

БОТАНИЧЕСКИЙ ЖУРНАЛ

том 108

10

октябрь



RUSSIAN ACADEMY OF SCIENCE

**BOTANICHESKII
ZHURNAL**

Volume 108

№ 10

MOSCOW
2023

Founders:

RUSSIAN ACADEMY OF SCIENCES
BRANCH OF BIOLOGICAL SCIENCES RAS
RUSSIAN BOTANICAL SOCIETY
BOTANICHESKII ZHURNAL

Periodicity 12 issues a year

Founded in December 1916

Journal is published the algis of the Branch of Biological Sciences RAS

Editor-in-Chief

L. V. Averyanov, Doctor of Sciences (Biology)

EDITORIAL BOARD

- O. M. Afonina** (Deputy Editor-in-Chief, Doctor of Sciences (Biology), St. Petersburg, Russia),
I. N. Safronova (Deputy Editor-in-Chief, Doctor of Sciences (Biology), St. Petersburg, Russia),
I. I. Shamrov (Deputy Editor-in-Chief, Doctor of Sciences (Biology), St. Petersburg, Russia),
A. K. Sytin (Deputy Editor-in-Chief, Doctor of Sciences (Biology), St. Petersburg, Russia),
D. S. Kessel (Executive Secretary, St. Petersburg, Russia),
N. V. Bitukova (Secretary, St. Petersburg, Russia),
O. G. Baranova (Doctor of Sciences (Biology), St. Petersburg, Russia),
S. Volis (PhD, Kunming, China),
A. V. Herman (Doctor of Sciences (Geology and Mineralogy), Moscow, Russia),
T. E. Darbayeva (Doctor of Sciences (Biology), Uralsk, Kazakhstan),
L. A. Dimeyeva (Doctor of Sciences (Biology), Almaty, Kazakhstan),
M. L. Kuzmina (PhD, Guelph, Canada),
M.S. Kulikovskiy (Doctor of Sciences (Biology), Moscow, Russia),
M. V. Markov (Doctor of Sciences (Biology), Moscow, Russia),
T. A. Mikhaylova (Candidate of Sciences (Biology), St. Petersburg, Russia),
A. A. Oskolski (Doctor of Sciences (Biology), St. Petersburg, Russia; Johannesburg, RSA),
Z. Palice (PhD., Prùhonice, Czech Republic),
A. A. Pautov (Doctor of Sciences (Biology), St. Petersburg, Russia),
M. G. Pimenov (Doctor of Sciences (Biology), Moscow, Russia),
R. E. Romanov (Candidate of Sciences (Biology), St. Petersburg, Russia),
A. N. Sennikov (Candidate of Sciences (Biology), Helsinki, Finland),
D. D. Sokoloff (Doctor of Sciences (Biology), Moscow, Russia),
I. V. Sokolova (Candidate of Sciences (Biology), St. Petersburg, Russia),
M. J. Tikhodeeva (Candidate of Sciences (Biology), St. Petersburg, Russia),
A. C. Timonin (Doctor of Sciences (Biology), Moscow, Russia),
V. S. Shneyer (Doctor of Sciences (Biology), St. Petersburg, Russia),
G. P. Yakovlev (Doctor of Sciences (Biology), St. Petersburg, Russia)

Managing editor M. O. Gongalskaya
Executive editor of the issue O. M. Afonina

E-mail: botzhurn@mail.ru, mari.gongalskaya@gmail.com

Moscow

2023

СОДЕРЖАНИЕ

Том 108, номер 10, 2023

ОБЗОРЫ

Плазмодесмы бурых водорослей (Phaeophyceae): строение, локализация и функции

Е. О. Кудрявцева

865

СООБЩЕНИЯ

Влияние сырой нефти на развитие зигот и проростков зеленой водоросли

Ulva lactuca (Ulvaceae) Баренцева моря

Д. О. Салахов, Д. В. Пуговкин, Г. М. Воскобойников

879

Биометрические показатели пыльцы природных популяций

Pinus brutia var. *pityusa* (Pinaceae) Горного Крыма

В. П. Коба, О. О. Коренькова, Н. А. Макаров

887

Использование методов фитоиндикации для оценки связи содержания азота

в растениях с условиями их произрастания (на примере лесов Южного Подмосквья)

Е. В. Зубкова, М. Н. Стаменов, И. В. Припутина, В. И. Грабовский

896

ФЛОРИСТИЧЕСКИЕ НАХОДКИ

Новый чужеродный вид — *Potentilla tobolensis* (Rosaceae) во флоре Хабаровского края

Т. Н. Моторыкина

914

МЕТОДИКА ИССЛЕДОВАНИЙ

Обзор методов подготовки препаратов для световой микроскопии репродуктивных структур видов
Helianthus (Asteraceae)

А. А. Бабро, О. Н. Воронова

917

ЮБИЛЕИ И ДАТЫ

К 85-летию Анны Яковлевны Григорьевской

С. А. Сенатор, Д. Р. Владимиров, Г. С. Розенберг, Н. М. Решетникова, И. Н. Сафронова

939

ХРОНИКА

Всероссийская научная конференция “Изучение и сохранение
биоразнообразия экосистем Европейской России”

В. М. Васюков, Л. А. Новикова

944

Contents

Vol. 108, No. 10, 2023

REVIEWS

- Plasmodesmata of brown algae (Phaeophyceae): structure, localization and functions
E. O. Kudryavtseva 865
-

COMMUNICATIONS

- Influence of crude oil on the development of zygotes and seedlings
of the green alga *Ulva lactuca* (Ulvaceae) of the Barents Sea
D. O. Salakhov, D. V. Pugovkin, G. M. Voskoboinikov 879
- Biometric indices of pollen from natural populations of *Pinus brutia* var. *pityusa* (Pinaceae)
of the Crimean Mountains
V. P. Koba, O. O. Korenkova, N. A. Makarov 887
- Use of phyto-indication methods in assessment of relationship of nitrogen content
in plants with their growing conditions (on the example of forests in the southern Moscow Region)
E. V. Zubkova, M. N. Stamenov, I. V. Priputina, V. I. Grabovsky 896
-

FLORISTIC RECORDS

- Potentilla tobolensis* (Rosaceae), a new alien species to the flora of the Khabarovsk Territory
T. N. Motorykina 914
-

METHODS OF BOTANICAL RESEARCH

- Overview of techniques to prepare light microscopic mounts
of *Helianthus* (Asteraceae) reproductive structures
A. A. Babro, O. N. Voronova 917
-

JUBILEES AND MEMORIAL DATES

- To the 85th anniversary of Anna Yakovlevna Grigorjevskaya
S. A. Senator, D. R. Vladimirov, G. S. Rosenberg, N. M. Reshetnikova, I. N. Safronova 939
-

CHRONICLES

- All-Russian scientific conference “Study and conservation of biodiversity
of ecosystems of European Russia”
V. M. Vasjukov, L. A. Novikova 944
-

ПЛАЗМОДЕСМЫ БУРЫХ ВОДОРОСЛЕЙ (PHAEORHYZEAE): СТРОЕНИЕ, ЛОКАЛИЗАЦИЯ И ФУНКЦИИ

© 2023 г. Е. О. Кудрявцева

Ботанический институт им. В. Л. Комарова РАН
ул. Профессора Попова, 2, Санкт-Петербург, 197022, Россия
e-mail: ekato393@mail.ru

Поступила в редакцию 31.05.2023 г.

После доработки 02.10.2023 г.

Принята к публикации 10.10.2023 г.

В обзоре изложена история изучения плазмодесм бурых водорослей, описана их ультраструктура, отличающаяся от таковой у других групп водорослей и наземных растений, приведены варианты локализации плазмодесм у разных представителей PhaeorhYZeae — от разрозненного расположения до организации в поровые поля, перечислены функции, выполняемые плазмодесмами в талломах бурых водорослей, обозначены возможные перспективы дальнейшего изучения этих структур.

Ключевые слова: бурые водоросли, плазмодесмы, межклеточные связи, поровые поля, ультраструктура

DOI: 10.31857/S0006813623100046, **EDN:** GZFTZV

Бурые водоросли (класс PhaeorhYZeae Kjellm.) — это уникальная и многообразная группа организмов, обладающих широким спектром форм и высокой морфологической пластичностью, что позволяет им повсеместно господствовать в прибрежных морских экосистемах. Несмотря на различия в структурной организации, у всех представителей класса связь между клетками и транспорт веществ в талломах осуществляется через плазмодесмы — межклеточные коммуникации, напоминающие таковые у наземных растений, но вместе с тем имеющие ряд существенных отличий, обусловленных независимым происхождением.

Исследованию плазмодесм и внутриталлового транспорта у бурых водорослей уделяется мало внимания. До сих пор межклеточные коммуникации PhaeorhYZeae изучались на сравнительно узком круге представителей. Остается множество неясных моментов, касающихся как строения плазмодесм, возможных вариаций их пространственного расположения, механизмов передачи через них и характера транспортируемых веществ, так и полного понимания их роли.

Структурная организация и морфогенез бурых водорослей

Прежде чем перейти к описанию строения плазмодесм бурых водорослей, следует обозна-

чить некоторые морфологические особенности данной группы.

На сегодняшний день неоспоримым фактом является принадлежность бурых водорослей к царству Chromista. Впервые предположение об этом выдвинул в 1981 г. Т. Кавалье-Смит, разработавший свою филогенетическую систему на основании особенностей ультраструктуры (Cavalier-Smith, 1981). Позднее его догадка была подтверждена посредством молекулярно-филогенетического анализа (Cavalier-Smith, 1986, 1993). Между PhaeorhYZeae и другими группами водорослей существует большая филогенетическая дистанция (Charrier et al., 2012), и эта отдаленность обуславливает уникальность многих признаков и независимость их приобретения. Механизмы эволюции бурых водорослей все еще остаются малоизученными.

Все представители PhaeorhYZeae являются многоклеточными организмами (Zinova, 1953; Sedova, 1977; Saut, Uittik, 1990; Masyuk, 1993; De Reviers et al., 2007). Их талломы могут иметь различную структурную организацию. По степени усложнения морфологической структуры выделяют нитчатый (трихальный), разноритчатый (гетеротрихальный), псевдопаренхиматозный и паренхиматозный типы талломов (Masyuk, 1993; Charrier et al., 2012). Усложнение структурной организации у бурых водорослей шло различными путями (Masyuk, 1993), возникая, по-видимому, независимо в разных порядках. Поэтому на филогенетическом древе не наблюдается плавного

перехода от представителей с самым простым талломом до наиболее сложно устроенных Phaeophyceae (Silberfeld et al., 2010; Bringloe et al., 2020). Нельзя называть ту или иную кладу более или менее примитивной по отношению к другой, поскольку каждая из них продолжала обособленно развиваться на протяжении всего периода времени после своего отделения от общего предка. Однако, опираясь на морфологические признаки, можно назвать наиболее примитивный (базовый) тип структурной организации таллома и проследить пути его усложнения в отдельных группах.

Самым простым морфологическим типом таллома у бурых водорослей считается нитчатый. Нити могут быть однородными или многорядными, ветвящимися или нет, но все клетки в них, за исключением апикальных и базальных, однотипны и морфологически равноценны (Masyuk, 1993; Charrier et al., 2012). Нитчатые талломы характерны, к примеру, для представителей родов *Choristocarpus* Zanardini и *Discosporangium* Falkenb. (Kawai et al., 2007). Разнорядчатая структура возникла как результат усложнения нитчатой. Для таких водорослей характерна дифференцировка клеток, составляющих нить, а также дифференцировка самих нитей на участки, приспособленные к прикреплению, ассимиляции или размножению, как у представителей родов *Ectocarpus* Lyngb. и *Pylaiella* Bory (Zinova, 1953; Masyuk, 1993). Псевдопаренхиматозный тип структурной организации заходит дальше по пути дифференцировки различных частей слоевища. Такие талломы образуются за счет срастания разветвленных нитей. Осевые нити располагаются в центре, они теряют способность к фотосинтезу и становятся бесцветными. В то же время боковые веточки путем срастания или ограничения роста формируют ассимилирующую “кору”. Подобное строение характерно для представителей родов *Chordaria* C. Agardh, *Elachista* Duby, *Eudesme* J. Agardh и многих других. У наиболее высокоразвитых псевдопаренхиматозных форм может образовываться периферический слой, усиливающий механическую прочность слоевища, или меристодерма в самом внешнем слое коры, обеспечивающая рост в толщину (Zinova, 1953; Masyuk, 1993). Но все эти структурные образования являются ложными тканями. Настоящие, пусть и примитивные, ткани присутствуют только у водорослей с паренхиматозным талломом. Клетки таких водорослей приобретают способность делиться сразу в трех направлениях, формируя сложные объемные структуры (Masyuk, 1993; Charrier et al., 2012). Простейшее тканевое строение присуще таким водорослям, как *Scytosiphon* C. Agardh, *Delamarea* Har., *Sphacelaria* Lyngb. и *Dictyota* J.V. Lamour., а наиболее сложно устроены представители порядков Fucales Bory и Laminariales Mig. (Masyuk, 1993). Наиболее выражен-

ная способность к морфологической дифференциации и специализации внутри таллома позволила паренхиматозным водорослям образовывать не только ткани, но и отдельные органы, служащие для механической устойчивости, ассимиляции, прикрепления или размножения.

Относительно слабая дифференцированность клеток и простота строения — залог высокой морфологической пластичности бурых водорослей, их способности приспосабливаться к меняющимся условиям среды. На морфогенез даже наиболее высоко организованных водорослей влияют сезонные изменения, температура и соленость воды, глубина произрастания, механическое воздействие в виде волновой активности, плотность поселения, выедание травоядными. К примеру, внешний вид представителей ламинариевых может заметно варьировать в зависимости от их возраста, времени года, распреснения и прибойности, концентрации биогенов. Пластины могут сильнее расщепляться или, наоборот, приобретать большую целостность в зависимости от сроков спороношения, волнистые тонкие перепончатые края в тихих водах сменяются ровными и толстыми в прибойных местах, изменяется длина стволика и число ризоидов в зависимости от волновой активности (Ryzhik et al., 2004; Kusidi, 2007; Kusidi, Klochkova, 2009). В разных условиях один и тот же вид может образовывать значительно отличающиеся друг от друга формы. Оказалось, что многие представители бурых водорослей, ранее считавшиеся самостоятельными видами, в действительности являются формами или разновидностями других видов (Svendsen, Kain, 1971).

Первичный рост обеспечивается делением клеток в меристематической зоне. Выделяется несколько типов роста у бурых водорослей: апикальный (терминальный), трихоталлический, диффузный и интеркалярный (Perestenko, 1972; Masyuk, 1993; Charrier et al., 2012). Апикальный рост считается первичным для бурых водорослей, а интеркалярный возник уже позднее у более высокоразвитых видов. В то же время, некоторые сложные Phaeophyceae, например, представители порядка Fucales, приобрели апикальный рост вторично (Charrier et al., 2012).

Значительное влияние на морфогенез оказывают и оси роста. Организм может расти в одном направлении за счет лишь поперечных делений (за исключением участков с ветвлениями) — и тогда можно говорить о гаплостихозном (одноосевом) росте (Masyuk, 1993; Charrier et al., 2012). Когда формирование объемных структур достигается путем одновременно и поперечных, и продольных делений, такой тип роста называется полистихозным (многоосевым). Наконец, непосредственно трехмерный рост, при котором клетки таллома делятся в трех направлениях, — паренхиматозный.

История исследования плазмодесм бурых водорослей

Впервые поры и проходящие через них протоплазматические тяжи были описаны в ситовидных пластинках ситовидных элементов ламинариевой водоросли *Macrocystis pyrifera* (L.) C. Agardh еще в конце XIX века (по Bisalputra, 1966). Свою роль сыграло и то обстоятельство, что поры в поперечных перегородках ситовидных элементов имеют более крупные размеры, чем поры между какими-либо иными типами клеток, и в связи с этим их содержимое гораздо проще рассмотреть без использования электронного микроскопа (Terauchi et al., 2015). В дальнейшем ограниченность возможностей световой микроскопии не позволяла альгологам шагнуть дальше изучения перфораций в ситовидных пластинках. Однако уже в начале XX века стало известно, что межклеточные связи характерны не только для проводящих элементов, но и для всех остальных тканей таллома, обеспечивая тем самым протоплазматическую непрерывность (Sykes, 1908).

Появление электронной микроскопии существенно расширило возможности исследователей, и уже в 60-е годы прошлого столетия был опубликован ряд работ, посвященных ультраструктуре клеточной стенки бурых водорослей. Впервые на апикальных клетках *Dictyota* были описаны “ямки” — хорошо различимые участки клеточной стенки с близко расположенными порами (Dawes et al., 1960); сейчас эти структуры носят название поровых полей (“pit fields”). В клетках меристодермы и коры у *Fucus* L. и *Egregia* Aresch. были обнаружены сходные по своей структуре поровые поля от 0.5 до 5 мкм в диаметре, содержащие множество равномерно расположенных пор диаметром около 40 нм, в просветах которых были отчетливо различимы плазмодесмы диаметром 25–30 нм (Bisalputra, 1966). Отмечено, что участки, на которых расположены поровые поля, значительно уступают в толщине окружающей клеточной стенке.

В дальнейшем большое внимание также продолжали уделять плазмодесмам в ситовидных пластинках проводящих элементов. Ультраструктурные исследования в этой области показали, что поры в поперечных перегородках проводящих клеток могут различаться по диаметру и плотности расположения в зависимости от видовой принадлежности объекта, его возраста, участка таллома и степени зрелости ситовидного элемента (Marchant, 1976). Описан процесс заложения вторичных плазмодесм в ситовидной пластинке у *M. pyrifera* (см. ниже).

Однако спектр рассматриваемых видов был ограничен: в большинстве случаев исследователи занимались представителями с паренхиматозным типом таллома, среди которых преобладали ла-

минариевые и фукусовые. Нитчатые и псевдопаренхиматозные формы практически не изучались.

Было показано, что диаметр плазмодесм у бурых водорослей может составлять от 10 до 40 нм по данным, собранным разными исследователями, работавшими с различными видами Phaeophyceae: *Sphacelaria rigidula* Kütz., *Halopteris congesta* (Reinke) Sauv., *Dictyota dichotoma* (Huds.) J.V. Lamour., *Laminaria digitata* (Huds.) J.V. Lamour., *L. hyperborea* (Gunnerus) Foslie, *Saccharina latissima* (L.) C.E. Lane, C. Mayes, Druehl et G.W. Saunders, *Fucus vesiculosus* L., *Sargassum pallidum* (Turner) C. Agardh и т.д. (McCully, 1968; Davies et al., 1973; Kamnev, 1989; Katsaros et al., 2009; Terauchi et al., 2012).

В 80-х гг. XX века для двух видов ламинарий продемонстрировано существование непрерывного цитоплазматического пути транспорта ассимилятов из фотосинтезирующих клеток коры к центральной части таллома (Schmitz, Kühn, 1982). Показана четкая взаимосвязь между клетками корового слоя и проводящими элементами, обеспечиваемая посредством поровых полей в клеточных стенках. Определены размеры поровых полей, их количество в клетке и плотность расположения входящих в них плазмодесм.

Открытия второй половины XX века в области исследования плазмодесм у Phaeophyceae подытожены в обзоре М. Кука и Л. Грэхэма (Cook, Graham, 1999). Авторы констатируют, что для всех бурых водорослей характерны плазмодесмы определенного типа, которые возникли, по-видимому, на ранних этапах эволюционного развития данной группы. Образование плазмодесм происходит в цитокинезе как у представителей, делящихся бороздкой, так и у более продвинутых, формирующих разделительную пластинку.

Со времени появления метода электронной микроскопии не утихали споры о том, содержат ли плазмодесмы десмотубулы — включения эндоплазматического ретикулума (ЭПР), подобно таковым у высших растений. Полученные данные были противоречивы, часть исследователей утверждали, что плазмодесмы бурых водорослей представляют собой простые плазматические каналы, в то время как другие предоставляли свидетельства наличия десмотубул в просветах плазмодесм. Последние утверждения преимущественно относились к представителям ламинариевых водорослей.

В XXI веке спор разрешился в пользу отсутствия десмотубул в плазмодесмах Phaeophyceae (Raven, 2005). Описаны гигантские плазмодесмы в ситовидных пластинках у *M. pyrifera*, достигающие 1 мкм в диаметре. Внимание исследователей привлек физиологический аспект процесса дальнего транспорта через проводящие элементы высокоразвитых макрофитов (Raven, 2003). В то же время транспорт через плазмодесмы в клетках

других типов тканей остается практически неизученным.

Зафиксирован и впоследствии детально описан процесс формирования плазмодесм в цитокинезе (Katsaros et al., 2009; Terauchi et al., 2012; Nagasato et al., 2014). Показано, что плазмодесмы у ряда представителей Phaeophyceae закладываются уже на самых ранних этапах цитокинеза: в зарождающейся цитокинетической диафрагме образуются трубчатые микроканалы, пронизывающие ее насквозь — преплазмодесмы. Формирующаяся клеточная пластинка содержит многочисленные преплазмодесмы. В богатых ими областях синтез клеточной стенки протекает быстрее. У видов рода *Dictyota* после завершения цитокинеза места концентрации преплазмодесм преобразуются в поровые поля (Terauchi et al., 2012).

