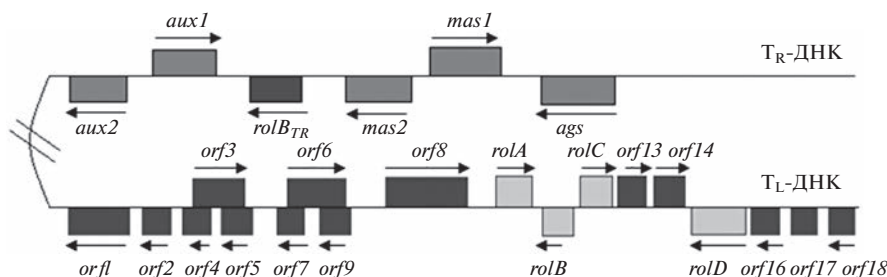
**Ключевые слова:** волосовидные корни, *rol*-гены, *Agrobacterium rhizogenes*, *plast*-гены, стрессоустойчивость

**DOI:** 10.31857/S004213242305006X, **EDN:** SKHXVM

### **ВВЕДЕНИЕ**

*Agrobacterium rhizogenes* (или *Rhizobium rhizogenes*) — граммотрицательная почвенная бактерия, способная индуцировать образование волосовидных корней (от англ. hairy roots) на месте поранения у высших растений, в особенности у двудольных (Кулаева и др., 2006; Кузовкина, Вдовитченко, 2011). Механизм индукции корнеобразования обусловлен переносом Т-ДНК из Ri-плазмиды *A. rhizogenes* в геном растения-хозяина. Различные группы Ri-плазмид классифицируют в соответствии с их способностью определять синтез трех основных опинов, которые используются агробактериями в качестве питательных веществ: агропина, маннопина и кукумопина. Наиболее известные штаммы *A. rhizogenes* агропинового типа имеют два участка Т-ДНК: левый (Т<sub>L</sub>-ДНК) и правый (Т<sub>R</sub>-ДНК), которые независимо интегрируют-

ся в геном растения-хозяина (White, Nester, 1980; Nemoto et al., 2009). Т<sub>L</sub>-ДНК содержит 18 открытых рамок считывания (ORF1–ORF18), из них 4 гена — *rolA*, *rolB*, *rolC* и *rolD*, соответствующие ORF10, ORF11, ORF12 и ORF15, составляют так называемый корневой локус, ответственный за образование волосовидных корней (Павлова и др., 2013а; White et al., 1983; Sarkar et al., 2018). *rol*-гены — наиболее известные *plast*-гены (от “пластичности развития”), название которых происходит от их способности влиять на рост растений и изменять его (Otten, 2018, 2020). Участок Т<sub>R</sub>-ДНК содержит гены, продукты которых участвуют в синтезе ауксина *aux1* (*tms1*) и *aux2* (*tms2*), опинов (*mas1*, *mas2*), агропина (*ags*). Также в Т<sub>R</sub>-ДНК есть гомолог гена *rolB*, называемый *rolB<sub>TR</sub>* (рис. 1) (Nemoto et al., 2009). До недавнего времени было известно относительно небольшое количество участков



**Рис. 1.** Структурная организация Т-ДНК *A. rhizogenes*. Светло-серым цветом показаны онкогены; серым — гены синтеза: *mas1*, *mas2* — опинов, *aux1*, *aux2* — ауксина, *ags* — агропина; темно-серым — гены с неизвестной функцией; названия генов указаны над/под стрелками (по: Ozyigit et al., 2013, модифицировано).

Т-ДНК агробактерий. Однако из-за увеличения усилий по полногеномному секвенированию в настоящее время стало доступно около 400 последовательностей *Agrobacterium*, 350 из которых содержат участки Т-ДНК (Otten, 2021). Несколько кластеров тесно связанных структур позволяют предположить, что эволюция областей Т-ДНК происходит путем медленной, прогрессивной эволюции генных последовательностей, сопровождаемой более быстрыми изменениями общей структуры из-за рекомбинации между областями Т-ДНК разного происхождения (Otten, 2021). Обычно при инфицировании растений агробактериями наследование Т-ДНК последующими поколениями не происходит, однако обнаруженные природно-трансгенные растения, содержащие в геноме последовательности, гомологичные Т-ДНК *Agrobacterium* spp. (Павлова и др., 2013а; Matveeva, 2018), наводят на мысль, что это не всегда так. Вероятнее всего, эти природно-трансгенные растения возникли в результате регенерации из генетически трансформированных агробактериями клеток растений. Нельзя также исключать того, что у предков этих растений могли быть трансформированы генеративные ткани (Матвеева, Сокорнова, 2017). На настоящий момент наиболее изученной группой природно-трансгенных растений являются представители р. *Nicotiana* L. Тот факт, что эти растения в течение длительных этапов эволюции сохраняют трансгены агробактерий в геноме в малоизмененном виде наводит на мысль о выполнении этими генами важных биологических функций. Хорошо известно, что экспрессия генов корневого локуса влияет на гормональный баланс, биосинтез вторичных метаболитов, рост и стрессоустойчивость растений (Хафизова, Матвеева, 2021), однако биологические функции *rol*-генов не до конца ясны даже для специалистов, так как эти функции довольно многообразны и все еще остаются малоизученными. Обзорные статьи о возможных биологических функциях *rol*-генов ранее уже публиковались в русскоязычной литературе (Павлова и др., 2013а). Некоторые аспекты функций *rol*-генов также были рассмотрены в обзорах (Матвеева, 2021; Хафизова, Матвеева, 2021). Целью данной обзорной статьи является рассмотрение и обобщение

имеющихся на сегодня данных о биологической роли *rol*-генов в волосовидных корнях, трансформированных растений и в природно-трансгенных растениях. Знания о биологических функциях генов агробактерий могут быть использованы при планировании экспериментов по созданию трансгенных и редактированных растений с хозяйственно-ценными признаками.

#### ПРЕДСТАВЛЕНИЯ О СТРУКТУРЕ *rol*-ГЕНОВ И РЕГУЛЯЦИИ ИХ АКТИВНОСТИ

Ген *rolA* состоит из 300 п.н. (Dilshad et al., 2021) и обнаружен в Ri-плазмидах всех изученных штаммов *A. rhizogenes*, причем N-конец кодируемого им белка у разных штаммов консервативен, а С-конец может варьировать. Белок RolA имеет молекулярную массу 11.4 кДа, изоэлектрическую точку 11.2, состоит из 100 аминокислот, является неинтегральным, но ассоциированным с мембраной белком (Vilaine et al., 1998). Есть сведения, что он может регулировать экспрессию различных генов в растениях посредством взаимодействия с ДНК (Павлова и др., 2013а). Промотор *rolA* состоит из трех функциональных доменов: А (–638...–477 п.н.), В (–473...–366 п.н.), С (–366...–200 п.н.) (Guivarch et al., 1996). При последовательном удалении каждого из этих доменов отмечено уменьшение содержания транскрипта *rolA*, вплоть до его отсутствия. Регуляция экспрессии гена осуществляется путем совместной работы этих доменов. Наличие домена А обуславливает экспрессию гена только в листьях, в то время как его делеция приводит к накоплению белка только в корнях и стеблях. Домен А включает *cis*-регуляторные участки ауксин-регулируемых и светоиндуцируемых генов, которые могут участвовать в регуляции транскрипции (Павлова и др., 2013а). Имеются сведения об ингибирующем действии домена А на домены В и С (Guivarch et al., 1996). В результате анализа структуры *rolA* из разных штаммов в 5'-некодирующей области был выявлен интрон (85 п.н.), обладающий высокой консервативностью. Стоит отметить, что *rolA* — единственный *rol*-ген, содержащий интрон, в пределах которого расположена последовательность, характерная для бактериального промотора. Следовательно, функция этого интрона со-

стоит в регуляции дифференциальной экспрессии *rolA* у бактерий и трансформированных растений (Pandolfini et al., 2000).

Ген *rolB* включает 777 п.н. и кодирует белок, который состоит из 259 аминокислот и имеет молекулярную массу 30 кДа (Dilshad et al., 2021). Промотор *rolB* состоит из пяти доменов (A, B, C, D, E), каждый из которых взаимодействует с растительными факторами транскрипции и способен модулировать работу этого гена в зависимости от типа ткани, гормональных сигналов и стадии развития. Наличие всех доменов одновременно обуславливает экспрессию *rolB* в клетках различных тканей корня. Выявлено, что отсутствие в промоторе домена A способствует ингибированию экспрессии в протодерме и корневом чехлике, а доменов B и E подавляет работу гена в клетках меристемы. Домен D ответственен за экспрессию *rolB* в первичной коре, а домен C — за экспрессию во внутренних меристемах, одновременно подавляя ее в протодерме (Carone et al., 1994). Регуляция транскрипции *rolB* основана на действии домена B (–341...–306), в случае делеции которого ген не экспрессируется в меристемах и не индуцируется ауксинами. В домене B расположена высококонсервативная у разных штаммов *A. rhizogenes* последовательность АСТТТА (–312...–307), представляющая собой *цис*-регуляторный элемент индукции экспрессии *rolB* ауксинами (Baumann et al., 1999). Имеются сведения, что в регуляции экспрессии агробактериальных онкогенов у трансгенных растений участвуют растительные транскрипционные факторы (ТФ). Так, к примеру, NtBBF1 у *Nicotiana tabacum* L. относится к белкам, содержащим одиночный цинковый палец и Dof-домен. NtBBF1 обладает сродством к регуляторным последовательностям в промоторной области *rolB* и может связываться с доменом B, изменяя экспрессию гена (Павлова и др., 2013а; Yanagisawa, 2004). RBF1 способен взаимодействовать с последовательностью, удаленной на расстоянии –553...–530 от старт-кодона, регулируя экспрессию *rolB* в немеристематических клетках корня. Сайт связывания транскрипционного фактора почти полностью перекрывается с доменом A, что указывает на взаимосвязь связывания и транскрипционной активности *rolB* в клетках корня (Filetici et al., 1997). Биохимические функции RolB остаются не до конца выясненными. Ранее предполагалось, что белок RolB обладает  $\beta$ -глюкозидазной активностью и может гидролизовать конъюгаты эндогенного ауксина и увеличивать концентрацию свободного гормона. Однако эта биохимическая модель не подтвердилась в ходе дальнейших исследований. Более того, у *rolB*-трансформантов не фиксировалось изменение в концентрации ауксинов, их транспорте и метаболизме. Но во многих случаях подтверждалась положительная обратная связь между ауксинами и RolB (Otten, 2018). Сообщалось, что RolB стимулирует связывание ауксина с мембранами растений табака, причем это связывание может быть заблокировано антителами к RolB, однако эта серия исследо-

ваний не продолжена и выводы делать пока рано (Otten, 2018). Что касается субклеточной локализации, имеются убедительные данные о том, что RolB способен связываться с ядерными белками-импортерами и благодаря этому может локализоваться в ядре, выполняя там неизвестные функции (Moriuchi et al., 2004).

Ген *rolC* состоит из 540 п.н. и характеризуется высокой консервативностью у разных штаммов агробактерий (Intrieri, Buiatti, 2001). Белок RolC имеет молекулярную массу 20 кДа, состоит из 180 аминокислот (Dilshad et al., 2021). На сегодня вопрос о биохимической активности белка RolC остается не закрытым. Сообщалось, что этот белок у *A. rhizogenes* штамма A4 способен высвобождать цитокинины из конъюгатов с N- и O-глюкозидами, обладая  $\beta$ -глюколитической активностью. Причем лишь немногие глюкозиды являются потенциальными субстратами для белка: только O- и N3-глюкозиды могут расщепляться, как у *N. tabacum*, а N7- и N9-глюкозиды — нет (Matveeva et al., 2015). Однако учитывая то, что корни *rolC*-трансформированных табаков не отличаются по чувствительности к цитокининам от обычных корней (Faiss et al., 1996) и ряда других данных (Otten, 2018), гипотеза цитокинин- $\beta$ -глюкозидазы пока не подтверждается. С другой стороны, недавно получены данные о позитивном влиянии белка RolC на содержание 2-изопентиладенина, обладающего цитокининовой активностью (Alcalde et al., 2022). Субклеточную локализацию RolC исследовали с помощью транзientной экспрессии в *Nicotiana benthamiana* Domin., и конфокальные изображения показали, что RolC растворим и локализуется в цитоплазме, но также способен проникать в ядро (Favero et al., 2021). В промоторе *rolC* находится активируемый сахарозой *цис*-регуляторный элемент, который расположен на расстоянии –135...–94 от точки инициации транскрипции. Сахароза выполняет функцию сигнальной молекулы, которая индуцирует работу трансгена в проводящей системе и является субстратом для белка RolC (Yokoyama et al., 1994). Иногда эти результаты связывают с возможной функцией RolC в качестве участника или регулятора метаболизма сахарозы, но механизм остается неизвестным (Хафизова, Матвеева, 2021; Otten, 2018). Имеются данные о наличии двух *цис*-регуляторных участков: *myb*-response elements (AACG/TG) и C-related elements (CCGAC) в промоторе *rolC*, участвующих в формировании ответа растений на действие стрессовых факторов (Хафизова, Матвеева, 2021).

Ген *rolD* состоит из 1032 п.н. и кодирует белок из 344 аминокислот (Dilshad et al., 2021). Промотор гена — ауксин-регулируемый и содержит, как и промотор *rolB*, Dof-домен (Altamura, 2004). Известно о гомологичности последовательностей *rolD* и гена орнитинциклодеаминазы (*ocd*), фермента, осуществляющего превращение L-орнитина в L-пролин, однако точных доказательств ферментативной активности для RolD пока нет (Dilshad et al., 2021). Стоит отметить, что последовательность *ocd* включена в Т-ДНК *A. rhizogenes*, однако

бактерией не используется для деградации опинов, поскольку у нее появились *цис*-регуляторные мотивы, позволяющие гену фермента экспрессироваться только в растительных клетках (Павлова и др., 2013а).

Что касается природно-трансгенных растений, то впервые такие виды описаны у р. *Nicotiana* (White et al., 1983), а спустя 30 лет — у рр. *Linaria* Mill. и *Ipomoea* L. (Matveeva et al., 2012; Kyndt et al., 2015). В 1983 г. Уайтом с соавт. установлено, что сходство между последовательностями клеточной Т-ДНК *Nicotiana glauca* Graham (gT) и Т-ДНК *A. rhizogenes* составляет 80% (White et al., 1983). Последовательности *N. tabacum*, гомологичные *rol*-генам, были названы *trol*-генами (Meyer et al., 1995). На настоящий момент наиболее изучены некоторые клеточные *rol*-гены из р. *Nicotiana*: *NgrolB* (Aoki, Syono, 1999), *NgrolC* (Nagata et al., 1995) из *N. glauca*, а также *trolC* (Mohajjel-Shoja et al., 2011) из *N. tabacum*. В литературе обсуждается гипотеза о ключевой роли горизонтального переноса генов в возникновении *trol*-генов у представителей *Nicotiana* (Матвеева, 2015, 2021), в чем трудно усомниться. Что касается распространенности этого явления, то согласно недавним исследованиям, около 7–10% видов покрытосеменных могут являться естественными трансформантами и нести различные последовательности клТ-ДНК (клеточная Т-ДНК) (Matveeva, Otten, 2019). Гены, имеющие рамки считывания ORF11, ORF12, ORF13, ORF14, ORF15, входящие в клТ-ДНК представителей *N. glauca* (Matveeva, 2018), были названы *NgrolB*, *NgrolC*, *NgORF13*, *NgORF14* и *NgrolD* соответственно (Матвеева, 2015). Нагата с соавт. (1995), изучая свойства генетически обусловленных опухолей на листьях табака, предположили, что экспрессия генов *Ngrol* тканеспецифична и присутствует как в исходных, так и в опухолообразующих гибридах. Нужно отметить, что во время регенерации опухолевых тканей наблюдалось постепенное снижение экспрессии генов. На основании полученных результатов авторы предположили, что *NgrolB* участвует в генетическом контроле образования опухолей у данного вида растений на стадии митоза, а *NgrolC* — на стадии дифференцировки тканей (Nagata et al., 1995). С другой стороны, обнаружение экспрессии генов не только в исходных видах, но и в опухолевых гибридах подвергает сомнению их роль в процессе образования опухолей (Lemcke, Schmulling, 1998). Группой исследователей (Aoki, Syono, 1999) методом секвенирования доказано наличие двух нонсенс-мутаций в гене *NgrolB*, которые в процессе эволюции могли способствовать утрате проявления волосовидных корней у растений *N. glauca*. Вероятнее всего предковые формы растения, содержащие полную последовательность гена, образовывали волосовидные корни. Таким образом, обнаруженная в ходе направленного мутагенеза восстановленная последовательность (48 п.н.) может иметь решающее значение для индукции корней геном *NgrolB*. Необходимо отметить, что активность гена *NgrolC* сохранилась со времен

первоначальной трансформации предковых видов табака, при этом регуляция работы этих генов осуществляется гормонами, например, ген *NgrolB* — ауксин-зависимый (Ichikawa, Syono, 1991). Анализ изменения нуклеотидных последовательностей показал высокую консервативность нуклеотидных последовательностей (93.5–98.5%) генов *rolB*, *rolC*, *ORF13* и *ORF14* у *Nicotiana cordifolia* Phil., и *N. glauca*, возможно, обусловленную перекрестным опылением между данными видами (Intrieri, Buiatti, 2001). Однако позднее было обнаружено, что нуклеотидные последовательности этих генов все же отличаются от ранее описанных, а сходство по нуклеотидной последовательности составило всего 72% (Chen, Otten, 2017). В дальнейшем представляется актуальным проведение секвенирования всей клТ-ДНК данных видов. Анализ нуклеотидных последовательностей клТ-ДНК между представителями подрода *Tabacum* р. *Nicotiana* продемонстрировал высокий уровень их сходства, однако при сравнении с последовательностями подрода *Petunioides* обнаружено его снижение с 68.6 по 66.3% для *rolC* и с 82.9 по 70.2% для *ORF13*. *ORF14*, напротив, оказался высококонсервативным (94–97%) (Intrieri, Buiatti, 2001). Методом ПЦР-анализа идентифицирована последовательность клТ-ДНК у *Nicotiana debneyi* Domin и *N. cordifolia* (Intrieri, Buiatti, 2001), однако эти данные противоречат результатам (Furner et al., 1986), что может быть обусловлено изменчивостью между сортами (Матвеева, 2015). С помощью методов полногеномного секвенирования получены сведения о наличии четырех инвертированных повторов в геноме *Nicotiana tomentosiformis* L.: TA, TB, TC, TD, перенесенных из разных штаммов *A. rhizogenes*. Первая вставка, TA, содержит гомологичные последовательности *A. rhizogenes* 1724 микимопинового типа, гены *ORF14* и *mis*. Гомологичные гену микимопин-синтазы последовательности *NgmisL* и *NgmisR* обнаружены у *N. glauca*, *N. tabacum*, *N. tomentosiformis* и *Nicotiana tomentosa* Ruiz & Pav., что свидетельствует об общности происхождения их клТ-ДНК от Ri-плазмиды микимопинового типа (Кулаева и др., 2006). Вставка, названная TB, похожа на TA, но имеет область, контролирующую синтез маннопина и агропина. TC включает последовательности, сходные с Т<sub>L</sub>-ДНК штамма A4 *A. rhizogenes*, фрагмент, сходный с геном октопинсинтазы (*ocl*) и *c*-подобные гены, характерные для *A. tumefaciens*. Вставка TD похожа на TC, но несет ген, подобный *ORF14* и ген с неизвестной функцией — *ORF511* (рис. 2а) (Chen, Otten, 2017). В результате поиска клТ-ДНК у родственных видов *Nicotiana* обнаружена делеция в центральной части последовательности TA и отсутствие TC у *N. tabacum* сорта Basma/Xanthi (Матвеева, 2015). Делеция TC, выявленная у трех сортов *N. tabacum*, может быть обусловлена ее наличием у предковой формы *N. tomentosiformis* или является результатом гибридизации *N. tomentosiformis* × *Nicotiana sylvestris* Speg. & Comes (Матвеева, Соколькова, 2017). Вставки TA, TB и TD не обнаружены у *Nicotiana otophora* L., од-

нако имеется последовательность ТЕ, включающая смесь участков, похожих на гены *A. vitis*, *A. tumefaciens* и *A. rhizogenes* (Матвеева, 2015). В литературе описаны данные о многократной трансформации растений табака, позволяющие оценить возраст инвертированных повторов в геноме. Так, вставка ТС считается наиболее древней, затем клТ-ДНК из *N. glauca*, далее ТВ, TD и ТА (Матвеева, 2015). ТС, вероятно, первоначально попала в геном предков секции *Tomentosae*, давшей начало следующим видам: *N. tomentosiformis*, *Nicotiana kawakamii* Y. Ohashi, *N. tomentosa*, *N. otophora*, *Nicotiana setchellii* Goodsp. Вставка ТВ появилась в геноме предковой формы видов *N. tomentosiformis*, *N. kawakamii*, *N. tomentosa*. TD и ТА считаются наиболее молодыми вставками, поскольку обнаружены только у двух представителей *N. tomentosiformis* и *N. kawakamii* (Матвеева, Сокорнова, 2017; Chen, Otten, 2017). Предполагается, что горизонтальный перенос *rol*-генов от агробактерий в геном представителей р. *Nicotiana* произошел на раннем этапе эволюции около 5 млн л. н. (Матвеева, 2013). Дальнейшие поиски клТ-ДНК в геномах более сотни видов двудольных привели к обнаружению двух копий последовательностей Т-ДНК *A. rhizogenes* у *Linaria vulgaris* Mill., организованных как несовершенные повторы. Анализ этих копий методом “прогулки по хромосоме” показал наличие последовательностей, получивших названия: *LvORF2*, *LvORF3*, *LvORF8*, *LvrolA*, *LvrolB*, *LvORF13*, *LvORF14* и *Lvmis*. Левая копия клТ-ДНК, кроме ранее описанных генов, содержит гомолог агробактериального гена агроцинопинсинтазы (*acs*) (рис. 2б) (Matveeva et al., 2012). Согласно последней классификации, в пределах р. *Linaria* выделяют 7 основных секций (*Linaria*, *Speciosae*, *Diffusae*, *Supinae*, *Pelisserianae*, *Versicolores* и *Macrocentrum*), из которых клТ-ДНК, а именно сайт ее интеграции в геном, совпадает только у *Linaria* и *Speciosae*. Полученные результаты указывают на монофилетическое происхождение данных секций рода (Matveeva, Lutova, 2014). К настоящему времени, помимо *L. vulgaris*, детально охарактеризована клТ-ДНК у *L. genistifolia* spp. *dalmatica* (L.) Maire & Petitm. (Павлова и др., 2013b). На основании полученных данных было высказано предположение, что трансформация предковых форм льнянки произошла около 1.5–2 млн л. н. (Матвеева, 2013).