Наблюдая за протеканием цитокинеза в зиготах бурых водорослей видов *Fucus distichus* L., *Dictyota dichotoma*, *Scytosiphon lomentaria* (Lyngb.) Link и *Saccharina japonica* (Aresch.) C.E. Lane, C. Mayes, Druehl et G.W. Saunders, исследователи сообщали, что при первых делениях зигот плазмодесмы не закладывались в цитокинезе, но впоследствии были найдены во всех клеточных стенках растущих зародышей (Terauchi et al., 2012, 2015; Nagasato et al., 2015). Данные наблюдения позволяют сделать предположение о возможности постцитокинетического образования плазмодесм.

Возрос интерес к формированию поровых полей у Phaeophyceae. В некоторых случаях, как уже говорилось, описывается закладка поровых полей в цитокинезе, как у *Dictyota dichotoma* (Terauchi et al., 2012). В других — прослеживается плавное возрастание плотности разрозненных плазмодесм в эмбриогенезе вплоть до образования поровых полей, как у *Fucus distichus* (Nagasato et al., 2015). У представителей родов *Ectocarpus* и *Sphacelaria* отмечается полное отсутствие поровых полей (Terauchi et al., 2015). Поровые поля могут достаточно сильно варьировать по размерам, количеству в клетке и числу входящих в них плазмодесм у представителей различных порядков Phaeophyceae (Terauchi et al., 2015).

В последние годы встал вопрос о механизмах транспорта через плазмодесмы бурых водорослей. Исследуются пропускная способность плазмодесм, предельные размеры транспортируемых молекул, направления тока (Terauchi et al., 2015; Nagasato et al., 2015, 2017). Показано, что плазмодесмы бурых водорослей способны транспортировать более крупные молекулы, чем у высших растений. Пропускная способность в клетках с поровыми полями отличается от таковой у клеток, несущих лишь разрозненные плазмодесмы. У проростков *F. distichus*, талломы которых уже дифференцировались на первичную пластинку со сформированными поровыми полями и на

первичный ризоид, в котором поровые поля еще не образовались, в ризоидальные клетки транспортируются более крупные молекулы, в то время как в область пластинки они не проникают (Nagasato et al., 2015). Авторами было выдвинуто предположение, что поровые поля каким-то образом регулируют размеры транспортируемых между клетками молекул. В то же время все еще остается неизвестным, способны ли плазмодесмы у бурых водорослей изменять свой диаметр в целях регуляции проводимости.

Строение плазмодесм бурых водорослей

По своему строению плазмодесмы Phaeophyceae (рис. 1a) сходны с таковыми у высших растений: пронизывая клеточную стенку через поры, они соединяют две соседних клетки цитоплазматическими тяжами, покрытыми мембраной, являющейся продолжением плазмалеммы. Однако, поскольку филогенетически линии бурых водорослей и зеленых растений разобщены, плазмодесмы Phaeophyceae сформировались независимо у этой группы, и видимое сходство является результатом конвергенции (Charrier et al., 2012). Этим объясняются все наблюдаемые отличия плазмодесм бурых водорослей от подобных структур высших растений: меньшие размеры, другая локализация, отсутствие десмотубул в просвете, иной способ заложения в цитокинезе (Terauchi et al., 2015).

Что же касается других групп водорослей, то, помимо бурых, плазмодесмы характерны для харовых водорослей (Charophyta Mig.), от которых произошли и наземные растения, а также для некоторых представителей зеленых водорослей (Chlorophyta Rchb.). У зеленых водорослей наличие плазмодесм отмечено в нескольких филогенетически разобщенных порядках, что свидетельствует, по всей видимости, о независимости их происхождения (Raven, 2005). И среди харовых, и среди зеленых водорослей встречаются представители как с десмотубулами, присутствующими в просветах плазмодесм, так и без них (Fraser, Gunning, 1969; Chapman, Good, 1978; Evkaikina et al., 2014). Межклеточные коммуникации у красных водорослей обеспечиваются за счет крупных единичных пор 0.5–2 мкм в диаметре, транспорт через которые регулируется посредством уникальных структур — поровых пробок (Ramus, 1969). Однако такой тип межклеточной связи не имеет ничего общего с плазмодесмами.

Во всех линиях многоклеточных организмов с целлюлозными клеточными стенками параллельно и независимо развивались плазмодесмы. Они выполняют одни и те же функции, но различаются по своему строению и происхождению, являясь не гомологичными, а аналогичными структурами. Плазмодесмы присутствуют у всех

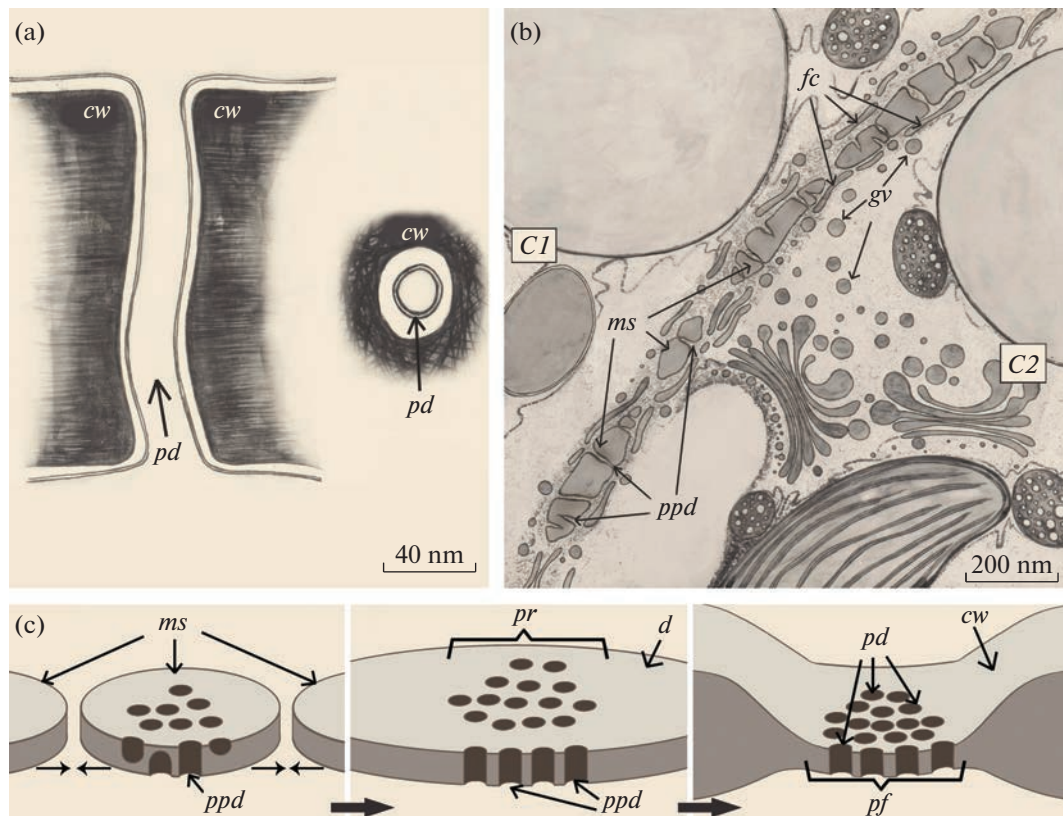


Рис. 1. Строение и формирование плазмодесм бурых водорослей. а – плазмодесма бурых водорослей; б – формирование преплазмодесм в цитокинезе; в – схема формирования плазмодесм и порового поля. *C1* – клетка 1; *C2* – клетка 2; *cw* – клеточная стенка; *d* – цитокинетическая диафрагма; *fc* – плоские цистерны; *gv* – пузырьки Гольджи; *ms* – мембранные мешки; *pd* – плазмодесмы; *pf* – поровое поле; *ppd* – преплазмодесмы; *pr* – богатый плазмодесмами участок разделительной диафрагмы.

Fig. 1. Structure and formation of plasmodesmata of brown algae. а – plasmodesma of brown algae; б – formation of preplasmodesmata in cytokinesis; в – scheme of formation of plasmodesmata and pit field. *C1* – cell 1; *C2* – cell 2; *cw* – cell wall; *d* – cell partition membrane (diaphragm); *fc* – flat cisternae; *gv* – Golgi vesicles; *ms* – membrane sacs; *pd* – plasmodesmata; *pf* – pit field; *ppd* – preplasmodesmata; *pr* – plasmodesmata-rich region of the cell partition membrane.

паренхиматозных форм с клетками, делящимися в трех измерениях, в то время как в однорядных нитчатых и двухмерных плоских талломах различных систематических групп они могут отсутствовать или иметь менее развитую пространственную организацию (Brunkard, Zambryski, 2017).

У наземных растений плазмодесма состоит из внешней мембраны, которая является продолжением плазмалеммы, центральной трубочки плотно сжатого ЭПР (десмотубулы) и цитозольной прослойки между этими мембранами. Размеры их составляют до 30 нм в диаметре. Установлено, что через плазмодесмы способны перемещаться молекулы до 70 кДа (Brunkard, Zambryski, 2017).

Плазмодесмы бурых водорослей могут составлять от 10 до 40 нм в диаметре, в их просвете отсутствуют десмотубулы, однако, имеются электронно-плотные мостики, по-видимому, белковой природы, структура которых до сих пор не была детально описана, поскольку не удалось адекватно рассмотреть ее в просвете плазмодесм

(McCully, 1968; Davies et al., 1973; Kamnev, 1989; Katsaros et al., 2009). Мостики тянутся от внутренней мембраны плазмодесм к центру их просвета, а также от наружной мембраны к клеточной стенке, судя по всему, выполняя связующую функцию между данными структурами (Bourne et Cole, 1968; Terauchi et al., 2012).

Как у наземных растений, так и у бурых водорослей, плазмодесмы могут быть двух типов: первичные и вторичные. Первичными плазмодесмами называются образующиеся в процессе цитокинеза путем захвата мембранных структур формирующимся фрагмопластом. У высших растений фрагмопласт захватывает мембраны ЭПР, которые впоследствии сжимаются в десмотубулы под действием ферментов (Brunkard, Zambryski, 2017).

У бурых водорослей материал, из которого образуются плазмодесмы, является производным сложной мембранной сети, участвующей в формировании разделительной мембраны между дочерними клетками. В состав этой мембранной се-

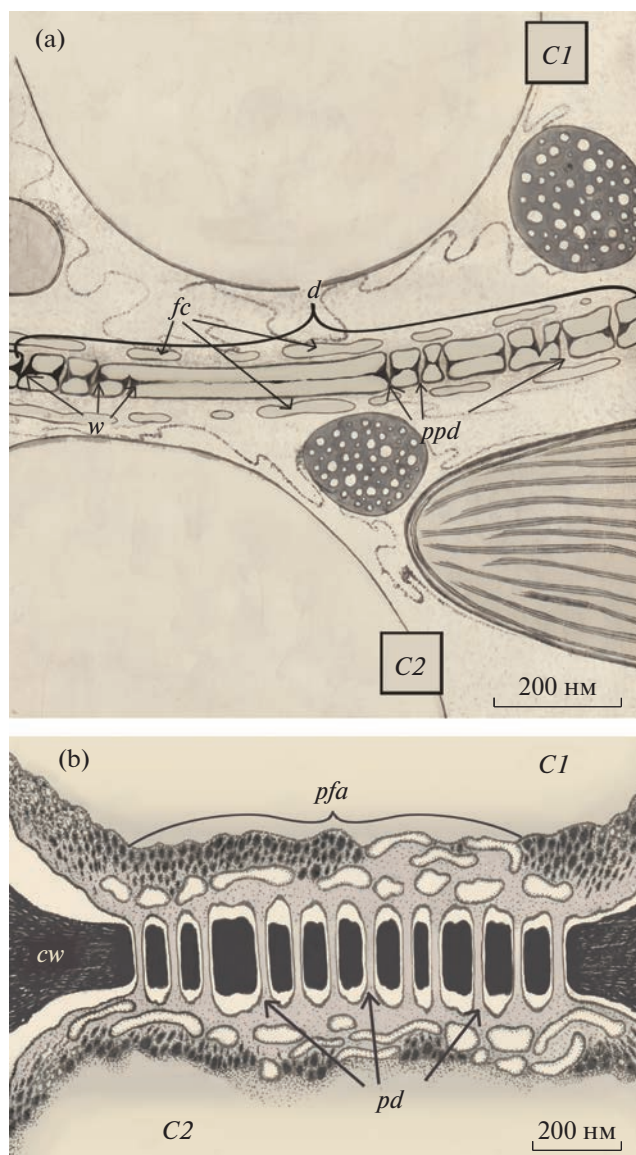


Рис. 2. Формирующиеся и зрелые плазмодесмы в клетках бурых водорослей. а — преплазмодесмы в цитокинетической диафрагме; б — поровое поле. *pfa* — область тонкой клеточной стенки, где лежит поровое поле; *w* — материал начавшей формироваться клеточной стенки. Остальные обозначения см. рис. 1.

Fig. 2. Forming and mature plasmodesmata in brown algae cells. а — preplasmodesmata in the cell partition membrane; б — pit field. *pfa* — region of the thin cell wall containing pit field; *w* — material of the forming cell wall. For other designations see Fig. 1.

ти входят элементы аппарата Гольджи различной степени электронной плотности, ЭПР, аморфные мембранные структуры и плоские цистерны (Katsaros et al., 2009; Nagasato et al., 2010, 2014; Terauchi et al., 2012, 2015).

Формирование плазмодесм в цитокинезе было подробно описано у видов нескольких родов бурых водорослей. У *Dictyota*, *Silvetia* E. Serrão,

T. O. Cho, S. M. Boo et Brawley, *Halopteris* Kütz. и *Sphacelaria* этот процесс однотипен, различаясь лишь в незначительных деталях. Пузырьки и цистерны Гольджи, митохондрии, мембраны ЭПР и особые мембранные структуры — плоские цистерны — выстраиваются вдоль цитокинетической плоскости (Katsaros et al., 2009). В результате слияния пузырьков Гольджи и плоских цистерн формируется цитокинетическая диафрагма — мембранная перегородка между дочерними клетками, на основе которой впоследствии образуется клеточная стенка. На ранних этапах своего развития цитокинетическая диафрагма представляет собой небольшие мембранные островки — так называемые мембранные мешки (рис. 1b, c), которые затем разрастаются и сливаются воедино (Katsaros et al., 2009; Terauchi et al., 2012; Nagasato et al., 2014).

В мембранных мешках образуются воронкообразные впячивания, которые, углубляясь, формируют трубчатые микроканалы, получившие название преплазмодесм (рис. 2a) (Terauchi et al., 2012). Таким образом, в то время как у высших растений образование плазмодесм происходит путем захвата мембран ЭПР и их физического включения в формирующийся фрагмопласт, у бурых водорослей в этом процессе участвуют мембранные мешки. Преплазмодесмы могут быть более или менее равномерно рассеяны в области мембранного мешка. Диаметр преплазмодесм составляет 10–20 нм, как и у зрелых плазмодесм. На примере *Dictyota* показано, что еще на стадии цитокинеза начинается формирование поровых полей: в расположении преплазмодесм в цитокинетической диафрагме заметна кластерность (Terauchi et al., 2015). Эта особенность отличает бурые водоросли от высших (наземных) растений, у которых группировка плазмодесм происходит в процессе роста и растяжения клеточной оболочки. После завершения цитокинеза у бурых водорослей на месте участков цитокинетической диафрагмы, богатых преплазмодесмами, формируются поровые поля (рис. 2b) (Terauchi et al., 2012).

Вторичные плазмодесмы образуются в клеточных стенках постцитокинетически. Механизмы их формирования, очевидно, имеют в основе локальное преобразование клеточной стенки (Brunkard et al., 2015). Однако сами эти механизмы до сих пор не были описаны как для наземных растений, так и для Phaeophyceae.

Описан процесс заложения вторичных плазмодесм в ситовидной пластинке проводящих элементов бурых водорослей, но отсутствуют какие-либо данные о том, чем этот процесс вызывается (Marchant, 1976). Предполагается, что в основе механизма формирования вторичных плазмодесм лежит ферментативное расщепление клеточной стенки ситовидных пластинок (Terauchi et al., 2015). Отчасти благодаря этому в последние годы

появилась тенденция разделять понятия “обычных” плазмодесм и плазмодесм в ситовидных пластинках бурых водорослей: последние зачастую имеют несопоставимый с “обычными” плазмодесмами диаметр (от 38 нм до 2.6 мкм), образуются иным путем, и поэтому могут считаться специализированными структурами проводящих тканей (Terauchi et al., 2015).

Отмечено, что в первых клеточных стенках на начальных этапах деления зигот у *Fucus distichus*, *Dictyota dichotoma*, *Scytosiphon lomentaria* и *Saccharina japonica* плазмодесмы не образовывались в цитокинезе, однако их присутствие фиксировали на более поздних этапах развития (Terauchi et al., 2012, 2015; Nagasato et al., 2015). В связи с этим был сделан вывод о том, что они могут формироваться постцитокинетически, и в таком случае будут считаться вторичными плазмодесмами. Однако процесс постцитокинетического заложения плазмодесм у клеток, не относящихся к ситовидным пластинкам проводящих элементов, так и не был описан. У покрытосеменных растений формирование вторичных плазмодесм может индуцироваться цитокинином (Evaikina et al., 2014). Возможно, и у бурых водорослей этот процесс обусловлен гормонально.

Вокруг плазмодесм высших растений образуются каллозные отложения, которые регулируют транспорт через плазмодесму, ограничивая размер цитозольной прослойки (Brunkard et al., 2015). Каллозные отложения способны деградировать под действием ферментов. Каллоза накапливается ближе к концам плазмодесм, где цитозольная прослойка открывается в цитоплазму. Регуляция транспорта происходит благодаря сужению и расширению просветов плазмодесм посредством отложения или деградации каллозы.

У бурых водорослей в составе клеточных стенок присутствует каллозо-подобное вещество — β -1,3-глюкан, также известное как ламинаран (Raimundo et al., 2017; Nagasato et al., 2022). Но каллозные отложения вокруг плазмодесм не образуются, хотя ранее некоторые исследователи высказывали предположение об их наличии (Bourne, Cole, 1968; Biel, Medyanikov, 1981; Kamnev, 1989). Механизмы регуляции транспорта у бурых водорослей слабо изучены; исследования в этом направлении начали проводить лишь в последние годы (Nagasato et al., 2015; Terauchi et al., 2015).

Локализация плазмодесм

Плазмодесмы у бурых водорослей могут быть равномерно рассеяны на всем протяжении клеточной оболочки (разрозненные плазмодесмы) или же могут быть организованы в поровые поля.

Водоросли, у которых поровые поля не образуются вовсе (рис. 3а), имеют более простую струк-

турную организацию. У нитчатых *Sphacelaria rigidula* и *Ectocarpus siliculosus* (Dillwyn) Lyngb. плазмодесмы рассеяны по клеточной оболочке на расстоянии около 250 нм друг от друга (Terauchi et al., 2015). Существует свидетельство гораздо более скученного расположения разрозненных плазмодесм у *Sphacelaria tribuloides* Menegh. (Galatis et al., 1977, Fig. 17). Плотность расположения плазмодесм, судя по всему, не является постоянной, поскольку разными авторами приводятся различающиеся показатели этой величины даже у представителей одного вида (Cole, 1970; Terauchi et al., 2015). Считается, что расстояние между разрозненными плазмодесмами составляет 250–265 нм, в то время как расстояние между плазмодесмами, входящими в состав порового поля, не превышает 60–120 нм (Terauchi et al., 2012). У нитчатых гаметофитов *Saccharina japonica* плазмодесмы располагаются достаточно плотно, но поровых полей не формируется, в то время как у спорофита этой водоросли они развиты очень хорошо (Terauchi et al., 2015). У псевдопаренхиматозной водоросли *Eudesme virescens* (Carmich. ex Berk.) J. Agardh плазмодесмы также равномерно разбросаны по клеточной оболочке (Cole, 1969). Кроме того, у *Eudesme* и *Sphacelaria* отмечается наличие большого числа плазмодесм в поперечных клеточных стенках и полное их отсутствие в продольных стенках (Cole, 1969; Galatis et al., 1977).

Поровые поля (рис. 2б; рис. 3б, с) — это участки клеточной стенки, пронизанные множеством плотно сгруппированных плазмодесм. Поровые поля четко различимы на снимках, они имеют округлую или овальную форму, а их количество, площадь, число и плотность расположения входящих в них плазмодесм варьируют у разных видов (Terauchi et al., 2015).