С помощью молекулярно-генетических методов установлено наличие двух типов вставок клТ-ДНК у батата *Ipomoea batatas* L. — *IbT*-ДНК1 и *IbT*-ДНК2. Первая вставка (22146 п.н.) содержит гены триптофан-2-монооксигеназы (*iaaM*), индол-3-ацетида гидролазы (*iaaH*), С-белка (*C-ProI*) и агроцинопинсинтазы (*acs*) *Agrobacterium* spp., а также дефектную копию гена *iaaM* в обратной ориентации. Стоит отметить, что эта инсерция обнаружена во всех исследуемых культурных разновидностях батата, но не обнаружена у близкородственных дикорастущих форм. Вторая вставка включает 5 интактных ORF, содержащих последовательности, аналогичные генам: *ORF14*, *ORF17n*, *rolB*, *rolC*, *ORF13*, *ORF18* (рис. 2в), и обнаружена у

45 из 217 генотипов, как культурных, так и дикорастущих видов батата (Матвеева, 2015; Kyndt et al., 2015). В процессе эволюции клТ-ДНК претерпела различные изменения, в том числе делецию некоторых фрагментов и инсерцию мобильных элементов (Матвеева, Сокорнова, 2017). Анализ структуры вставок продемонстрировал их соответствие *IbT*-ДНК1 —  $T_R$ -ДНК и *IbT*-ДНК2 —  $T_L$ -ДНК некоего штамма *A. rhizogenes*. Последовательность *ORF13* из *IbT*-ДНК2 обнаружена у *I. trifida* (Kyndt et al., 2015), что свидетельствует о переносе клТ-ДНК от предковой формы в процессе видообразования или в результате межвидовой гибридизации *I. batatas* и *I. trifida* (Chen, Otten, 2017). Недавно было показано, что гомолог онкогенов *rolB/rolC* из батата, названный *Ib-rolB/C* не способен индуцировать образование волосовидных корней, но в то же время способствует раннему цветению, изменяет морфологию листьев и способствует преждевременному старению листьев у трансгенных растений *Arabidopsis thaliana* L. Heynh. (Shkryl et al., 2022).

Общность структуры клТ-ДНК природно-трансгенных растений обусловлена ее организацией в виде повторов. Имеются сведения, что инвертированные повторы способны образовывать вторичные структуры, которые снижают уровень экспрессии генов. Высокий уровень экспрессии генов клТ-ДНК привел бы к серьезному сбою в гормональной регуляции. Таким образом, организация клТ-ДНК в виде повторов способствовала ее сохранению в ряду поколений благодаря снижению чувствительности к действию гормонов (Матвеева, Сокорнова, 2017). В последующие годы Матвеевой с соавт. (2021) методами полногеномного секвенирования и биоинформатики идентифицированы клТ-ДНК у новых родов двудольных: *Eutrema*, *Arachis*, *Nissolia*, *Quillaja*, *Euphorbia*, *Parasponia*, *Trema*, *Humulus*, *Psidium*, *Eugenia*, *Juglans*, *Azadirachta*, *Silene*, *Dianthus*, *Vaccinium*, *Camellia* и *Cuscuta*. Можно полагать, что дальнейшие исследования будут способствовать увеличению этого списка. Необходимо отметить, что родственные *rol*-генам *plast*-гены обнаруживаются не только у агробактерий и природно-трансгенных растений, но и у других представителей Rhizobiaceae и грибов, особенно среди тесно взаимодействующих с растениями, однако о функциях этих *plast*-генов пока ничего не известно (Otten, 2018).

## МОРФОГЕНЕТИЧЕСКИЕ ЭФФЕКТЫ *rol*-ГЕНОВ

Трансформация растений, опосредованная *A. rhizogenes*, в течение последних 4 десятилетий применялась во многих исследованиях в основном с целью индукции признака компактного габитуса и сниженного роста, например, у декоративных растений (Favero et al., 2021). При этом отмечается, что наибольшего эффекта удастся добиться именно при использовании всех четырех *rol*-генов, по сравнению с использованием от-



1988). В то время как трансформанты *N. tabacum*, несущие этот же ген под контролем 35S CaMV-промотора, становятся низкорослыми с темно-зелеными морщинистыми листьями, с поздним цветением и уменьшенным количеством цветков (Dehio et al., 1993).

В 1985 г. впервые была установлена важная роль *rolB* в образовании придаточных корней у различных эксплантов (White et al., 1985). Позже было подтверждено, что конструкции, несущие этот трансген, способны индуцировать дифференцировку корней на разных тканях. Считалось, что именно *rolB* играет ключевую роль в корнеобразовании, поскольку трансформация растений всеми остальными онкогенами, не приводила к неопластическому росту, а встраивание в геном растений *rolB* способствовало обильному образованию волосовидных корней даже без других *rol*-генов (Spena et al., 1987; Bulgakov et al., 2002). С другой стороны, в волосовидных корнях *N. tabacum* уровень экспрессии гена *rolC* был многократно выше, чем у гена *rolB* (Гумерова и др., 2018), что говорит о важной роли *rolC* в индукции волосовидных корней. *rolB*-трансформанты показали высокий процент укоренения в отсутствие ауксина, что свидетельствует о достаточном уровне в них эндогенного гормона или же об изменении чувствительности к гормону (Welander et al., 1998). Известно, что добавление ауксина в среду индуцирует образование корней на поверхности не трансформированных растений, однако фенотип трансформированных *rolB* растений сильно отличается: усиленное укоренение, короткий стебель, апикальное доминирование, укороченные междоузлия, мелкие и широкие листья измененной формы, ранний некроз розеточных листьев, большие соцветия, раннее цветение, снижение жизнеспособности пыльцы, раннее созревание плодов, партенокарпические плоды, а также небольшой размер и меньшее количество плодов (Sarkar et al., 2018). *rolB*-трансформанты *Glycine max* L. продемонстрировали несколько вариаций фенотипа: карликовые и полукарликовые формы, аномальный рост стебля, короткие междоузлия, листья и стебли от светло-зеленого до желто-зеленого цвета (Zia et al., 2010). В присутствии ауксина в среде трансформированные побеги образовывали каллусы, кроме того, отмечалось снижение процента укоренения и количества корней, что может быть связано с увеличением чувствительности к гормону (Welander et al., 1998). Однако однозначные выводы пока делать рано, так как имеются данные о том, что у трансформантов чувствительность к гормону не увеличена (Otten, 2018). Сообщалось о влиянии уровня экспрессии *rolB* на рост каллуса трансформированных растений, обнаружено, что низкий уровень поддерживает рост культуры, а высокий — ингибирует, вызывая некроз клеток. При обработке каллуса ингибитором тирозинфосфатазы действие *rolB* на рост блокировалось, тем самым подтверждая роль дефосфорилирования тирозина в регуляции роста и вторичного метаболизма растений (Kiselev et al.,

2007; Shkryl et al., 2007). Необходимо отметить, что еще ранее высказывались предположения о тирозинфосфатазной активности белка *RolB* (Filippini et al., 1996), однако с учетом ряда полученных позднее результатов эта модель пока не может быть принята (Otten, 2018). Недавние исследования еще раз подтвердили основные морфогенетические эффекты *rolB*, причем в наибольшей степени у растений, содержащих единственную копию гена с высоким уровнем его экспрессии (Favero et al., 2021).

Ген *rolC* является наиболее изученным из группы генов корневого локуса, что обусловлено способностью индуцировать корнеобразование на поверхности эксплантов, как под нативным (Schmülling et al., 1988; Palazon et al., 1998), так и под контролем 35S CaMV-промотора (*Atropa belladonna* L.) (Bonhomme et al., 2000). Нужно отметить, что действие этого гена под контролем нативного промотора тканеспецифично, и его активность меняется с возрастом растения. Экспрессия гена *rolC* максимальна в корнях и уменьшается в ряду корни—стебель—цветки—листья (Павлова и др., 2013а; Guivarch et al., 1996). Промотор *RolC* активен во флоэме, стимулируется сахарозой и ауксином, что может говорить о связи его белкового продукта с метаболизмом сахарозы (Otten, 2018). Хозяйский ген *trnC* *N. tabacum* экспрессируется в молодых листьях и кончиках побегов, а не в старых листьях или корнях, подавляется ауксином и индуцируется цитокинином (Meyer et al., 1995). Однако нами ранее была выявлена экспрессия гена *trnC* именно в ауксин-индуцированных адвентивных корнях *N. tabacum*, тогда как у нативных культур корней его экспрессия не обнаруживалась (Гумерова и др., 2018).

На листовых эксплантах каланхоэ данный ген не индуцировал корнеобразование, однако при экспрессии совместно с *rolB* способствовал образованию корней (Хафизова, Матвеева, 2021; Spena et al., 1987; Schmülling et al., 1988). В литературе описано корнеобразование у *Panax ginseng* С.А. Meyer и *Rubia cordifolia* L. в отсутствие или присутствии ауксина в среде под действием гена *rolC* с 35S CaMV-промотором (Bulgakov et al., 1998, 2002). У трансформированных растений *Dianthus caryophyllus* L. наблюдали регенерацию побегов и корней, обусловленную ауксиновым и цитокининовым эффектами этого гена (Casanova et al., 2005). Помимо корнеобразования, *rolC* влияет на рост и морфологию трансгенных корней, они характеризуются быстрым плагиотропным ростом с образованием боковых ответвлений (White et al., 1985; Schmülling et al., 1988; Palazon et al., 1998; Bonhomme et al., 2000). Известно, что морфогенетические эффекты *rolC* обусловлены уровнем его экспрессии и видом трансформированного растения. Так, *rolC*-трансформанты под контролем нативного промотора характеризовались снижением длины побегов и апикального доминирования, уменьшением площади листовой пластинки, усиленным ветвлением, измененной морфологией листа, небольшими по размеру плодами

по сравнению с нетрансформированными растениями (Sarkar et al., 2018). В то же время трансформированные растения *A. belladonna* под контролем нативного промотора не проявляли каких-либо морфологических различий по сравнению с диким типом (Kurioka et al., 1992). Группой исследователей доказано, что карликовость *rolC*-трансформированных растений связана не только с действием ауксинов и цитокининов, но и других классов гормонов. Укороченные междоузлия и усиление бокового ветвления свидетельствуют об увеличении цитокининовой активности (Schmülling et al., 1988), а раннее цветение и карликовость могут быть обусловлены снижением содержания гибберелловой кислоты или чувствительности к этому гормону (Sarkar et al., 2018). Предполагалось, что *rolC* повышает чувствительность клеток к цитокининам и предшественникам этилена, а также снижает ее к ауксину и АБК (Schmülling et al., 1993). С другой стороны, измерение трансмембранной гиперполяризации в ответ на ауксин показало, что протопласты табака, имеющие в своем геноме *rolC*, более чувствительны к ауксинам, чем их аналоги дикого типа (Maurel et al., 1991; Mohajjel-Shoja et al., 2011). Снижение содержания АБК (Nilsson et al., 1993; Fladung et al., 1997; Bettini et al., 2010) и этилена (Martin-Tanguy et al., 1993), наблюдаемое у *rolC*-трансформантов, может быть причиной повышенной транспирации (Хафизова, Матвеева, 2021; Fladung et al., 1992). Выявлена также важная роль *rolC* в индукции соматического эмбриогенеза: так в результате трансформации *P. ginseng* этим геном под контролем 35S CaMV-промотора образовывались соматические зародыши, кроме того, такой же эффект наблюдали при введении гена в нетрансформированные каллусы на безгормональной среде (Sarkar et al., 2018).

На сегодня ген *rolD* является наименее изученным из *rol*-генов, что может быть обусловлено отсутствием существенных морфологических изменений в результате его экспрессии: раннее отмирание стебля, мелкие листья изогнутой формы и раннее цветение у *N. tabacum*, усиленное ветвление и увеличение количества соцветий у *Solanum lycopersicum* L., повышенное образование придаточных корней и морщинистые листья у *A. thaliana* (Mauro et al., 1996; Bettini et al., 2003; Falasca et al., 2010; Sarkar et al., 2018). Раннее цветение *rolD*-трансформированных растений обусловлено действием продукта гена, катализирующего реакцию превращения орнитина в пролин, а изменения концентрации одного из метаболитов как раз обеспечивает более ранний переход к генеративной фазе (Dilshad et al., 2021). Известно, что пролиферация пазушных меристем у *rolD*-трансформантов обусловлена изменением соотношения цитокинин/ауксин (Falasca et al., 2010). Повышенное содержание ауксина в среде с трансформированными растениями приводит к максимуму индукции промотора *rolD*, а затем к ее снижению. Среди описанных *rol*-генов только *rolD*, судя по всему, не участвует в образовании волосовидных корней, к тому же некоторые штаммы *A. rhizogenes* мо-

гут не содержать данного гена (Mauro et al., 1996). Выявлено, что *rolD* не является тканеспецифичным, но его экспрессия регулируется в процессе развития растения. *rolD* благодаря своим морфологическим эффектам может использоваться с целью получения карликовых форм *Kalanchoe blossfeldiana* Poelln., как одного из экономически важных декоративных растений (Christensen et al., 2010).

Ряд исследований, направленных на создание *rolABC*-трансформантов, демонстрируют различные морфогенетические эффекты, опосредованные комбинированным действием этих трех генов. Так, на поверхности листовых эксплантов, трансформированных *A. tumefaciens* с генами *rolABC* под контролем нативного промотора, наблюдали образование волосовидных корней в отсутствие экзогенного гормона напрямую или косвенно посредством каллусообразования (Spena et al., 1987; Palazon et al., 1998; Bonhomme et al., 2000). Растения *G. max*, трансформированные генами *rolA*, *rolB* и *rolC* под контролем 35S CaMV-промотора, демонстрировали усиленное укоренение, изменение морфологии листьев в присутствии ауксина и раннее цветение по сравнению с контролем (Zia et al., 2010). Трансформанты *S. lycopersicum* характеризовались сходным с контролем фенотипом: морщинистые листья и апикальное доминирование, однако были обнаружены и отличительные признаки: мелкие цветки, тонкие корни и снижение жизнеспособности пыльцы. В результате трансформации растений *Actinidia deliciosa* A. Chev. обнаружено формирование темно-зеленых морщинистых листьев и коротких междоузлий, а также повышенная укореняемость (Rugini et al., 1991). Некоторые морфогенетические эффекты *rol*-генов у разных видов растений представлены в табл. 1.

## ВЛИЯНИЕ *rol*-ГЕНОВ НА ВТОРИЧНЫЙ МЕТАБОЛИЗМ РАСТЕНИЙ

Культуры волосовидных корней-продуцентов ценных вторичных метаболитов на настоящий момент являются одним из перспективных направлений биотехнологии растений (Кузовкина, Вдовитченко, 2011; Кулуев и др., 2015). Получены pRi-трансформированные каллусные культуры и волосовидные корни у свыше 100 таксономически разнообразных видов лекарственных растений (Sarkar et al., 2018). Что примечательно, содержание метаболитов в трансформированных культурах корней, как правило, превышает такое в нативных (Murthy et al., 2008; Esam, 2011; Jeeshna, Paulsamy, 2011). В недавнем исследовании (Matvieieva et al., 2020) показано также, что волосовидные корни *Artemisia tilesii* Ledeb. накапливали не только больше флавоноидов, но и характеризовались повышенной антиоксидантной активностью, чем нативные корни этого растения.

Известно, что *rolA* потенциально может выступать в качестве индуктора вторичного метаболизма растений (Rigden, Carneiro, 1999). Впервые роль *rolA*

в продукции вторичных метаболитов была отмечена у трансформированных линий *N. tabacum* при выработке никотина (Palazon et al., 1997). Другой группой исследователей (Veremeichik et al., 2019) в течение 10 лет были проведены исследования *rolA*-трансформантов *R. cordifolia*. При культивировании полученная каллусная культура продемонстрировала не только стабильный, но и превышающий рост, по сравнению с нетрансформированными культурами. Кроме того, обнаружено позитивное влияние *rolA* на синтез антрахинонов при длительном культивировании, что реализуется за счет активации биосинтеза руберитриновой кислоты. Ранее были получены данные о высокой эффективности действия *rolB* на биосинтез антрахинонов, однако в условиях длительного культивирования именно *rolA* обеспечивает высокую продуктивность метаболита (Shkryl et al., 2007).

В ряде исследований описано, что *rolB* из всех *rol*-генов оказывает наиболее сильное влияние на вторичный метаболизм (Kiselev et al., 2007; Shkryl et al., 2007; Dilshad et al., 2016). Так, содержание антрахинонов в трансформированной каллусной культуре *R. cordifolia* увеличилось в 15 раз по сравнению с диким типом (Shkryl et al., 2007; Dilshad et al., 2021). В результате встраивания *rolB* в геном *Fagopyrum esculentum* Moench. получена культура волосовидных корней с повышенным содержанием фенольной, хлорогеновой, *p*-гидроксibenзойной, *p*-анисовой и кофейной кислот, а также общих фенолов (Ситар и др., 2013). Выявлено повышенное содержание катехинов, пектинов, сапонинов, протопектинов и дубильных веществ в культуре волосовидных корней *Astragalus penduliflorus* Lam. (Амброс и др., 2020). *rolB*-трансформанты *Vitis amurensis* Rupr. характеризовались более чем 100-кратным увеличением содержания ресвератрола по сравнению с нетрансформированными растениями (Kiselev et al., 2007). Трансформация *Maackia amurensis* Rupr. et Maxim. привела к увеличению содержания изофлавоноидов в 1.5 раза (Grishchenko et al., 2016). В трансгенных растениях *Artemisia annua* L. выявлено увеличение содержания рутина и кофейной кислоты в 3 раза, изокверцетина в 6 раз и кверцетина в 4 раза, по сравнению с нативными корнями. Кроме того, обнаружено повышение содержания фенолов и флавоноидов в 1.5 раза по сравнению с диким типом (Dilshad et al., 2016). *rolB*-трансформированные растения *Dionaea muscipula* J. Ellis характеризовались повышенным содержанием фенольных соединений, в том числе производного 1.4-нафтохинона, плюмбагина, салициловой, кофейной и эллаговой кислот по сравнению с нетрансформированными (Makowski et al., 2021a).

Проведен ряд исследований, показывающих индуцирование продуктом гена *rolC* синтеза вторичных метаболитов, в том числе тропановых, пиридиновых и индольных алкалоидов, гипсенозидов, антрахинонов, полифенолов и лактонов за счет усиления биосинтетической способности и стимуляции роста растения (Bulgakov, 2008; Sark-

ar et al., 2018). *rolC*-трансформированные корни *N. tabacum* накапливали в 2 раза больше никотина, а листья — в 3 раза (Palazon et al., 1997). При культивировании *rolC*-трансформированных каллусов *Synnema cardunculus* L. обнаружено увеличение содержания полифенолов в 2–4 раза (Vereshchagina et al., 2014). Содержание артемизинина в *rolC*-трансгенных растениях *A. annua* увеличилось в 4–4.6 раза по сравнению с нативными корнями (Dilshad et al., 2015b). В результате трансформации *A. carvifolia* Buch генами *rolB* и *rolC* под контролем 35S CaMV-промотора количественное содержание артемизинина увеличилось в 3–7 раз и 2.3–6 раз соответственно (Dilshad et al., 2015a). Было продемонстрировано влияние *rolC* на количественное содержание флавоноидов за счет изменения уровня экспрессии генов пути их биосинтеза. К примеру, *rolC*-трансформанты продемонстрировали увеличение содержания рутина и кверцетина в 3 раза, изокверцетина в 5 раз и кофейной кислоты в 2.6 раза (Sarkar et al., 2018). У *Catharanthus roseus* L. была выявлена отрицательная корреляция накопления продукта *rolC* и образования индольных алкалоидов (Palazon et al., 1997). Для фармацевтической промышленности большой интерес представляет получение тропановых алкалоидов из альтернативных источников. Так, две серии линий волосовидных корней *A. belladonna*: первая трансформирована *A. tumefaciens* с геном *rolC*, а вторая *A. tumefaciens* — с геном *rolABC*, спустя 4 нед. культивирования продемонстрировали одинаковые средние значения общего выхода тропановых алкалоидов по сравнению с контролем (Bonhomme et al., 2000). В волосовидных корнях *P. ginseng* обнаружено высокое содержание гинзенозидов, что соответствует верхнему пределу биосинтетической способности клеток (Bulgakov et al., 1998). Растения *Lactuca sativa* L., трансформированные *rolC* под контролем 35S CaMV-промотора, продемонстрировали увеличение содержания фенолов и флавоноидов по сравнению с нетрансформированными (Ismail et al., 2016). С другой стороны, ген оказывал обратный эффект, ингибируя вторичный метаболизм трансформированных растений *Eritrichium sericeum* Lehm. и *Lithospermum erythrorhizon* Sieb. et Zucc., тем самым снижая содержание рабдозина и розмариновой кислоты в 2–3 раза по сравнению с контролем (Bulgakov et al., 2005). Исходя из полученных данных, можно предположить, что *rolC* может оказывать как стимулирующее, так и ингибирующее действие на биосинтез вторичных метаболитов (Sarkar et al., 2018). К примеру, *rolC* может осуществлять дифференцированную регуляцию различных метаболитов в пределах одного и того же трансформированного растения, вызывая повышение одного и уменьшение содержания другого соединения (Grishchenko et al., 2013).