В вегетативных клетках взрослых водорослей поровые поля закладываются уже на этапе цитокинеза, когда при заложении преплазмодесм в клеточной пластинке заметна тенденция к их групповому расположению. У *Dictyota* преплазмодесмы концентрируются в определенных ограниченных областях цитокинетической диафрагмы, которые впоследствии, после окончания цитокинеза и формирования клеточной стенки, преобразуются в поровые поля (Terauchi et al., 2012). В эмбриогенезе фукусовых описывается плавное возрастание плотности разрозненных плазмодесм у зародыша в течение первых пяти суток существования (Nagasato et al., 2015). Такие данные указывают на то, что у фукусовых водорослей, по-видимому, формирование поровых полей происходит постепенно. Однако затем авторы приводят описание уже десятидневного проростка со сформированными поровыми полями, минуя промежуточные стадии, которые заслуживают особого внимания. Поровые поля обычно соединяют клетки разных слоев коры, а

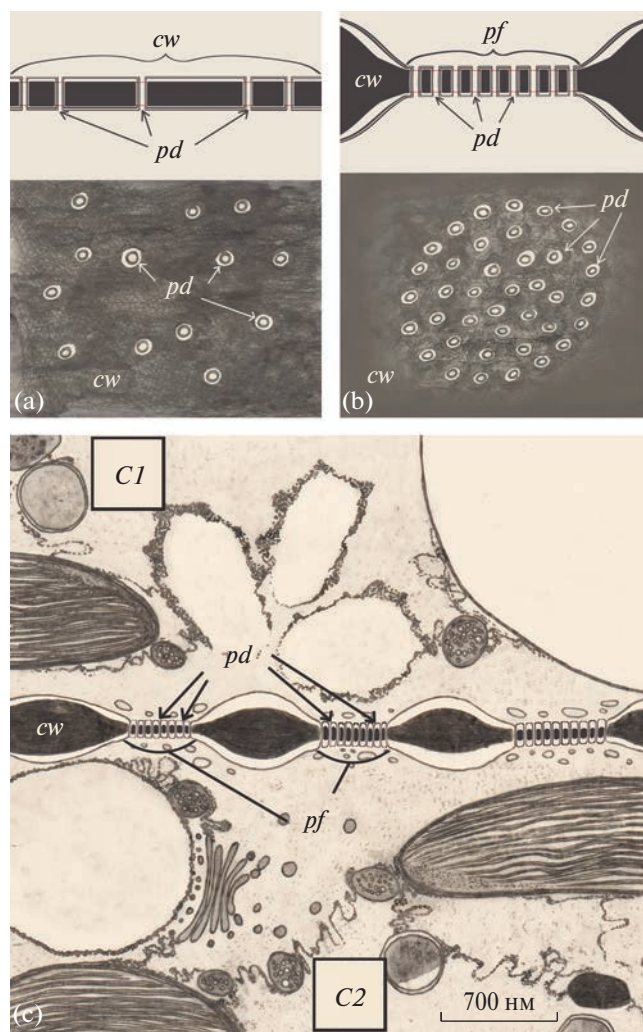


Рис. 3. Локализация плазмодесм в клетках бурых водорослей. а — схема локализации разрозненных плазмодесм в клеточной стенке; б — схема локализации плазмодесм в поровом поле; с — поровые поля в клеточной стенке. Обозначения см. рис. 1.

Fig. 3. Localization of plasmodesmata in brown algae cells. a — scheme of localization of scattered plasmodesmata in the cell wall; b — scheme of localization of plasmodesmata in the pit field; c — pit fields in the cell wall. For designations see Fig. 1.

также коровые клетки с лежащими глубже паренхимными или медулярными (McCully, 1965, 1968; Bourne, Cole, 1968; Terauchi et al., 2015). Очень редко отмечается наличие поровых полей и в боковых клеточных стенках, между клетками одного слоя, как у диктиотовой водоросли *Zonaria farlowii* Setch. et N.L. Gardner (Liddle, Neushul, 1969).

Поровые поля обнаружены у представителей порядков Ectocarpales Bessey, Sphacelariales Mig., Dictyotales Bory, Laminariales, Fucales и Desmarestiales Setch. et N.L. Gardner с паренхиматозными талломами (McCully, 1965, 1968; Bourne, Cole, 1968; Liddle, Neushul, 1969; Davies et al., 1973; Ter-

auchi et al., 2015). Однако эти структуры очень сильно отличаются по своим параметрам от порядка к порядку. В клетках представителей Dictyotales и Laminariales наблюдаются множественные поровые поля с небольшой площадью: 0.6 мкм^2 у первых и 0.3 мкм^2 у вторых. При этом поровые поля в этих группах характеризуются наибольшей плотностью распределения плазмодесм. У Fucales, напротив, клетки могут содержать лишь по одному поровому полю внушительной площади (около 10 мкм^2), плазмодесмы в котором расположены достаточно разреженно, но зато в очень большом количестве. В порядке Desmarestiales и семействе Scytosiphonaceae Farl. порядка Ectocarpales толщина клеточной стенки в области поровых полей не отличается от толщины свободных от плазмодесм участков оболочки. Для этих групп не установлено количество поровых полей, которые могут встречаться в одной клетке. Плотность распределения плазмодесм в поровых полях у них самая низкая, и, соответственно, расстояние между плазмодесмами самое большое. Площадь поровых полей составляет приблизительно 1.1 мкм^2 у Scytosiphonaceae и около 4.4 мкм^2 у Desmarestiales.

Интересная картина отмечена для паренхиматозного представителя порядка Sphacelariales *Phaeostrophion irregulare* Setch. et N.L. Gardner: поровые поля у данного вида не имеют четких границ, а плазмодесмы в их пределах лежат менее плотно, чем у водорослей из других порядков (Bourne, Cole, 1968). Возможно, такая локализация плазмодесм является переходной от состояния разрозненности к концентрации в поровое поле.

Существуют противоречивые данные относительно представителей семейства Scytosiphonaceae. Для *Scytosiphon lomentaria* характерна наиболее просто устроенная паренхиматозная организация (Masyuk, 1993). Описано как полное отсутствие поровых полей у данного вида наряду с другими представителями семейства (Cole, 1970), так и их наличие (Terauchi et al., 2015). Такие противоречия вызывают несомненный интерес, поскольку их разрешение способно пролить свет на закономерности возникновения поровых полей у бурых водорослей.

Функции плазмодесм

У бурых водорослей присутствуют приспособления для ближнего и дальнего транспорта веществ. Плазмодесмы обеспечивают ближний транспорт между соседними клетками. Дальний же транспорт осуществляется ситовидными элементами, которые представлены трубчатыми гифами и ситовидными клетками (Petrov, 1977; Schmitz, 2012; Terauchi et al., 2015). С повышением уровня сложности структурной организации

усложняется и система внутриталлового транспорта. Ситовидные элементы характерны для крупных, сложно устроенных бурых водорослей, в талломах которых происходит дифференцировка тканей. Располагаясь в медуллярном слое, длинные продольные серии ситовидных клеток в центре поддерживают вертикальный транспорт веществ и, кроме того, выполняют механическую функцию, а разветвленные и соединяющиеся друг с другом нити из трубчатых гиф пронизывают таллом в различных направлениях, связывая центральную часть с периферией (Parker, Huber, 1965; Schmitz, Sravastava, 1975, 1976). Плазмодесмы же связывают наружные ассимилирующие ткани с медуллой, обеспечивая ток ассимилятов из меристодермы и коры в трубчатые гифы и ситовидные клетки для дальнейшего транспорта по таллому (Raven, 2003; Schmitz, 2012).

Концентрация плазмодесм в поровые поля может быть обусловлена необходимостью в увеличении интенсивности межклеточного транспорта и, возможно, в более направленном токе. Вполне вероятно, что в нитчатых талломах с транспортом вполне справлялись и разрозненные плазмодесмы. Но с увеличением размеров организма и усложнением его структуры требовалось обеспечение все более интенсивного транспорта внутри таллома, частота плазмодесм в клеточных стенках постепенно возрастала, и в конечном итоге они сконцентрировались в поровые поля, что позволило бурым водорослям эволюционировать по пути дальнейшего усложнения.

У высших растений изменение диаметра плазмодесм, вызываемое отложением каллозы в клеточных стенках, несет в себе несколько очень важных функций. Подобное ограничение транспорта является защитным механизмом растений в ответ на проникновение в организм патогенов. Отложение каллозы прекращает транспорт, изолируя инфицированные клетки от соседних (Brunkard, Zambryski, 2017). Таким образом иницируется системная приобретенная устойчивость (SAR — systemic acquired resistance) — иммунный ответ, стимулирующий неинфицированные ткани к самозащите. Молекулы-инициаторы SAR успевают покинуть очаг заражения через плазмодесмы до того, как отложение каллозы прекратит межклеточный транспорт, и попадают во флоэму для дальнейшего распространения.

Ограничение транспорта через плазмодесмы имеет решающее значение для морфогенеза, поскольку этим путем регулярно перемещаются гормоны и транскрипционные факторы, и для того, чтобы клетки могли начать дифференцировку, должен прекратиться транспорт гормонов роста (Brunkard et al., 2015). Транспорт часто резко ограничен вокруг областей, в которых происходит морфогенез, включая эмбриогенез, развитие

соцветий и формирование боковых корней. Клеточная изоляция позволяет фитогормону ауксину накапливаться до высокой концентрации и вызывать органогенез.

Что касается плазмодесм бурых водорослей, то на данный момент остается невыясненным, способны ли они изменять свой диаметр для регуляции проводимости. Ранее считалось, что вокруг плазмодесм Phaeophyceae откладывается каллоза аналогично тому, как это происходит у высших растений (Bourne, Cole, 1968; Biel, Medyanikov, 1981; Kamnev, 1989). Наблюдаемые на микрофотографиях электроннопрозрачные области между плазмодесмами и просветами пор в клеточных стенках считали каллозными отложениями. Однако на сегодняшний день эти предположения так и не подтвердились. Известно, что бурые водоросли способны транспортировать более крупные молекулы, чем высшие растения: для растений в целом предел составляет 1–3 кДа (хотя в некоторых случаях растения способны переносить и гораздо более крупные молекулы, поскольку у них имеются механизмы, позволяющие увеличить размеры просветов плазмодесм), в то время как для бурых водорослей такой предел точно не установлен, и колеблется между 20 и 40 кДа (Nagasato et al., 2017).

Разрозненные плазмодесмы и поровые поля имеют разную пропускную способность. На десятидневных проростках *Fucus distichus*, у которых область пластинки уже содержит поровые поля, а в области ризоида имеются лишь отдельные плазмодесмы, показано, что флуоресцентная метка весом 10 кДа беспрепятственно переносится по ризоидальным клеткам, но не попадает в пластинку (Nagasato et al., 2015). Следовательно, разрозненные плазмодесмы способны транспортировать более крупные молекулы, чем поровые поля.

Определенно, у бурых водорослей должны быть некие механизмы регуляции транспорта, детерминирующие протекание морфогенеза и обеспечивающие работу иммунитета, возможно, осуществляемые посредством плазмодесм, аналогично растениям. Но эти механизмы пока не установлены.

Еще одна функция плазмодесм бурых водорослей — участие в формировании клеточной стенки. В процессе цитокинеза на наружной поверхности преплазмодесм, пронизывающих цитокинетическую диафрагму, накапливается электронно-плотный материал (Terauchi et al., 2012). Постепенно этот материал сливается у соседних преплазмодесм и вытягивается вдоль диафрагмы, в центральной ее части, формируя срединный слой, более толстый в областях, богатых преплазмодесмами, и тонкий на тех участках диафрагмы, где преплазмодесмы отсутствуют. Предполагается, что электронно-плотный материал — это альгинат, один из компонентов клеточной оболочки

бурых водорослей, присутствие которого фиксируют в мембранных мешках во время цитокинеза. Формирование клеточной стенки происходит быстрее в богатых преплазмодесмами областях цитокинетической диафрагмы.

Многоклеточность возникла независимо в нескольких филогенетических линиях, которые развили высокое морфологическое, физиологическое и экологическое разнообразие. Основные многоклеточные линии сегодня включают животных, растения, некоторые водоросли и грибы (Charrier et al., 2012). Многоклеточность требует двух важнейших особенностей: межклеточной адгезии и межклеточной сигнализации (Brunkard et al., 2015). Растительные клетки генерируют прочные клеточные стенки, которые обеспечивают структурную поддержку и защиту, но препятствуют движению или физической связи между клетками. Межклеточная сигнализация и транспорт у растений осуществляется плазмодесмами. Независимое возникновение и совершенствование этих структур в различных линиях бурых и зеленых водорослей тесно связано с усложнением организации талломов, что свидетельствует о влиянии плазмодесм на эволюцию этих групп. Таким образом, плазмодесмы играют решающую роль в возникновении многоклеточности у бурых водорослей и эволюционном усложнении их морфологической структуры (Brunkard et al., 2015; Brunkard, Zambryski, 2017).

Хотя плазмодесмы бурых водорослей отличаются от таковых у наземных растений не только по своему строению, но и, очевидно, по принципам работы (понимание которых по сей день является актуальной проблемой), они выполняют в организме аналогичные функции: осуществляют транспорт ассимилятов, поддерживают цитоплазматическую непрерывность, участвуют в гормональной регуляции и процессе морфогенеза, играют роль в реализации защитных реакций, принимают участие в генерации клеточной стенки. Возникновение плазмодесм обеспечило формирование *Phaeophyceae* как группы исключительно многоклеточных организмов, а также последующее развитие и усложнение этого многообразнейшего класса. Дальнейшие исследования в данной области смогут выявить механизмы, обеспечивающие морфогенез бурых водорослей, и, вероятно, прольют свет на понимание процесса эволюции данной группы организмов и возникновение в ней многоклеточности разной степени сложности.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

История исследований межклеточных связей у бурых водорослей охватывает практически полтора века, пройдя долгий путь от применения светооптических методов до работ в области изучения ультраструктуры и физиологических процессов. Одна-

ко множество моментов все еще остаются неясными. Отсутствуют как всеобъемлющее понимание ультраструктурных особенностей плазмодесм у *Phaeophyceae* в целом, так и доказательства того, что они универсальны для всех типов клеток и видов водорослей этой группы. Пробелы в знаниях обусловлены недостаточной широтой спектра изученных видов. Отсутствуют данные о транспорте через такие межклеточные контакты молекул и механизмах их транспортировки. Исследование пропускной способности плазмодесм бурых водорослей находится в зачаточном состоянии: на данный момент остается невыясненной связь между проводимостью, размером молекул и направлением движения через плазмодесмы, нет четкого ответа на вопрос о наличии и возможных свойствах структур, регулирующих транспорт.

Роль плазмодесм бурых водорослей может оказаться гораздо шире, чем представляется на сегодняшний день. Межклеточные связи участвуют в контроле над процессами роста и ветвления — процессами, суммарно обуславливающими морфогенез. Изучение межклеточных связей у как можно более широкого спектра представителей бурых водорослей позволит выявить основные закономерности их морфогенеза, понять, как реализуется комплексная стратегия развития данной группы, и воссоздать процесс филогенеза *Phaeophyceae*, опираясь на эволюцию их морфологической организации.

В настоящее время очевидно назрела необходимость понимания роли преобразований межклеточных связей в филогенезе *Phaeophyceae*. Перспективными направлениями дальнейших исследований являются выявление особенностей локализации плазмодесм у бурых водорослей с различным строением талломов, обнаружение возможных структурных и пространственных вариаций межклеточных связей в пределах организма и их развитие в онтогенезе, поиск взаимосвязи между организацией плазмодесм и стратегиями роста.

БЛАГОДАРНОСТИ

Работа выполнена в рамках госзадания БИН РАН № 121021600184-6 “Флора и систематика водорослей, лишайников и мохообразных России и фитогеографически важных регионов мира”.

Автор выражает искреннюю благодарность своему научному руководителю Михайловой Татьяне Александровне за всестороннюю помощь и поддержку в написании данной работы.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- [Biel, Medyanikov] Биль К.Я., Медяников В.М. 1981. Ультраструктура таллома и передвижение продук-

- тов фотосинтеза в морской бурой водоросли *Sargassum*. — Бот. журн. 66 (5): 725–731.
- Bisalputra T. 1966. Electron microscopic study of the protoplasmic continuity in certain brown algae. — Can. J. Bot. 44 (1): 89–93.
- Bourne V.L., Cole K. 1968. Some observations on the fine structure of the marine brown alga *Phaeostrophion invigulave*. — Can. J. Bot. 46: 1369–1375.
- Bringloe T., Starko S., Wade R., Vieira C., Kawai H., De Clerck O., Cock M., Coelho S., Destombe C., Valero M., Neiva J., Pearson G., Faugeron S., Serrão E., Verbruggen H. 2020. Phylogeny and Evolution of the Brown Algae. — Crit. Rev. Plant Sci. 39 (4): 281–321.
- Brunkard J.O., Runkel A.M., Zambryski P.C. 2015. The cytosol must flow: intercellular transport through plasmodesmata. — Curr. Opin. Cell Biol. 35: 13–20.
- Brunkard J.O., Zambryski P.C. 2017. Plasmodesmata enable multicellularity: new insights into their evolution, biogenesis, and functions in development and immunity. — Curr. Opin. Plant Biol. 35: 76–83.
- Cavalier-Smith T. 1981. Eukaryote kingdoms: seven or nine? — BioSystems. 14: 461–481.
- Cavalier-Smith T. 1986. The kingdom Chromista: origin and systematics. — In: Progress in Phycological Research. 4. Bristol. P. 309–347.
- Cavalier-Smith T. 1993. Kingdom Protozoa and its 18 phyla. — Microbiology Reviews. 57: 953–994.
- Chapman R.L., Good B.H. 1978. Ultrastructure of plasmodesmata and cross walls in *Cephaleuros*, *Phycopeltis* and *Trentepohlia* (Chroolepidaceae; Chlorophyta). — British Phycological Journal. 13: 241–246.
- Charrier B., Le Bail A., de Reviers B. 2012. Plant Proteus: brown algal morphological plasticity and underlying developmental mechanisms. — Trends Plant Sci. 17 (8): 468–477.
- Cole K. 1969. The cytology of *Eudesme virescens* (Carm.) J. Ag. II. Ultrastructure of cortical cells. — Phycologia. 8 (2): 101–108.
- Cole K. 1970. Ultrastructural characteristics in some species in the order Scytosiphonales. — Phycologia. 9 (3/4): 275–283.
- Cook M.E., Graham L.E. 1999. Evolution of plasmodesmata. — In: Plasmodesmata. Berlin. P. 101–117.
- Davies J.M., Ferrier N.C., Johnston C.S. 1973. The ultrastructure of the meristoderm cells of the hapteron of *Laminaria*. — Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom. 53: 237–246.
- Dawes C.J., Scott F.M., Bowler E. 1960. Light and electron microscope study of cell walls of brown and red algae. — Science. 132 (3440): 1663–1664.
- De Reviers B., Rousseau F., Draisma S.G.A. 2007. Classification of the Phaeophyceae from past to present and current challenges. — In: Unravelling the algae: the past, present, and future of algal systematics. Boca Raton. P. 267–284.
- [Evkaikina et al.] Евкайкина А.И., Романова М.А., Войцеховская О.В. 2014. Плазмодесмы и межклеточный транспорт регуляторных макромолекул — эволюционный аспект. — В сб.: Ботаника: история, теория, практика (к 300-летию основания Ботанического института им. В.Л. Комарова РАН): Труды Междунар. науч. конф. СПб. С. 92–100.
- Fraser T.W., Gunning B.E.S. 1969. The ultrastructure of plasmodesmata in the filamentous green alga, *Bulbochaete hilsensis* (Nordst.) Tiffany. — Planta. 88: 244–254.
- Galatis B., Katsaros C., Mitrakos K. 1977. Fine structure of vegetative cells of *Sphacelaria tribuloides* Menegh. (Phaeophyceae, Sphacelariales) with special reference to some unusual proliferations of the plasmalemma. — Phycologia. 16 (2): 139–151.
- [Kamnev] Камнев А.Н. 1989. Структура и функции бурых водорослей. М. 200 с.
- Katsaros C., Motomura T., Nagasato C., Galatis B. 2009. Diaphragm development in cytokinetic vegetative cells of brown algae. — Botanica Marina. 52 (2): 150–161.
- Kawai H., Hanyuda T., Draisma S.G.A., Muller D.G. 2007. Molecular phylogeny of *Discosporangium mesarthrocarpum* (Phaeophyceae) with a reinstatement of the order Discosporangiales. — J. Phycol. 43 (1): 186–194.
- [Kusidi] Кусиди А.Э. 2007. Биология развития некоторых видов рода *Laminaria* в прикамчатских водах: Автореф. дис. ... канд. биол. наук. Петропавловск-Камчатский. 26 с.
- [Kusidi, Klochkova] Кусиди А.Э., Ключкова Н.Г. 2009. Стратегия возрастного и сезонного развития *Saccharina dentigera* (Phaeophyta, Laminariales) у восточной Камчатки. — Исследования водных биологических ресурсов Камчатки и северо-западной части Тихого океана. 14: 14–19.
- Liddle L.B., Neushul M. 1969. Reproduction in *Zonaria farlowii*. II. Cytology and ultrastructure. — J. Phycol. 5: 4–12.
- Marchant H.J. 1976. Plasmodesmata in algae and fungi. — In: Intercellular communication in plants: studies on plasmodesmata. Berlin. P. 59–80.
- [Masyuk] Масюк Н.П. 1993. Эволюционные аспекты морфологии эукариотических водорослей. Киев. 256 с.
- McCully M.E. 1965. A note on the structure of the cell walls of the brown alga *Fucus*. — Can. J. Bot. 43: 1001–1004.
- McCully M.E. 1968. Histological studies on the genus *Fucus* III. Fine structure and possible functions of the epidermal cells of the vegetative thallus. — J. Cell Sci. 3: 1–16.
- Nagasato C., Inoue A., Mizuno M., Kanazawa K., Ojima T., Okuda K., Motomura T. 2010. Membrane fusion process and assembly of cell wall during cytokinesis in the brown alga, *Silvetia babingtonii* (Fucales, Phaeophyceae). — Planta. 232 (2): 287–298.
- Nagasato C., Kajimura N., Terauchi M., Mineyuki Y., Motomura T. 2014. Electron tomographic analysis of cytokinesis in the brown alga *Silvetia babingtonii* (Fucales, Phaeophyceae). — Protoplasma. 251 (6): 1347–1357.
- Nagasato C., Tanaka A., Ito T., Katsaros C., Motomura T. 2017. Intercellular translocation of molecules via plasmodesmata in the multiserial filamentous brown alga, *Halopteris congesta* (Sphacelariales, Phaeophyceae). — J. Phycol. 53 (2): 333–341.
- Nagasato C., Terauchi M., Tanaka A., Motomura T. 2015. Development and function of plasmodesmata in zy-