На сегодня роль гена *rolD* в индукции синтеза вторичных метаболитов изучена недостаточно, однако имеются сведения, что он кодирует фермент орнитинциклодеаминазу (Trovato et al., 2001). В результате определения экспрессии гена *PR-1* уста-

**Таблица 1.** Морфогенетические эффекты *rol*-генов у разных видов растений (по: Хафизова, Матвеева, 2021; Casanova et al., 2005)

| Вид растения                                                       | Промотор/ген                      | Проявление                                                                                                                                 | Источник                                                            |
|--------------------------------------------------------------------|-----------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------|
| <i>Artemisia dubia</i> Wall.                                       | Нативный/ <i>rolA</i>             | Задержка роста                                                                                                                             | Amanullah et al., 2016                                              |
| <i>Rehmannia glutinosa</i> Libosch. f. <i>hueichingensis</i> Hsiao | Нативный/ <i>rolB</i>             | Карликовость, укороченные междоузлия, придаточные корни                                                                                    | Чжоу и др., 2009                                                    |
| <i>Glycine max</i> L.                                              | 35S CaMV/ <i>rolA</i>             | Усиленное укоренение, раннее цветение                                                                                                      | Zia et al., 2010                                                    |
|                                                                    | 35S CaMV/ <i>rolC</i>             | Карликовость, различные вариации морфологии листа, раннее цветение, меньшее количество цветков                                             | Zia et al., 2010                                                    |
|                                                                    | 35S CaMV/ <i>rolB</i>             | Карликовые и полукарликовые формы, аномальный рост стебля, короткие междоузлия, листья и стебли от светло-зеленого до желто-зеленого цвета | Zia et al., 2010                                                    |
| <i>Nicotiana tabacum</i> L.                                        | Нативный/ <i>rolC</i>             | Изменение формы листа, мелкие цветки                                                                                                       | Schmülling et al., 1988; Scorza et al., 1994; Guivarch et al., 1996 |
|                                                                    | 35S CaMV/ <i>rolC</i>             | Изменение формы листа, мелкие цветки, мужская стерильность, хлорозы                                                                        |                                                                     |
| <i>Rosa hybrida</i> cv. Madame L.                                  | Нативный/ <i>rolC</i>             | Кустистость, увеличение числа шипов и изменение цвета лепестков                                                                            | Souq et al., 1996                                                   |
|                                                                    | Нативный/ <i>rolB</i>             | Редукция боковых корней                                                                                                                    | van der Salm et al., 1997                                           |
|                                                                    | Нативный/ <i>rolA, rolB, rolC</i> | Короткие стебли, снижение апикального доминирования, мелкие и морщинистые листья                                                           | van der Salm et al., 1997                                           |
| <i>Osteospermum ecklonis</i> (DC.) Norl.                           | 35S CaMV/ <i>rolC</i>             | Увеличение количества цветков, листья бледно-зеленые                                                                                       | Giovannini et al., 1999; Allavena et al., 2000                      |
|                                                                    | Нативный/ <i>rolA, rolB</i>       | Увеличение количества цветков, раннее цветение, листья темно-зеленые                                                                       |                                                                     |
|                                                                    | Нативный/ <i>rolA, rolB, rolC</i> | Увеличение количества цветков меньшего размера, раннее цветение                                                                            |                                                                     |
| <i>Atropa belladonna</i> L.                                        | 35S CaMV/ <i>rolC</i>             | Узкие бледно-зеленые листья, увеличение количества мелких цветков                                                                          | Kurioka et al., 1992                                                |
| <i>Chrysanthemum</i> × <i>hortorum</i> , сорт White Shadow W.Mill. | 35S CaMV/ <i>rolC</i>             | Узкие бледно-зеленые листья, увеличение количества мелких цветков, изменение формы лепестков                                               | Mitiouchkina, Dolgov, 2000                                          |
| <i>Chrysanthemum morifolium</i> Ramat.                             | 35S CaMV/ <i>rolC</i>             | Карликовость, укороченные междоузлия, узкие бледно-зеленые листья, мелкие цветки                                                           | Mitiouchkina, Dolgov, 2000                                          |
| <i>Dianthus caryophyllus</i> L.                                    | 35S CaMV/ <i>rolC</i>             | Кустистость, корнеобразование, увеличенное количество цветоносов                                                                           | Casanova et al., 2004                                               |
| <i>Diospyros kaki</i> Thunb.                                       | 35S CaMV/ <i>rolC</i>             | Усиленное корнеобразование                                                                                                                 | Koshita et al., 2002                                                |

Таблица 1. Продолжение

| Вид растения                                         | Промотор/ген                                                    | Проявление                                                                                                                                                   | Источник                   |
|------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------|
| <i>Pelargonium domesticum</i> (Regals), cv. Dubonnet | 35S CaMV/ <i>rolC</i>                                           | Мелкие цветки и листья, увеличение количества цветков                                                                                                        | Boase et al., 2004         |
| <i>Petunia axillaris</i> × <i>P. hybrida</i>         | 35S CaMV/ <i>rolC</i>                                           | Кустистость, уменьшенные/увеличенные листья, увеличение количества листьев                                                                                   | Winefeld et al., 1999      |
| <i>Poncirus trifoliata</i> L. Raf                    | 35S CaMV/ <i>rolC</i>                                           | Усиленное корнеобразование                                                                                                                                   | Kaneyoshi, Kobayashi, 1999 |
| <i>Populus tremula</i> L.                            | Нативный/35S CaMV/ <i>rolC</i>                                  | Кустистость, сморщенные листья, поздний переход к покою                                                                                                      | Tzfra et al., 1999         |
| <i>Solanum tuberosum</i> L.                          | 35S CaMV/ <i>rolC</i>                                           | Стерильность мужских цветков, хлорозы, уменьшенный размер клубней, мелкие листья измененной формы                                                            | Schmulling et al., 1993    |
| <i>Brassica oleracea</i> L. var. Italica             | Нативный/ <i>rolC</i>                                           | Короткие стебли, морщинистые листья                                                                                                                          | Abdullah et al., 2021      |
| <i>Salpiglossis sinuata</i> Ruiz & Pav               | Нативный/ <i>rolC</i>                                           | Кустистость, мелкие цветки и листья                                                                                                                          | Lee et al., 1996           |
| <i>Solanum lycopersicum</i> L.                       | Нативный/ <i>rolC</i>                                           | Кустистость, меньший размер плодов                                                                                                                           | Bettini et al., 2010       |
| <i>Begonia tuberhybrida</i> Voss.                    | Нативный/ <i>rolA</i> , <i>rolB</i> , <i>rolC</i>               | Карликовость, увеличенное количество морщинистых листьев, задержка цветения                                                                                  | Kiyokawa et al., 1996      |
| <i>Hypericum perforatum</i> L.                       | Нативный/ <i>rolA</i> , <i>rolB</i> , <i>rolC</i>               | Снижение фертильности, уменьшение количества цветков                                                                                                         | Komarovska et al., 2010    |
| <i>Kalanchoe blossfeldiana</i> Poelln.               | <i>rolA</i> , <i>rolB</i> , <i>rolC</i> , <i>rolD</i>           | Карликовость, небольшой размер цветка                                                                                                                        | Christensen et al., 2010   |
| <i>Lilium longiflorum</i> Thunb.                     | Нативный/ <i>rolA</i> , <i>rolB</i> , <i>rolC</i>               | Карликовость, короткие междоузлия, мелкие цветки, сниженная фертильность пыльцы                                                                              | Mercuri et al., 2003       |
| <i>Limonium</i> sp. L.                               | Нативный/ <i>rolA</i> , <i>rolB</i> , <i>rolC</i>               | Короткие стебли и междоузлия, снижение апикального доминирования, мелкие и морщинистые листья, раннее цветение, мелкие цветки, сниженная фертильность пыльцы | Mercuri et al., 2001       |
| <i>Sinningia speciosa</i> Baill.                     | Нативный/ <i>rolA</i> , <i>rolB</i> , <i>rolC</i> , <i>rolD</i> | Увеличенное количество цветоносов, морщинистые листья, задержка цветения, усиленный рост корней                                                              | Desmet et al., 2020        |
| <i>Angelonia salicariifolia</i> Humb. & Bonpl.       | Т-ДНК <i>A. rhizogenes</i>                                      | Карликовость, короткие междоузлия, мелкие листья, сниженная фертильность пыльцы, сохраняется количество, размер и форма цветков                              | Koike et al., 2003         |

Таблица 1. Окончание

| Вид растения                              | Промотор/ген               | Проявление                                                                                                                                                                                                                  | Источник                                             |
|-------------------------------------------|----------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------|
| <i>Antirrhinum majus</i> L.               | Т-ДНК <i>A. rhizogenes</i> | Карликовость, короткие междоузлия, снижение апикального доминирования с сильно разветвленными стеблями, более мелкие, широкие и короткие листья, увеличенное количество цветков, сниженная фертильность                     | Handa, 1992; Senior et al., 1995; Hoshino, Mii, 1998 |
| <i>Catharanthus roseus</i> L.             | Т-ДНК <i>A. rhizogenes</i> | Короткие междоузлия, морщинистые листья, сильное укоренение, изменение окраски цветков                                                                                                                                      | Choi et al., 2004                                    |
| <i>Datura arborea</i> L.                  | Т-ДНК <i>A. rhizogenes</i> | Короткие стебли и междоузлия, мелкие цветки, увеличение количества цветков меньшего размера                                                                                                                                 | Giovannini et al., 1997                              |
| <i>Eustoma grandiflorum</i> Raf. Shinnars | Т-ДНК <i>A. rhizogenes</i> | Короткие стебли, увеличение количества коротких междоузлий, мелкие и морщинистые листья, повышенная укореняемость, измененная форма венчика, сниженная фертильность, измененный филлотаксис                                 | Giovannini et al., 1996                              |
| <i>Gentiana</i> sp. L.                    | Т-ДНК <i>A. rhizogenes</i> | Карликовость, короткие междоузлия, уменьшенное апикальное доминирование, ветвистые стебли, мелкие и эллиптические, скрученные или морщинистые листья, усиленное укоренение, увеличенное количество цветков, раннее цветение | Momcilovic et al., 1997                              |
| <i>Ipomoea trichocarpa</i> Ell. Shinnars  | Т-ДНК <i>A. rhizogenes</i> | Короткие стебли, мелкие и морщинистые листья, различные вариации морфологии цветка, уменьшенное количество цветков, задержка цветения, нормальная фертильность пыльцы                                                       | Otani et al., 1996                                   |
| <i>Nierembergia scoparia</i> Sendtn.      | Т-ДНК <i>A. rhizogenes</i> | Карликовость, короткие междоузлия, мелкие и узкие листья, повышенная укореняемость                                                                                                                                          | Godo et al., 1997                                    |
| <i>Pelargonium</i> sp.                    | Т-ДНК <i>A. rhizogenes</i> | Короткие стебли, увеличенное количество междоузлий и листьев, подавление цветения                                                                                                                                           | Pellegrineschi, Davolio-Mariani, 1996                |
| <i>Rudbeckia hirta</i> L.                 | Т-ДНК <i>A. rhizogenes</i> | Морщинистые листья, усиленное ветвление корней, мелкие цветки                                                                                                                                                               | Daimon, Mii, 1995                                    |

новлено, что защитные системы трансформированных растений томата активизируются за счет экспрессии *rolD* (Bettini et al., 2003).

Проведен ряд исследований, посвященных комбинированному действию *rol*-генов под контролем нативных промоторов на вторичный метаболизм у различных видов трансформирован-

ных растений. Так, в результате трансформации *R. cordifolia* обнаружено, что каждый ген имеет свой индивидуальный механизм активации биосинтеза антрахинонов (Bulgakov et al., 2003). Растения *Ajuga bracteosa* Wall. ex Benth., трансформированные конструкцией *rolABC*, продемонстрировали увеличение содержания фитоэкдистероидов в 14.5 раз по

сравнению с контролем (Kayani et al., 2016). *rolABC*-трансформанты *C. roseus* характеризовались двукратным увеличением аймалицина и алкалоидов (Verma et al., 2012). Имеются сведения об эффективной агробактериальной трансформации растений *Ocimum basilicum* L., в результате которой в культуре волосовидных корней обнаружено повышенное содержание розмариновой кислоты и фенолов (Sathasivam et al., 2022). Имеются сведения, что *rol*-гены способны индуцировать метаболизм запасных углеводов. К примеру, перенос *rolB* и *rolC* в геном *S. tuberosum* стимулирует формирование крахмальных гранул в микроклубнях, причем гены действуют, как антагонисты, изменяя размер и характеристики гранул в амилопластах (Гукасян и др., 2001; Аксенова и др., 2010). В результате трансформации растений *G. max* тремя *rol*-генами в волосовидных корнях обнаружено повышенное содержание крахмала и снижение глюкозы, обусловленное ингибирующим действием *A. rhizogenes* на метаболизм источников углерода (Okamoto, Ueki, 2022). Комбинированным действием *rol*-генов может быть объяснено также увеличение продукции полиизопрена (натуральный каучук) в волосовидных корнях *Taraxacum kok-saghyz* Rodin. по сравнению с нативными корнями этого одуванчика (Кулуев и др., 2020), причем этот вторичный метаболит выполняет важную роль в регуляции устойчивости к биотическим стресс-факторам.

### РОЛЬ *rol*-ГЕНОВ В РЕГУЛЯЦИИ РОСТА И СТРЕССОУСТОЙЧИВОСТИ РАСТЕНИЙ

Ген *rolB* способен активировать защитные системы растений в ответ на активные формы кислорода (АФК), предотвращая гибель некротических клеток, и уменьшать апоптотические симптомы (Bulgakov et al., 2013). *rolC*-трансформированные растения *Rubia tinctorum* L. и *R. cordifolia* демонстрировали способность нейтрализовать действие АФК путем активации синтеза антрахинонов (Хафизова, Матвеева, 2021). Выявлена роль *rolC* в регуляции стрессоустойчивости растений путем активации MYB-факторов и С-связанных элементов, регулирующих синтез вторичных метаболитов. Обнаруживаемое при этом снижение содержания АФК обуславливает устойчивость трансформированных растений к стрессу (Павлова и др., 2013а; Ganesan et al., 2012). Кроме того, получены данные о 2–3-кратном повышении устойчивости *rolC*-трансформантов к действию NaCl, холода и жары (Bulgakov, 2008). Имеются сведения о повышении устойчивости к фитопатогенам при экспрессии *rol*-генов. К примеру, растения *S. tuberosum*, трансформированные конструкцией 35S CaMV–*rolC*, продемонстрировали устойчивость к возбудителям гнили, а трансформированная клубника была устойчива к фитофторе (Хафизова, Матвеева, 2021). Интересно отметить, что экспрессия каждого из *rol*-генов способствовала увеличению содержания АБК, главного стрессового фитогормона в растениях (Alcalde et al., 2022). Поэтому возможно *rol*-гены действу-

ют на стрессоустойчивость в том числе через влияние на фитогормональный статус растений. Ранее нами было показано, что трансгенные растения *N. tabacum* с конститутивной экспрессией фрагмента гена *rolC* под контролем 35S CaMV-промотора в антисмысловой ориентации характеризуются уменьшением темпов роста корней как при нормальных условиях, так и при действии гипотермии и кадмия. Возможно, наличие в промоторной области гена *rolC* *cis*-регуляторных элементов, активируемых холодом, обуславливает позитивное влияние этого *plast*-гена на рост корней в условиях гипотермии (Кулуев и др., 2021). Накапливаются данные о позитивном влиянии *rol*-генов на стрессоустойчивость через влияние на компоненты антиоксидантной системы. К примеру, экспрессия *rolB* способствует увеличению активности супероксиддисмутазы и общего пула глутатиона (Makowski et al., 2021b). *rolB* также может активировать экспрессию различных транскрипционных факторов, например, MYB и bHLH (Bulgakov et al., 2016). Недавние исследования показывают, что *rolB* модулирует метаболизм АФК (Veremichik et al., 2019) и влияет на экспрессию белков шаперонного типа в трансформированных растительных клетках (Bulgakov et al., 2018).

### ВОЗМОЖНЫЕ ФУНКЦИИ *rol*-ГЕНОВ В ПРИРОДНО-ТРАНСГЕННЫХ РАСТЕНИЯХ

На данный момент известно около 40 родов природно-трансгенных растений (Matveeva, 2021), и их число безусловно будет только расти. Значение растительных *rol*-генов изучено слабо, еще предстоит выяснить роль их экспрессии в развитии различных морфогенетических эффектов и формировании устойчивости растений к абиотическим и биотическим факторам среды. Предполагается, что гены, перенесенные от агробактерий, способствовали адаптации видов в ходе эволюции, приобретению преимуществ для конкуренции с родителемскими организмами и выживанию в неблагоприятных условиях (Еникеев, 2018), поскольку эти гены сохранились до наших дней без существенных изменений, очевидно за счет стабилизирующего отбора. Если бы *rol*-гены у природно-трансгенных растений не выполняли никакой функции, они бы накапливали мутации с той же скоростью, что обнаруживается в межгенных пространствах клТ-ДНК (Павлова и др., 2013а). Предполагается, что сохранение высокого уровня сходства перенесенных последовательностей, а также влияние трансгенов на чувствительность трансформированных клеток к эндогенным гормонам, позволяет судить о важной физиологической роли *rol*-генов (Кулаева и др., 2006). Основные предполагаемые функции *rol*-генов клТ-ДНК, заслуживающие внимания: стимуляция корнеобразования, адаптация к засухе, усиление регенерации, раннее цветение (Матвеева, Сокорнова, 2017). Для гена *rolC* природно-трансгенных растений предполагают его участие в процессах регенерации, в

Таблица 2. Предполагаемые функции *rol*-генов

| Ген         | Биохимическая функция                                                                                                                                                                                                                                 | Источник                                                                                      |
|-------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------|
| <i>rolA</i> | Увеличивает чувствительность к ауксину, ассоциирован с мембранами, вероятно, взаимодействует с ДНК                                                                                                                                                    | Vilaine et al., 1998; Кулаева и др., 2006; Павлова и др., 2013а                               |
| <i>rolB</i> | Обладает индоксил-β-глюкозидазной активностью, стимулирует связывание ауксина с мембранами, повышает чувствительность к ауксину, способен связываться с ядерными белками-импортерами и локализоваться в ядре, обладает тирозинфосфатазной активностью | Filippini et al., 1996; Welander et al., 1998; Moriuchi et al., 2004; Otten, 2018             |
| <i>rolC</i> | Обладает цитокинин-β-глюкозидазной активностью, увеличивает чувствительность к цитокининам, локализуется в цитоплазме и ядре, участник метаболизма сахарозы                                                                                           | Schmülling et al., 1993; Matveeva et al., 2015; Favero et al., 2021; Хафизова, Матвеева, 2021 |
| <i>rolD</i> | Обладает орнитинциклодеаминазной активностью                                                                                                                                                                                                          | Dilshad et al., 2021                                                                          |

повышении адаптационных возможностей растения, а также его устойчивости к фитопатогенам (Chen, Otten, 2017). Действительно гены клТ-ДНК индуцируют также вторичный метаболизм и защитные механизмы растений. На примере *N. tabacum* нами ранее выявлено уменьшение устойчивости к гипотермии и кадмию у растений, экспрессирующих фрагмент гена *rolC* под контролем 35S CaMV-промотора в антисмысловой ориентации (Кулеув и др., 2021). Установлено, что содержание мажорных фракций вторичных метаболитов у природно-трансгенных растений превышает их уровень у нетрансформированных родственных форм (Matveeva et al., 2014; Matveeva, Sokogova, 2016). Показано, что увеличение экспрессии *rolC* у *N. tabacum* и двух трансгенных линий, содержащих ген *rolC* различного происхождения, коррелирует с увеличением количества глюкозы и общего содержания сахаров (Matveeva et al., 2020). Большинство вторичных метаболитов участвуют в защите растений от патогенов и вредных насекомых. Так, сверхсинтез антирринозида отпугивает неопыляющих и грызущих насекомых (Matveeva et al., 2015). Повышенное содержание метаболитов, в том числе стероидов, алкалоидов, антрахинонов, кумаринов, флавоноидов, сапонинов, таннинов и фенольных кислот описано у другого природно-трансгенного растения — *I. batatas* (Meira et al., 2012). У представителей р. *Nicotiana* зафиксировано повышение уровня никотина на 95% при повреждении, что обеспечивает дополнительную защиту от травоядных животных. Кроме того, у природно-трансгенных растений отмечается повышенное содержание фенольных соединений, ингибиторов протеиназ, PR-белков и сесквитерпеноидных фитоалексинов (Матвеева, Сокогнова, 2017).

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Исследования *rol*-генов за последние 30 лет привели к появлению множества различных гипотез относительно биохимической активности

их белковых продуктов (табл. 2). К примеру, для *RolB* говорилось об индоксил-β-глюкозидазе, тирозинфосфатазе, стимуляции связывания ауксина с мембранами, а также локализации в ядре с неизвестной функцией. Для *RolC* чаще всего отводилась роль цитокинин β-глюкозидазы или участника метаболизма сахарозы (табл. 2). Но все эти гипотезы требуют дальнейших проверок и на данном этапе ни одна из них не была экспериментально доказана независимыми исследованиями. Едва ли *Rol*-белки являются столь многофункциональными, как описывается в литературе, однако, тот факт, что гены *rolA*, *rolB*, *rolC* всегда располагаются рядом в Т-ДНК и вместе встраиваются в геном, наводит на мысль об их возможной вовлеченности в контроль общего биохимического процесса (Otten, 2020). Участие во многих процессах морфогенеза и метаболизма обычно характерно для транскрипционных факторов, вот только никаких доказательств наличия такой активности для *Rol*-белков пока нет, хотя для *RolB* и *RolC* выявлена их ядерная локализация. Многочисленные исследования как промотор-зависимых, так и промотор-независимых эффектов на морфогенез, вторичный метаболизм, антиоксидантную систему и стрессоустойчивость не дали окончательных ответов на вопрос о биологических функциях *rol*-генов. Надо учитывать то, что все эти обнаруженные эффекты могут быть опосредованы другими компонентами клеточной сигнализации. Поэтому исследования биологических функций *rol*-генов должны быть продолжены с привлечением биоинформатики, протеомики и других методов молекулярной биологии. Весьма перспективным может оказаться применение технологии CRISPR/Cas на природно-трансгенных растениях, у которых таким способом можно нокаутировать соответствующие *plast*-гены и затем подробно изучать полученные мутанты.

## ФИНАНСИРОВАНИЕ

Исследование Д.Ю. Швеца, З.А. Бережневой, Х.Г. Мусина, Б.Р. Кулуева выполнено в рамках государственного задания № 122030200143-8, работы Э.А. Баймухаметовой поддержаны грантом УМНИК (договор 16845ГУ/2021 от 07.06.2021).

## КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

## СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ СТАНДАРТОВ

Настоящая статья не содержит каких-либо исследований с участием людей и животных в качестве объектов изучения.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Амброс Е.В., Коцун О.В., Кукушкина Т.А. и др. Синтез биологически активных веществ в культуре “бородатых” корней *Astragalus penduliflorus* Lam. // Химия раст. сырья. 2020. № 2. С. 209–221.
- Аксенова Н.П., Вассерман Л.А., Сергеева Л.И. и др. Агробактериальные *rol*-гены изменяют термодинамические и структурные свойства крахмала микрорубной трансгенного картофеля // Физиол. раст. 2010. Т. 57 (5). С. 703–710.
- Лукасян И.А., Аксенова Н.П., Константинова Т.Н. и др. Агробактериальные *rol*-гены меняют размер крахмальных гранул в микрорубных трансформированного картофеля (*Solanum tuberosum* L.) // ДАН. 2001. Т. 380 (5). С. 708–710.
- Гумерова Г.Р., Чемерис А.В., Никонов Ю.М. и др. Морфологический и молекулярный анализ изолированных культур адвентивных корней табака, полученных методами биобаллистической бомбардировки и агробактериальной трансформации // Физиол. раст. 2018. Т. 65 (5). С. 376–387.
- Еникеев А.Г. Трансгенные растения — новая биологическая система или новые свойства растительно-агробактериального симбиоза? // Физиол. раст. 2018. Т. 65 (5). С. 323–330.
- Кузовкина И.Н., Вдовитченко М.Ю. Генетически трансформированные корни как модель изучения физиологических и биохимических процессов корневой системы целого растения // Физиол. раст. 2011. Т. 58 (5). С. 787–796.
- Кулаева О.А., Матвеева Т.Н., Лутова Л.А. Горизонтальный перенос генов от агробактерий к растениям // Экол. генетика. 2006. Т. 9 (4). С. 10–19.
- Кулуев Б.Р., Вершинина З.Р., Князев А.В. и др. “Косматы” корни растений — важный инструмент для исследователей и мощная фитохимбиофабрика для производителей // Биомика. 2015. Т. 7 (2). С. 70–120.
- Кулуев Б.Р., Гумерова Г.Р., Князев А.В. и др. Получение культур волосовидных корней кок-сагыза и анализ содержания в них натурального каучука // Биомика. 2020. Т. 12 (4). С. 449–454.
- Кулуев Б.Р., Мусин Х.Г., Баймухаметова Э.А. Вклад гена *trnD* в регуляцию роста табака при действии стрессовых факторов // Биомика. 2021. Т. 13 (3). С. 360–367.
- Матвеева Т.В. Горизонтальный перенос генов от агробактерий к растениям в природе // Тавр. вестн. аграр. науки. 2013. № 2. С. 18–22.
- Матвеева Т.В. Природно-трансгенные растения, как модель для изучения отсроченных экологических рисков возделывания ГМО // Экол. генетика. 2015. Т. 13 (2). С. 118–126.
- Матвеева Т.В. Зачем растениям агробактериальные гены? // Экол. генетика. 2021. Т. 19 (4). С. 365–375.
- Матвеева Т.В., Сокорнова С.В. Биологические особенности природно-трансгенных растений и их роль в эволюции // Физиол. раст. 2017. Т. 64 (5). С. 323–336.
- Павлова О.А., Матвеева Т.В., Лутова Л.А. *rol*-гены *Agrobacterium rhizogenes* // Экол. генетика. 2013а. Т. 11 (1). С. 59–68.
- Павлова О.А., Матвеева Т.В., Лутова Л.А. Геном *Linaria dalmatica* содержит гомолог гена *rolC* *Agrobacterium rhizogenes* // Экол. генетика. 2013б. Т. 11 (2). С. 10–15.
- Ситар О.В., Габр А.М., Таран Н.Ю. и др. Накопление соединений фенольной природы в культуре трансформированных корней различных источников эксплантов гречки обыкновенной (*Fagopyrum esculentum* Moench) // Biotechnol. Acta. 2013. Т. 6 (3). С. 75–82.
- Хафизова Г.В., Матвеева Т.В. Ген *rolC* агробактерий: на пути к пониманию функции // Биотехнол. и селекц. раст. 2021. Т. 4 (1). С. 36–46.
- Чжоу Я.Ц., Дуань Х.И., Чжоу Ч.Е. и др. Индукция образования “бородатых” корней и регенерация растений *Rehmannia glutinosa* f. *hueichingensis* при трансформации с помощью *Agrobacterium rhizogenes* // Физиол. раст. 2009. Т. 56 (2). С. 247–255.
- Abdullah R.M., Salih S.M., Al-Nema Qutaiba S. Plant regeneration from transformed tissues of broccoli (*Brassica Oleracea* var. *Italica*) by *Agrobacterium rhizogenes* ATCC13332 and their retention of *rol*-genes // Eur. Acad. Res. 2021. V. IX (9). P. 6006–6017.
- Alcalde M.A., Müller M., Munné-Bosch S. et al. Using machine learning to link the influence of transferred *Agrobacterium rhizogenes* genes to the hormone profile and morphological traits in *Centella asiatica* hairy roots // Front Plant Sci. 2022. V. 13 (1001023). P. 1–12.
- Allavena A., Giovannini A., Berio T. et al. Genetic engineering of *Osteospermum* spp.: a case story / The 19th international symposium on improvement of ornamental plants // Acta Hort. 2000. V. 508. P. 129–133.
- Altamura M.M. *Agrobacterium rhizogenes rolB* and *rolD* genes: regulation and involvement in plant development // Plant. Cell. Tiss. Org. Cult. 2004. V. 77. P. 89–101.
- Amanullah B.M., Rizvi Z.F., Zia M. Production of artemisinin and its derivatives in hairy roots of *Artemisia dubia* induced by *rolA* gene transformation // Pakistan J. Botan. 2016. V. 48 (2). P. 699–706.
- Aoki S., Syono K. Horizontal gene transfer and mutation of *Ngro1* genes in the genome of *Nicotiana glauca* // PNAS USA. 1999. V. 96 (23). P. 13229–13234.
- Baumann K., De Paolis A., Costantino P. et al. The DNA binding site of the Dof protein NtBBF1 is essential for tissue-specific and auxin-regulated expression of the *rolB* oncogene in plants // Plant Cell. 1999. V. 11 (3). P. 323–333.
- Bettini P., Michelotti S., Bindi D. et al. Pleiotropic effect of the insertion of the *Agrobacterium rhizogenes rolD* gene in tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill.) // Teor. Appl. Genet. 2003. V. 107 (5). P. 831–836.
- Bettini P., Baraldi R., Rapparini F. et al. The insertion of the *Agrobacterium rhizogenes rolC* gene in tomato (*Solanum lycopersicum* L.) affects plant architecture and endogenous auxin and abscisic acid levels // Sci. Hortic. 2010. V. 123 (3). P. 323–328.

- Boase M.R., Winefeld C.S., Lill T.A. et al. Transgenic regal pelargoniums that express the *rolC* gene from *Agrobacterium rhizogenes* exhibit a dwarf floral and vegetative phenotype // *In Vitro Cell. Develop. Biol. Plant.* 2004. V. 40 (1). P. 46–50.
- Bonhomme V., Laurain-Mattar D., Fliniaux M.A. Effects of the *rolC* gene on hairy root: induction development and tropane alkaloid production by *Atropa belladonna* // *J. Nat. Prod.* 2000. V. 63. P. 1249–1252.
- Bulgakov V.P. Functions of *rol* genes in plant secondary metabolism // *Biotechnol. Adv.* 2008. V. 26. P. 318–324.
- Bulgakov V.P., Khodakovskaya M.V., Labetskaya N.V. et al. The impact of plant *rolC* oncogene on ginsenoside production by ginseng hairy root cultures // *Phytochemistry*. 1998. V. 49. P. 1929–1934.
- Bulgakov V.P., Tchernoded G.K., Mischenko N.P. et al. Effect of salicylic acid, methyl jasmonate, ethephon and cantharidin on anthraquinone production by *Rubia cordifolia* callus cultures transformed with the *rolB* and *rolC* genes // *J. Biotechnol.* 2002. V. 97 (3). P. 213–221.
- Bulgakov V.P., Tchernoded G.K., Mischenko N.P. et al. Effects of  $\text{Ca}^{2+}$  channel blockers and protein kinase/phosphatase inhibitors on growth and anthraquinone production in *Rubia cordifolia* callus cultures transformed by the *rolB* and *rolC* genes // *Planta*. 2003. V. 217 (3). P. 349–355.
- Bulgakov V.P., Veselova M.V., Tchernoded G.K. et al. Inhibitory effect of the *Agrobacterium rhizogenes rolC* gene on rhabdosin and rosmarinic acid production in *Eritrichium sabiceum* and *Lithospermum erythrorhizon* transformed cell cultures // *Planta*. 2005. V. 221 (4). P. 471–478.
- Bulgakov V.P., Shkryl Y.N., Veremeichik G.N. et al. Recent advances in the understanding of *Agrobacterium rhizogenes*-derived genes and their effects on stress resistance and plant metabolism // *Adv. Biochem. Eng. Biotechnol.* 2013. V. 134. P. 11–22.
- Bulgakov V.P., Veremeichik G.N., Grigorchuk V.P. The *rolB* gene activates secondary metabolism in *Arabidopsis calli* via selective activation of genes encoding MYB and bHLH transcription factors // *Plant Physiol. Biochem.* 2016. V. 102. P. 70–79.
- Capone I., Frugis G., Costantino P. et al. Expression in different populations of cells of the root meristem is controlled by different domains of the *rolB* promoter // *Plant Mol. Biol.* 1994. V. 25. P. 681–691.
- Casanova E., Valdés A.E., Zuker A. et al. *rolC*-transgenic carnation plants: adventitious organogenesis and levels of endogenous auxin and cytokinins // *Plant Sci.* 2004. V. 167 (3). P. 551–560.
- Casanova E., Trillas M.I., Moysset L. et al. Influence of *rol* genes in floriculture // *Biotechnol. Adv.* 2005. V. 23. P. 3–39.
- Chen K., Otten L. Natural *Agrobacterium* transformants, recent results and some theoretical considerations // *Front Plant Sci.* 2017. V. 8 (1600). P. 1–16.
- Choi P.S., Kim Y.D., Choi K.M. et al. Plant regeneration from hairy-root cultures transformed by infection with *Agrobacterium rhizogenes* in *Catharanthus roseus* // *Plant Cell Rep.* 2004. V. 22. P. 828–831.
- Christensen B., Sriskandarajah S., Jensen E.B. et al. Transformation with *rol* genes from *Agrobacterium rhizogenes* as a strategy to breed compact ornamental plants with improved postharvest quality // *Acta Horticulturae*. 2010. V. 855. P. 69–76.
- Daimon H., Mii M. Plant regeneration and tiophene production in hairy root cultures of *Rudbeckia hirta* L. used as an antagonist plant to nematodes // *Jpn. J. Crop. Sci.* 1995. V. 64. P. 650–655.
- Dehio C., Grossmann K., Schell J. et al. Phenotype and hormonal status of transgenic tobacco plants overexpressing the *rolA* gene of *Agrobacterium rhizogenes* T-DNA // *Plant Mol. Biol.* 1993. V. 23 (6). P. 1199–1210.
- Desmet S., Dhooghe E., De Keyser E. et al. Segregation of *rol* genes in two generations of *Sinningia speciosa* engineered through wild type *Rhizobium rhizogenes* // *Front. Plant Sci.* 2020. V. 11 (859). P. 1–18.
- Dilshad E., Cusido R.M., Estrada K.R. et al. Genetic transformation of *Artemisia carvifolia* Buch with *rol* genes enhances artemisinin accumulation // *PLoS One*. 2015a. V. 10 (10). P. e0140266.
- Dilshad E., Cusido R.M., Palazon J. et al. Enhanced artemisinin yield by expression of *rol* genes in *Artemisia annua* // *Malaria J.* 2015b. V. 14 (1). P. 424.
- Dilshad E., Zafar S., Ismail H. et al. Effect of *rol* genes on polyphenols biosynthesis in *Artemisia annua* and their effect on antioxidant and cytotoxic potential of the plant // *Appl. Biochem. Biotechnol.* 2016. V. 179. P. 1456–1468.
- Dilshad E., Noor H., Nosheen N. et al. Influence of *rol* genes for enhanced biosynthesis of potent natural products // *Chemistry of biologically potent natural products and synthetic compounds*. USA: John Wiley & Sons, Ltd, 2021. P. 379–404.
- Esam A.H. *In vitro* versus *in vivo*: a comparative study of *Solanum villosum* (Mill.) plant leaves // *Int. J. Integrat. Biol.* 2011. V. 11 (3). P. 140–144.
- Faiss M., Strnad M., Redig P. et al. Chemically induced expression of the *rolC*-encoded  $\beta$ -glucosidase in transgenic tobacco plants and analysis of cytokinin metabolism: *rolC* does not hydrolyze endogenous cytokinin glucosides in planta // *Plant J.* 1996. V. 10 (1). P. 33–46.
- Falasca G., Altamura M.M., D'Angeli S. et al. The *rolD* oncogene promotes axillary bud and adventitious root meristems in *Arabidopsis* // *Plant Physiol. Biochem.* 2010. V. 48 (9). P. 797–804.
- Favero B.T., Tan Y., Lin Y. et al. Transgenic *Kalanchoë blossfeldiana*, containing individual *rol* genes and open reading frames under 35S promoter, exhibit compact habit, reduced plant growth, and altered ethylene tolerance in flowers // *Front Plant Sci.* 2021. V. 12 (672023). P. 1–20.
- Favero B.T., Tan Y., Chen X. et al. *Kalanchoë blossfeldiana* naturally transformed with *Rhizobium rhizogenes* exhibits superior root phenotype // *Plant Sci.* 2022. V. 321 (111323). P. 1–10.
- Filetici P., Moretti F., Camilloni G. et al. Specific interaction between a *Nicotiana tabacum* nuclear protein and the *Agrobacterium rhizogenes rolB* promoter // *J. Plant Physiol.* 1997. V. 151. P. 159–165.
- Filippini F., Rossi V., Marin O. et al. A plant oncogene as a phosphatase // *Nature*. 1996. V. 379 (6565). P. 499–500.
- Fladung M., Ballvora A. Further characterization of *rolC* transgenic tetraploid potato clones, and influence of daylength and level of *rolC* expression on yield parameters // *Plant Breed.* 1992. V. 109 (1). P. 18–27.
- Fladung M., Grossmann K., Ahuja M.R. Alterations in hormonal and developmental characteristics in transgenic *Populus* conditioned by the *rolC* gene from *Agrobacterium rhizogenes* // *J. Plant Physiol.* 1997. V. 150. P. 420–427.
- Furner I.J., Huffman G.A., Amasino R.M. et al. An *Agrobacterium* transformation in the evolution of the genus *Nicotiana* // *Nature*. 1986. V. 319. P. 422–427.
- Ganesan G., Sankararamasubramanian H.M., Harikrishnan M. et al. A MYB transcription factor from the grey mangrove is induced by stress and confers NaCl tolerance in tobacco // *J. Experim. Bot.* 2012. V. 63 (12). P. 4549–4561.

- Giovannini A., Pecchioni N., Allavena A. Genetic transformation of lisianthus (*Eustoma grandiflorum* Griseb) by *Agrobacterium rhizogenes* // J. Genet. Breed. 1996. V. 50. P. 33–40.
- Giovannini A., Pecchioni N., Rabaglio M. et al. Characterization of ornamental *Datura* plants transformed by *Agrobacterium rhizogenes* // *In Vitro Cell Dev. Biol.* 1997. V. 33. P. 101–106.
- Giovannini A., Zottini M., Morreale G. et al. Ornamental traits modification by *rol* genes in *Osteospermum ecklonis* transformed with *Agrobacterium tumefaciens* // *In Vitro Cell. Dev. Biol.* 1999. V. 35. P. 70–75.
- Godot T., Tsujii O., Ishikawa K. et al. Fertile transgenic plants of *Nierembergia scoparia* Sendtner obtained by a mikiopine type strain of *Agrobacterium rhizogenes* // *Sci. Hortic.* 1997. V. 68. P. 101–111.
- Grishchenko O.V., Kiselev K.V., Tchernoded G.K. et al. The influence of the *rolC* gene on isoflavonoid production in callus cultures of *Maackia amurensis* // *Plant Cell Tiss. Organ Cult.* 2013. V. 113 (3). P. 429–435.
- Grishchenko O.V., Kiselev K.V., Tchernoded G.K. et al. *rolB* gene-induced production of isoflavonoids in transformed *Maackia amurensis* cells // *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 2016. V. 100 (17). P. 7479–7489.
- Guivarch A., Spena A., Noin M. et al. The pleiotropic effects induced by the *rolC* gene in transgenic plants are caused by expression restricted to protophloem and companion cells // *Transgen. Res.* 1996. V. 5. P. 3–11.
- Handa T. Genetic transformation of *Antirrhinum majus* L. and inheritance altered phenotype induced by Ri TDNA // *Plant Sci.* 1992. V. 81. P. 199–206.
- Hoshino Y., Mii M. Bialaphos stimulates shoot regeneration from hairy roots of snapdragon (*Antirrhinum majus* L.) transformed by *Agrobacterium rhizogenes* // *Plant Cell Rep.* 1998. V. 17. P. 256–261.
- Ichikawa T., Syono K. Tobacco genetic tumors // *Plant Cell Physiol.* 1991. V. 32 (8). P. 1123–1128.
- Intrieri M.C., Buiatti M. The horizontal transfer of *Agrobacterium rhizogenes* genes and the evolution of the genus *Nicotiana* // *Mol. Phylogen. Evol.* 2001. V. 20 (1). P. 100–110.
- Ismail H., Dilshad E., Waheed M. T. et al. Transformation of *Lactuca sativa* L. with *rolC* gene results in increased antioxidant potential and enhanced analgesic, anti-inflammatory and antidepressant activities *in vivo* // *3 Biotech.* 2016. V. 6 (2). P. 215.
- Jeeshna M.V., Paulsamy S. Evaluation of certain flavonoids of medicinal importance in the wild and micropropagated plants of the endangered medicinal species, *Exacum bicolor* Roxb. // *J. Appl. Pharm. Sci.* 2011. V. 1 (5). P. 99–102.
- Kaneyoshi J., Kobayashi S. Characteristics of transgenic trifoliolate orange (*Poncirus trifoliata* Raf.) possessing the *rolC* gene of *Agrobacterium rhizogenes* Ri plasmid // *J. Japan. Soc. Hortic. Sci.* 1999. V. 68. P. 734–738.
- Kayani W.K., Palazô J., Cusidô R.M. et al. The effect of *rol* genes on phytoecdysteroid biosynthesis in *Ajuga bracteosa* differs between transgenic plants and hairy roots // *RSC Adv.* 2016. V. 6 (27). P. 22700–22708.
- Kiselev K., Dubrovina A., Veselova M. et al. The *rolB* gene-induced overproduction of resveratrol in *Vitis amurensis* transformed cells // *J. Biotechnol.* 2007. V. 128 (3). P. 681–692.
- Kiyokawa S., Kikuchi Y., Kamada H. et al. Genetic transformation of *Begonia tuberhybrida* by Ri *rol* genes // *Plant. Cell. Rep.* 1996. V. 15. P. 606–609.
- Koike Y., Hoshino Y., Mii M. et al. Horticultural characterization of *Angelonia salicariifolia* plants transformed with wild-type strains of *Agrobacterium rhizogenes* // *Plant Cell. Rep.* 2003. V. 21. P. 981–987.
- Komarovska H., Kosuth J., Giovannini A. et al. Effect of the number of *rol* genes integrations on phenotypic variation in hairy root-derived *Hypericum perforatum* L. plants // *Z. Naturforsch.* 2010. V. 65 (11–12). P. 701–712.
- Koshita Y., Nakamura Y., Kobayashi S. et al. Introduction of the *rolC* gene into the genome of the Japanese persimmon causes dwarfism // *J. Japan. Soc. Hortic. Sci.* 2002. V. 71. P. 529–531.
- Kurioka Y., Suzuki Y., Kamada H. et al. Promotion of flowering and morphological alterations in *Atropa belladonna* transformed with a CaMV 35S-*rolC* chimeric gene of the Ri plasmid // *Plant Cell Rep.* 1992. V. 12 (1). P. 1–6.
- Kyndt T., Quispe D., Zhai H. et al. The genome of cultivated sweet potato contains *Agrobacterium* T-DNAs with expressed genes: an example of a naturally transgenic food crop // *PNAS USA.* 2015. V. 112 (18). P. 5844–5849.
- Lee C., Wang L., Ke S., Qin M. et al. Expression of the *rolC* gene in transgenic plants of *Salpiglossis sinuata* L. // *Hortic. Sci.* 1996. V. 31 (4). P. 571.
- Lemcke K., Schmulling T. A putative *rolB* gene homologue of *Agrobacterium rhizogenes* TR-DNA has different morphogenetic activity in tobacco than *rolB* // *Plant. Mol. Biol.* 1998. V. 16 (5). P. 803–808.
- Makowski W., Krolicka A., Nowicka A. et al. Transformed tissue of *Dionaea muscipula* J. Ellis as a source of biologically active phenolic compounds with bactericidal properties // *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 2021a. V. 105. P. 1215–1226.
- Makowski W., Królicka A., Tokarz B. et al. Response of physiological parameters in *Dionaea muscipula* J. Ellis teratomas transformed with *rolB* oncogene // *BMC Plant Biol.* 2021b. V. 21 (564). P. 1–13.
- Martin-Tanguy J., Corbineau F., Burtin D. et al. Genetic transformation with a derivative of *rolC* from *Agrobacterium rhizogenes* and treatment with  $\alpha$ -aminoisobutyric acid produce similar phenotypes and reduce ethylene production and the accumulation of water-insoluble polyamine-hydroxycinnamic acid conjugates in tobacco flowers // *Plant Sci.* 1993. V. 93 (1–2). P. 63–76.
- Matveeva T.V. *Agrobacterium*-mediated transformation in the evolution of plants // *Curr. Top. Microbiol. Immunol.* 2018. V. 418. P. 421–441.
- Matveeva T.V. New naturally transgenic plants: 2020 update // *Biol. Comm.* 2021. V. 66 (1). P. 36–46.
- Matveeva T.V., Lutova L.A. Horizontal gene transfer from *Agrobacterium* to plants // *Front. Plant Sci.* 2014. V. 5. P. 326.
- Matveeva T.V., Otten L. Widespread occurrence of natural genetic transformation of plants by *Agrobacterium* // *Plant Mol. Biol.* 2019. V. 101 (4–5). P. 415–437.
- Matveeva T., Sokornova S. *Agrobacterium rhizogenes* mediated transformation of plants for improvement of yields of secondary metabolites // Reference series in phytochemistry. Bioprocessing of plant *in vitro* systems / Eds A. Pavlov, T. Bley. Cham: Springer, 2016. P. 1–42.
- Matveeva T.V., Bogomaz D.I., Pavlova O.A. et al. Horizontal gene transfer from genus *Agrobacterium* to the plant *Linnaria* in nature // *Mol. Plant Microb. Int.* 2012. V. 25 (12). P. 1542–1551.
- Matveeva T.V., Sokornova S.V., Lutova L.A. Influence of *Agrobacterium* oncogenes on secondary metabolism of plants // *Phytochem. Rev.* 2015. V. 14. P. 541–554.
- Matveeva T., Berezina E., Isaeva I. et al. Influence of some *rol* genes on sugar content in *Nicotiana* and *Vaccinium* // *BIO Web of Conferences.* 2020. V. 18 (00020). P. 1–4.
- Matvieieva N.A., Morgun B.V., Lakhneko O.R. et al. *Agrobacterium rhizogenes*-mediated transformation enhances the antioxidant potential of *Artemisia tilesii* Ledeb // *Plant Physiol. Biochem.* 2020. V. 152. P. 177–183.