- gotes of *Fucus distichus*. — *Botanica Marina*. 58 (3): 229–238.
- Nagasato C., Yonamine R., Motomura T. 2022. Ultrastructural observation of cytokinesis and plasmodesmata formation in brown algae. — In: *Plant cell division: methods and protocols*. Hertfordshire. P. 253–265.
- Parker B.C., Huber J. 1965. Translocation in *Macrocystis*. II. Fine structure of the sieve tubes. — *J. Phycol.* 1 (4): 172–179.
- [Perestenko] Перестенко Л.П. 1972. Индивидуальное развитие бурых водорослей и онтогенетический принцип построения филогенетических систем. — *Бот. журн.* 57 (7): 750–764.
- [Petrov] Петров Ю.Е. 1977. Отдел Бурые водоросли (Phaeophyta). — В кн.: *Жизнь растений*. Т. 3. М. С. 143–192.
- Raimundo S., Pattathil S., Eberhard S., Hahn M., Popper Z. 2017. β -1,3-Glucans are components of brown seaweed (Phaeophyceae) cell walls. — *Protoplasma*. 254 (2): 997–1016.
- Ramus J. 1969. Pit connection formation in the red alga *Pseudogloiophloea*. — *J. Phycol.* 5: 57–63.
- Raven J.A. 2003. Long-distance transport in non-vascular plants. — *Plant Cell Environ.* 26 (1): 73–85.
- Raven J.A. 2005. Evolution of plasmodesmata. — In: *Plasmodesmata*. Oxford. P. 33–52.
- [Ryzhik et al.] Рыжик И.В., Воскобойников Г.М., Тимофеева В.А. 2004. Размерно-весовые характеристики *Laminaria saccharina* (Phaeophyta) из разных биотопов Баренцева моря. — *Бот. журн.* 89 (11): 1763–1763.
- [Saut, Uittik] Саут Р., Уиттик А. 1990. Основы альгологии. М. 597 с.
- Schmitz K. 2012. Algae. — In: *Sieve elements: comparative structure, induction and development*. Luxembourg. P. 1–18.
- Schmitz K., Kühn R. 1982. Fine structure, distribution and frequency of plasmodesmata and pits in the cortex of *Laminaria hyperborea* and *L. saccharina*. — *Planta*. 154 (5): 385–392.
- Schmitz K., Srivastava L.M. 1975. On the fine structure of sieve tubes and the physiology of assimilate transport in *Alaria marginata*. — *Can. J. Bot.* 53 (9): 861–876.
- Schmitz K., Srivastava L.M. 1976. The fine structure of sieve elements of *Nereocystis lütkeana*. — *Am. J. Bot.* 63 (5): 679–693.
- [Sedova] Седова Т.В. 1977. Основы цитологии водорослей. Л. 172 с.
- Silberfeld T., Leigh J., Verbruggen H., Cruaud C., de Reviers B., Rousseau F. 2010. A multi-locus time-calibrated phylogeny of the brown algae (Heterokonta, Ochrophyta, Phaeophyceae): Investigating the evolutionary nature of the “brown algal crown radiation”. — *Mol. Phylogenet. Evol.* 56 (2): 659–674.
- Svendsen P., Kain J.M. 1971. The taxonomic status, distribution, and morphology of *Laminaria cucullata* Senu Jorde and Klavestad. — *Sarsia*. 46 (1): 1–22.
- Sykes M.G. 1908. Anatomy and histology of *Macrocystis pyrifera* and *Laminaria saccharina*. — *Ann. Bot.* 22 (86): 291–325.
- Terauchi M., Nagasato C., Kajimura N., Mineyuki Y., Okuda K., Katsaros C., Motomura T. 2012. Ultrastructural study of plasmodesmata in the brown alga *Dictyota dichotoma* (Dictyotales, Phaeophyceae). — *Planta*. 236 (4): 1013–1026.
- Terauchi M., Nagasato C., Motomura T. 2015. Plasmodesmata of brown algae. — *J. Plant Res.* 128 (1): 7–15.
- [Zinova] Зинова А.Д. 1953. Определитель бурых водорослей северных морей СССР. Л. 224 с.

PLASMODESMATA OF BROWN ALGAE (PHAEOPHYCEAE): STRUCTURE, LOCALIZATION AND FUNCTIONS

E. O. Kudryavtseva

V.L. Komarov Botanical Institute RAS
Professor Popov Str., 2, St. Petersburg, 197022, Russia
e-mail: ekato393@mail.ru

The present review outlines the history of the study of plasmodesmata in brown algae, describes their ultrastructure, which differs from that of other groups of algae and land plants, presents variants of localization of plasmodesmata in different members of Phaeophyceae — from a scattered location to arrangement into pit fields; the functions performed by plasmodesmata in the thalli of brown algae are listed. Possible prospects for further study of these structures are specified.

Keywords: brown algae, plasmodesmata, intercellular communications, pit fields, ultrastructure

ACKNOWLEDGEMENTS

The work was carried out within the framework of the institutional research project of the Komarov Botanical Institute RAS “Flora and systematics of algae, lichens and bryophytes of Russia and phyto-

geographically important regions of the world” (no. 121021600184-6).

The author expresses deep gratitude to her scientific supervisor, T.A. Mikhailova, for her comprehensive assistance and support in writing this work.

REFERENCES

- Biel K.Ya., Medyanikov V.M. 1981. Ultrastructura talloma i pervedizhenie productov fotosinteza v morskoy buroy vodorosli *Sargassum*. — Bot. Zhurn. 66 (5): 725–731 (In Russ.).
- Bisalputra T. 1966. Electron microscopic study of the protoplasmic continuity in certain brown algae. — Can. J. Bot. 44 (1): 89–93.
- Bourne V.L., Cole K. 1968. Some observations on the fine structure of the marine brown alga *Phaeostrophion invulgave*. — Can. J. Bot. 46: 1369–1375.
- Bringloe T., Starko S., Wade R., Vieira C., Kawai H., De Clerck O., Cock M., Coelho S., Destombe C., Valero M., Neiva J., Pearson G., Faugeton S., Serrão E., Verbruggen H. 2020. Phylogeny and Evolution of the Brown Algae. — Crit. Rev. Plant Sci. 39 (4): 281–321.
- Brunkard J.O., Runkel A.M., Zambryski P.C. 2015. The cytosol must flow: intercellular transport through plasmodesmata. — Curr. Opin. Cell Biol. 35: 13–20.
- Brunkard J.O., Zambryski P.C. 2017. Plasmodesmata enable multicellularity: new insights into their evolution, biogenesis, and functions in development and immunity. — Curr. Opin. Plant Biol. 35: 76–83.
- Cavalier-Smith T. 1981. Eukaryote kingdoms: seven or nine? — BioSystems. 14: 461–481.
- Cavalier-Smith T. 1986. The kingdom Chromista: origin and systematics. — In: Progress in Phycological Research. 4. Bristol. P. 309–347.
- Cavalier-Smith T. 1993. Kingdom Protozoa and its 18 phyla. — Microbiology Reviews. 57: 953–994.
- Chapman R.L., Good B.H. 1978. Ultrastructure of plasmodesmata and cross walls in *Cephaleuros*, *Phycopeltis* and *Trentepohlia* (Chroolepidaceae; Chlorophyta). — British Phycological Journal. 13: 241–246.
- Charrier B., Le Bail A., de Reviers B. 2012. Plant Proteus: brown algal morphological plasticity and underlying developmental mechanisms. — Trends Plant Sci. 17 (8): 468–477.
- Cole K. 1969. The cytology of *Eudesme virescens* (Carm.) J. Ag. II. Ultrastructure of cortical cells. — Phycologia. 8 (2): 101–108.
- Cole K. 1970. Ultrastructural characteristics in some species in the order Scytosiphonales. — Phycologia. 9 (3/4): 275–283.
- Cook M.E., Graham L.E. 1999. Evolution of plasmodesmata. — In: Plasmodesmata. Berlin. P. 101–117.
- Davies J.M., Ferrier N.C., Johnston C.S. 1973. The ultrastructure of the meristoderm cells of the hapteron of *Laminaria*. — Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom. 53: 237–246.
- Dawes C.J., Scott F.M., Bowler E. 1960. Light and electron microscope study of cell walls of brown and red algae. — Science. 132 (3440): 1663–1664.
- De Reviers B., Rousseau F., Draisma S.G.A. 2007. Classification of the Phaeophyceae from past to present and current challenges. — In: Unravelling the algae: the past, present, and future of algal systematics. Boca Raton. P. 267–284.
- Evkaikina A.I., Romanova M.A., Voitsekhovskaja O.V. 2014. Plasmodesmata and cell-to-cell transport of macromolecular regulators: evolutionary aspect. — In: Botany: history, theory, practice (to the 300-year anniversary of Komarov Botanical Institute of the Russian Academy of Sciences. St. Petersburg. P. 92–100 (In Russ.).
- Fraser T.W., Gunning B.E.S. 1969. The ultrastructure of plasmodesmata in the filamentous green alga, *Bulbochaete hiloensis* (Nordst.) Tiffany. — Planta. 88: 244–254.
- Galatis B., Katsaros C., Mitrakos K. 1977. Fine structure of vegetative cells of *Sphacelaria tribuloides* Menegh. (Phaeophyceae, Sphacelariales) with special reference to some unusual proliferations of the plasmalemma. — Phycologia. 16 (2): 139–151.
- Kamnev A.N. 1989. Struktura i funktsii burykh vodorosley [Structure and function of brown algae]. Moscow. 200 p. (In Russ.).
- Katsaros C., Motomura T., Nagasato C., Galatis B. 2009. Diaphragm development in cytokinetic vegetative cells of brown algae. — Botanica Marina. 52 (2): 150–161.
- Kawai H., Hanyuda T., Draisma S.G.A., Muller D.G. 2007. Molecular phylogeny of *Discosporangium mesarthrocarpum* (Phaeophyceae) with a reinstatement of the order Discosporangiales. — J. Phycol. 43 (1): 186–194.
- Kusidi A.E. 2007. Biologiya razvitiya nekotorykh vidov roda v prikamchatskikh vodakh [Development biology of some species of the genus *Laminaria* in Kamchatka waters]: Abstr. ... Diss. Kand. Sci.]. Petropavlovsk-Kamchatskiy. 26 p. (In Russ.).
- Kusidi A.E., Klochkova N.G. 2009. Growth and seasonal development strategy of *Saccharina dentigera* (Phaeophyta, Laminariales) on east Kamchatka. — Issledovaniya vodnykh biologicheskikh resursov Kamchatki i severo-zapadnoy chasti Tikhogo okeana. 14: 14–19 (In Russ.).
- Liddle L.B., Neushul M. 1969. Reproduction in *Zonaria farlowii*. II. Cytology and ultrastructure. — J. Phycol. 5: 4–12.
- Marchant H.J. 1976. Plasmodesmata in algae and fungi. — In: Intercellular communication in plants: studies on plasmodesmata. Berlin. P. 59–80.
- Masyuk N.P. 1993. Evolyutsionnye aspekty morfologii eukarioticheskikh vodorosley. Kiev. 256 p. (In Russ.).
- McCully M.E. 1965. A note on the structure of the cell walls of the brown alga *Fucus*. — Can. J. Bot. 43: 1001–1004.
- McCully M.E. 1968. Histological studies on the genus *Fucus* III. Fine structure and possible functions of the epidermal cells of the vegetative thallus. — J. Cell Sci. 3: 1–16.
- Nagasato C., Inoue A., Mizuno M., Kanazawa K., Ojima T., Okuda K., Motomura T. 2010. Membrane fusion process and assembly of cell wall during cytokinesis in the brown alga, *Silvetia babingtonii* (Fucales, Phaeophyceae). — Planta. 232 (2): 287–298.
- Nagasato C., Kajimura N., Terauchi M., Mineyuki Y., Motomura T. 2014. Electron tomographic analysis of cytokinesis in the brown alga *Silvetia babingtonii* (Fucales, Phaeophyceae). — Protoplasma. 251 (6): 1347–1357.
- Nagasato C., Tanaka A., Ito T., Katsaros C., Motomura T. 2017. Intercellular translocation of molecules via plasmodesmata in the multiserial filamentous brown alga,

- Halopteris congesta* (Sphacelariales, Phaeophyceae). — J. Phycol. 53 (2): 333–341.
- Nagasato C., Terauchi M., Tanaka A., Motomura T. 2015. Development and function of plasmodesmata in zygotes of *Fucus distichus*. — Botanica Marina. 58 (3): 229–238.
- Nagasato C., Yonamine R., Motomura T. 2022. Ultrastructural observation of cytokinesis and plasmodesmata formation in brown algae. — In: Plant cell division: methods and protocols. Hertfordshire. P. 253–265.
- Parker B.C., Huber J. 1965. Translocation in *Macrocystis*. II. Fine structure of the sieve tubes. — J. Phycol. 1 (4): 172–179.
- Perestenko L.P. 1972. Individualnoe razvitiye burykh vodorosley I ontogeneticheskii printsip postroeniya filogeneticheskikh sistem [Individual development of brown algae and the ontogenetic principle of constructing phylogenetic systems]. — Bot. Zhurn. 57 (7): 750–764 (In Russ.).
- Petrov Yu.E. 1977. Otdel Burye vodorosli (Phaeophyta) [Phylum of Brown Algae (Phaeophyta)]. — In: Zhizn' rasteniy. Vol. 3. Moscow. P. 143–192 (In Russ.).
- Raimundo S., Pattathil S., Eberhard S., Hahn M., Popper Z. 2017. β -1,3-Glucans are components of brown seaweed (Phaeophyceae) cell walls. — Protoplasma. 254 (2): 997–1016.
- Ramus J. 1969. Pit connection formation in the red alga *Pseudogloiophloea*. — J. Phycol. 5: 57–63.
- Raven J.A. 2003. Long-distance transport in non-vascular plants. — Plant Cell Environ. 26 (1): 73–85.
- Raven J.A. 2005. Evolution of plasmodesmata. — In: Plasmodesmata. Oxford. P. 33–52.
- Ryzhik I.V., Voskoboinikov G.M., Timofeeva V.A. 2004. Dimensional and weight characteristics of *Laminaria saccharina* (Phaeophyta) from different biotopes of the Barents Sea. — Bot. Zhurn. 89 (11): 1763–1763 (In Russ.).
- Saut R., Uittik A. 1990. Fundamentals of algology. Moscow. 597 p. (In Russ.).
- Schmitz K. 2012. Algae — In: Sieve elements: comparative structure, induction and development. Luxembourg. P. 1–18.
- Schmitz K., Kühn R. 1982. Fine structure, distribution and frequency of plasmodesmata and pits in the cortex of *Laminaria hyperborea* and *L. saccharina*. — Planta. 154 (5): 385–392.
- Schmitz K., Srivastava L.M. 1975. On the fine structure of sieve tubes and the physiology of assimilate transport in *Alaria marginata*. — Can. J. Bot. 53 (9): 861–876.
- Schmitz K., Srivastava L.M. 1976. The fine structure of sieve elements of *Nereocystis lütkeana*. — Am. J. Bot. 63 (5): 679–693.
- Sedova T.V. 1977. Osnovy tsytologii vodorosley [Basics of algal cytology]. Leningrad. 172 p. (In Russ.).
- Silberfeld T., Leigh J., Verbruggen H., Cruaud C., de Reviers B., Rousseau F. 2010. A multi-locus time-calibrated phylogeny of the brown algae (Heterokonta, Ochrophyta, Phaeophyceae): Investigating the evolutionary nature of the “brown algal crown radiation”. — Mol. Phylogenet. Evol. 56 (2): 659–674.
- Svendsen P., Kain J.M. 1971. The taxonomic status, distribution, and morphology of *Laminaria cucullata* Sensus Jorde and Klavestad. — Sarsia. 46(1): 1–22.
- Sykes M.G. 1908. Anatomy and histology of *Macrocystis pyrifera* and *Laminaria saccharina*. — Ann. Bot. 22 (86): 291–325.
- Terauchi M., Nagasato C., Kajimura N., Mineyuki Y., Okuda K., Katsaros C., Motomura T. 2012. Ultrastructural study of plasmodesmata in the brown alga *Dictyota dichotoma* (Dictyotales, Phaeophyceae). — Planta. 236 (4): 1013–1026.
- Terauchi M., Nagasato C., Motomura T. 2015. Plasmodesmata of brown algae. — J. Plant Res. 128 (1): 7–15.
- Zinova A.D. Opredelitel' burykh vodorosley severnykh morey SSSR [Keys to brown algae of the northern seas of the USSR]. Leningrad. 224 p. (In Russ.).

СООБЩЕНИЯ

ВЛИЯНИЕ СЫРОЙ НЕФТИ НА РАЗВИТИЕ
ЗИГОТ И ПРОРОСТКОВ ЗЕЛЕННОЙ ВОДОРОСЛИ
ULVA LACTUCA (ULVACEAE) БАРЕНЦЕВА МОРЯ

© 2023 г. Д. О. Салахов^{1,*}, Д. В. Пуговкин^{1,**}, Г. М. Воскобойников^{1,***}

¹Мурманский морской биологический институт РАН
ул. Владимирская, 17, Мурманск, 183038, Россия

*e-mail: salahov04@yandex.ru

**e-mail: pugovkin2005@yandex.ru

***e-mail: grvosk@mail.ru

Поступила в редакцию 19.04.2023 г.

После доработки 04.10.2023 г.

Принята к публикации 10.10.2023 г.

Определена способность к развитию зигот и проростков зеленой водоросли *Ulva lactuca* под влиянием сырой нефти в различных концентрациях. При содержании в воде 1 мг/л нефть не оказывает повреждающего действия на прорастание зигот и дальнейшее развитие из них многоклеточных проростков. Ювенильные проростки имеют более широкий диапазон толерантности, чем зиготы и могут развиваться при содержании нефти в морской воде до 3 мг/л. Реальная угроза гибели зигот, обеспечивающих пополнение молодыми талломами популяций ульвовых на литорали, наблюдается при кратковременном загрязнении нефтью более 25 мг/л, либо при постоянном загрязнении нефтью более 5 мг/л. Содержание нефти в воде 25 мг/л и выше останавливает развитие большинства проростков, необратимо разрушая структуру их клеток. Скорость и степень повреждения *Ulva lactuca* на ранних стадиях онтогенеза зависят от длительности разлива нефти (или нефтепродуктов) и концентрации ее в среде.

Ключевые слова: Баренцево море, *Ulva lactuca*, зиготы, проростки, сырая нефть, толерантность к токсиканту

DOI: 10.31857/S000681362310006X, EDN: YDMRRD

Увеличение грузопотока у Мурманского побережья Баренцева моря в последнее десятилетие, ввод в эксплуатацию на берегу Кольского залива предприятий по перегрузке, хранению и переработке углеводородного сырья, рост маломерного флота в губах Западного и Восточного Мурмана из-за расширения туризма влекут за собой постоянное поступление в прибрежную акваторию углеводородов нефти и нефтепродуктов. Нами и другими исследователями был определен диапазон толерантности к данным токсикантам у различных видов макроводорослей. Большая часть этих сведений была получена в экспериментах на взрослых талломах водорослей, где основным загрязнителем было дизельное топливо (Stepanian, 2003; Salakhov et al., 2020a, b, 2021; Voskoboinikov et al., 2020; Ryzhik et al., 2022). Целью настоящей работы было определение влияния различных концентраций сырой нефти на развитие зигот и проростков зеленой водоросли *Ulva lactuca* Linnaeus 1753, которая

в массовом количестве была обнаружена на литорали Мурманского побережья сравнительно недавно (Malavenda et al., 2018).

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Влияние сырой нефти на зиготы и проростки *Ulva lactuca* изучалось в июле–августе 2022 г. на сезонной биостанции Мурманского морского биологического института РАН в пос. Дальние Зеленцы. Фертильные талломы *U. lactuca* собирались на среднем горизонте литорали губы Зеленецкой (69°7'17" с.ш., 36°3'53" в.д.). Воду для экспериментов соленостью 33‰ отбирали в месте обитания водорослей, фильтровали через ватно-марлевый фильтр, стерилизовали при +60°C в течение двух суток, охлаждали для экспериментов до +8°C. Эксперименты проводили в термостатируемой комнате при температуре +8–+10°C. Методика получения зигот и проростков ульвы на

предметных стеклах описана ранее (Salakhov et al., 2020a).