- Maurel C., Barbier-Brygoo H., Spena A. et al. Single *rol* genes from the *Agrobacterium rhizogenes* TL-DNA alter some of the cellular responses to auxin in *Nicotiana tabacum* // Plant Physiol. 1991. V. 97 (1). P. 212–216.
- Mauro M.L., Trovato M., Paolis A.D. et al. The plant oncogene *rolD* stimulates flowering in transgenic tobacco plants // Dev. Biol. 1996. V. 180. P. 693–700.
- Meira M., da Silva E.P., David J.M. et al. Review of the genus *Ipomoea*: traditional uses, chemistry and biological activities // Rev. Bras. Farmacogn. 2012. V. 22 (3). P. 682–713.
- Mercuri A., Bruna S., De Benedetti L. et al. Modification of plant architecture in *Limonium* spp. induced by *rol* genes // Plant Cell Tiss. Organ Cult. 2001. V. 65. P. 247–253.
- Mercuri A., De Benedetti L., Bruna S. et al. *Agrobacterium*-mediated transformation with *rol* genes of *Lilium longiflorum* Thunb. / The 21th international symposium on classical versus molecular breeding of ornamentals // Acta Hort. 2003. V. 612. P. 129–136.
- Meyer A.D., Ichikawa T., Meins F. Horizontal gene transfer: regulated expression of a tobacco homologue of the *Agrobacterium rhizogenes* *rolC* gene // Mol. Gen. Genet. 1995. V. 249. P. 265–273.
- Mitiouchkina T.Y., Dolgov S.V. Modification of chrysanthemum plant and flower architecture by *rolC* gene from *Agrobacterium rhizogenes* introduction // Acta Horticulturae. 2000. V. 508. P. 163–172.
- Mohajjel-Shoja H., Clément B., Perot J. et al. Biological activity of the *Agrobacterium rhizogenes*-derived *trnC* gene of *Nicotiana tabacum* and its functional relation to other plast genes // Mol. Plant Microb. Int. 2011. V. 24 (1). P. 44–53.
- Momcilovic I., Grubisic D., Kojic M. et al. *Agrobacterium rhizogenes*-mediated transformation and plant regeneration of four *Gentiana* species // Plant Cell Tiss. Organ Cult. 1997. V. 50. P. 1–6.
- Moriuchi H., Okamoto C., Nishihama R. et al. Nuclear localization and interaction of *rolB* with plant 14-3-3 proteins correlates with induction of adventitious roots by the oncogene *rolB* // Plant J. 2004. V. 38 (2). P. 260–275.
- Murthy H.N., Dijkstra C., Anthony P. et al. Establishment of *Withania somnifera* hairy root cultures for the production of withanolide A // J. Integr. Plant Biol. 2008. V. 50 (8). P. 975–981.
- Nagata N., Kosono S., Seldne M. et al. The regulatory functions of the *rolB* and *rolC* genes of *Agrobacterium rhizogenes* are conserved in the homologous genes (*Ngrol*) of *Nicotiana glauca* in tobacco genetic tumors // Plant Cell Physiol. 1995. V. 36 (6). P. 1003–1012.
- Nemoto K., Hara M., Goto S. et al. The *aux1* gene of the Ri plasmid is sufficient to confer auxin autotrophy in tobacco BY-2 cells // J. Plant. Physiol. 2009. V. 166. P. 729–738.
- Nilsson O., Moritz T., Imbault N. et al. Hormonal characterization of transgenic tobacco plants expressing the *rolC* gene of *Agrobacterium rhizogenes* TL-DNA // Plant Physiol. 1993. V. 102 (2). P. 363–371.
- Okamoto S., Ueki Y. Altered carbon status in *Glycine max* hairy roots induced by *Agrobacterium rhizogenes* // Plant Signal. Behav. 2022. V. 17 (1). P. 2097469.
- Otani M., Shimada T., Kamada H. et al. Fertile transgenic plants of *Ipomoea trichocarpa* Ell induced by different strains of *Agrobacterium rhizogenes* // Plant Sci. 1996. V. 116. P. 169–175.
- Otten L. The *Agrobacterium* phenotypic plasticity (*plast*) genes // Curr. Top. Microbiol. Immunol. 2018. V. 418. P. 375–419.
- Otten L. Natural *Agrobacterium*-mediated transformation in the genus *Nicotiana* // The tobacco plant genome / Eds N. Ivanov, N. Sierro, M.C. Peitsch. Cham, Switzerland: Springer, 2020. P. 195–209.
- Otten L. T-DNA regions from 350 *Agrobacterium* genomes: maps and phylogeny // Plant Mol. Biol. 2021. V. 106 (3). P. 239–258.
- Ozyigit I.I., Dogan I., Tarhan E.A. *Agrobacterium rhizogenes*-mediated transformation and its biotechnological applications in crops // Crop Improvement / Eds. K.R. Hakeem, P. Ahmad, M. Öztürk. N.Y.: Springer, 2013. P. 1–48.
- Palazon J., Cusido R.M., Roig C. et al. Effect of *rol* genes from *Agrobacterium rhizogenes* TL-DNA on nicotine production in tobacco root cultures // Plant Physiol. Biochem. 1997. V. 35. P. 155–162.
- Palazon J., Cusido R.M., Roig C. et al. Expression of the *rolC* gene and nicotine production in transgenic roots and their regenerated plants // Plant Cell Rep. 1998. V. 15 (5). P. 384–390.
- Pandolfini T., Storlazzi A., Calabria E. et al. The spliceosomal intron of the *rolA* gene of *Agrobacterium rhizogenes* is a prokaryotic promoter // Mol. Microbiol. 2000. V. 35. P. 1326–1334.
- Pellegrineschi A., Davolio-Mariani O. *Agrobacterium rhizogenes*-mediated transformation of scented geranium // Plant Cell Tiss. Organ Cult. 1996. V. 47. P. 79–86.
- Rigden D.J., Carneiro M. A structural model for the *rolA* protein and its interaction with DNA // Proteins: structure, function, and bioinformatics. 1999. V. 37 (4). P. 697–708.
- Rugini E., Pellegrineschi A., Mencuccini M. et al. Increase of rooting ability in the woody species kiwi (*Actinidia deliciosa* A. Chev.) by transformation with *Agrobacterium rhizogenes* *rol* genes // Plant Cell Rep. 1991. V. 10 (6–7). P. 291–295.
- Sarkar S., Ghosh I., Roychowdhury D., Jha S. The effects of *rol* genes of *Agrobacterium rhizogenes* on morphogenesis and secondary metabolite accumulation in medicinal plants // Biotechnological approaches for medicinal and aromatic plants. Chapter 2 / Ed. N. Kumar. 2018. P. 27–51.
- Sathasivam R., Choi M., Radhakrishnan R. et al. Effects of various *Agrobacterium rhizogenes* strains on hairy root induction and analyses of primary and secondary metabolites in *Ocimum basilicum* // Front. Plant Sci. 2022. V. 13 (983776). P. 1–14.
- Schmulling T., Schell J., Spena A. Single genes from *Agrobacterium rhizogenes* influence plant development // EMBO J. 1988. V. 7 (9). P. 2621–2629.
- Schmulling T., Fladung M., Grossmann K., Schell J. Hormonal content and sensitivity of transgenic tobacco and potato plants expressing single *rol* genes of *Agrobacterium rhizogenes* T-DNA // Plant J. 1993. V. 3. P. 371–382.
- Scorza R., Zimmerman T.W., Cordts J.M. et al. Horticultural characteristics of transgenic tobacco expressing the *rolC* gene from *Agrobacterium rhizogenes* // J. Am. Soc. Horticult. Sci. 1994. V. 119 (5). P. 1091–1098.
- Senior I., Holford P., Cooley R.N. et al. Transformation of *Antirrhinum majus* using *Agrobacterium rhizogenes* // J. Exp. Bot. 1995. V. 46. P. 1233–1239.
- Shkryl Y.N., Veremeichik G.N., Bulgakov V.P. et al. Individual and combined effects of the *rolA*, *B*, and *C* genes on anthraquinone production in *Rubia cordifolia* transformed calli // Biotechnol. Bioeng. 2007. V. 100 (1). P. 118–125.
- Shkryl Y., Yugay Y., Vasyutkina E. et al. The *RoLB/RoLC* homolog from sweet potato promotes early flowering and triggers premature leaf senescence in transgenic *Arabidopsis thaliana* plants // Plant Physiol. Biochem. 2022. V. 193. P. 50–60.
- Sinkar V.P., Pythoud F., White F.F. et al. *rolA* locus of the Ri plasmid directs developmental abnormalities in trans-

- genic tobacco plants // *Gen. Dev.* 1988. V. 2 (6). P. 688–697.
- Souq F., Coutos-Thevenot P., Yean H. et al. Genetic transformation of roses, 2 examples: one on morphogenesis, the other on anthocyanin biosynthetic pathway // Second International Symposium on Roses // *Acta Hort.* 1996. V. 424. P. 381–388.
- Spena A., Schmülling T., Koncz C. et al. Independent and synergistic activity of *rolA*, *B* and *C* loci in stimulating abnormal growth in plants // *EMBO J.* 1987. V. 6 (13). P. 3891–3899.
- Trovato M., Maras B., Linhares F., Costantino P. The plant oncogene *rolD* encodes a functional ornithine cyclodeaminase // *PNAS USA*. 2001. V. 98 (23). P. 13449–13453.
- Tzfira T., Vainstein A., Altman A. *rol*-gene expression in transgenic aspen (*Populus tremula*) plants results in accelerated growth and improved stem production index // *Trees*. 1999. V. 14. P. 49–54.
- van der Salm T.P.M., van der Toorn C.J.G., Bouwer R. et al. Production of *ROL* gene transformed plants of *Rosa hybrida* L. and characterization of their rooting ability // *Mol. Breed.* 1997. V. 3. P. 39–47.
- Veremeichik G.N., Bulgakov V.P., Shkryl Y.N. et al. Activation of anthraquinone biosynthesis in long-cultured callus culture of *Rubia cordifolia* transformed with the *rolA* plant oncogene // *J. Biotechnol.* 2019. V. 306. P. 38–46.
- Vereshchagina Y.V., Bulgakov V.P., Grigorchuk V.P. et al. The *rolC* gene increases caffeoylquinic acid production in transformed artichoke cells // *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 2014. V. 98 (18). P. 7773–7780.
- Verma P., Mathur A.K., Shanker K. Growth, alkaloid production, *rol* genes integration, bioreactor up-scaling and plant regeneration studies in hairy root lines of *Catharanthus roseus* // *Plant Biosyst.* 2012. V. 146. P. 27–40.
- Vilaine F., Rembur J., Chriqui D. et al. Modified development in transgenic tobacco plants expressing a *rolA::GUS* translational fusion and subcellular localization of the fusion protein // *Mol. Plant Microb. Int.* 1998. V. 11 (9). P. 855–859.
- Welander M., Pawlicki N., Holefors A. et al. Genetic transformation of the apple rootstock M26 with the *rolB* gene and its influence on rooting // *J. Plant Physiol.* 1998. V. 153 (3–4). P. 371–380.
- White F.F., Nester E.W. Relationship of plasmids responsible for hairy root and crown gall tumorigenicity // *J. Bacteriol.* 1980. V. 144 (2). P. 710–720.
- White F.F., Garfinkel D.J., Huffman G.A. et al. Sequences homologous to *Agrobacterium rhizogenes* T-DNA in the genomes of uninfected plants // *Nature*. 1983. V. 301 (5898). P. 348–350.
- White F.F., Taylor B.H., Huffman G.A. et al. Molecular and genetic analysis of the transferred DNA regions of the root-inducing plasmid of *Agrobacterium rhizogenes* // *J. Bacteriol.* 1985. V. 164. P. 33–44.
- Winefeld C., Lewis D., Arathoon S. et al. Alteration of petunia plant form through the introduction of the *rolC* gene from *Agrobacterium rhizogenes* // *Mol. Breed.* 1999. V. 5. P. 543–551.
- Yanagisawa S. Dof domain proteins: plant-specific transcription factors associated with diverse phenomena unique to plants // *Plant Cell Physiol.* 2004. V. 45. P. 386–391.
- Yokoyama R., Hirose T., Fujii N. et al. The *rolC* promoter of *Agrobacterium rhizogenes* Ri plasmid is activated by sucrose in transgenic tobacco plants // *Mol. Gen. Genet.* 1994. V. 244. P. 15–22.
- Zia M., Mirza B., Malik S.A. et al. Expression of *rol* genes in transgenic soybean (*Glycine max* L.) leads to changes in plant phenotype, leaf morphology, and flowering time // *Plant Cell Tiss. Organ Cult.* 2010. V. 103 (2). P. 227–236.

## ***rol*-Genes of Agrobacteria: Possible Biological Functions**

**D. Yu. Shvets<sup>a, b,\*</sup>, Z. A. Berezheva<sup>a</sup>, Kh. G. Musin<sup>a</sup>, E. A. Baimukhametova<sup>a</sup>, and B. R. Kuluev<sup>a</sup>**

<sup>a</sup>*Institute of Biochemistry and Genetics – Subdivision of the Ufa Federal Research Centre of the Russian Academy of Sciences, Ufa, Russia*

<sup>b</sup>*Bashkir State Medical University, Ufa, Russia*

\*e-mail: shvetsdasha99@yandex.ru

As a result of agrobacterium-mediated transformation the *rolA*, *rolB*, *rolC*, and *rolD* genes of *Agrobacterium rhizogenes* are integrated into plant genomes as part of T-DNA. These genes cause abundant growth of hairy roots, and the regeneration of shoots from them causes short stature, shortening of internodes and wrinkled leaves. A sufficient number of representatives of the genera *Nicotiana*, *Linaria*, *Ipomoea* and others in their genome contain some *rol* genes that got into them during horizontal gene transfer and thus evolutionarily fixed. The conservatism of the *rol* genes of *A. rhizogenes* in naturally transgenic plants can probably be associated with the performance of important biological functions by them. The purpose of this review article is to review the currently available data on the biological role of *rol* genes in hairy roots, transformed plants, and naturally transgenic plants. The results of scientific studies published to date describe the expression of *rol* genes both together and separately. It should be noted that expression has a different effect on the morphology of both plants transformed by agrobacteria and naturally transgenic species. The review presents the results of studies that have shown a positive effect of *rol* genes on secondary metabolism, the antioxidant system and plant stress resistance. The question of the possible effect of protein products of *rol* genes through the influence on the content of phytohormones or sensitivity to them is also discussed. Experimental evidence of subcellular localization of Rol proteins and enzymatic activity of Rol proteins with respect to phytohormone glucosides are described. However, these experiments did not give exhaustive answers, and therefore studies of the biological functions of the *rol* genes should be continued. This knowledge can be used to create transgenic and genome-edited plants that have economically valuable traits.

**Keywords:** hairy roots, *rol* genes, *Agrobacterium rhizogenes*, *plast*-genes, stress tolerance

УДК 615.9:595.384.12

## ОЦЕНКА МОРФОЛОГИЧЕСКИХ АНОМАЛИЙ И РЕАКЦИИ ГЕНА *hsp70* НА ВОЗДЕЙСТВИЕ АРИСТОЛОХОВОЙ КИСЛОТЫ У *Neocaridina davidi* (КРАСНАЯ КРЕВЕТКА)

© 2023 г. П. Р<sup>1</sup>, \*, Т. Джитин<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Кафедра биотехнологии, Колледж Мар Афанасия, Котамангалам, Керала, Индия

\*e-mail: parvathyrbinu@gmail.com

Поступила в редакцию 24.02.2023 г.

После доработки 15.03.2023 г.

Принята к публикации 17.03.2023 г.

Исследованы морфологические аномалии и сверхэкспрессия одного из генов стресса (*hsp70*) при различных концентрациях экстракта аристолохии *Aristolochia*. Растительный материал для исследования механически измельчен для приготовления настоя. Креветки *Neocaridina davidi* акклиматизированы в лаборатории. Воздействие аристолоховой кислоты на креветок в концентрациях 6000, 12000, 18000, 24000 и 30000 ppm через 48 ч приводит к морфологическим аномалиям развития начиная с концентрации 18000 ppm. Анализ экспрессии показал, что транскрипция *hsp70* у подвергнутых воздействию *N. davidi* при 24000 ppm (72 ч) выше, чем в контроле. Данные, полученные в ходе текущего исследования, помогают лучше понять токсичность аристолоховой кислоты, что указывает на необходимость регулирования производства и потребления растительных продуктов, содержащих аристолоховую кислоту в высокой концентрации.

**Ключевые слова:** *Aristolochia*, аристолоховая кислота, *Neocaridina davidi*, морфологические аномалии, белки теплового шока (HSP)

**DOI:** 10.31857/S0042132423040087, **EDN:** DACSJN

### ВВЕДЕНИЕ

*Aristolochia indica* принадлежит семейству Aristolochiaceae (Kanjilal et al., 2009; Jirovetz et al., 2019). Известны другие названия: родильница, трубочник, голландская трубка. Вид широко распространен в засушливых и ползасушливых регионах Индийского субконтинента (Bhattacharjee P., Bhattacharjee D., 2013). Морфологические характеристики *A. indica*: многолетнее ползучее растение с древесным подвоем (Soniya, Sujitha, 2006; Siregar et al., 2021). Различные элементы и части растения используются в народной медицине: свежий сок листьев — в качестве противоядия при укусах змей, корни — при лечении кожных заболеваний, кора и листья — для облегчения симптомов диареи и лихорадки, стебли — при лечении сибирской язвы (Abhishiktha et al., 2015). Эти же компоненты применяются и при производстве лекарственных препаратов: abortивных, седативных, анальгетических, противовоспалительных средств, миорелаксантов, антигистаминных препаратов (Lerma-Herrera et al., 2022).

Важный компонент, содержащийся в растениях рода *Aristolochia*, — аристолоховые кислоты (АК) (Gökmen et al., 2013). АК — нитрофенантрен-карбоновые кислоты, которые представлены дву-

мя группами: аристолоховой кислотой I (АК-I) и аристолоховой кислотой II (АК-II) (Shibutani et al., 2007; Chen et al., 2012). АК — не только нефро- и гепатотоксины, провоцирующие хронические заболевания почек и печени, но и мощные канцерогены, ассоциированные с уротелиальной карциномой верхних мочевых путей. Употребление продуктов, содержащих АК, в частности отваров трав, вызывает нефропатию аристолоховой кислоты (Han et al., 2019; Liang et al., 2022). Также на бактериях, на клетках млекопитающих, в частности мышей, установлена (Mei et al., 2006) мутагенность и АК-I, и АК-II.

*Neocaridina davidi*, также называемая красной креветкой, — пресноводный организм, обычно встречающийся на азиатском субконтиненте (Siregar et al., 2021). У аквариумистов *N. davidi* пользуется признанием благодаря своему огненно-красному цвету. Но они также обладают характеристиками, обеспечивающими их широкое использование в научных исследованиях: быстрый рост, высокая скорость размножения и выживаемость. В частности, *N. davidi* являются отличной моделью для токсикологических исследований, поскольку они демонстрируют последствия воздействия различных препаратов в виде изме-

нений в их жизненном цикле, в росте и в размножении (Hu et al., 2019; Parolini, 2020). Гепатопанкреас креветок, совмещающий привычные функции печени и поджелудочной железы, играет важную роль в переваривании, абсорбции, выделении и детоксикации, что делает его органом, способствующим выживанию при различных стрессах, имеющих источником окружающую среду. Белки теплового шока, также называемые белками стресса, — HSP (heat shock proteins) — вырабатываются не только при повышении температуры, но и при наличии различных стрессирующих агентов: пестицидов, тяжелых металлов или токсичных соединений. HSP70 — представители семейства белков теплового шока (с молекулярной массой 70 кДа), именно они первыми экспрессируются в условиях стресса; HSP70 — высококонсервативные белки, обладающие способностью восстанавливаться при повреждении (Gupta et al., 2010).

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

### *Сбор и экстракция растительного материала.*

Растение *A. indica* собрано в питомнике Нагарджуна в Тодупуе 11.08.2022 г. Растительный материал подвергали поверхностной стерилизации с использованием моющего средства и промывали в водопроводной воде в течение 10 мин с последующей окончательной промывкой в дистиллированной воде перед проведением процедуры. Готовили 2%-ный (масса/объем) настой на листьях *A. indica*. Брали 15 г листьев, разделяли их на части, погружали в предварительно нагретую до 95°C дистиллированную воду и полученной смеси давали настояться 15 мин при комнатной температуре, прежде чем фильтровать через аналитическую фильтровальную бумагу.

### *Тест на токсичность у Neocaridina davidi.*

*N. davidi* выдерживали при искусственном освещении с достаточной аэрацией в течение 48 ч. Приготовили растительные экстракты пяти концентраций — 6000, 12000, 18000, 24000, 30000 частей на миллион, или ppm. Эти пять концентраций были применены к каждому из пяти наборов экспериментальных моделей.

### *Морфологические аномалии развития N. davidi.*

У каждой из креветок были обнаружены изменения и в глазах, и в хвостах. Одновременно выпуклые глаза и закрытые эндопод и экзопод (структуры хвоста) замечены при токсических состояниях.

**Извлечение РНК и синтез кДНК.** Ткань гепатопанкреаса брали у креветок и измельчали с помощью ступки и пестика, сразу помещая ее в 1000 мкл реагента Trizol (Invitrogen, USA) на 2 мин. В гомогенат добавляли 300 мкл хлороформа в соотношении 24 : 1 и хорошо перемешивали, встряхивая. Затем его центрифугировали при 12000 g в течение 15 мин при 4°C. Водный слой экстрагировали

в свежую центрифужную пробирку и добавляли 600 мкл изопропанола и перемешивали, переворачивая 2–3 раза с последующим центрифугированием при 12000 g в течение 10 мин при 4°C. Надосадочную жидкость отбрасывали и добавляли 75% холодного этанола для дальнейшей промывки. Снова центрифугировали при 7500 g в течение 5 мин при 4°C. Сливали надосадочную жидкость и высушивали РНК на воздухе в течение 10 мин. Наконец, ресуспендировали РНК в 20 мкл дистиллированной воды, не содержащей нуклеотидов. Общую РНК подвергали обратной транскрипции в кДНК первой цепи с использованием набора для синтеза кДНК 6110A PrimeScript™ (Takara BIO, Japan) в соответствии с протоколом производителя.

**Количественная ПЦР в реальном времени.** Чтобы определить характер экспрессии гена *hsp70* в тканях *N. davidi*, подвергшихся воздействию различных концентраций аристолоховой кислоты, проведена относительная количественная ОТ-ПЦР (полимеразная цепная реакция с обратной транскрипцией) на кДНК, полученной из общей РНК. В реакционном объеме 25 мкл использовали 12.5 мкл ПЦР-мастер-смеси SYBR Green (Thermo Fisher Scientific, USA), по 1.2 мкл прямого и обратного праймеров и 5 мкл матрицы кДНК. Количественную ПЦР проводили в циклических условиях: денатурация при 95°C в течение 10 мин, затем 45 циклов денатурации при 95°C в течение 15 с, отжиг праймеров при соответствующей температуре отжига в течение 30 с и удлинение при 72°C в течение 30 с.

**Статистический анализ.** Разницу между средними значениями одного гена анализировали с использованием одностороннего ANOVA, при  $p < 0.05$  различия значимы.

## РЕЗУЛЬТАТЫ

**Смертельные случаи у N. davidi.** При концентрациях 6000, 12000 и 18000 ppm не было выявлено смертности, и коэффициент выживаемости составил 100%. Две другие концентрации 24000 и 30000 ppm показали 20%-ный коэффициент смертности (табл. 1).

**Морфологические аномалии у N. davidi.** Проанализированные с помощью составного микроскопа *Neocaridina davidi* продемонстрировали изменения в глазах и в хвостах. При нормальных условиях структуры эндопода и экзопода находятся в открытом широко развернутом состоянии. В токсичных условиях в теле креветок произошли серьезные изменения, установлено закрытое состояние эндопода и экзопода (рис. 1). Даже после 72 ч воздействия у *Neocaridina davidi* хвост — и эндопод, и экзопод — продолжает быть закрытым, при этом отмечено, что глаза становятся выпуклыми, в то время как у особей, пребывающих в обычных

Таблица 1. Процент смертности и морфологических аномалий от общего числа креветок *Neocaridina davidi*

| Концентрации растительного экстракта | Уровень смертности | Морфологические аномалии |       |
|--------------------------------------|--------------------|--------------------------|-------|
|                                      |                    | глаза                    | хвост |
| 6000 ppm                             | —                  | —                        | —     |
| 12000 ppm                            | —                  | —                        | —     |
| 18000 ppm                            | —                  | 20                       | 40    |
| 24000 ppm                            | 20                 | 60                       | 80    |
| 30000 ppm                            | 20                 | 80                       | 80    |

условиях, хвост открыт (эндопод и экзопод), и глаза в норме.

**Относительная количественная экспрессия.** Общую РНК выделяли из гепатопанкреаса *N. davidi*, экспонированного 72 ч, и синтезировали кДНК для проведения количественной ПЦР в реальном времени, которая позволяет определить экспрессию гена *hsp70* путем сравнения его с экспрессией гена β-актина. Анализ экспрессии показывает, что самая высокая транскрипция *hsp70* наблюдается у *Neocaridina davidi*, подвергшихся воздействию токсина в концентрации 24000 ppm

на протяжении 72 ч. Остальные концентрации показали очень небольшую экспрессию генов, по сравнению с 24000 ppm (рис. 2).

ОБСУЖДЕНИЕ

В настоящем исследовании *N. davidi* рассматривается как идеальный модельный организм для токсикологических исследований (Hu et al., 2019). Этот вид обладает потенциалом быстрого распространения в пресноводной экосистеме. Длина тела взрослой особи может достигать максимально-го размера 2.85 см, что помогает в отслеживании в

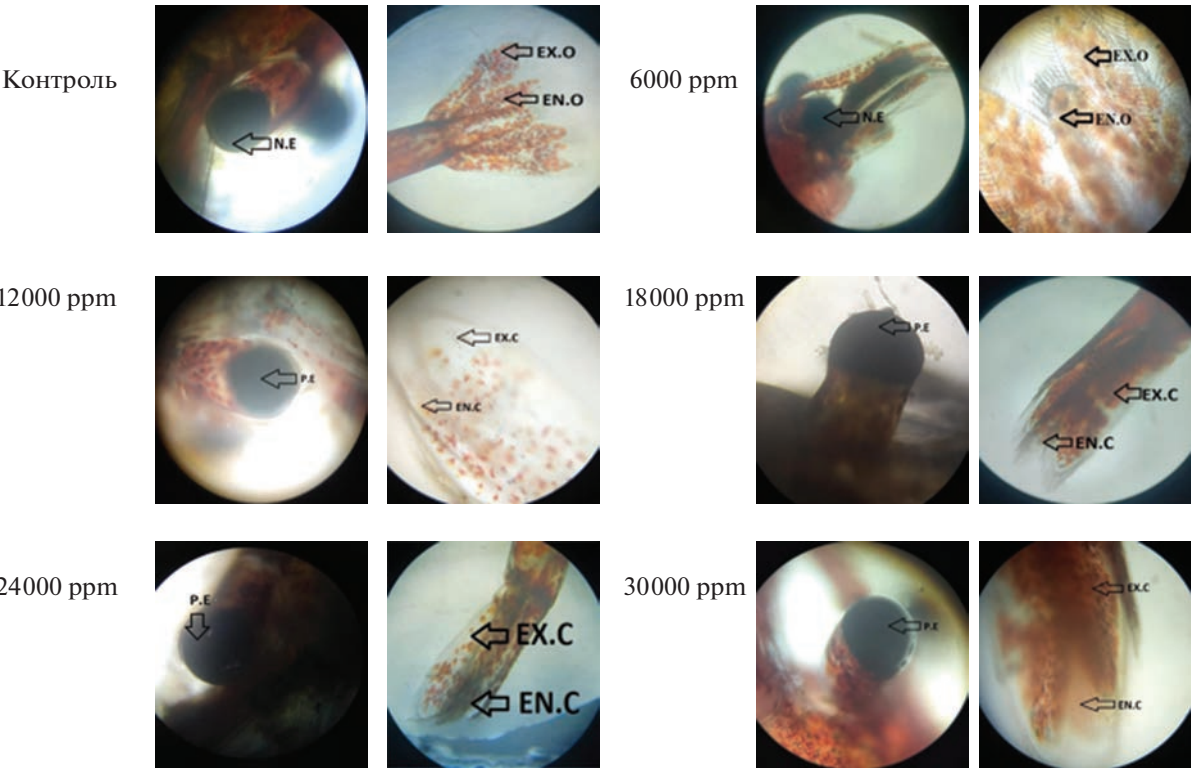
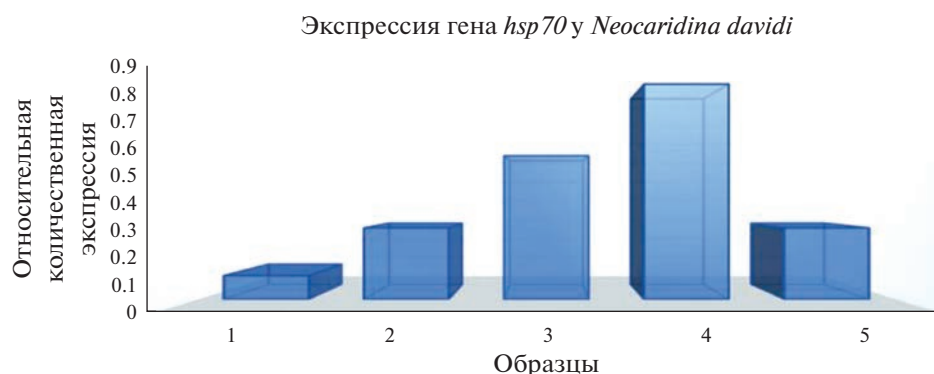


Рис. 1. Морфологические аномалии, наблюдаемые в глазах и в хвостах *Neocaridina davidi*, у которых при 6000 ppm были обнаружены нормальные глаза, а также открытые эндопод и экзопод. При 12000, 18000, 24000 и 30000 ppm отображены выступающий глаз, а также закрытые эндопод и экзопод.



**Рис. 2.** Относительная количественная экспрессия гена *hsp70* у *Neocaridina davidi* при обработке различными концентрациями аристолоховой кислоты. Образцы: 1 – 6000, 2 – 12000, 3 – 18000, 4 – 24000, 5 – 30000 ppm.

экспериментальных целях. Кроме того, исследования токсичности на тканевом уровне могут быть проведены либо на молекулярном, либо на биохимическом уровне (Siregar et al., 2021).

В этом исследовании *N. davidi* представляет собой идеальную нецелевую модель для изучения токсичности АК в отношении беспозвоночных. Исследования токсичности АК проводились на различных животных, в частности на рыбках Данио, но исследовательские работы, которые фокусировались бы на организмах, не являющихся мишенями, немногочисленны (Yang et al., 2012; Tian et al., 2021; Xu et al., 2021). В ряде исследований указывается на нефротоксическое действие АК на рыбок Данио, а также упоминается, что чрезмерное воздействие АК приводит к повреждениям почек и у других животных (Wang et al., 2020; Xu et al., 2021).

В нашем исследовании воздействие различных концентраций АК на красных креветок не привело к каким-либо поведенческим изменениям или уменьшению подвижности. Но в других токсикологических исследованиях отмечены всевозможные изменения двигательной активности (Al-Badran et al., 2019; Siregar et al., 2021). Коэффициент смертности креветок, подвергшихся воздействию наиболее высоких концентраций АК в нашем исследовании аналогичен коэффициенту, полученному в других недавно проведенных работах (Siregar et al., 2021).

В условиях экстремальной токсичности АК во внешнем виде креветок произошли серьезные изменения: отмечено закрытое состояние эндопода и экзопода. Аналогичные результаты наблюдались в предыдущих токсикологических исследованиях креветок в растворе токсина (Venkateswara Rao et al., 2007): эндопод и экзопод в закрытом состоянии через 48–72 ч после начала воздействия. Также наблюдалась выпученность глаз. При этом отмечено, что закрытое состояние не мешает передвижению креветок даже через 72 ч.

Гены белка теплового шока в основном принимают участие в ответе на стресс, спровоцированный окружающей средой, и влияют на акклиматизацию, а также физиологию, иммунологию, эндокринологию, развитие и старение морских организмов. В настоящем исследовании ставилась цель проанализировать количественную экспрессию гена *hsp70* при экстремальном воздействии АК. Повышенная регуляция была отмечена при воздействии 24000 ppm АК (при 72-часовой обработке), но уже при воздействии 30000 ppm АК регуляция понижена. Такого рода колебания в паттерне экспрессии констатированы в предыдущих работах (Rungrasamee et al., 2010; Das et al., 2015). Главным образом это связано с тем, что экспрессия гена *hsp70* колеблется под влиянием различных условий окружающей среды (Mahmood et al., 2014).

В настоящей работе установлено, что экстремальное воздействие АК вызывает морфологические деформации и влияет на стадии развития организмов, не являющихся мишенями.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В настоящее время аристолоховая кислота идентифицируется как группа токсинов, которые не только могут вызывать терминальную стадию почечной недостаточности, но также несут в себе высокую вероятность онкологических изменений в организме человека.

Мы успешно продемонстрировали неблагоприятное воздействие аристолоховой кислоты на нецелевой организм. *Neocaridina davidi*, подвергавшаяся воздействию различных концентраций аристолоховой кислоты, демонстрировала морфологические аномалии развития. Повышение концентрации приводит к летальному исходу.

Наши результаты также показали сверхэкспрессию гена *hsp70* в образцах, обработанных высокими концентрациями аристолоховой кислоты.

Предыдущие исследования демонстрировали токсичность аристолоховой кислоты для целевых организмов. Наше исследование доказало вред данного токсина на примере нецелевых организмов — красных креветок.

Таким образом, наши результаты еще раз подтверждают необходимость особого внимания со стороны ВОЗ к отказу от использования аристолохии в медицинских целях.

При этом наши результаты открывают новые возможности для проведения трансляционных исследований, полезных для промысла креветок в частности, и для аквакультуры в целом.

### КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют, что у них нет конфликта интересов.

### СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ СТАНДАРТОВ

При проведении исследования были соблюдены все применимые международные, национальные и/или институциональные принципы ухода за животными и их использования.

### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Abhishiktha S.N., Saba S., Shrunga M.N. et al. Antimicrobial and radical scavenging efficacy of leaf and flower of *Aristolochia indica* Linn. // Sci. Technol. Arts Res. J. 2015. V. 4. P. 103–108.  
<https://doi.org/10.4314/star.v4i1.17>
- Al-Badran A.A., Fujiwara M., Mora M.A. Effects of insecticides, fipronil and imidacloprid, on the growth, survival, and behavior of brown shrimp *Farfantepenaeus aztecus* // PLoS One. 2019. V. 14. P. e0223641.  
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0223641>
- Bhattacharjee P., Bhattacharyya D. Characterization of the aqueous extract of the root of *Aristolochia indica*: evaluation of its traditional use as an antidote for snake bites // J. Ethnopharmacol. 2013. V. 145. P. 220–226.  
<https://doi.org/10.1016/j.jep.2012.10.056>
- Chen C.-H., Dickman K.G., Moriya M. et al. Aristolochic acid-associated urothelial cancer in Taiwan // PNAS USA. 2012. V. 109. P. 8241–8246.  
<https://doi.org/10.1073/pnas.1119920109>
- Das S., Mohapatra A., Sahoo P.K. Expression analysis of heat shock protein genes during *Aeromonas hydrophila* infection in rohu, *Labeo rohita*, with special reference to molecular characterization of Grp78 // Cell Stress Chaperones. 2015. V. 20. P. 73–84.  
<https://doi.org/10.1007/s12192-014-0527-2>
- Gökmen M.R., Cosyns J.-P., Arlt V.M. et al. The epidemiology, diagnosis, and management of aristolochic acid nephropathy: a narrative review // Ann. Inter. Med. 2013. V. 158. P. 469–477.  
<https://doi.org/10.7326/0003-4819-158-6-201303190-00006>
- Gupta S.C., Sharma A., Mishra M. et al. Heat shock proteins in toxicology: how close and how far? // Life Sci. 2010. V. 86. P. 377–384.  
<https://doi.org/10.1016/j.lfs.2009.12.015>
- Han J., Xian Z., Zhang Y. et al. Systematic overview of aristolochic acids: nephrotoxicity, carcinogenicity, and underlying mechanisms // Front. Pharmacol. 2019. V. 10. P. 648.  
<https://doi.org/10.3389/fphar.2019.00648>
- Hu X.L., Niu J.J., Meng Q. et al. Effects of two juvenile hormone analogue insecticides, fenoxycarb and methoprene, on *Neocaridina davidi* // Environ. Pollut. 2019. V. 253. P. 89–99.  
<https://doi.org/10.1016/j.envpol.2019.06.120>
- Jirovetz L., Buchbauer G., Puschmann C., Fleischhacker W. Analysis of the essential oil of the aerial parts of the medicinal plant *Aristolochia indica* Linn. (Aristolochiaceae) from South-India // Sci. Pharm. 2000. V. 68. P. 309–316.  
<https://doi.org/10.3797/scipharm.aut-00-28>
- Kanjilal P.B., Kotoky R., Couladis M. Chemical composition of the stem oil of *Aristolochia indica* L. // J. Essen. Oil Res. 2009. V. 21. P. 24–25.  
<https://doi.org/10.1080/10412905.2009.9700098>
- Lerma-Herrera M.A., Beiza-Granados L., Ochoa-Zarzosa A. et al. Biological activities of organic extracts of the genus *Aristolochia*: a review from 2005 to 2021 // Molecules. 2022. V. 27. P. 3937.  
<https://doi.org/10.3390/molecules27123937>
- Liang Z., Chen T., Yang F. et al. Toxicity of chronic waterborne zinc exposure in the hepatopancreas of white shrimp *Litopenaeus vannamei* // Chemosphere. 2022. V. 309. P. 136553.  
<https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2022.136553>
- Mahmood K., Jadoon S., Mahmood Q. et al. Synergistic effects of toxic elements on heat shock proteins // BioMed Res. Int. 2014. V. 2014. P. 564136.  
<https://doi.org/10.1155/2014/564136>
- Mei N., Arlt V.M., Phillips D.H. et al. DNA adduct formation and mutation induction by aristolochic acid in rat kidney and liver // Mutat. Res. 2006. V. 602. P. 83–91.
- Parolini M. Toxicity of the non-steroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs) acetylsalicylic acid, paracetamol, diclofenac, ibuprofen and naproxen towards freshwater invertebrates: a review // Sci. Total Environ. 2020. V. 740. P. 140043.  
<https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.140043>
- Rungrassamee W., Leelatanawit R., Jiravanichpaisal P. et al. Expression and distribution of three heat shock protein genes under heat shock stress and under exposure to *Vibrio harveyi* in *Penaeus monodon* // Dev. Comp. Immunol. 2010. V. 34. P. 1082–1089.  
<https://doi.org/10.1016/j.dci.2010.05.012>
- Shibutani S., Dong H., Suzuki N. et al. Selective toxicity of aristolochic acids I and II // Drug Metab. Dispos. 2007. V. 35. P. 1217–1222.  
<https://doi.org/10.1124/dmd.107.014688>
- Siregar P., Suryanto M.E., Chen K.H.-C. et al. Exploiting the freshwater shrimp *Neocaridina denticulata* as aquatic invertebrate model to evaluate nontargeted pesticide induced toxicity by investigating physiologic and biochemical parameters // Antioxidants. 2021. V. 10. P. 391.  
<https://doi.org/10.3390/antiox10030391>
- Soniya E.V., Sujitha M. An efficient *in vitro* propagation of *Aristolochia indica* // Biol. Plant. 2006. V. 50. P. 272–274.

- Tian Y., Niu J., Zhu Q. *et al.* Breeding of Tianfu broilers, Heilongjiang // Anim. Husb. Vet. Med. 2021. V. 6. P. 36–41.
- Venkateswara Rao J., Kavitha P., Jakka N.M. *et al.* Toxicity of organophosphates on morphology and locomotor behavior in brine shrimp, *Artemia salina* // Arch. Environ. Contam. Toxicol. 2007. V. 53. P. 227–232. <https://doi.org/10.1007/s00244-006-0226-9>
- Wang X., Giusti A., Ny A., Witte P.A. Nephrotoxic effects in zebrafish after prolonged exposure to aristolochic acid // Toxins. 2020. V. 12. P. 217. <https://doi.org/10.3390/toxins12040217>
- Xu D., Ran C., Yin L. *et al.* Acute and subchronic toxicity studies of aristolochic acid A in Tianfu broilers // Animals (Basel). 2021. V. 11 (6). P. 1556. <https://doi.org/10.3390/ani11061556>
- Yang L., Su T., Li X.-M. *et al.* Aristolochic acid nephropathy: variation in presentation and prognosis // Nephrol. Dial. Transplant. 2012. V. 27. P. 292–298.

## Evaluation of Morphological Malformities and *hsp70* Gene Response on Aristolochic Acid Exposed *Neocaridina davidi* (Red Shrimp)

Parvathy R<sup>a</sup>, \* and Thomas Jithin<sup>a</sup>

<sup>a</sup>The Department of Biotechnology; Mar Athanasius College, Kothamangalam, Kerala, India

\*e-mail: parvathyrbinu@gmail.com

In our study, we investigated morphological abnormalities and overexpression of one of the stress genes (*hsp70*) at different concentrations of Aristolochia extract. The plant material and animal for study was collected. The plant was mechanically grinded to prepare the infusion. The shrimp were acclimatized in a laboratory. Aristolochic acid (AA) exposure at concentrations 6000, 12000, 18000, 24000 and 30000 ppm to shrimp after 48 h, led to morphological malformations at 18000 ppm concentration. Expression analysis revealed that the transcription of *hsp70* was higher in 24000 ppm (72 h) exposed *N. davidi* relating to control. The data obtained from the current study helps in better understanding of aristolochic acid induced toxicity, thus indicating the regulation of herbal products containing aristolochic acid in high concentration.

**Keywords:** *Aristolochia*, aristolochic acid, *Neocaridina davidi*, morphological malformities, heat shock proteins (HSP)

УДК 597.552.3:591

## СОХРАНИВШАЯСЯ В ЕСТЕСТВЕННОМ СОСТОЯНИИ ЭКОСИСТЕМА ОЗ. ТОЛПАНЬЯРВИ, ЗАПАДНАЯ КАРЕЛИЯ

© 2023 г. О. П. Стерлигова<sup>1</sup>, Н. В. Ильмаст<sup>1</sup>, \*, Я. А. Кучко<sup>1</sup>, Е. С. Савосин<sup>1</sup>, Д. С. Савосин<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Институт биологии Карельского научного центра РАН, Петрозаводск, Республика Карелия, Россия

\*e-mail: [ilmast@mail.ru](mailto:ilmast@mail.ru)

Поступила в редакцию 19.03.2023 г.

После доработки 17.04.2023 г.

Принята к публикации 25.04.2023 г.

Приведены результаты исследований в приграничном с Финляндией оз. Толпаньярви. Изучены и проанализированы гидрологические, гидрохимические показатели и состояние биотических сообществ (зоопланктон, бентос, рыбное население). Анализ химического состава воды свидетельствует о низком содержании органических веществ (общий фосфор 0.007 мг/л и азот 0.26 мг/л). По уровню количественного развития зоопланктона (с биомассой менее 1.0 г/м<sup>3</sup>) и зообентоса (биомасса 0.44 г/м<sup>2</sup>) водоем соответствует олиготрофному типу. По величине индекса сапробности по методу Пантле–Букк, озеро принадлежит к олигосапробному классу (чистые природные воды). Количественные показатели зообентоса изменялись от 120 экз./м<sup>2</sup> и 0.08 г/м<sup>2</sup> в профундальной зоне до 1200 экз./м<sup>2</sup> и 0.86 г/м<sup>2</sup> в затишной литорали. По хирономидному индексу ( $K - 2.10$ ) озеро ближе к чистым водным объектам. В исследованном (ограниченном) районе озера выловлено 8 видов рыб, но, вероятно, в целом по озеру их намного больше. По литературным данным в близлежащих водоемах обитает до 12–16 видов. Основу рыбного населения составляют сиг *Coregonus lavaretus*, окунь *Perca fluviatilis* и плотва *Rutilus rutilus*. В озере обнаружены две экологические формы сига, которые отличаются как по числу жаберных тычинок (малотычинковые 18–24 и среднетычинковые 28–36), так и по биологическим показателям (линейно-весовой рост, созревание, плодовитость и питание). Отмечено, что стабильные экосистемы, обладающие высокой степенью разнообразия, являются основой для сохранения генфонда и оценки состояния водоемов в условиях интенсивного антропогенного воздействия.

**Ключевые слова:** пресноводные экосистемы, биологическое разнообразие, экологические формы, зоопланктон, зообентос, рыбы, Республика Карелия

**DOI:** 10.31857/S0042132423050083, **EDN:** QWJJTU

### ВВЕДЕНИЕ

Проблема биологического разнообразия является одной из наиболее значимых, поскольку в результате хозяйственной деятельности человека происходят резкие изменения природных экосистем (Решетников и др., 1982; Мэгарран, 1992; Алимов, 2001; Дгебуадзе, Павлов, 2007; Алимов и др., 2013 и др.). Благодаря биологическому разнообразию создается структурная и функциональная организация экологических систем, обеспечивающая их стабильность во времени и устойчивость к изменениям внешней среды, в том числе и в результате антропогенного воздействия.

Важную роль в сохранении разнообразия гидробионтов в пресноводных экосистемах играют водоемы, находящиеся практически в естественном состоянии, к которому можно отнести оз. Толпаньярви. Водоем имеет ледниковое происхождение, относится к бассейну Белого моря и расположено в северо-западной части Республики Карелия. Бла-

годаря своему географическому положению входит в состав “Зеленого пояса Фенноскандии”, протянувшегося по обе стороны вдоль Российско-Финляндско-Норвежской границы (Зеленый пояс..., 2014). Вокруг озера установлена охранный зона, включающая запреты на все виды деятельности человека (охота, рыбная ловля, промысловый сбор грибов и ягод, рубка леса и др.), что характерно и для заповедных территорий. Водосборная площадь озера слабо заселена, вблизи нет крупных населенных пунктов и промышленных предприятий. По озеру практически отсутствуют данные, за исключением его площади 4.2 км<sup>2</sup>. Исследуемый водоем на протяжении длительного времени находится в стабильном состоянии, что очень редко не только для региона, но и для России в целом. В озере еще сохранилось естественное разнообразие гидробионтов, и оно может выступать основой для оценки состояния водных экосистем при значительном антропогенном воздействии.