Предметные стекла с прикрепившимися зиготами размещали в чашках Петри и заливали по 40 мл подготовленной для экспериментов морской водой. Часть чашек с зиготами использовали для первого эксперимента: “Влияние нефти на развитие зигот *U. lactuca*”, другая часть зигот с проростками из 4–6 клеток — для второго опыта: “Анализ развития проростков ульвы при различных концентрациях нефти”. По окончании первого эксперимента препараты с зиготами, остановившимися в развитии, из морской воды с нефтью переносились на 10 дней в чистую морскую воду для определения восстановления способности к прорастанию. Концентрация токсиканта в опытах на зиготах превышала установленные нормы ПДК (предельно допустимая концентрация) нефти для рыбохозяйственных водоемов в 20 (1 мг/л), 100 (5 мг/л), 500 (25 мг/л) раз, а на проростках — в 20, 60, 100, 500 раз (Salakhov et al., 2020b). Контролем для обоих экспериментов служили чашки Петри с зиготами и проростками, в которые добавляли стерилизованную морскую воду с фоновым уровнем содержания нефтепродуктов в воде из места отбора проб водорослей около 0.2 мг/л (4 ПДК). Во избежание испарения воды чашки Петри обматывали герметичной пленкой — “Парафилмом”.

Воду в чашках Петри в опытах и контроле меняли с периодичностью 1 раз в 3 дня. Длительность эксперимента составляла 20 дней. Для определения морфологического состояния клеток просматривали нефиксированные препараты зигот и проростков ульвы на предметных стеклах с использованием светового микроскопа ЛОМО Микмед-6 Вариант 7 с системой фото- и видеофиксации.

На всех этапах эксперимента (способность к прорастанию/развитию и способность к восстановлению) для световой микроскопии из каждого варианта использовали по три предметных стекла с зиготами/проростками. На каждом стекле просматривали не менее ста объектов.

Для электронно-микроскопических исследований проростки снимались с предметных стекол лезвиями бритвы и помещались в пробирки Эппендорфа с фиксатором. Предфиксация проводилась 2.5% глутаровым альдегидом на какодильном буфере (к-к-б), pH 7.2–7.4, а постфиксация — 1% оксидом осмия (OsO_4) на аналогичном буфере. Осмотическое давление обоих фиксаторов доводилось до осмотического давления морской воды в среде обитания (1100 мосм) с помощью сахарозы. Фиксация проходила при температуре от 0 до +5°C по схеме: глутаровым

альдегидом 18 часов, отмывка к-к-б — 2 смены по 6 часов, постфиксация оксидом осмия — 18 час. Далее материал готовился к просмотру на электронном микроскопе JEM-100C (фирмы JEOL) по общепринятым методикам (Uikli, 1975).

РЕЗУЛЬТАТЫ

В контрольном варианте первого опыта “Влияние нефти на развитие зигот” (без дополнительного введения нефти в воду) и в варианте при содержании нефти в воде 20 ПДК все зиготы проросли на 2–3 сутки от начала эксперимента. На пятые сутки проростки состояли из 2–3 клеток и достигали в длину 15–20 мкм. Зиготы, как и клетки ювенильных проростков, имели зеленую насыщенную окраску (рис. 1a). Светооптические и электронно-микроскопические наблюдения показали отсутствие в клетках проростков плазмолиза (рис. 1b–c). Хлоропласты в клетках ювенильных проростков занимали пристеночное, либо центральное положение.

На 20 сутки в контроле и при 20 ПДК нефти в воде большая часть проростков (90%) состояла из 10–12, а некоторые из 15 клеток (рис. 1b). Если в начале эксперимента клетки имели овальную форму, то к концу опыта большей частью квадратную. 50–70% объема клетки занимал хлоропласт. В большинстве клеток выявлялись гранулы крахмала, которые занимали до 40% объема (рис. 1c–2). Также необходимо отметить сформированную клеточную оболочку и ядро (рис. 1c–1, 3). Все клетки имели насыщенную зеленую окраску, хлоропласты располагались пристеночно, либо в центральной части клетки. Плазмолиза, признаков повреждения в клетках проростков не отмечалось.

При содержании нефти в воде 1–5 мг/л (от 20 до 100 ПДК) проросли все зиготы, но на 5–6 сутки, а не на 2–3, как в контроле. Основная часть проростков к концу опыта состояла из 4–5 клеток. Хлоропласты имели, как и в контроле, ярко-зеленую окраску и располагались в основном в центре клетки.

При повышении концентрации нефти в среде до 25 мг/л (500 ПДК) на 5 день эксперимента проросли лишь единичные зиготы (не более 10% от общего количества). Значительная их часть оставалась в развитии на стадии формирования “трубки”. К 20 суткам эксперимента основная масса зигот так и не начала развиваться (рис. 1d). Незначительное количество образовавшихся проростков состояло из 1–2, реже — из 3–4 клеток, имеющих признаки деградации: изменение

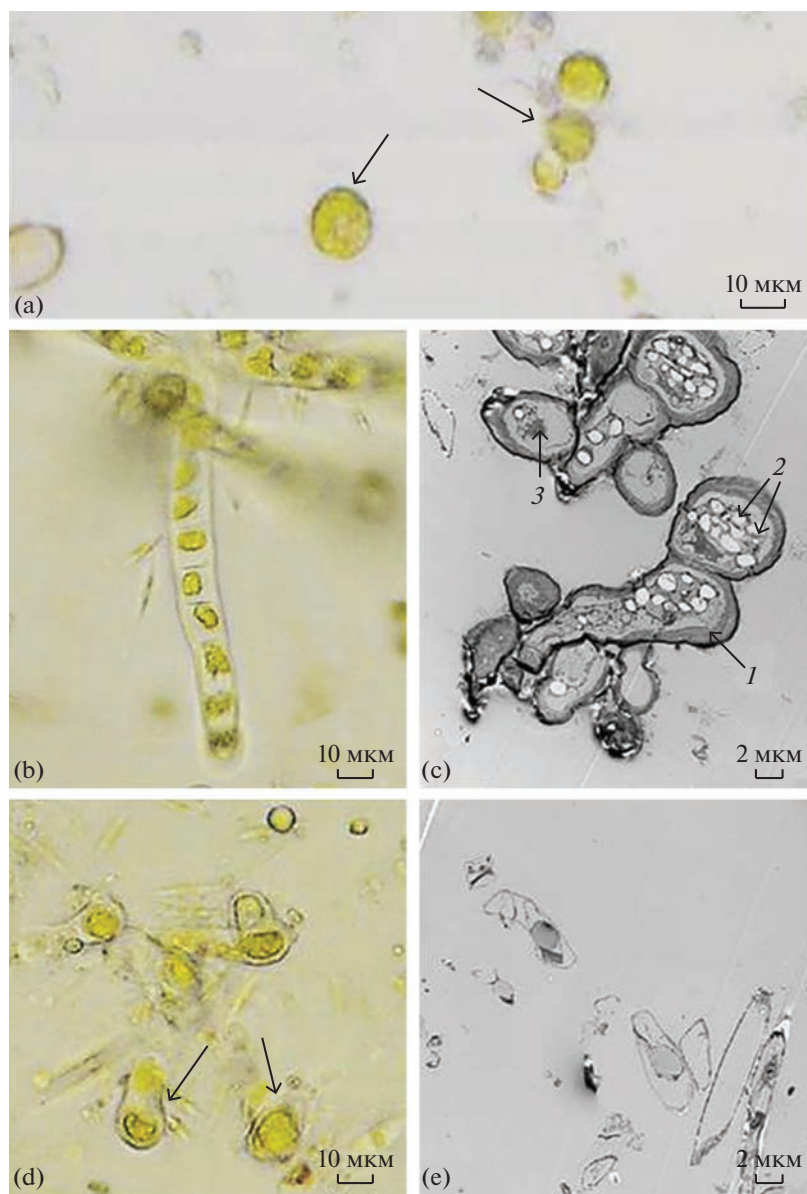


Рис. 1. Зиготы и проростки *Ulva lactuca* в первой части эксперимента: а – прикрепившиеся зиготы в первый день эксперимента (отмечены стрелками); б – клетки контрольных проростков на 20 день эксперимента (хлоропласты обозначены стрелками); в – ультраструктура контрольных проростков через 20 суток опыта: (1 – клеточная оболочка, 2 – крахмальные глобулы, 3 – ядро); д – клетки опытных образцов проростков, находившихся под влиянием сырой нефти 25 мг/л (500 ПДК) (стрелками отмечены остановившиеся в развитии проростки); е – ультраструктура клеток опытных образцов проростков, находившихся под влиянием сырой нефти 25 мг/л (500 ПДК).

Fig. 1. Zygotes and seedlings of *Ulva lactuca* in the first part of the experiment: а – attached zygotes on the first day of the experiment (marked with arrows); б – cells of control seedlings on the 20th day of the experiment (chloroplasts are indicated with arrows); в – ultrastructure of control seedlings after 20 days of the experiment: (1 – cell membrane, 2 – starch globules, 3 – nucleus); д – cells of experimental samples of seedlings that were under the influence of crude oil 25 mg/l (500 MPC) (arrows indicate seedlings that have stopped developing); е – ultrastructure of cells of experimental samples of seedlings under the influence of crude oil 25 mg/l (500 MPC).

формы клеток, плазмолиз, обесцвечивание хлоропластов (рис. 1е).

Перенос предметных стекол с зиготами, остановившимися в развитии при содержании нефти 500 ПДК, в чистую морскую воду, не простимулировал

развития зигот, как и, соответственно, не было отмечено развития ювенильных проростков.

В течение всего второго эксперимента (влияние нефти на ювенильные проростки) в контрольном варианте (без добавления нефти) проростки разви-

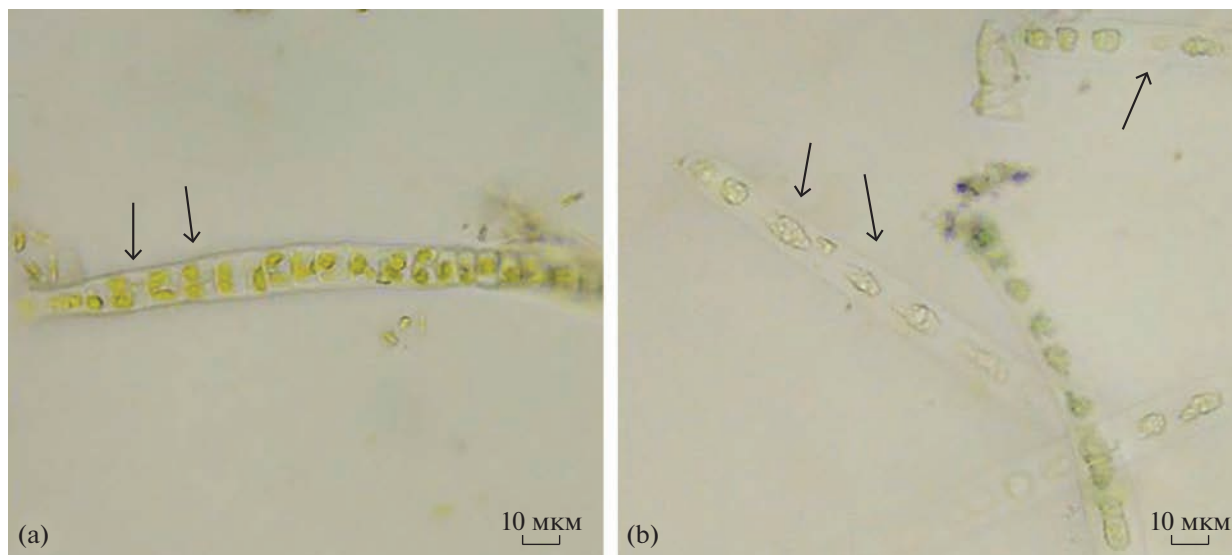


Рис. 2. Проростки *Ulva lactuca* через 20 суток эксперимента: а — контрольный образец проростков (стрелками обозначено появление второго ряда клеток); б — проростки, находящиеся под влиянием нефти 25 мг/л (500 ПДК) (стрелками обозначены практически полностью обесцвеченные клетки).

Fig. 2. *Ulva lactuca* seedlings after 20 days of the experiment: а — control sample of seedlings (arrows indicate the appearance of the second row of cells); б — seedlings under the influence of oil 25 mg/l (500 MPC) (arrows indicate almost completely discolored cells).

вались и увеличивались в размерах. Число клеток в проростках выросло с 4–6 в начале эксперимента до 36 в конце (20 суток). Длина проростков достигала к концу опыта 400 мкм. На 20 сутки было отмечено появление второго ряда клеток — признака, характерного для *U. lactuca* (рис. 2а).

При добавлении сырой нефти в концентрациях 1–3 мг/л (20–60 ПДК) развитие проростков ульвы не отличалось от контрольного варианта. Плазмолиза и деструкции хлоропластов, изменения зеленой окраски клеток не отмечалось, наблюдался активный рост клеток. На 10 сутки проростки насчитывали до 10–12 клеток, на 15 сутки некоторые экземпляры — 25–27 клеток, а к 20 суткам опыта проростки состояли из 20–35 клеток и имели длину до 350–400 мкм. Как и в контроле, в опытных вариантах с содержанием нефти в воде 20 и 60 ПДК к концу эксперимента формировался второй ряд клеток.

При концентрации нефти 5 мг/л (100 ПДК) в течение 15 дней проростки активно развивались, плазмолиза и деструктивных изменений в клетках не выявлялось. В клетках прямоугольной формы, размером 10 × 15 мкм, хлоропласты располагались пристеночно, либо по центру клетки, и занимали не более 50% объема. Основная масса проростков состояла из 10–15 клеток, но единичные экземпляры достигали 30 клеток и размера до 350 мкм. На 20 сутки опыта в клетках отмечались признаки плазмолиза и деструкции хлоропла-

стов. Некоторые клетки были полностью обесцвечены. Наряду с поврежденными проростками на стеклах присутствовали единичные проростки без признаков деградации. Некоторые из них насчитывали от 20 до 35 клеток, и достигали длины 400 мкм, большая же часть проростков состояла из 10–15 клеток и не превышала длины 100–150 мкм.

При содержании нефти в воде 25 мг/л (500 ПДК) после 10 суток эксперимента у большинства проростков (90%) не отмечалось роста числа клеток или увеличения их размеров. Однако примерно у 10% проростков регистрировалось увеличение числа клеток (с 4–6 до 10–12). Обесцвечивания или гибели клеток у проростков не отмечалось. На 20 день опыта большая часть клеток в проростках имела признаки деградации (рис. 2б): потеряла ярко-зеленую окраску, которая была присуща проросткам контрольного варианта эксперимента, а также при воздействии на них относительно невысоких концентраций (20–100 ПДК) нефти. Количество клеток у таких проростков не превышало 8–12. На данной стадии эксперимента присутствовали и полностью обесцвеченные проростки (не более 5% от общего количества). У небольшой части проростков при содержании нефти в воде 500 ПДК отмечалось увеличение числа клеток до 20–25.

ОБСУЖДЕНИЕ

Анализ экспериментальных данных показал, что сырая нефть при содержании в воде 1 мг/л (20 ПДК) не оказывала повреждающего действия на развитие зигот *U. lactuca*. Все зиготы проросли, дав начало многоклеточным проросткам. Повышение содержания нефти в воде до 5 мг/л (100 ПДК) также не влияло на жизнеспособность зигот, но отмечалось увеличение продолжительности периода их прорастания в 2 раза. Способность к прорастанию зигот и развитию появившихся проростков резко падала при повышении концентрации токсиканта в воде до 25 мг/л (500 ПДК). При такой концентрации прорастало лишь небольшое число зигот, которое образовывало проростки из 1–2, реже из 3–4 клеток. Дальнейшего развития такие проростки не получали даже при переносе их в чистую морскую воду. Подобные изменения были выявлены в экспериментах по влиянию сырой нефти на ранние стадии развития *Fucus serratus* (Thélin, 1981). В результате экспериментов этого автора было показано, что наиболее чувствительными являлись водоросли на стадии прорастания (прорастающие зиготы) и проростки. Позднее О.В. Степаньяном (Stepanian, 2003, 2013) подтвердилась точка зрения о влиянии нефти на ранние стадии развития водорослей. В экспериментах автор наблюдал 100% прорастание зигот у близкого к нашему объекту вида *Enteromorpha intestinalis* (*Ulva intestinalis*) при концентрации сырой нефти 30 мг/л (600 ПДК), однако после прорастания, как и в нашем эксперименте, развития проростков не происходило, а, наоборот, на вторые сутки после прорастания, отмечалось отмирание 2–3-клеточных нитей. Меньшее содержание нефти в воде (10 ПДК) по данным О.В. Степаньяна (Stepanian, 2013) не вызывало гибели и нарушений в строении водоросли в течение 15 суток. Необходимо отметить, что торможение, а иногда и подавление развития зигот у ульвовых и эмбриоспор у ламинариевых выявлено под влиянием и других факторов: ультрафиолет, тяжелые металлы, температура. В ряде случаев, после устранения воздействия повреждающего фактора и лаг-фазы различной продолжительности, способность к образованию “трубки” и дальнейшему развитию у зигот или эмбриоспор восстанавливалась (Voskoboinikov, 2006). По данным наших исследований фоновое содержание нефтепродуктов в большинстве губ Восточного Мурмана составляет 4–8 ПДК (Salakhov et al., 2020a, b) и не является препятствием для прохождения ранних стадий развития данного вида ульвы в прибрежье Восточного Мурмана. Кратковременная концентрация нефти в воде от 5 до 25 мг/л (100–500 ПДК), которая может создаваться разовыми выбросами углеводородного сы-

рья во время повреждений нефтепроводов, при авариях на предприятиях по перегрузке, переработке углеводородного сырья, благодаря приливно-отливному обмену воды достаточно быстро уменьшается, и, как показали наши эксперименты, не подавляет развития зигот. Можно предположить, что реальная угроза гибели зигот и прекращения пополнения молодыми талломами популяций ульвовых на литорали происходит при разливах нефти, создающих кратковременное загрязнение более 500 ПДК, либо при наличии постоянного загрязнения нефтью, превышающего 100 ПДК. Результаты проведенных нами экспериментов показывают, что зиготы менее устойчивы к воздействию нефти, чем сформировавшиеся проростки, имеющие в своем строении 4–6 клеток. Об этом свидетельствует замедление в развитии и прорастании зигот на 20 день эксперимента уже при концентрации нефти в среде от 1 мг/л (20 ПДК). У сформировавшихся проростков таких изменений в скорости развития не отмечалось при концентрации нефти до 3 мг/л (60 ПДК). При повышении концентрации токсиканта до 25 мг/л (500 ПДК), через 20 суток основная масса зигот осталась не проросшей, либо проросла, но остановилась в развитии на стадии 2–3 клеток. У проростков отмечен иной характер ответной реакции на присутствие токсиканта: при концентрации нефти 25 мг/л (500 ПДК) разрушения клеточных структур не наблюдалось у 100% особей, однако 90% не прибавили в росте относительно первого дня опыта.

Сырая нефть — токсикант естественной природы, в состав которой входят как высокомолекулярные, так и низкомолекулярные фракции, способные по-разному влиять на растительные организмы. Наибольшую опасность для морских обитателей после разлива нефтепродуктов представляют низкомолекулярные вещества. Это обуславливается их хорошей растворимостью в воде, а также способностью быстро проникать в живые клетки и разрушать их (Patin, 2008). Тонкая клеточная стенка проростков слабо препятствует проникновению токсиканта внутрь клетки. По-видимому, еще проще осуществляется проникновение легких фракций через плазматическую мембрану, ограничивающую от внешней среды зиготу. В случае же взрослых талломов ульвы, клетки которых окружены плотной целлюлозной оболочкой, трансформация нефтепродуктов происходит на внешней поверхности оболочки таллома эпифитными углеводородокисляющими бактериями. Данные электронной микроскопии подтверждают присутствие бактерий на поверхности взрослых талломов ульвы и их отсутствие на поверхности оболочки у зигот и ювенильных

проростков. Вместе с тем при проникновении токсических веществ в клетки макроводорослей образуются активные формы кислорода, в свою очередь активирующие антиоксидантную систему клетки (АСК), ферменты которой обезвреживают токсикант. Данный механизм описан у взрослых талломов *U. lactuca* (Pilatti et al., 2016; Ryzhik, Makarov, 2019). Ранее высказывалось предположение о формировании АСК у проростков *U. lactuca*, защищающей клетки водорослей от воздействия дизельного топлива (Salakhov et al., 2020a, b). Можно также предположить, что АСК формируется уже на стадии зиготы, которая представляет собой одноклеточный организм. По-видимому, именно существование АСК является определяющим в выживании водорослей на стадиях зиготы и проростка в условиях нефтяного загрязнения.