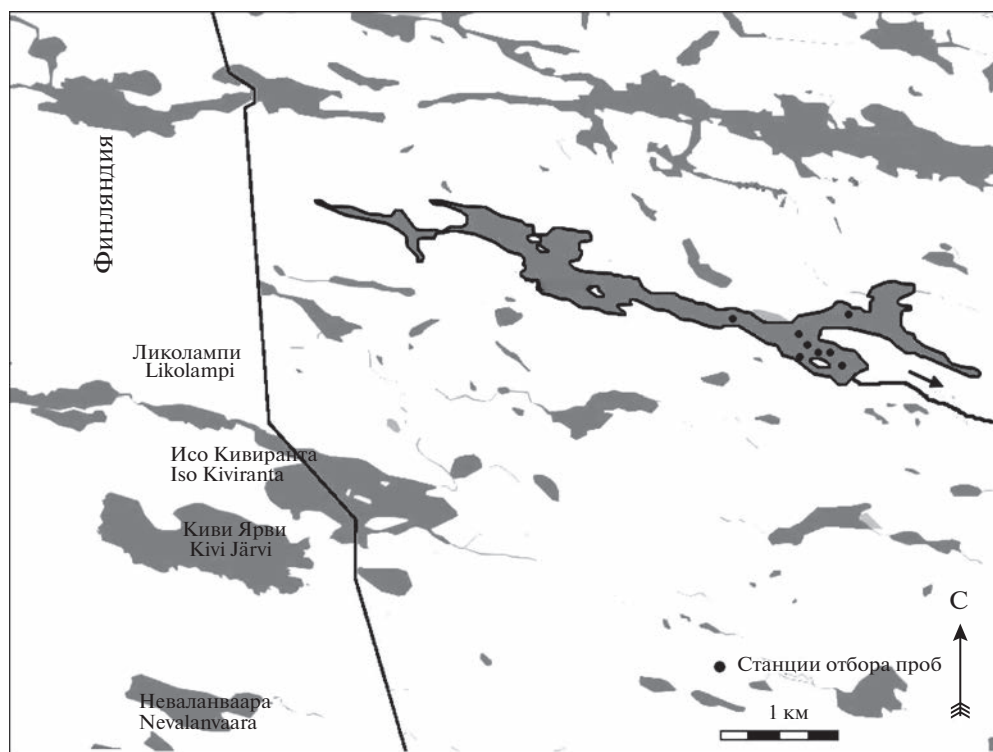


Рис. 1. Карта-схема оз. Толпанъярви.

Цель исследований — изучить современное состояние экосистемы оз. Толпанъярви, включая гидрохимические, гидробиологические показатели и ихтиофауну.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Комплексные исследования на оз. Толпанъярви проводились в августе—сентябре 2019–2020 гг., на ограниченной его акватории из-за близости к границе с Финляндией (рис. 1). Гидробиологические станции были заложены с учетом изучения основных биотопов водоема — на литорали с глубинами до 2 м (3 станции) и в пелагиали с глубинами более 2 м (8 станций). Химический состав воды определяли по стандартным методикам (Абакумов, 1977; Морозов, 1998).

Пробы зоопланктона в пелагиали отбирались батометром Руттнера объемом 2 л, в литорали — мерным ведром, затем пробы процеживались через планктонную сеть с диаметром ячеей 64 мкм и фиксировали 4%-ным раствором формалина. Обработку проб проводили согласно стандартным методикам (Методические..., 1984; Практическая гидробиология ..., 2006). Оценка качества воды дана по методу Пантле—Букк в модификации Сладечека (Макрушин, 1974; Sladecsek, 1973) и в соответствии с эколого-санитарной классификацией (Оксиук и др., 1993). Трофический статус водоема оценивали по шкале трофности (Китаев, 2007). Для оцен-

ки значимости отдельных видов и таксонов более высокого ранга в фауне мезозоопланктона применяли показатель частоты встречаемости как отношение количества станций, на которых отмечен таксон, к общему количеству станций. При характеристике частоты встречаемости принята следующая шкала: константные таксоны — частота встречаемости более 50%, второстепенные — 25–50%, случайные — менее 25% (Баканов, 2000). При определении организмов использовали ряд руководств (Кутикова, 1977; Определитель ..., 2010).

Для отбора количественных проб макрозообентоса использовали дночерпатель ДАК-250 (модификация Экмана—Берджа с площадью захвата 1/40 м<sup>2</sup>) с последующей промывкой грунта через сито № 19 (ячейя 0.5 мм) и фиксацией 8%-ным раствором формальдегида. На каждой станции брали по 2 дночерпателя. Обработка проб осуществлялась в лабораторных условиях по общепринятым методикам (Жадин, 1956; Методические..., 1984; Баканов, 2000). Беспозвоночных взвешивали с точностью 0.10 мг на торсионных весах. Идентификация организмов макрозообентоса проводилась по определителям (Нарчук, 1999; Определитель ..., 2016; Timm, 2009). Данные количественных проб макрозообентоса были проанализированы при помощи пакета программ автоматизированной системы обработки гидробиологических данных (Хазов, 2000). Для оценки степени загрязне-

ния вод озера использовали хирономидный индекс ( $K$ ), предложенный Е.В. Балушкиной (1997):

$$K = \frac{\alpha_t + 0.5\alpha_{ch}}{\alpha_o},$$

где:  $\alpha_{ch}$  —  $\alpha$  Chironominae,  $\alpha_o$  —  $\alpha$  Ortocladinae и Diamesinae,  $\alpha_t$  —  $\alpha$  Tanipodinae;  $\alpha = N + 10$ , где  $N$  — относительная численность особей всех видов данного подсемейства в процентах от общей численности особей всех хирономид.

Значение индекса  $K$ , равное 0.14–2.08, характеризует чистые воды, 2.08–6.05 — умеренно загрязненные, 6.5–9.0 — загрязненные, 9.0–11.5 — грязные.

Контрольный лов рыбы осуществлялся различными сетями (14–50 мм) на разных участках и различных глубинах. Камеральную обработку ихтиологического материала проводили согласно существующим методикам (Правдин, 1966; Решетников, Попова, 2015). У всех выловленных сегов для определения внутривидовых форм просчитывали число жаберных тычинок. В качестве регистрирующих структур при определении возраста рыб использовали чешую, жаберные крышки и отолиты (Дгебуадзе, Чернова, 2009). Латинские названия рыб приводятся по книге “Рыбы в заповедниках России” (2010). Объем собранного и обработанного материала составил 475 экз. рыб. Математическая обработка материала выполнена при помощи программы Microsoft Excel.

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Республика Карелия относится к Карело-Кольской лимнологической области (Герд, 1956; Китаев, 2007) и это определяет сходство природных условий ее многих озер и рек. Озеро Толпанъярви (65°59'43 с.ш., 30°09'00 в.д.) расположено в Лоухском районе Республики Карелия, относится к бассейну Белого моря (р. Ковда) и занимает приграничное положение с Финляндией (рис. 1). Площадь озера равна 4.2 км<sup>2</sup>, и оно относится к малым водоемам. Средняя глубина составляет 4.5 м, максимальная — 10 м. Из озера вытекает один ручей без названия.

Анализ результатов гидрохимического состава воды озера показал, что общая минерализация составляет 20 мг/л, насыщение кислородом — 90%, показатель pH — 6.0 (табл. 1). Содержание общего фосфора (0.007 мг/л) и азота (0.26 мг/л) в озере характерно для водоемов олиготрофного типа (Китаев, 2007; Лозовик, Ефременко, 2017).

**Зоопланктон.** По результатам наших исследований в зоопланктоне озера отмечено 24 вида, из них Rotifera — 6, Cladocera — 12, Copepoda — 6 (Calaniformes — 2, Cyclopiformes — 4). Подавляющее большинство отмеченных видов озера относится к бореально-лимническому многокомпонентному комплексу. Его характерными видами являются: *Asplanchna priodonta* (Gosse), *Kellicot-*

**Таблица 1.** Результаты гидрохимического анализа воды оз. Толпанъярви

| Показатель, ед. изм.               | Величина |
|------------------------------------|----------|
| Водородный показатель pH, моль/л   | 6.0      |
| Перманганатная окисляемость, мгО/л | 5.8      |
| Общая минерализация, 20 мг/л       | 20.0     |
| Электропроводность, мкС/см         | 22.1     |
| Органический углерод, мг/л         | 5.7      |
| Кальций, мг/л                      | 2.5      |
| Магний, мг/л                       | 0.6      |
| Натрий, мг/л                       | 0.8      |
| Калий, мг/л                        | 0.3      |
| Гидрокарбонаты, мг/л               | 9.7      |
| Сульфат-ион, мг/л                  | 0.4      |
| Хлорид-ион, мг/л                   | 0.5      |
| Цветность, град.                   | 25       |
| Фосфор общий, мгР/л                | 0.007    |
| Азот общий, мгN/л                  | 0.26     |
| Железо общее, мгFe/л               | 0.14     |
| Взвешенные вещества, мг/л          | 0.6      |

*tia longispina* (Kellicott), *Keratella cochlearis* (Gosse), *Bipalpus hudsoni* (Imhof), *Holopedium gibberum* (Zaddach), *Bosmina* (*Eubosmina*) *coregoni* (Baird), *Daphnia cristata* (Sars), *Eudiaptomus gracilis* (Sars), *Thermocyclops oithonoides* (Sars), а также ряд эвритопных организмов, отличающихся широкой экологической валентностью: *Mesocyclops leuckarti* (Claus), *Chydorus sphaericus* (O.F. Muller), *Bosmina* (*Bosmina*) *longirostris* (O.F. Muller). В литоральной зоне, несмотря на слабое развитие высшей водной растительности (тростник, камыш, кубышка, рдесты), достаточно широко представлены придонно-бентические и фитофильные формы. Это, главным образом, организмы, нуждающиеся в субстрате для периодического прикрепления: *Sida crystalline* (O.F. Muller), *Scapholeberis mucronata* (O.F. Muller), а также ряд хидорид и хищные виды *Polyphemus pediculus* (Linne) и *Megacyclops viridis* (Jurine). Ценоз прибойной каменистой литорали представляет собой обедненный в видовом составе пелагический комплекс зоопланктона открытых участков озера.

Количественные показатели зоопланктона в литорали и пелагиали по группам приводятся в табл. 2. Как в пелагической, так и в прибрежной части по численности и биомассе абсолютно доминируют кладоцеры. В пелагиали основа биомассы создается главным образом за счет кладоцер-фильтраторов — *D. cristata*, видов р. *Bosmina*, *H. gibberum* — и достигает 61%. На долю циклопид (*M. leuckarti*, *Th. oithonoides*) и калянид (*E. gracilis*, *Heterocope appendiculata* (Sars) приходилось 23 и 2% соответственно). Субдоминирующей группой в образовании биомассы зоопланктона были ко-

Таблица 2. Количественные показатели зоопланктона оз. Толпанъярви

| Группа        | Литораль                 |     |                  |     | Пелагиаль                |     |                  |     |
|---------------|--------------------------|-----|------------------|-----|--------------------------|-----|------------------|-----|
|               | численность              |     | биомасса         |     | численность              |     | биомасса         |     |
|               | тыс. экз./м <sup>3</sup> | %   | г/м <sup>3</sup> | %   | тыс. экз./м <sup>3</sup> | %   | г/м <sup>3</sup> | %   |
| Rotifera      | 9.56                     | 29  | 0.13             | 11  | 7.08                     | 20  | 0.11             | 14  |
| Cladocera     | 18.57                    | 54  | 0.96             | 79  | 14.83                    | 42  | 0.50             | 61  |
| Cyclopiformes | 5.66                     | 16  | 0.08             | 8   | 12.58                    | 37  | 0.18             | 23  |
| Calaniformes  | 0.57                     | 1   | 0.03             | 2   | 0.50                     | 2   | 0.01             | 2   |
| Всего         | 34.36                    | 100 | 1.20             | 100 | 34.99                    | 101 | 0.80             | 100 |

ловратки, их средний удельный вес составлял 14% за счет развития крупной *A. priodonta*. По численности преобладали кладоцеры (42%) и циклопиды (36%). Индекс видового разнообразия составлял 2.1 бит/экз., индекс сапробности – 1.4.

В зоне зарослевой литорали, на участках, защищенных от прямого ветрового и волнового воздействия, создаются особые условия для развития зоопланктона. При стечении благоприятных кормовых и температурных факторов, биомасса зоопланктона может создаваться за счет массового развития 1–3 видов (т.н. вспышки численности), что отражается на ее повышенных величинах. Данное явление было отмечено на литоральных станциях озера, где за счет массового развития кладоцер р. *Bosmina*, *P. pediculus* и *Eurycercus lamellatus* (О.Ф. Muller) средняя биомасса зоопланктона составляла 1.20 г/м<sup>3</sup>. Удельный вес этих видов варьировал от 70 до 99%. На долю остальных групп зоопланктона (всеголюгие ракообразные и коловратки) по биомассе приходилось от 2 до 23%. В таких локациях наблюдались благоприятные кормовые условия для других гидробионтов, в первую очередь для молоди рыб. Индекс видового разнообразия составлял 1.6 бит/экз., индекс сапробности – 1.5.

Таким образом, по уровню количественного развития зоопланктона оз. Толпанъярви в целом можно охарактеризовать как олиготрофный водоем с биомассой менее 1 г/м<sup>3</sup> с наличием отдельных β-мезотрофных участков в прибрежной зоне. По величине индекса сапробности Пантле–Букк водоем можно отнести к олигосапробному классу (2-й класс качества, чистые природные воды).

**Макрозообентос.** Организмы донной фауны характеризуются широким экологическим спектром, достаточно крупными размерами, приуроченностью к конкретному местообитанию, значительной продолжительностью жизни, позволяющей им аккумулировать загрязняющие вещества. Все это делает их очень удобным объектом для мониторинга пресноводных экосистем (Баканов, 2000; Яковлев, 2005).

Донные отложения в оз. Толпанъярви были представлены илисто-песчаными грунтами. Общий список донных организмов, обнаруженных в исследуемый период, насчитывал 16 видов. До-

минирующий комплекс зообентоса формировали Chironomidae п/сем Tanypodinae (*Procladius* sp.) и Orthocladinae (*Psectrocladius* sp., *Psectrocladius sordidellus* (Zetterstedt, 1838), *Psectrocladius barbatipes* (Kieffer, 1923), *Psectrocladius psilopterus* (Kieffer, 1906) и Oligochaeta (*Lumbriculus variegatus* (Muller, 1774)).

В литоральной зоне озера отмечены представители поленок, ручейников, пиявок и ракообразных *Asellus aquaticus* (Linnaeus, 1758). Величина средней биомассы макрозообентоса составляла 0.44 г/м<sup>2</sup> при численности 530 экз./м<sup>2</sup>. Основу биомассы формировали личинки хирономид – 0.24 г/м<sup>2</sup> при численности 360 экз./м<sup>2</sup>. Доминантным видом служат олигохеты, на долю которых приходилось около 50% всей биомассы.

В целом, количественные показатели зообентоса изменялись от 120 экз./м<sup>2</sup> и 0.08 г/м<sup>2</sup> в профундальной зоне до 1200 экз./м<sup>2</sup> и 0.86 г/м<sup>2</sup> – в затишной литорали. Таким образом, по шкале трофности озеро соответствует олиготрофному типу (Китаев, 2007). По хирономидному индексу *K* – 2.00 относится к чистым природным водным объектам.

Впервые изучен состав рыбного населения озера, и в его исследуемой акватории выявлено 8 видов с преобладанием сига *C. lavaretus*, плотвы *Rutilus rutilus* и окуня *Perca fluviatilis* (табл. 3). По литературным данным в близлежащих озерах обитает до 15 видов рыб (нали *Salvelinus lepechini* (G.), хариус *Thymallus thymallus* (L.), корюшка *Osmerus eperlanus* (L.), голянь *Phoxinus phoxinus* (L.), минога *Lampetra planeri* (Bloch) и кумжа *Salmo trutta* L.) (Мельянцева, 1954, 1974; Решетников и др. 1982; Костылев, 1990; Лукин и др., 2013; Стерлигова, Ильмаст, 2014; Савосин, Ильмаст, 2018 и др.).

Возможно, некоторые из этих видов и обитают в Толпанъярви, но в связи с ограниченным обловом акватории озера (входит в приграничную зону), они не были обнаружены.

**Сиг.** Особая ценность озера заключается в том, что в нем обитают две формы сига *Coregonus lavaretus*, различающиеся по числу жаберных тычинок: малотычинковые (18–24) и среднетычинковые (28–36). Симпатрическое обитание двух, редко трех–шести форм сига отмечено и в других водоемах Карелии, Финляндии и Швеции (Правдин, 1954; Первозванский, 1986; Решетников, Лу-

**Таблица 3.** Видовой состав рыб в контрольных уловах оз. Толпанъярви

| Семейство/вид                                      |
|----------------------------------------------------|
| Сем. Coregonidae — сиговые                         |
| <i>Coregonus albula</i> (L.) — европейская ряпушка |
| <i>Coregonus lavaretus</i> (L.) — обыкновенный сиг |
| Сем. Esocidae — щуковые                            |
| <i>Esox lucius</i> L. — обыкновенная щука          |
| Сем. Cyprinidae — карповые                         |
| <i>Rutilus rutilus</i> (L.) — плотва               |
| <i>Leuciscus idus</i> (L.) — язь                   |
| Сем. Lotidae — налимовые                           |
| <i>Lota lota</i> (L.) — налим                      |
| Сем. Percidae — окуневые                           |
| <i>Perca fluviatilis</i> L. — речной окунь         |
| <i>Gymnocephalus cernuus</i> (L.) — ерш            |

кин, 2006; Стерлигова, Ильмаст, 2014; Auvinen, 1987). По мнению ряда авторов, сложность и устойчивость структуры северных экосистем достигается не только числом видов, но и внутривидовых форм у сига, ряпушки и гольца, которые в энергетическом плане равноценны самостоятельным видам (Савваитова, 1989; Черешнев и др., 2002; Решетников, Богданов, 2011; Amundsen et al., 1997; Svardson, 1998 и др.). Благодаря этой биологической особенности рыб более полно используется кормовая база водоемов и повышается устойчивость северных экосистем к факторам среды. При оценке состояния северных экосистем именно сиг является видом-индикатором (Решетников, 1995; Моисеенко, 1997; Кашулин и др., 1999; Тяттиргянов, 2016).

Разные формы сига оз. Толпанъярви отличаются по своим биологическим показателям (возрастная структура, линейный и весовой рост, плодовитость и питание). Возрастной состав малотычинкового сига (число жаберных тычинок

18–24) представлен особями — 4+–9+. Средняя длина сига варьировала от 25.0 до 32.0 см, масса от 180 до 380 г (63 экз.) (табл. 4).

Половое созревание у самцов наступает в возрасте 4+, у самок — 5+. Начальным этапом, обеспечивающим воспроизводство рыб, является количество отложенной икры. Абсолютная плодовитость рыб находится в прямой зависимости от массы тела и возраста. Плодовитость малотычинкового сига (35 экз.) варьировала от 4450 (5+) до 10000 (9+) икринок, среднетычинкового (25 экз.) — от 3370 (4+) до 6840 (6+) икринок.

Нерест сига проходит со второй декады октября и до начала ноября, при температуре 3–5°C. Инкубационный период длится 7 мес. У малотычинкового сига в возрасте 9+ отмечены рыбы, пропускающие нерест. В гонадах этих рыб имеются остатки резорбирующих, не выметанных икринок от предыдущего нереста, которые хорошо заметны даже визуально до следующей весны (Решетников и др., 1982; Кошелев, 1984; Стерлигова и др., 2002; 2016; Решетников, Богданов, 2011). Это довольно обычное явление для сиговых видов рыб (Решетников, 1980; Сидоров, Решетников, 2014; Kennedy, 1953). Авторы связывают это с коротким сезоном откорма и роста рыб в северных водоемах.

В озере обитает и среднетычинковый сиг с числом жаберных тычинок от 27 до 36. Возрастной состав его представлен 4 группами — 3+–6+. Средняя длина особей варьировала от 23.5 до 27.2 см, масса от 145 до 270 г (табл. 4). Самцы сига созревают в 3+, самки — 4+.

Основу питания малотычинковых сигов составляет бентос (личинки хирономид, ручейников, поденок и моллюски, реликтовые ракообразные), иногда зоопланктон, летом — воздушные насекомые, в период нереста корюшки и ряпушки — икра этих рыб. В питании многотычинкового сига в течение всей жизни доминирует зоопланктон, реже встречаются донные беспозвоночные (Титова, 1973; Решетников, 1980; Первозванский, 1986; Стерлигова и др., 2016).

**Таблица 4.** Линейно-весовой рост сига оз. Толпанъярви

| Форма сига                         | Возраст, лет |      |       |       |      |      |      |      |     | N  |
|------------------------------------|--------------|------|-------|-------|------|------|------|------|-----|----|
|                                    | 2+           | 3+   | 4+    | 5+    | 6+   | 7+   | 8+   | 9+   | 10+ |    |
| Длина (FL), см                     |              |      |       |       |      |      |      |      |     |    |
| Малотычинковый сиг (18—24 ж. т.)   | —            | —    | 25. 0 | 26. 5 | 27.8 | 28.8 | 30.0 | 32.0 | —   | 80 |
| Среднетычинковый сиг (28—36 ж. т.) | 21.7         | 23.5 | 24.7  | 25. 8 | 26.4 | —    | —    | —    | —   | 60 |
| Масса, г                           |              |      |       |       |      |      |      |      |     |    |
| Малотычинковый сиг (18—24 ж. т.)   | —            | —    | 180   | 235   | 260  | 300  | 330  | 380  | —   | 80 |
| Среднетычинковый сиг (28—36 ж. т.) | —            | 145  | 170   | 220   | 240  | —    | —    | —    | —   | 60 |

**Таблица 5.** Линейно-весовой рост основных видов рыб в контрольных уловах оз. Толпанъярви (в числителе длина  $SL$ , см; в знаменателе — масса, г)

| Возраст, лет       |                    |                     |                     |                     |                    |                    |                    |                    |                    |                    |     |
|--------------------|--------------------|---------------------|---------------------|---------------------|--------------------|--------------------|--------------------|--------------------|--------------------|--------------------|-----|
| 4+                 | 5+                 | 6+                  | 7+                  | 8+                  | 9+                 | 10+                | 11+                | 12+                | 13+                | 14+                | $N$ |
| Окунь              |                    |                     |                     |                     |                    |                    |                    |                    |                    |                    |     |
| —                  | —                  | —                   | $\frac{19.0}{120}$  | $\frac{20.0}{140}$  | $\frac{22.0}{200}$ | $\frac{24.0}{260}$ | —                  | $\frac{26.7}{346}$ | $\frac{28.0}{380}$ | $\frac{29.0}{433}$ | 65  |
| Плотва             |                    |                     |                     |                     |                    |                    |                    |                    |                    |                    |     |
| —                  | —                  | —                   | —                   | $\frac{16.8}{105}$  | $\frac{18.3}{130}$ | $\frac{19.8}{145}$ | $\frac{20.3}{167}$ | $\frac{21.5}{200}$ | $\frac{24.1}{250}$ | $\frac{26.0}{280}$ | 105 |
| Язь                |                    |                     |                     |                     |                    |                    |                    |                    |                    |                    |     |
| $\frac{18.7}{130}$ | $\frac{20.7}{185}$ | $\frac{23.5}{280}$  | $\frac{27.0}{390}$  | $\frac{28.3}{480}$  | $\frac{29.3}{570}$ | $\frac{30.4}{630}$ | $\frac{32.0}{835}$ | $\frac{34.0}{920}$ | —                  | —                  | 30  |
| Щука               |                    |                     |                     |                     |                    |                    |                    |                    |                    |                    |     |
| $\frac{43.0}{600}$ | $\frac{46.7}{730}$ | $\frac{48.0}{1100}$ | $\frac{53.0}{1350}$ | $\frac{57.0}{2000}$ | —                  | —                  | —                  | —                  | —                  | —                  | 16  |

Сравнительный анализ биологических показателей двух форм сига оз. Толпанъярви показал, что малотычинковый сиг обладает более длинным жизненным циклом (11+), высокими показателями линейного и весового роста, большей плодовитостью и питанием.

**Окунь** является наиболее массовой рыбой в водоеме. Возрастной состав окуня был представлен от 7+ до 15+, длина от 18.0 до 30.5 см, масса от 120 до 433 г (табл. 5). Рыбы в возрасте от 9+ до 13+ составляли 77%, то есть преобладали особи старшего возраста, что можно объяснить слабым обловом данного водоема. По линейно-весовым показателям окунь озера мало отличается от роста в других заповедных водоемах республики (Первозванский, 1986; Стерлигова и др., 2016; Ильмаст и др., 2017). Более высоким ростом обладает окунь крупных озер Карелии — Онежское и Ладожское, которые имеют значительные площади для нагула, нереста и богатую кормовую базу (Дятлов, 2002; Лукин и др., 2013). Спектр питания окуня довольно широк и включает разнообразные группы пищевых организмов (ракообразные, насекомые, моллюски, молодь рыб). Сам окунь служит одним из основных объектов питания всех хищных видов рыб (Попова, 1979; Иванова, Свирская, 2014). В Карелии окунь, при его высокой численности, является одним из основных объектов промышленного, любительского лова и объектом рыбоводства в Финляндии и в России.

**Плотва** в большинстве озер является вторым по численности видом после окуня и ею заселено до 87% водоемов Карелии (Лукин и др., 2013; Ильмаст и др., 2019). Рыба стайная, очень неприхотливая к условиям обитания. Численность регулируется естественной смертностью, в меньшей — выловом.

Возрастной состав уловов плотвы оз. Толпанъярви представлен особями от 8+ до 14+ и преоб-

ладали рыбы в возрасте 8+—10+ (83%). Длина рыб варьировала от 16.5 до 26.0 см и масса — от 105 до 280 г (табл. 5). Растет плотва очень медленно, что характерно для малых водоемов Карелии (Первозванский, 1986; Дзюбук, Рыжков, 2009; Стерлигова и др., 2016). В крупных озерах плотва может достигать длины 34—36 см, массы — 0.7—0.8 кг, в Ладожском озере — до 1.0 кг (Дятлов, 2002; Кудерский, 2013). Предельный возраст — 28 лет — отмечен в оз. Кереть, но обычно рыбы старше 15—20 лет встречаются крайне редко (Костылев, 1990).

Половое созревание наступает в 3 (самцы)—4 (самки) года, реже в 5—6 лет. Нерест начинается в мае—июне при температуре воды 8—9°C и выше (до 14—16°C) на разных глубинах (0.5—2.0 м) в зонах с водной растительностью и гравием. Икрометание единовременное и ежегодное. Плодовитость варьирует от 4 до 115 тыс. икринок и зависит от массы тела.

По характеру питания плотва — эврифаг. Пищевой спектр разнообразен и включает зоопланктон, различные бентосные организмы (личинки ручейников, хирономид, поленок, моллюски, черви и др.), детрит, нитчатые водоросли, растительные остатки, икру и молодь рыб. Сама плотва играет важную роль в питании хищных рыб (Попова, 1979, 1982).

**Щука** *Esox lucius* в водоемах Карелии также относится к массовым видам рыб. Она отмечена в 95% обследованных озер, во многих реках, ручьях и предпочитает как прибрежную зарослевую зону, так и глубоководные участки. В оз. Толпанъярви только в исследуемой части озера выловлена щука в возрасте — 3+—8+, длиной — 43—57 см, массой — 600—2000 г. Возможно по всему озеру и обитают рыбы старшего возраста, но лов рыбы по всей его акватории запрещен (табл. 5). В крупных водоемах Карелии отдельные экземпляры щуки в

возрасте 20 лет достигают массы 17 кг, в 22 года — 20 кг (Лукин и др., 2013; Стерлигова и др., 2016).

Линейно-весовой рост щуки в возрастных группах отличается значительно и зависит от кормовой базы водоемов. Так, щука, живущая в озерах, изобилующих кормами, весит в полтора—два раза больше, чем щука такого же возраста в водоемах с бедной кормовой базой (Попова, 1979; Жуков, 2003; Tresurer, Owen, 1991). При уменьшении численности того или иного вида щука легко переходит на питание другими видами, что отмечалось многими исследователями (Попова, 1982; Первозванский, 1986; Дятлов, 2002; Стерлигова и др., 2016). Высокие адаптивные свойства щуки и ее вкусовые качества способствовали тому, что она стала объектом садкового и прудового рыбоводства в ряде стран Западной Европы, Америки и Канады (Wraight, Giles, 1987; Lejolivet, Dauba, 1988 и др.).

**Язь** *Leuciscus idus* в Карелии встречается в 267 озерах, многочисленных реках на территории от Онежского и Ладожского озер на юге республики до Топозера и Пяозера — на севере (Мельянцева, 1954; Дятлов, 2002; Лукин и др., 2013). Язь предпочитает прибрежные мелководные участки, богатые водной растительностью, и места с заилёнными грунтами. Открытых глубоких плесов избегает; в реках чаще встречается на медленном течении. Рыба стайная, но массовых скоплений не образует.

В оз. Толпанъярви язь присутствовал в контрольных уловах с другими видами рыб. Возрастной состав был представлен от 4+ до 12+. Рыбы в возрасте пяти—девяти лет составляли 70%. Длина выловленного язя варьировала от 18.7 до 34.0 см, масса — 130—920 г (табл. 5). В водоемах Карелии отдельные экземпляры язя достигают массы 2.2 кг и возраста 20 лет (Лукин и др., 2013).

Созревает язь в возрасте 4—7 лет, самки обычно на год позднее. Нерестится в мае—июне при температуре воды 5—7°C на каменистых и твердых грунтах. Плодовитость варьирует от 30 до 100 тыс. икринок, икрометание ежегодное. Пища язя самая разнообразная от зоопланктона, детрита до насекомых, дождевых червей, донных ракообразных, моллюсков и личинок рыб.

В оз. Толпанъярви в контрольных уловах был отмечен налим (1 экз.), длиной 40 см, массой 500 г в возрасте 6+.

В питании окуня и щуки встречались ерш и мелкая форма ряпушки (1+), длиной тела 8.0 см, массой 7.0 г, но в уловах они отсутствовали, вероятно, это связано с периодом исследований.

В процессе исследований нами не выявлено никаких аномалий у рыб. Они отсутствовали как на внешнем покрове рыб (язвы, опухоли, вздутия), в состоянии жабр, так и на внутренних органах (почки, печень, гонады), что подтверждает чистоту и стабильность этого водоема.

В целом, по своему рыбохозяйственному статусу озеро относится к высшей категории водных объектов, так как в исследованных участках водоема выявлены ценные виды рыб (сиг, ряпушка), в

целом по озеру их обитает, вероятно, больше (хариус, кумжа, голянь, минога).

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Впервые изучена экосистема оз. Толпанъярви (гидрохимия, гидробиология, ихтиофауна). Анализ химического состава воды озера свидетельствует о низком содержании в нем органических веществ (общий фосфор — 0.007 мг/л, общий азот — 0.26 мг/л).

По уровню количественного развития зоопланктона водоем характеризуется как олиготрофный (биомасса менее 1 г/м<sup>3</sup>), по величине индекса сапробности по методу Пантле—Букк, озеро принадлежит к олигосапробному классу — чистые природные воды.

По количественным показателям зообентоса в профундальной зоне — 120 экз./м<sup>2</sup> и 0.08 г/м<sup>2</sup> и в затишной литорали — 1200 экз./м<sup>2</sup> и 0.86 г/м<sup>2</sup> озеро соответствует также олиготрофному типу, по хирономидному индексу  $K = 2.00$  — водоем принадлежит к чистым водным объектам.

В исследованной части озера контрольным сетным ловом выловлено 8 видов рыб. В целом по озеру их может быть больше. Наибольшую численность составляли сиг, окунь и плотва. В водоеме выявлены две формы сига (малотычинковые и среднетычинковые), которые значительно отличаются по биологическим показателям (линейно-весовой рост, созревание, плодовитость и питание). Озеро Толпанъярви относится к стабильной природной экосистеме, обладающей высокой степенью разнообразия, является основой для сохранения генофонда и для оценки водоемов в условиях интенсивного антропогенного воздействия.

## ФИНАНСИРОВАНИЕ

Финансовое обеспечение исследований осуществлялось из средств федерального бюджета на выполнение государственного задания Карельского научного центра РАН.

## КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Конфликт интересов отсутствует.

## СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ СТАНДАРТОВ

Настоящая статья не содержит каких-либо исследований с участием людей и животных в качестве объектов изучения.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

Абакумов В.А. Контроль качества вод по гидрологическим показателям // Научные основы в системе контроля качества поверхностных вод. Л.: Гидрометеиздат, 1977. С. 93—99.

- Алимов А.Ф. Элементы теории функционирования водных экосистем. СПб.: Наука, 2001. 147 с.
- Алимов А.Ф., Богатов В.В., Голубков С.М. Продукционная гидробиология. СПб.: Наука, 2013. 344 с.
- Баканов А.И. Использование зообентоса для мониторинга пресноводных водоемов (обзор) // Биол. внутр. вод. 2000. № 1. С. 68–82.
- Балушкина Е.В. Применение интегрального показателя для оценки качества вод по структурным характеристикам донных сообществ // Реакция озерных экосистем на изменение биотических и абиотических условий. СПб.: Наука, 1997. С. 266–292.
- Герд С.В. Опыт биолимологического районирования озер Карелии // Тр. Карельского филиала АН СССР. Вып. 5. Вопросы ихтиологии внутренних водоемов. Петрозаводск: Гос. изд-во Карельской АССР, 1956. С. 47–75.
- Дгебуадзе Ю.Ю., Павлов Д.С. Вчера, сегодня и завтра инвазийных чужеродных видов в Российской Федерации // Тр. ФГНУ “ГосНИОРХ”. СПб., М.: Тов. науч. изд. КМК, 2007. Вып. 337. С. 71–82.
- Дгебуадзе Ю.Ю., Чернова О.Ф. Чешуя костистых рыб как диагностическая и регистрирующая структура. М.: Тов. науч. изд. КМК, 2009. 315 с.
- Дзюбук И.М., Рыжков Л.П. Динамика состояния ихтиофауны Онежского озера в XX веке // Уч. записки ПетрГУ. 2009. № 5. С. 26–31.
- Дятлов М.А. Рыбы Ладожского озера. Петрозаводск: КарНЦ РАН, 2002. 281 с.
- Жадин В.И. Методика изучения донной фауны и экологии донных беспозвоночных // Жизнь пресных вод СССР. М., Л.: Наука, 1956. Т. 4 (1). С. 17–41.
- Жуков П.И. Руководство по рыбам, населяющим Республику Беларусь. Минск: Бизнесофсет, 2003. 88 с.
- Зеленый пояс Фенноскандии: научно популярное иллюстрированное издание. Петрозаводск: КарНЦ РАН, 2014. 116 с.
- Иванова М.Н., Свирская А.Н. Динамика питания хищных рыб Рыбинского водохранилища за период 1949–2012 гг. // Современное состояние биоресурсов внутренних водоемов. М.: Полиграф-Плюс, 2014. Т. 1. С. 204–212.
- Ильмаст Н.В., Стерлигова О.П. Структура ихтиофауны озера Каменного (Костомукшский государственный заповедник) // Сб. статей “Международная и межрегиональная сопряженность охраняемых природных территорий Европейского Севера”. Петрозаводск: КарНЦ РАН, 2017. С. 49–50.
- Ильмаст Н.В., Стерлигова О.П., Савосин Д.С. Плотва *Rutilus rutilus* озерно-речной системы р. Кенти (бас. Белого моря) // Тр. КарНЦ РАН, 2019. Вып. 5. С. 73–82.
- Кашулин Н.А., Лукин А.А., Амундсен П.А. Рыбы пресных вод субарктики как биоиндикаторы техногенного загрязнения. Апатиты: Кольский научный центр РАН, 1999. 142 с.
- Китаев С.П. Основы лимнологии для гидробиологов и ихтиологов. Петрозаводск: КарНЦ РАН, 2007. 395 с.
- Костылев Ю.В. Рыбы. Петрозаводск: Карелия, 1990. 150 с.
- Кошелев Б.В. Экология размножения рыб. М.: Наука, 1984. 307 с.
- Кудерский Л.А. Исследования по ихтиологии, рыбному хозяйству и смежным дисциплинам // Сб. науч. тр. ФГНУ “ГосНИОРХ”. М.—СПб.: Тов. науч. изданий КМК, 2013. Т. 3 (342). 526 с.
- Кутикова Л.А. Определитель пресноводных беспозвоночных Европейской части СССР. Л.: Гидрометеоиздат, 1977. 512 с.
- Лозовик П.А., Ефременко Н.А. Аналитические, кинетические и расчетные методы в гидрохимической практике. СПб.: Нестор-История, 2017. 270 с.
- Лукин А.А., Первозванский В.Я., Шарова Ю.Н. Ихтиофауна // Озера Карелии. Петрозаводск: КарНЦ РАН, 2013. С. 56–67.
- Макрушин А.В. Биологический анализ качества вод. Л.: Зоол. ин-т АН СССР, 1974. 60 с.
- Мельянец В.Г. Рыбы Пяозера // Тр. Карело-Финского гос. ун-та. Петрозаводск: Гос. изд-во: КФ ССР, 1954. С. 3–77.
- Мельянец В.Г. Рыбы. Петрозаводск: Карелия, 1974. 120 с.
- Методические рекомендации по сбору и обработке материалов гидробиологических проб на пресноводных водоемах. Зоопланктон и его продукция. Л.: ГосНИОРХ, 1984. 23 с.
- Моисеенко Т.И. Теоретические основы нормирования антропогенных нагрузок на водоемы Субарктики. Апатиты: Кольский научный центр РАН, 1997. 261 с.
- Морозов А.К. Химический состав воды // Современное состояние водных объектов Республики Карелия. Петрозаводск. КарНЦ РАН, 1998. С. 122–123.
- Мэгарран Э. Экологическое разнообразие и его измерение. М.: Мир, 1992. 184 с.
- Нарчук Э.П. Определитель беспозвоночных России и сопредельных территорий. СПб.: ЗИН РАН, 1999. С. 210–296.
- Оксиюк О.П., Жуковский В.Н., Брагинский Л.П. и др. Комплексная экологическая классификация качества поверхностных вод // Гидробиол. журн. 1993. Т. 29 (4). С. 62–76.
- Определитель зоопланктона и зообентоса пресных вод Европейской России. Зоопланктон. М.: Тов. науч. изд. КМК, 2010. 495 с.
- Определитель зоопланктона и зообентоса пресных вод Европейской России. Зообентос. Т. 2. М., СПб.: Тов. науч. изд. КМК, 2016. 457 с.
- Первозванский В.Я. Рыбы водоемов района Костомукшского железорудного месторождения (экология, воспроизводство, использование). Петрозаводск: Карелия, 1986. 216 с.
- Попова О.А. Роль хищных рыб в экосистемах // Изменчивость рыб в пресноводных экосистемах. М.: Наука, 1979. С. 106–145.
- Попова О.А. Питание хищных рыб Сямозера после вселения корюшки / Изменение структуры рыбного населения эвтрофируемого водоема. М.: Наука, 1982. С. 106–145.
- Правдин И.Ф. Сиги водоемов Карело-Финской ССР. М., Л.: Изд-во АН СССР, 1954. 324 с.
- Правдин И.Ф. Руководство по изучению рыб. М.: Пищевая промышленность, 1966. 376 с.
- Практическая гидробиология. Пресноводные экосистемы. М.: ПИМ, 2006. 367 с.
- Решетников Ю.С. Экология и систематика сиговых рыб. М.: Наука, 1980. 301 с.
- Решетников Ю.С. Современные проблемы изучения сиговых рыб // Вопр. ихтиол. 1995. Т. 35 (2). С. 156–174.
- Решетников Ю.С., Лукин А.А. Современное состояние разнообразия сиговых рыб Онежского озера и проблемы определения их видовой принадлежности // Вопр. ихтиол. 2006. Т. 46 (6). С. 732–746.

- Решетников Ю.С., Богданов В.Д. Особенности воспроизводства сиговых рыб // *Вопр. ихтиол.* 2011. Т. 51 (4). С. 502–525.
- Решетников Ю.С., Попова О.А. О методиках полевых ихтиологических исследований и точности полученных результатов // *Тр. ВНИРО.* 2015. Т. 256. С. 112–129.
- Решетников Ю.С., Попова О.А., Стерлигова О.П. и др. Изменение структуры рыбного населения эвтрофируемого водоема. М.: Наука, 1982. 248 с.
- Рыбы в заповедниках России. М.: Тов. науч. изд. КМК, 2010. Т. 1. 627 с.
- Савваитова К.А. Арктические гольцы (структура популяционных систем, перспективы использования). М.: Агропромиздат, 1989. 223 с.
- Савосин Д.С., Ильмаст Н.В. Ихтиофауна озера Пяозера (Северная Карелия) // *Сб. Балтийский морской форум.* 2018. С. 135–147.
- Сидоров Г.П., Решетников Ю.С. Лососеобразные рыбы водоемов Европейского Северо-Востока. М.: Тов. науч. изд. КМК, 2014. 346 с.
- Стерлигова О.П., Ильмаст Н.В. Разнообразие водных экосистем Зеленого пояса Фенноскандии (Республика Карелия) // *Тр. КарНЦ центра РАН.* 2014. № 6. С. 115–121.
- Стерлигова О.П., Ильмаст Н.В., Савосин Д.С. Круглоротые и рыбы пресных вод Карелии. Петрозаводск: КарНЦ РАН, 2016. 224 с.
- Стерлигова О.П., Павлов В.Н., Ильмаст Н.В. и др. Экосистема Сямозера (биологический режим, использование). Петрозаводск: КарНЦ РАН, 2002. 119 с.
- Титова В.Ф. Многоотычинковый сиг Сямозера. Петрозаводск: Карелия, 1973. 97 с.
- Тяптыргянов М.М. Изменение рыбного населения пресноводных водоемов Якутии. М.: Полиграф-Плюс, 2016. 308 с.
- Хазов А.Р. Анализ гидробиологических данных и его программная реализация. Петрозаводск: КарНЦ РАН, 2000. 154 с.
- Черешнев И.А., Волобуев В.В., Шестаков А.В., Фролов С.В. Лососевидные рыбы Северо-Востока России. Владивосток: Дальнаука, 2002. 496 с.
- Яковлев В.А. Пресноводный зообентос Северной Фенноскандии (разнообразие, структура и антропогенная динамика). Апатиты: Кольский научный центр РАН, 2005. Ч. 1. 161 с.; Ч. 2. 145 с.
- Auvinen H. Growth mortality and management of whitefish (*Coregonus lavaretus*) Pyhajarvi (Karelia) // *J. Finn. Fish. Res.* 1987. № 3. P. 38–47.
- Amundsen P.A., Staldivik F.J., Lukin A.A. et al. Heavy metal contamination in freshwater fish from the border region between Norway and Russia // *Sci. Tot. Environ.* 1997. V. 201. P. 211–224.
- Lejolivet C., Dauba E. Croissance et comporteent, alimentaire dalevins de Brachet (*Esox lucius*) eleves en cages dans le reservoir de Pareloup // *Ann. Limnol.* 1988. T. 24 (2). P. 183–192.
- Kennedy W.A. Growth, maturity, fecundity and mortality in the relatively unexploited whitefish of Great Slave Lake // *J. Fish. Res. Board Canada.* 1953. V. 10 (7). P. 51–61.
- Sladeček V. System of water quality from biological point of view // *J. Arch. Hydrobiol.* 1973. V. 7. 218 p.
- Svardson G. Postglacial dispersal and reticulate evolution of Nordic coregonids // *J. Fresh. Res.* 1998. № 74. P. 3–32.
- Timm T.A. Guide to the freshwater Oligochaeta and Polychaeta of Northern and Central Europe // *J. Faunist. Florist. Eur. Inland Waters.* 2009. V. 66. P. 236.
- Tresurer J., Owen R. Food and growth of pike *Esox lucius* in simple fish communities in lakes of different trophic status // *J. Aquat. Liv. Res.* 1991. V. 4 (4). P. 289–292.
- Wraight R.M., Giles N. The survival, growth and diet of pike fry, *Esox lucius* L., stocked at different densities in experimental ponds // *J. Fish. Biol.* 1987. V. 3 (30). P. 617.

## The Ecosystem of Lake Tolpanjärvi, Western Karelia, Preserved in Natural State

O. P. Sterligova<sup>a</sup>, N. V. Ilmast<sup>a, \*</sup>, Ya. A. Kuchko<sup>a</sup>, E. S. Savosin<sup>a</sup>, and D. S. Savosin<sup>a</sup>

<sup>a</sup>*Institute of Biology, Karelian Scientific Center, Russian Academy of Sciences, Petrozavodsk, Republic of Karelia, Russia*

<sup>\*</sup>*e-mail: ilmast@mail.ru*

The results of the study of Lake Tolpanjärvi's ecosystem are reported. Its hydrological and geochemical indices, as well as the current condition of biotic communities (zooplankton, benthos and fish population), were studied and analyzed. Analysis of the chemical composition of water indicates the low organic matter content (total phosphorus 0.007 mg/l, nitrogen 0.26 mg/l) of the lake. The Tolpanjärvi is an oligotrophic lake, as indicated by the abundance of zooplankton (with a biomass of less than 1 g/m<sup>3</sup>) and zoobenthos (biomass 0.44 g/m<sup>2</sup>). The lake is of an oligosaprobic class (2nd quality class, clean natural water), as evidenced by its saprobity index estimated using Pantle–Buk's method. The quantitative indices of zoobenthos varied from 120 individuals/m<sup>2</sup> and 0.08 g/m<sup>2</sup> in the profundal zone to 1200 inds./m<sup>2</sup> and 0.86 g/m<sup>2</sup> in the quiet littoral zone. The lake is more similar in the chironomid index ( $K - 2.00$ ) to clean natural water. It is inhabited by 8 fish species of 5 families. The fish population is dominated by the whitefish *Coregonus lavaretus*, the perch *Perca fluviatilis* and the roach *Rutilus rutilus*. Two ecological forms of whitefish, differing in both the number of gill rakers (sparsely-rakered 18–24 and medium-rakered 28–36) and biological indices (linear-weight growth post, maturation, fertility and feeding), occur in the lake. Stable highly diverse ecosystems were shown to form the basis for the preservation of the gene pool and for assessment of the current condition of water bodies heavily affected by human activities.

**Keywords:** freshwater ecosystems, biological diversity, ecological forms, zooplankton, zoobenthos, fish population, Republic of Karelia