ВЫВОДЫ

Сырая нефть при содержании в воде до 20 ПДК не оказывает повреждающего действия на прорастание зигот *Ulva lactuca* и дальнейшее развитие из них многоклеточных проростков. Реальная угроза гибели зигот и прекращения пополнения молодыми талломами литоральных популяций ульвовых происходит при разливах нефти, создающих кратковременное загрязнение более 25 мг/л (500 ПДК), либо при наличии постоянного загрязнения нефтью, превышающего 5 мг/л (100 ПДК).

Сырая нефть при содержании в воде до 3 мг/л (60 ПДК) не оказывает на 3–4-клеточные проростки повреждающего действия, которое проявляется при содержании в воде 5 мг/л 100 ПДК, и останавливает развитие большей части проростков, необратимо разрушая структуру клеток, при содержании нефти в воде 25 мг/л (500 ПДК).

Скорость и степень повреждения *Ulva lactuca* на ранних стадиях онтогенеза зависит от длительности разлива нефти (или нефтепродуктов) и концентрации ее в среде.

БЛАГОДАРНОСТИ

Исследование выполнено в рамках гранта РНФ 22-17-00243 “Радиационная океанология и геоэкология прибрежного шельфа Баренцева и Белого морей. Биокосные взаимодействия в системе: донные отложения—вода—макроводоросли—микроорганизмы, их роль в ремедиации морской прибрежной экосистемы при радиационном и химическом загрязнении в условиях Арктики”.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Malavenda S., Makarov M., Ryzhik I., Mityaev M., Malavenda S. 2018. Occurrence of *Ulva lactuca* L. 1753 (Ulvacaeae, Chlorophyta) at the Murman Coast of the Barents Sea. — Polar Research. 37 (1). 1503912. <https://doi.org/10.1080/17518369.2018.1503912>
- [Patin] Патин С.А. 2008. Нефтяные разливы и их воздействие на морскую среду и биоресурсы. М. 508 с.
- Pilatti F.K., Ramlov F., Schmidt E.K., Kreusch M., Pereira D.T., Costa C., Oliveira E.R., Bauer C.M., Rocha M., Bouzon Z.L., Maraschin M. 2016. In vitro exposure of *Ulva lactuca* Linnaeus (Chlorophyta) to gasoline. — Biochemical and Morphological Alterations. Chemosphere. 156: 428–437. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2016.04.126>
- Ryzhik I.V., Makarov M.V. 2019. Effect of diesel fuel film on green algae *Ulva lactuca* L. and *Ulvaria obscura* (Kützting) Gayral ex Bliding of the Barents Sea. — In: IOP Conference Series: Earth and Environmental Science. 302 (1): 012029. <https://doi.org/10.1088/1755-1315/302/1/012029>
- Ryzhik I.V., Pugovkin D.V., Salakhov D.O., Klindukh M.P., Voskoboynikov G.M. 2022. Physiological changes and rate of resistance of *Acrosiphonia arcta* (Dillwyn) Gain upon exposure to diesel fuel. — Heliyon. 8 (8): e10177. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2022.e10177>
- [Salakhov et al.] Салахов Д.О., Воскобойников Г.М., Рыжик И.В. 2020a. Влияние дизельного топлива на развитие проростков *Ulva lactuca* L. (Chlorophyta) Баренцева моря. — Наука Юга России. 16: 55–59. <https://doi.org/10.7868/S25000640200107>
- Salakhov D.O., Pugovkin D.V., Ryzhik I.V., Voskoboynikov G.M. 2020b. The influence of diesel fuel on morpho-functional state of *Ulvaria obscura* (Chlorophyta). — In: IOP Conference Series: Earth and Environmental Science. 539 (1): 012202. <https://doi.org/10.1088/1755-1315/539/1/012202>
- Salakhov D.O., Pugovkin D.V., Ryzhik I.V., Voskoboynikov G.M. 2021. The changes in the morpho-functional state of the green alga *Ulva intestinalis* L. in the Barents Sea under the influence of diesel fuel. — In: IOP Conference Series: Earth and Environmental Science. 937 (2): 022059. <https://doi.org/10.1088/1755-1315/937/2/022059>
- [Stepanian] Степаньян О.В. 2003. Морфофункциональные перестройки у водорослей-макрофитов Баренцева моря под влиянием нефти и нефтепродуктов: Автореф. ... дис. канд. биол. наук. Мурманск. 29 с.
- [Stepanian] Степаньян О.В. 2013. Влияние сырой нефти на ранние стадии развития макроводорослей Баренцева моря. — Бот. журн. 98 (7): 903–912.
- Thélin I. 1981. Effects, en culture, de deux pétroles bruts et d'un dispersant pétrolier sur les zygotes et les plantules de *Fucus serratus* Linnaeus (Fuciales, Phaeophyceae). — Bot. Mar. 24: 515–519.
- [Uikli] Уикли Б. 1975. Электронная микроскопия для начинающих. М. 324 с.

[Voskoboinikov] Воскобойников Г.М. 2006. Механизмы адаптации, регуляции роста и перспективы использования макрофитов Баренцева моря: Дис. ... докт. биол. наук. Мурманск. 465 с.

[Voskoboinikov et al.] Воскобойников Г.М., Рыжик И.В., Салахов Д.О., Метелькова Л.О., Жаковская З.А., Ло-

пушанская Е.М. 2020. Поглощение и преобразование дизельного топлива водорослью *Palmaria palmata* (Linnaeus) F. Weber et D. Mohr, 1805 (Rhodophyta) и ее возможная роль в биоремедиации морской воды. — Биология моря. 46 (2): 135–141. <https://doi.org/10.31857/S0134347520020102>

INFLUENCE OF CRUDE OIL ON THE DEVELOPMENT OF ZYGOTES AND SEEDLINGS OF THE GREEN ALGA *ULVA LACTUCA* (ULVACEAE) OF THE BARENTS SEA

D. O. Salakhov^{a, #}, D. V. Pugovkin^{a, ##}, and G. M. Voskoboinikov^{a, ###}

^aMurmansk Marine Biological Institute RAS Vladimirskaia Str., 17, Murmansk, 183010, Russia

[#]e-mail: salahov04@yandex.ru

^{##}e-mail: pugovkin2005@yandex.ru

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

The ability of the zygotes and seedlings of the green alga *Ulva lactuca* to develop under the influence of crude oil in various concentrations was determined. The oil at a content of 1 mg/l in water does not have a damaging effect on the germination of zygotes and their further development into multicellular seedlings. Juvenile seedlings have a wider tolerance range than zygotes and can develop under oil content in marine water up to 3 mg/l. The real threat of the death of zygotes, which provide replenishment of ulva algae thickets in the littoral with young thalli, is observed under short-term oil pollution of more than 25 mg/l, or with constant oil pollution of more than 5 mg/l. The oil content in water of 25 mg/l and above stops the development of most seedlings by irreversibly destroying the structure of their cells.

Keywords: *Ulva lactuca*, Barents Sea, zygotes, seedlings, crude oil, tolerance to toxicant

ACKNOWLEDGEMENTS

The study was carried out within the framework of the grant of the Russian National Research Foundation 22-17-00243 “Radiation oceanology and geoecology of the coastal shelf of the Barents and White Seas. Biocosal interactions in the system: bottom sediments–water–macroalgae–microorganisms, their role in remediation of the marine coastal ecosystem under radiation and chemical pollution in the Arctic”.

REFERENCES

- Malavenda S., Makarov M., Ryzhik I., Mityaev M., Malavenda S. 2018. Occurrence of *Ulva lactuca* L. 1753 (Ulvaaceae, Chlorophyta) at the Murman Coast of the Barents Sea. — Polar Research. 37 (1): 1503912. <https://doi.org/10.1080/17518369.2018.1503912>
- Patin S.A. 2008. Neftyanye razlivy i ikh vozdeystvie na morskuyu sredu i bioresursy [Oil spills and their impact on the marine environment and biological resources]. Moscow. 508 p. (In Russ.).
- Pilatti F.K., Ramlov F., Schmidt E.K., Kreusch M., Pereira D.T., Costa C., Oliveira E.R., Bauer C.M., Rocha M., Bouzon Z.L., Maraschin M. 2016. In vitro exposure of *Ulva lactuca* Linnaeus (Chlorophyta) to gasoline. — Biochemical and Morphological Alterations. Chemosphere. 156: 428–437. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2016.04.126>
- Ryzhik I.V., Makarov M.V. 2019. Effect of diesel fuel film on green algae *Ulva lactuca* L. and *Ulvaria obscura* (Kützting) Gayral ex Bliding of the Barents Sea. — In: IOP Conference Series: Earth and Environmental Science. 302 (1): 012029. <https://doi.org/10.1088/1755-1315/302/1/012029>
- Ryzhik I.V., Pugovkin D.V., Salakhov D.O., Klindukh M.P., Voskoboinikov G.M. 2022. Physiological changes and rate of resistance of *Acrosiphonia arcta* (Dillwyn) Gain upon exposure to diesel fuel. — Heliyon. 8 (8): e10177. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2022.e10177>
- Salakhov D.O., Voskoboinikov G.M., Ryzhik I.V. 2020a. Vliyanie dizel'nogo topliva na razvitie prorostkov *Ulva lactuca* L. (Chlorophyta) Barentseva morya [The effect of diesel fuel on the development of seedlings of *Ulva lactuca* L. (Chlorophyta) Barents Sea]. — Nauka Yuga Rossii. 16: 55–59 (In Russ.). <https://doi.org/10.7868/S25000640200107>
- Salakhov D.O., Pugovkin D.V., Ryzhik I.V., Voskoboinikov G.M. 2020b. The influence of diesel fuel on morpho-functional state of *Ulvaria obscura* (Chlorophyta). — In: IOP Conference Series: Earth and Environmental Science. 539 (1): 012202. <https://doi.org/10.1088/1755-1315/539/1/012202>
- Salakhov D.O., Pugovkin D.V., Ryzhik I.V., Voskoboinikov G.M. 2021. The changes in the morpho-functional state of the green alga *Ulva intestinalis* L. in the Barents Sea under the influence of diesel fuel. — In:

- IOP Conference Series: Earth and Environmental Science. 937 (2): 022059.
<https://doi.org/10.1088/1755-1315/937/2/022059>
- Stepaniyan O.V. 2003. Morfofunkcional'nye perestrojki u vodoroslej-makrofitov Barentseva morya pod vliyaniem nefti i nefteproduktov: Avtoref. ... dis. kand. biol. nauk [Morphofunctional rearrangements in algae macrophytes of the Barents Sea under the influence of oil and petroleum products] Murmansk. 29 p. (In Russ.).
- Stepaniyan O.V. 2013. The influence of crude oil on the early stages of macroalgae development in the Barents Sea. — Bot. Zhurn. 98 (7): 903–912 (In Russ.).
- Thélin I. 1981 Effects, en culture, de deux pétroles bruts et d'un dispersant pétrolier sur les zygotes et les plantules de *Fucus serratus* Linnaeus (Fucales, Phaeophyceae). — Bot. Mar. 24: 515–519.
- Uikli B. 1975. Elektronnaya mikroskopiya dlya nachinayushchikh [Electron microscopy for beginners]. Moscow. 324 p. (In Russ.).
- Voskoboinikov G.M. 2006. Mekhanizmy adaptatsii, regul'yatsii rosta i perspektivy ispol'zovaniya makrofitov Barentseva morya: Diss. ... dokt. biol. nauk [Mechanisms of adaptation, growth regulation and prospects for the use of macrophytes of the Barents Sea]. Murmansk. 465 p. (In Russ.).
- Voskoboinikov G.M., Ryzhik I.V., Salakhov D.O., Metelkova L.O., Zhakovskaya Z.A., Lopushanskaya E.M. 2020. Absorption and conversion of diesel fuel by the red alga *Palmaria palmata* (Linnaeus) F. Weber et D. Mohr, 1805 (Rhodophyta): The potential role of alga in bioremediation of sea water. — Russian Journal of Marine Biology. 46 (2): 113–118.
<https://doi.org/10.31857/S0134347520020102>

БИОМЕТРИЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ ПЫЛЬЦЫ ПРИРОДНЫХ ПОПУЛЯЦИЙ *PINUS BRUTIA* VAR. *PITYUSA* (PINACEAE) ГОРНОГО КРЫМА

© 2023 г. В. П. Коба^{1,*}, О. О. Коренькова^{1,**}, Н. А. Макаров¹

¹Никитский ботанический сад — Национальный научный центр РАН
ул. Никитский спуск, 52, Ялта, 298648, Россия

*e-mail: kobavp@mail.ru

**e-mail: o.o.korenkova@mail.ru

Поступила в редакцию 18.01.2023 г.

После доработки 02.10.2023 г.

Принята к публикации 10.10.2023 г.

Изучение биометрических характеристик пыльцы *Pinus brutia* var. *pityusa* проводили в природных популяциях Горного Крыма. Пыльцу собирали в период ее свободного вылета на пробных площадях по четырем гипсометрическим профилям. Результаты исследований показали, что средние размеры пыльцевого зерна *P. brutia* var. *pityusa* в природных популяциях Горного Крыма изменяются в пределах: общая длина пыльцы от 81.5 до 88.5 мкм, длина и высота тела пыльцевого зерна — 52.2–59.4 мкм и 47.8–53.4 мкм, длина и высота воздушного мешка 40.0–43.0 мкм и 25.5–30.4 мкм соответственно. Наиболее мелкая пыльца формируется в прибрежных древостоях. В насаждениях *P. brutia* var. *pityusa* западной части Горного Крыма отмечено уменьшение величины длины и высоты воздушных мешков. Выявлено, что индексы, характеризующие отношение отдельных структурных элементов пыльцевого зерна: γ — отношение длины тела к высоте воздушного мешка пыльцевого зерна, δ — отношение высоты тела к высоте воздушного мешка пыльцевого зерна и Θ — отношение длины тела к длине воздушного мешка пыльцевого зерна, позволяют анализировать аэродинамические свойства пыльцы *P. brutia* var. *pityusa*. Уменьшение индексов пыльцы γ , δ и Θ в насаждениях Аязьмы и Батилимана отражает снижение эффективности ее воздушного распространения, что оказывает негативное воздействие на уровень гетерогенности природных популяций на данных территориях.

Ключевые слова: *P. brutia* var. *pityusa*, природные популяции, пыльца, биометрия, гетерогенность

DOI: 10.31857/S0006813623100034, **EDN:** GKWAJW

В развитии процессов естественного воспроизводства природных популяций различных видов растений формирование пыльцы является важнейшим этапом репродуктивного цикла. Ее качественные и количественные характеристики определяют эффективность формирования семян, стабильность смены поколений и поддержание внутривидового разнообразия. Особое значение эти проблемы имеют для редких и исчезающих видов растений, к которым относится *Pinus brutia* var. *pityusa* (Steven) Silba. Произрастая в приморских зонах Черноморского побережья, данный вид, как в прошлом, так и в настоящее время в значительной степени подвержен негативному антропогенному воздействию. Физическое уничтожение и сокращение площади произрастания оказывают влияние на демографическую структуру и процессы репродукции природных популяций *P. brutia* var. *pityusa*. В настоящее время усиление деструктивных явлений в определенной

степени связано с глобальным изменением климата и техногенным загрязнением природной среды (Geodakyan, 1977; Vergotti et al., 2019; López-Orozco et al., 2021; Dias et al., 2022).

Биометрические характеристики пыльцевого зерна имеют важное значение как для систематики и филогении, так и для эколого-генетических и селекционных работ (Zemlyanoy, 1971; Nekrasova, 1983). Методы количественной морфогенетики позволяют выявить закономерности и механизмы преобразования конструкции организма, ее отдельных элементов, которые происходят в процессе индивидуального развития, смены поколений (Glotov, 1983; Magomedmirzaev, 1990). До настоящего времени проведено сравнительно небольшое количество исследований, связанных с изучением размера и формы пыльцевого зерна видов рода *Pinus* L. (Monsozon-Smolina, 1949; Podgorny, Ruguzov, 1979; Khlebova, Ereshchenko, 2013; Korshikov et al., 2014; Koba, Makarov, 2020;

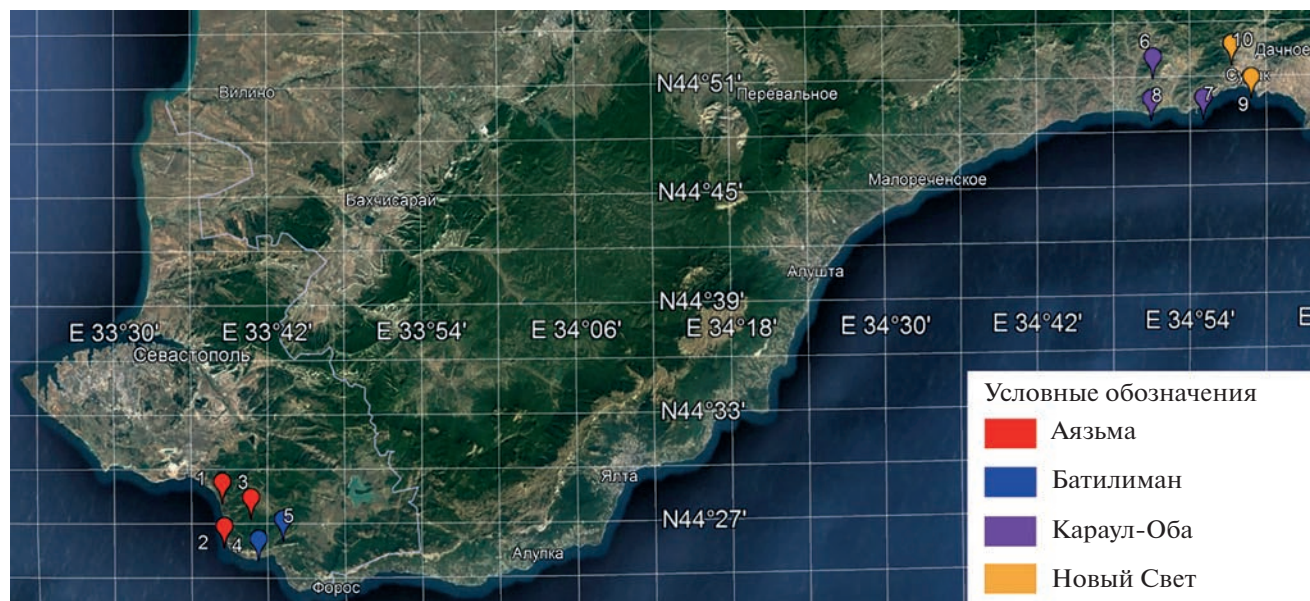


Рис. 1. Схема расположения пробных площадей в насаждениях *Pinus brutia* var. *pityusa* Горного Крыма (цветом обозначена локализация пробных площадей: красный — урочище Аязьма; синий — урочище Батилиман; фиолетовый — г. Караул-Оба; желтый — окрестности п.г.т. Новый Свет).

Fig. 1. Scheme of location of sample plots in the plantations of *Pinus brutia* var. *pityusa* in the Crimean Mountains (colors indicate the location of the trial plots: red — Ayazma tract; blue — Batiliman tract; purple — m. Karaul-Oba; yellow — environs of the urban settlement Novy Svet).

Makhneva, Menshchikov, 2021). Отсутствуют системные наблюдения в природных насаждениях, произрастающих в различных экотопах, что ограничивает возможности сравнительного анализа изменчивости морфометрических признаков пыльцы в связи с динамикой условий произрастания.

P. brutia var. *pityusa* в Горном Крыму приурочена к местам скалистых склонов, площадь ее произрастания невелика, что связано с активной заготовкой в прошлом древесины данной породы для хозяйственного использования. В западной части, на мысе Айя, где в 1973 г. был организован заказник “Мыс Айя”, еще сравнительно недавно *P. brutia* var. *pityusa* формировала единый однородный по составу лесной массив. В конце XIX в. насаждения *P. brutia* var. *pityusa* к востоку от Балаклавы, включая мыс Айя, были распространены на площади размером около 1.5 тыс. га (Kolesnikov, 1963). В XXI в. она уменьшилась до 460 га (Kashirina, Novikov, 2016). Столь резкое сокращение площади произрастания определило снижение генотипического разнообразия и, безусловно, оказало воздействие на процессы репродукции естественных насаждений *P. brutia* var. *pityusa* в данном районе. В других частях Горного Крыма *P. brutia* var. *pityusa* распространена на относительно небольших по площади участках, где структура и состав ее насаждений формировались

в условиях крайне жесткого антропогенного воздействия. В целом увеличение изреженности и ухудшение жизненного состояния насаждений *P. brutia* var. *pityusa*, что в наибольшей степени проявилось в последние десятилетия, негативно влияют на развитие мужской репродуктивной сферы, в частности, на количественные и качественные характеристики пыльцы (Velisevych, 2017; Mollaeva, Tembotova, 2020).

Одним из направлений оценки состояния развития мужской генеративной сферы является анализ биометрических характеристик пыльцевого зерна. Некоторые исследователи считают, что параметры, характеризующие пыльцу сосны, подвержены сильным колебаниям по годам и тесно связаны с погодно-климатическими условиями в период формирования пыльцы, поэтому сравнительная оценка динамики биометрических характеристик пыльцы сосны может быть использована при экологическом контроле окружающей среды (Tretyakova, Noskova, 2004). Анализ изменчивости биометрических показателей морфоструктур позволяет в той или иной степени характеризовать уровень взаимодействия организма с факторами внешней среды (рис. 1).

Целью исследований являлось изучение биометрических характеристик пыльцы *P. brutia* var. *pityusa*, выявление особенностей их динамики в природных популяциях Горного Крыма.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Исследования проводили в природных популяциях *P. brutia* var. *pityusa* Горного Крыма. Для сбора образцов пыльцы и изучения ее биометрических характеристик с использованием методов лесной таксации (Anuchin, 1982) были заложены пробные площади по четырем гипсометрическим профилям в западной части южного макросклона Главной гряды Крымских гор на мысе Айя, в урочищах Аязьма и Батилиман, и восточной на г. Краул-Оба и урочище Новый Свет (рис. 1). В урочище Аязьма пробные площади расположены на высотах 50, 180, и 290 м над ур. м., в Батилимане на высотах 50 и 120 м над ур. м., на г. Караул-Оба на высотах 40, 70 и 120 м над ур. м., в Новом Свете на высотах 50 и 100 м над ур. м. Все пробные площади имели юго-восточную экспозицию с крутизной склонов 10–15°.

На пробных площадях было выбрано по 10 модельных деревьев. В конце апреля 2022 г. в период вылета пыльцы с модельных деревьев собирали пыльцу посредством встряхивания микростробилов в простерилизованные бюксы. В период проведения лабораторных исследований ее хранили в эксикаторе над хлористым кальцием при температуре +5°С (Kotelova, 1956).

Биометрический анализ пыльцевых зерен проводили на временных ацетокарминовых препаратах по методике М.Х. Монсозон-Смолиной (Monsozon-Smolina, 1949). У тридцати пыльцевых зерен с каждого модельного дерева с использованием цифрового микроскопа “Bresser LCD Micro 5mp” измеряли пять параметров — общую длину, длину и высоту тела пыльцевого зерна, длину и высоту воздушного мешка. Анализировали индексы, характеризующие отношение отдельных структурных элементов пыльцевого зерна: α — отношение общей длины к длине тела пыльцевого зерна, β — отношение длины к высоте тела пыльцевого зерна, γ — отношение длины тела к высоте воздушного мешка пыльцевого зерна, δ — отношение высоты тела к высоте воздушного мешка пыльцевого зерна и Θ — отношение длины тела к длине воздушного мешка пыльцевого зерна. Уровень изменчивости отдельных признаков анализировали, используя шкалу коэффициентов вариации С.А. Мамаева (Мамаев, 1973). Фенологические наблюдения процесса вылета пыльцы проводили в пределах всей территории распространения природных популяций *P. brutia* var. *pityusa* в Горном Крыму (Elagin, 1961; Sannikov et al., 2008). Цифровые результаты наблюдений обрабатывали, применяя методы вариационной статистики (Lakin, 1990).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Изучение биометрических признаков пыльцы *P. brutia* var. *pityusa* показало, что средние размеры пыльцевого зерна по пробным площадям изменяются в пределах: общая длина пыльцы от 81.5 до 88.5 мкм, длина и высота тела пыльцевого зерна — 52.2–59.4 мкм и 47.8–53.4 мкм, длина и высота воздушного мешка 40.0–43.0 мкм и 25.5–30.4 мкм соответственно (табл. 1). По отдельным насаждениям в большинстве случаев наиболее мелкая пыльца отмечалась в нижнем поясе проведения наблюдений. На горе Караул-Оба на высоте 40 м над ур. м. средний показатель длины пыльцевого зерна составил 81.5 ± 0.5 мкм, величины длины и высоты тела пыльцевого зерна соответственно были 52.2 ± 0.5 мкм и 47.8 ± 0.4 мкм. Показатели длины и высоты воздушного мешка также имели невысокие значения. Снижение размеров пыльцы в прибрежной зоне, очевидно, связано с более интенсивным прохождением отдельных этапов ее формирования, что в свою очередь определяется инсоляционным и температурным режимом экотопов нижнего пояса, а также более низким уровнем влагообеспеченности (Plugatar et al., 2021).

Прибрежные участки в весенний период быстрее нагреваются, фенологическая фаза вылета пыльцы *P. brutia* var. *pityusa* здесь наблюдается несколько раньше по сравнению с насаждениями на участках, расположенных выше над уровнем моря. Так, например, весной 2022 г. наиболее ранние сроки растрескивания микростробилов и начала вылета пыльцы отмечались в урочище Батилиман. В древостоях нижней границы произрастания *P. brutia* var. *pityusa* на высоте 50 м над ур. м. это явление отмечалось 24 апреля. Пыление прошло в течение 4–5 дней. При этом наблюдалась достаточно высокая хронологическая синхронность данной фенофазы по отдельным деревьям. В верхней части основного массива насаждений на высоте 120 м над ур. м. вылет пыльцы начался на 4 дня позже и продолжался более длительное время. Наблюдалось увеличение индивидуальных различий по срокам начала и продолжительности фенофазы пыления. В урочище Аязьма вылет пыльцы проходил несколько позже. В прибрежной границе древостоев на высоте 50 м над ур. м. первые признаки растрескивания микростробилов и высыпания пыльцы у отдельных деревьев начали проявляться 26 апреля, в центре массива лесов на высоте 180 м над ур. м. данное явление наблюдалось 29 апреля и позже всего оно проходило в верхней части насаждений *P. brutia* var. *pityusa* на высоте 290 м над ур. м. — 1 мая. При этом с повышением высоты над уровнем моря также увеличивалась продолжительность фазы пыления и дифференциация деревьев по срокам начала и длительности пыления, что в определенной степени связано с более плавной амплитудой

Таблица 1. Биометрические характеристики пыльцы *P. brutia* var. *pityusa*, единицы измерения – мкм
Table 1. Biometric characteristics of *P. brutia* var. *pityusa* pollen, units of measurement, μm

Высота над ур. м. Height above sea level	Общая длина зерна/ Total grain length Σ		Длина тела/ Body length A		Высота тела/ Body height B		Длина воздушного мешка/ Length of the air bag C		Высота воздушного мешка/ Height of the air bag D	
	M ± m	V	M ± m	V	M ± m	V	M ± m	V	M ± m	V
Аязьма/Ayazma										
50 м/50 m	84.7 ± 0.5	6.4	53.8 ± 0.6	11.5	51.4 ± 0.4	8.0	40.0 ± 0.4	13.0	27.2 ± 0.5	16.5
180 м/180 m	85.0 ± 0.6	6.0	55.8 ± 0.6	10.8	53.4 ± 0.4	8.1	42.5 ± 0.6	14.1	25.6 ± 0.4	14.9
290 м/290 m	86.7 ± 0.5	6.3	56.0 ± 0.6	9.9	53.1 ± 0.5	10.0	42.3 ± 0.5	12.7	25.5 ± 0.5	18.1
Батилиман/Batiliman										
50 м/50 m	83.9 ± 0.7	8.0	55.5 ± 0.6	10.6	51.0 ± 0.4	7.9	41.2 ± 0.5	11.7	26.9 ± 0.5	18.7
120 м/120 m	86.7 ± 0.5	6.2	59.4 ± 0.6	10.1	51.3 ± 0.4	7.4	41.3 ± 0.6	13.2	29.3 ± 0.4	14.4
Караул-Оба/Karaul-Oba										
40 м/40 m	81.5 ± 0.5	6.4	52.2 ± 0.5	9.3	47.8 ± 0.4	9.0	40.0 ± 0.5	12.7	27.3 ± 0.4	14.0
70 м/70 m	88.6 ± 0.6	6.5	52.3 ± 0.6	10.5	49.8 ± 0.3	6.5	43.0 ± 0.5	12.3	29.4 ± 0.5	16.3
120 м/120 m	87.5 ± 0.6	7.0	54.2 ± 0.5	9.4	49.8 ± 0.4	7.0	42.9 ± 0.5	11.3	30.4 ± 0.4	12.8
Новый Свет/Novyy Svet										
50 м/50 m	88.5 ± 0.6	6.4	54.6 ± 0.6	10.2	51.8 ± 0.5	8.5	43.0 ± 0.6	13.0	30.0 ± 0.4	12.4
100 м/100 m	88.4 ± 0.7	8.3	54.0 ± 0.6	10.5	52.3 ± 0.6	10.7	42.0 ± 0.6	14.8	29.7 ± 0.4	14.0

Примечание: М – средний показатель; m – ошибка среднего показателя; V – коэффициент вариации, %.
Note: M – mean; m – error of the mean; V – coefficient of variation, %.

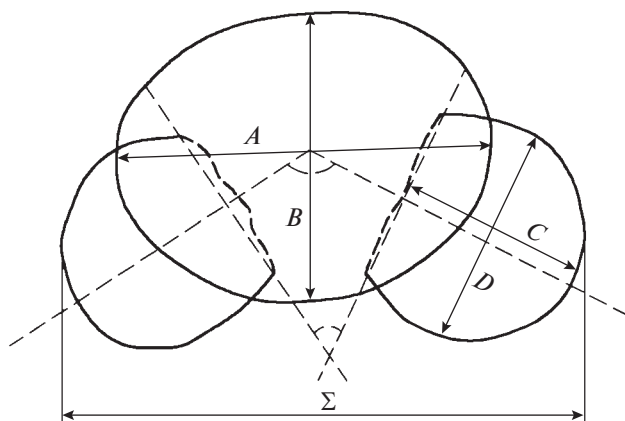


Рис. 2. Схематическое изображение пыльца *Pinus brutia* var. *pityusa*: Σ — общая длина зерна; A — длина тела; B — высота тела; C — длина воздушного мешка; D — его высота (по Монсозон-Смолиной, 1949).

Fig. 2. Schematic representation of *Pinus brutia* var. *pityusa* pollen: Σ — total grain length; A — body length; B — body height; C — length of the air bag; D — its height (according to Monsoson-Smolina, 1949).

изменения температурного режима на данных участках в весенний период (Antyufeyev, 2003). В восточной части Горного Крыма вылет пыльца *P. brutia* var. *pityusa* проходил с некоторым временным отставанием, при этом в высотном разрезе проявлялись те же фенологические особенности фазы пыления, которые наблюдались в западных территориях ее произрастания.

Наиболее крупная пыльца по величине длины формируется в насаждениях восточной части, на г. Караул-Оба на высоте 70 м над ур. м. средний показатель составил 88.6 ± 0.6 мкм, в урочище Новый Свет на высотах 50 и 110 м над ур. м. он был соответственно 88.5 ± 0.6 мкм и 88.4 ± 0.7 мкм. Однако размеры тела пыльцевого зерна (A и B) здесь несколько меньше в сравнении с пыльцой из насаждений Батилимана и Аязьмы. При этом в древостоях западных участков произрастания *P. brutia* var. *pityusa* в Горном Крыму наблюдается тенденция уменьшения величины длины и высоты воздушных мешков. Это может быть связано с популяционно-генетической дифференциацией насаждений, которые находятся на значительном удалении друг от друга (более 110 км), а также со спецификой условий произрастания. Более сухой и прохладный климат восточной части Горного Крыма (Gorbunov et al., 2020) в той или иной степени может оказывать влияние на морфогенез пыльцы *P. brutia* var. *pityusa*.

С использованием шкалы С.А. Мамаева (Мамаев, 1973), установлено, что уровень изменчивости длины пыльцы *P. brutia* var. *pityusa* и высоты ее воздушного мешка следует характеризовать как средний (коэффициент вариации изменяется в

пределах 12–19%), низкий и очень низкий для общей длины пыльцевого зерна, длины и высоты тела пыльцевого ($V = 6–12\%$). Отмечается тенденция повышения варьирования морфологических признаков пыльцевого зерна с увеличением высоты над уровнем моря местопроизрастания.

При изучении биоэкологической специфики формирования пыльцы важное значение имеет анализ индексов, определяющих соотношение биометрических показателей ее отдельных структур (Monsozon-Smolina, 1949). Индекс α , характеризующий отношение величины длины тела к общей длине пыльцевого зерна, позволяет оценить баланс биометрических показателей, определяющих аэродинамические свойства пыльцы (табл. 2). При увеличении данного индекса, снижается “линейная” доля воздушных мешков в общей морфометрической конструкции пыльцевого зерна. Рассматривая воздушные мешки как некоторое подобие крылатки, следует отметить, что изменение соотношения величины длины пыльцевого зерна и воздушных мешков оказывает влияние на эффективность распространения мужского гаметофита и, как следствие, возможности генетического обмена в природных популяциях. Увеличение индекса α пыльцы в урочищах Аязьма и Батилиман отражает снижение возможностей ее воздушного переноса, что может оказывать негативное влияние на уровень гетерогенности насаждений *P. brutia* var. *pityusa* на данных территориях.

Индекс β определяет отношение величины длины к высоте тела пыльцевого зерна. Данный показатель отражает специфику формы пыльцевого зерна, которая в некотором приближении изменяется от шаровидной до эллипсоидной. Величина индекса β в изучаемых насаждениях *P. brutia* var. *pityusa* достаточно стабильна, за исключением участков в средней части урочища Аязьма и Батилиман, где наблюдается его увеличение, что отражает возрастание эллипсоидности формы тела пыльцевого зерна. В насаждениях *P. brutia* var. *pityusa* западных территорий Горного Крыма отмечается также увеличение индексов γ , δ и Θ , это свидетельствует об относительном снижении размеров воздушных мешков к величине длины и высоты пыльцевого зерна. Данная ситуация в целом характеризует уменьшение возможностей эффективного воздушного переноса пыльцы в древостоях урочища Аязьма и Батилиман и, как это было отмечено, повышает вероятность снижения гетерогенности природных популяций *P. brutia* var. *pityusa* в западных территориях Горного Крыма.

Оценивая общее состояние насаждений *P. brutia* var. *pityusa* в Горном Крыму, следует отметить, что в западной части они в большей степени подвергались пирогенному воздействию. В урочище Батилиман это определило значительную изре-

Таблица 2. Индексы пыльцы *Pinus brutia* var. *pityusa*
Table 2. Indices of *Pinus brutia* var. *pityusa* pollen

Высота над ур. м., м Height above sea level, m	α		β		γ		δ		Θ	
	$M \pm m$	V	$M \pm m$	V	$M \pm m$	V	$M \pm m$	V	$M \pm m$	V
Аязьма/Ayazma										
50	0.63 ± 0.007	11.3	1.1 ± 0.02	14.1	2.1 ± 0.06	28.9	2.0 ± 0.05	24.4	1.4 ± 0.03	19.0
180	0.66 ± 0.006	9.3	1.4 ± 0.01	11.5	2.2 ± 0.05	20.1	2.1 ± 0.04	16.8	1.3 ± 0.02	18.2
290	0.64 ± 0.006	9.1	1.1 ± 0.01	11.6	2.3 ± 0.07	29.4	2.2 ± 0.06	28.3	1.3 ± 0.02	16.9
Батилиман/Batiliman										
50	0.66 ± 0.006	9.5	1.1 ± 0.01	12.5	2.1 ± 0.03	18.8	2.0 ± 0.04	21.5	1.4 ± 0.02	15.3
120	0.69 ± 0.007	10.3	1.2 ± 0.01	11.0	2.1 ± 0.04	18.8	1.8 ± 0.03	14.6	1.8 ± 0.03	18.0
Караул-Оба/Karaul-Oba										
40	0.64 ± 0.005	7.8	1.1 ± 0.01	13.0	2.0 ± 0.04	18.3	1.8 ± 0.03	12.7	1.3 ± 0.02	18.3
70	0.60 ± 0.006	9.9	1.1 ± 0.01	12.0	1.9 ± 0.04	23.5	1.7 ± 0.04	19.5	1.3 ± 0.02	19.5
120	0.62 ± 0.006	9.1	1.1 ± 0.01	12.2	1.8 ± 0.03	16.3	1.7 ± 0.02	12.4	1.3 ± 0.20	16.7
Новый Свет/Novyy Svet										
50	0.61 ± 0.006	9.0	1.1 ± 0.01	13.0	1.9 ± 0.03	17.4	1.8 ± 0.02	13.0	1.3 ± 0.02	19.3
100	0.61 ± 0.007	10.9	1.1 ± 0.01	12.6	1.9 ± 0.03	17.0	1.8 ± 0.02	12.5	1.3 ± 0.30	19.6

Примечание: α – A/Σ; β – A/B; γ – A/D; δ – B/D; Θ – A/C; M – средний показатель; m – ошибка среднего показателя; V – коэффициент вариации, %.

Note: α – A/Σ; β – A/B; γ – A/D; δ – B/D; Θ – A/C; M – mean; m – error of the mean; V – coefficient of variation, %.

женность древостоев, в урочище Аязьма – снижение разнообразия возрастного состава, где в центральной части массива насаждения представлены разновозрастными древостоями пирогенного происхождения. Это, безусловно, повлияло на снижение генетического разнообразия, что в той или иной степени проявляется в изменении относительных показателей структурных элементов пыльцевого зерна. Таким образом, рассмотренные выше индексы, позволяющие оценивать специфику аэродинамических свойств пыльцы, можно использовать как тест-признаки при анализе динамики гетерогенности природных популяций *P. brutia* var. *pityusa*.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Средние размеры пыльцевого зерна *Pinus brutia* var. *pityusa* в природных популяциях Горного Крыма изменяются в пределах: общая длина пыльцы от 81.5 до 88.5 мкм, длина и высота тела пыльцевого зерна – 52.2–59.4 мкм и 47.8–53.4 мкм, длина и высота воздушного мешка – 40.0–43.0 мкм и 25.5–30.4 мкм соответственно. Наиболее мелкая пыльца формируется в прибрежных древостоях. В насаждениях *P. brutia* var.

pityusa западной части Горного Крыма наблюдается уменьшение величины длины и высоты воздушных мешков. Выявлено, что использование индексов, характеризующих отношение отдельных структурных элементов пыльцевого зерна, позволяет анализировать аэродинамические свойства пыльцы *P. brutia* var. *pityusa*, возможности ее эффективного распространения. Уменьшение индексов пыльцы в насаждениях Аязьмы и Батилимана снижает дальность ее воздушного переноса, что оказывает негативное воздействие на уровень гетерогенности природных популяций на данных территориях.

БЛАГОДАРНОСТИ

Работа выполнена при финансовой поддержке гранта Российского научного фонда № 22-24-20128 “Научные основы формирования системы охраны и мониторинга природных популяций *Pinus brutia* var. *pityusa* (Steven) Silba Горного Крыма”.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

[Antyufeyev] Антифеев В.В. 2003. Микроклиматическая изменчивость термических ресурсов вегетацион-

- ного периода на Южном берегу Крыма. — Труды Никит. ботан. сада. 121: 137–145.
- [Anuchin] Анучин Н.П. 1982. Лесная таксация. М. 512 с.
- Dias M.C., Oliveira J.M.P.F., Marum L., Pereira V., Almeida T., Nunes S., Araújo M., Moutinho-Pereira J., Correia C.M., Santos C. 2022. *Pinus elliottii* and *P. elliottii* × *P. caribaea* hybrid differently cope with combined drought and heat episodes. — *Industrial Crops and Products*. 176: 114428. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2021.114428>
- [Elagin] Елагин И.Н. 1961. Методика определения фенологических фаз у хвойных. — *Бот. журн.* 46 (7): 985–992.
- [Geodakyan] Геодакян В.А. 1977. Количество пыльцы как показатель эволюционной пластичности перекрестноопыляющихся растений. *Докл. АН СССР*. 234(6): 1460–1463.
- [Glotov] Глотов Н.В. 1983. Оценка генетической гетерогенности природных популяций: количественные признаки. — *Экология*. 1: 3–10.
- [Gorbunov et al.] Горбунов Р.В., Горбунова Т.Ю., Дрыгваль А.В., Табунщик В.А. 2020. Изменение температуры воздуха в Крыму. — *Социально-экологические технологии*. 10 (3): 370–383. <https://doi.org/10.31862/2500-2961-2020-10-3-370-383>
- Kashirina E.S., Novikov A.A. 2016. Using of GIS for estimation of the recreational loads on natural protected areas. — *Proceedings of the International conference “InterCarto/InterGIS”*. 22 (2): 174–181. <https://doi.org/10.24057/2414-9179-2016-2-22-174-181>
- [Khlebova, Ereshhenko] Хлебова Л.П., Ерещенко О.В. 2013. Изменчивость признаков пыльцы сосны обыкновенной (*Pinus sylvestris* L.) в условиях Барнаула. — *Известия Алтайского гос. ун-та*. 3—1 (79): 103–107.
- [Koba, Makarov] Коба В.П., Макаров Н.А. 2020. Динамика роста и жизненного состояния *Pinus pityusa* Stev. в Горном Крыму. — В сб.: Современное лесное хозяйство — проблемы и перспективы: материалы Всероссийской науч.-практ. конф., посвященной 50-летию ВНИИЛГИСбиотех. ФГБУ “ВНИИЛГИСбиотех”. С. 164–168.
- [Kolesnikov] Колесников А.И. 1963. Сосна пицундская и близкие к ней виды. М. 174 с.
- [Korshikov et al.] Коршиков И.И., Лаптева Е.В., Литвиненко Ю.С. 2014. Морфологические изменения пыльцы сосны Крымской (*Pinus pallasiana* D. Don) в интродукционных насаждениях техногенно загрязненных территорий. — *Промышленная ботаника*. 14: 61–68.
- [Kotelova] Котелова Н.В. 1956. Проращивание пыльцы на искусственных средах и способы хранения пыльцы сосны обыкновенной. — *Научн. техн. информ. МЛТИ*. 23: 13–20.
- [Lakin] Лакин Г.Ф. 1990. Биометрия. М. 352 с.
- López-Orozco R., García-Mozo H., Oteros J., Galán C. 2021. Long-term trends in atmospheric *Quercus* pollen related to climate change in southern Spain: A 25-year perspective. — *Atmospheric Environment*. 262: 118637. <https://doi.org/10.1016/j.atmosenv.2021.118637>
- [Magomedmirzaev] Магомедмирзаев М.М. 1990. Введение в количественную морфогенетику. М. 230 с.
- [Makhneva, Menshchikov] Махнева С.Г., Меншиков С.Л. 2021. Качество пыльцы сосны обыкновенной (*Pinus sylvestris* L.) в зоне действия выбросов АО “Карабашмедь”. *Лесной вестник. — Forestry Bulletin*. 25 (1): 32–44.
- [Mamaev] Мамаев С.А. 1973. Формы внутривидовой изменчивости древесных растений. М. 284 с.
- [Mollaeva, Tembotova] Моллаева М.З., Темботова Ф.А. 2020. Аномалии пыльцы *Pinus sylvestris* L. в условиях гор Центрального Кавказа. — В сб.: Современные подходы и методы в защите растений: Мат-лы II Междунар. науч.-практ. конф. Екатеринбург. С. 220–221.
- [Monsozon-Smolina] Монсозон-Смолина М.Х. 1949. К вопросу о морфологии пыльцы некоторых видов рода *Pinus* L. — *Бот. журн.* 34 (4): 352–380.
- [Nekrasova] Некрасова Т.П. 1983. Пыльца и пыльцевой режим хвойных Сибири. Новосибирск. 169 с.
- [Plugatar et al.] Плугатарь Ю.В., Коба В.П., Папельбу В.В., Новицкий М.Л. 2021. Флуктуация погодных явлений и динамика почвенных условий в Восточной части Горного Крыма. — В сб.: Лесные почвы и изменение климата: Мат-лы IX Всероссийской науч. конф. с междунар. участием. С. 160–162.
- [Podgorny, Ruguzov] Подгорный Ю.К., Ругузов И.А. 1979. Особенности микроспорогенеза и развития мужского гаметофита сосны крымской в связи с семеношением и жизнеспособностью популяций. — *Бюл. Никит. ботан. сада*. 38: 21–25.
- [Sannikov et al.] Санников С.Н., Шлапаков П.И., Санникова Н.С. 2008. Фенология пыления — “цветения”, генетическая дифференциация разновысотных популяций сосны крымской. — В сб.: Роль об’єктів ПЗФ у збереженні біорізноманіття: Матеріали Міжнародної науково-практичної конференції. С. 44–151.
- [Tretyakova, Noskova] Третьякова И.Н., Носкова Н.Е. 2004. Пыльца сосны обыкновенной в условиях экологического стресса. — *Экология*. 1: 26–33.
- [Velisevich] Велисевич С.Н. 2017. Качество пыльцы высокогорных популяций *Pinus sibirica* Du Tour (Pinaceae) в аридных и гумидных районах Алтая. — *Журнал Сибирского федерального ун-та. Серия: Биология*. 10 (3): 301–311.
- Vergotti M.J., Fernández-Martínez M., Kefauver S.C., Janssens I.A., Penuelas J. 2019. Weather and trade-offs between growth and reproduction regulate fruit production in European forests. — *Agricultural and Forest Meteorology*. 279: 107711. <https://doi.org/10.1016/j.agrformet.2019.107711>
- [Zemlyanoy] Земляной А.И. 1971. Особенности микроспорогенеза у кедра сибирского на Алтае. — *Изв. СО АН СССР. Сер. биол. наук*. 3 (15): 51–54.

BIOMETRIC INDICES OF POLLEN FROM NATURAL POPULATIONS OF *PINUS BRUTIA* VAR. *PITYUSA* (PINACEAE) OF THE CRIMEAN MOUNTAINS

V. P. Koba^{a, #}, O. O. Korenkova^{a, ##}, and N. A. Makarov^a

^aNikitsky Botanical Garden – National Scientific Center of RAS
Nikitsky Spusk Str., 52, Yalta, 298648, Russia

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

^{##}e-mail: o.o.korenkova@mail.ru

The study of biometric characteristics of *Pinus brutia* var. *pityusa* pollen was carried out in natural populations of *P. brutia* var. *pityusa* in the Crimean Mountains. The pollen was collected during the period of its free flight on sample plots along four hypsometric profiles. In the western part of the southern macroslope of the Main Ridge of the Crimean Mountains on Cape Aya in the Ayazma tract, 3 sample plots were laid at altitudes of 50–290 m above sea level, in Batiliman – 2 plots, at altitudes of 50 and 120 m above sea level; in the eastern part of the macroslope, 3 plots were laid on Karaul-Oba Mt. at altitudes of 40–120 m above sea level, and in the Novyy Svet tract – 2 plots at 50 and 100 m above sea level. Biometric analysis of pollen grains was carried out on temporary acetocarmine slides using generally accepted methods. The results of the study showed that an average size of the pollen grain of *P. brutia* var. *pityusa* in natural populations of the Crimean Mountains varies within the following ranges: total grain length from 81.5 to 88.5 μm , the length and height of the pollen grain body 52.2–59.4 μm and 47.8–53.4 μm , respectively, and the length and height of the air sac 40.0–43.0 μm and 25.5–30.4 μm , respectively. The smallest pollen is formed in coastal stands. In the plantations of *P. brutia* var. *pityusa* in the western part of the Crimean Mountains, a decrease in the length and height of the air sacs was noted. It was revealed that the indices characterizing the ratio of individual structural elements of the pollen grain, namely γ – the ratio of the body length to the height of the air sac of the pollen grain, δ – the ratio of the body height to the height of the air sac, and Θ – the ratio of the body length to the length of the air sac, allow to analyze aerodynamic properties of *P. brutia* var. *pityusa* pollen. The decrease in γ , δ , and Θ pollen indices in the plantations of Ayazma and Batiliman reflects a decrease in the efficiency of its aerial distribution, which has a negative effect on the level of heterogeneity of natural populations in these territories.

Keywords: *Pinus brutia* var. *pityusa*, natural populations, pollen, biometrics, heterogeneity

ACKNOWLEDGEMENTS

The work was financially supported by the Russian Science Foundation grant No. 22-24-20128 “Scientific foundations for the formation of a system for the protection and monitoring of the natural population of *Pinus brutia* var. *pityusa* (Steven) Silba of the Crimean Mountains.

REFERENCES

- Antyufeyev V.V. 2003. Mikroklimaticheskaya izmenchivost' termicheskikh resursov vegetatsionnogo perioda na Yuzhnom beregu Kryma [Microclimatic variability of thermal resources of the growing season on the southern coast of Crimea]. – Trudy Nikit. botan. sada. 121: 137–145 (In Russ.).
- Anuchin N.P. 1982. Lesnaya taksatsiya [Forest inventory]. Moscow. 512 p. (In Russ.).
- Dias M.C., Oliveira J.M.P.F., Marum L., Pereira V., Almeida T., Nunes S., Araújo M., Moutinho-Pereira J., Correia C.M., Santos C. 2022. *Pinus elliotii* and *P. elliotii* $\times$ *P. caribaea* hybrid differently cope with combined drought and heat episodes. – Industrial Crops and Products. 176: 114428. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2021.114428>
- Elagin I.N. 1961. Method for determining phenological phases in conifers. – Bot. Zhurn. 46 (7): 985–992 (In Russ.).
- Geodakyan V.A. 1977. Kolichestvo pyl'cy kak pokazatel' evolyutsionnoy plastichnosti perekrestnoopylayushchikh rasteniy [The amount of pollen as an indicator of the evolutionary plasticity of cross-pollinated plants]. Dokl. AN SSSR. 234 (6): 1460–1463 (In Russ.).
- Glotov N.V. 1983. Otsenka geneticheskoy geterogennosti prirodnikh populyatsiy: kolichestvennye priznaki [Assessment of the genetic heterogeneity of natural populations: quantitative signs]. – Ekologiya. 1: 3–10 (In Russ.).
- Gorbunov R.V., Gorbunova T.Yu., Drygval' A.V., Tabunshchik V.A. 2020. Izmenenie temperatury vozdukh v Krymu [Changes in air temperature in the Crimea]. – Sotsial'no-ekologicheskie tekhnologii. 10 (3): 370–383 (In Russ.). <https://doi.org/10.31862/2500-2961-2020-10-3-370-383>
- Hlebova L.P., Ereshhenko O.V. 2013. Izmenchivost' priznakov pyl'cy sosny obyknovnoy (*Pinus sylvestris* L.) v usloviyakh Barnaula [Variability of signs of Scotch pine pollen (*Pinus sylvestris* L.) in Barnaul]. – Izvestiya Altayskogo gosudarstvennogo universiteta. 3–1 (79): 103–107 (In Russ.).

- Kashirina E.S., Novikov A.A. 2016. Using of GIS for estimation of the recreational loads on natural protected areas. — Proceedings of the International conference “InterCarto/InterGIS”. 22 (2): 174–181. <https://doi.org/10.24057/2414-9179-2016-2-22-174-181>
- Koba V.P., Makarov N.A. 2020. Dinamika rosta i zhiznennogo sostoyaniya *Pinus pityusa* Stev. v Gornom Krymu [Dynamics of growth and vital status of *Pinus pityusa* Stev. in the Mountainous Crimea]. — In: Sovremennoe lesnoe khozyaystvo — problemy i perspektivy: materialy Vserossiyskoy nauchno-prakticheskoy konferentsii, posvyashchennoy 50-letiyu “VNIILGISbiotech”. FGBU “VNIILGISbiotech”. P. 164–168 (In Russ.).
- Kolesnikov A.I. 1963. Sosna picundskaya i blizkie k ney vidy [Pitsunda pine and related species]. Moscow. 174 p. (In Russ.).
- Korshikov I.I., Lapteva E.V., Litvinenko Yu.S. 2014. Morfologicheskie izmeneniya pyl'cy sosny Krymskoy (*Pinus pallasiana* D. Don) v introduktsionnykh nasazhdeniyakh tehnogenno zagryaznennykh territoriy [Morphological changes in pollen of the Crimean pine (*Pinus pallasiana* D. Don) in introduced plantations of technogenically polluted territories]. — Promyshlennaya botanika. 14: 61–68 (In Russ.).
- Kotelova N.V. 1956. Prorashchivanie pyl'cy na iskusstvennykh sredakh i sposoby khraneniya pyl'cy sosny obyknovennoy [Pollen germination on artificial media and methods of storage of Scots pine pollen]. — Nauchn. tehn. inform. MLTI. 23: 13–20 (In Russ.).
- Lakin G.F. 1990. Biometriya [Biometrics]. Moscow. 352 p. (In Russ.).
- López-Orozco R., García-Mozo H., Oteros J., Galán C. 2021. Long-term trends in atmospheric *Quercus* pollen related to climate change in southern Spain: A 25-year perspective. — Atmospheric Environment. 262: 118637. <https://doi.org/10.1016/j.atmosenv.2021.118637>
- Magomedmirzaev M.M. 1990. Vvedenie v kolichestvennuyu morfogenetiku [Introduction to quantitative morphogenetics]. Moscow. 230 p. (In Russ.).
- Makhneva S.G., Menshchikov S.L. 2021. Kachestvo pyl'cy sosny obyknovennoy (*Pinus sylvestris* L.) v zone deystviya vybrosov AO “Karabashmed” [Pollen quality of Scotch pine (*Pinus sylvestris* L.) in the emission zone of Karabashmed JSC]. — Forestry Bulletin. 25 (1): 32–44 (In Russ.).
- Mamaev S.A. 1973. Formy vnutrividovoy izmenchivosti drevesnykh rasteniy [Forms of intraspecific variability of woody plants]. Moscow. 284 p. (In Russ.).
- Mollaeva M.Z., Tembotova F.A. 2020. Anomalii pyl'cy *Pinus sylvestris* L. v usloviyakh gor Central'nogo Kavkaza [Pollen anomalies of *Pinus sylvestris* L. in the conditions of the mountains of the Central Caucasus]. — In: Sovremennyye podkhody i metody v zashchite rasteniy: Materialy II Mezhdunarodnoy nauchno-prakticheskoy konferentsii. Ekaterinburg. P. 220–221 (In Russ.).
- Monsozon-Smolina M.H. 1949. On the question of pollen morphology of some species of the genus *Pinus* L. — Bot. Zhurn. 34 (4): 352–380 (In Russ.).
- Nekrasova T.P. 1983. Pyl'tsa i pyl'tsevoy rezhim khvoynykh Sibiri [Pollen and pollen regime of Siberian conifers]. Novosibirsk. 169 p. (In Russ.).
- Plugat' Yu.V., Koba V.P., Papel'bu V.V., Novitskiy M.L. 2021. Fluktuatsiya pogodnykh yavleniy i dinamika pochvennykh usloviy v Vostochnoy chasti Gornogo Kryma [Fluctuation of weather phenomena and dynamics of soil conditions in the Eastern part of the Crimean Mountains]. — In: Lesnye pochvy i izmenenie klimata: Materialy IX Vserossiyskoy nauchnoy Konferentsii s mezhdunarodnym uchastiem. P. 160–162 (In Russ.).
- Podgorny Yu.K., Ruguzov I.A. 1979. Osobennosti mikrosporogeneza i razvitiya muzhskogo gametofita sosny krymskoy v svyazi s semenosheniem i zhiznesposobnost'yu populyatsiy [Features of microsporogenesis and development of the male gametophyte of the Crimean pine in connection with seed production and viability of populations]. — Byul. Nikit. botan. sada. 38: 21–25 (In Russ.).
- Sannikov S.N., Shlapakov P.I., Sannikova N.S. 2008. Fenologiya pyleniya — “tsveteniya”, geneticheskaya differentsiatsiya raznovysotnykh populyatsiy sosny krymskoy [Phenology of pollination — “flowering”, genetic differentiation of Crimean pine populations of different heights]. — In: Rol' ob'ektiv PZF u zberezhenni bioriznomanittja: Materiali Mizhnarodnoi naukovo-praktichnoi konferentsii. P. 44–151 (In Russ.).
- Tretyakova I.N., Noskova N.E. 2004. Pyl'tsa sosny obyknovennoy v usloviyakh ekologicheskogo stressa [Scotch pine pollen under environmental stress]. — Ekologiya. 1: 26–33 (In Russ.).
- Velisevich S.N. 2017. Kachestvo pyl'tsy vysokogornnykh populyatsiy *Pinus sibirica* Du Tour (Pinaceae) v aridnykh i gumidnykh rayonakh Altaya [Pollen quality of high-mountain populations of *Pinus sibirica* Du Tour (Pinaceae) in arid and humid regions of Altai]. — Zhurnal Sibirskogo federal'nogo universiteta. Seriya: Biologiya. 10 (3): 301–311 (In Russ.).
- Vergotti M.J., Fernández-Martínez M., Kefauver S.C., Janssens I.A., Penuelas J. 2019. Weather and trade-offs between growth and reproduction regulate fruit production in European forests. — Agricultural and Forest Meteorology. 279: 107711. <https://doi.org/10.1016/j.agrformet.2019.107711>
- Zemlyanoy A.I. 1971. Osobennosti mikrosporogeneza u keda sibirskogo na Altae [Features of microsporogenesis in Siberian stone pine in Altai]. — Izv. SO AN SSSR. Ser. biol. nauk. 3 (15): 51–54 (In Russ.).

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ МЕТОДОВ ФИТОИНДИКАЦИИ ДЛЯ ОЦЕНКИ СВЯЗИ СОДЕРЖАНИЯ АЗОТА В РАСТЕНИЯХ С УСЛОВИЯМИ ИХ ПРОИЗРАСТАНИЯ (НА ПРИМЕРЕ ЛЕСОВ ЮЖНОГО ПОДМОСКВЬЯ)

© 2023 г. Е. В. Зубкова^{1,*}, М. Н. Стаменов^{1,**}, И. В. Припутина^{1,***}, В. И. Грабовский^{1,2,****}

¹Институт физико-химических и биологических проблем почвоведения РАН — обособленное подразделение
Федерального исследовательского центра “Пушкинский научный центр биологических исследований РАН”

Институтская ул., 2/2, Пушкино, Московская обл., 142290, Россия

²Центр по проблемам экологии и продуктивности лесов РАН
ул. Профсоюзная, 84/32, стр. 14, Москва, 117997, Россия

*e-mail: zubkova@pbcra.ru

**e-mail: stamenov@pbcra.ru

***e-mail: priputina@pbcra.ru

****e-mail: wgrabov57@gmail.com

Поступила в редакцию 16.06.2022 г.

После доработки 28.09.2023 г.

Принята к публикации 10.10.2023 г.

Выявлена связь химического состава растений с условиями их произрастания. Исследование проведено по материалам геоботанических описаний 15 пробных площадок размером 100 м² в подзоне хвойно-широколиственных лесов на юге Московской области. С применением двух методов фитоиндикации (по индикаторным видам Воробьева-Погребняка и по шкале Цыганова) получена оценка богатства почв. Определено содержание азота в органах растений, образцах лесной подстилки и почвы. Анализ данных показал наличие корреляции между типами лесорастительных условий и баллами по шкале богатства почв азотом Цыганова для условий Южного Подмосквья. Содержание азота в лесной подстилке имеет высокую достоверную связь с типами условий местообитания. Показано, что растения из местообитаний, более богатых азотом по шкале Цыганова, имеют более высокое содержание азота в листьях, стеблях и корневищах, чем растения, произрастающие в почвенных условиях с меньшим количеством азота. Проведенное исследование подтверждает правомерность использования фитоиндикационных шкал для оценки богатства почв.

Ключевые слова: тип лесорастительных условий, шкала Цыганова, травяно-кустарничковый ярус

DOI: 10.31857/S0006813623100095, **EDN:** HXKNBK

Фитоиндикация широко используется в геоботанических и экологических исследованиях в нашей стране и за рубежом для оценки условий произрастания растительных сообществ (Vorob'ev, 1953; Larin, 1953; Viktorov, 1955; Pogrebnyak, 1955; Ramenskiy et al., 1956; Kozlovskiy et al., 1959; Vinogradov, 1964; Tsatsenkin, 1967; Tsyganov, 1976, 1983; Osnovnye..., 1999; Seledets, 2000, 2011; Bekmansurov, Zhukova, 2000; Komarova et al., 2003; Korolyuk, 2007; Khanina, 2019; Barmin et al., 2010; Landolt, 1977; Ellenberg et al., 1991; Didukh, Plyuta, 1994; Landolt et al., 2010; Sozinov, 2018; и др.). Метод фитоиндикации основан на экологической индивидуальности растений (Ramenskiy, 1924). Удобство метода заключается в возможности охарактеризовать абиотические и биотические условия на однородных по растительности участках с нивелированием локальных неоднородностей и

сезонных изменений. Оценка условий проводится по данным о границах толерантности по конкретному фактору всех растений, встреченных на пробной площадке. В шкалах разных авторов для растений-индикаторов приводятся балловые характеристики условий их обитания в виде перечня (Vorob'ev, 1953; Pogrebnyak, 1955), диапазона экологической амплитуды (Ramenskiy et al., 1956; Tsyganov, 1983) или оптимума (Ellenberg, 1991; Landolt, 1977). На основании списка растений для исследуемой территории выполняется интегральная оценка экологических условий. Значительный объем публикаций посвящен обзорам результатов и обсуждению методов расчета индикаторных показателей по данным геоботанических описаний (Didukh, Plyuta, 1994; Zhukova et al., 2010; Zubkova, 2011; Ipatov, 2014; Zolotova, Ivanova, 2015; Buzuk, 2018; Persson, 1981; Diekmann, 2003;

Tyler et al., 2021 и др.). Недостатком метода является в большинстве случаев отсутствие конкретных измеренных показателей, которые необходимы, например, при математическом моделировании. Работ по соотносению баллов индикации и измеренных показателей для территории России выполнено немного (Migunova, 1993; Didukh, Plyuta, 1994; Zaugol'nova et al., 1998; Barmin et al., 2010; Buzuk, 2018; Babeshina et al., 2011; и др.), поэтому ценны любые сведения, позволяющие провести сопоставление оценок, полученных методами фитоиндикации, и физико-химических показателей, отражающих состояние разных компонентов лесных биогеоценозов и измеренных традиционными методами. Лабораторией моделирования экосистем ИФХиБПП РАН проводятся исследования, направленные на анализ пространственной неоднородности экологических условий лесных сообществ (Nadporozhskaya et al., 2018; Shanin et al., 2018, 2020; Zubkova et al., 2022a, b). В статье рассматривается соотношение данных о содержании азота в органах доминирующих растений-индикаторов почвенного богатства и характеристиками почвенных условий лесных биогеоценозов.

Рассмотрены два метода фитоиндикации. Метод оценки типов лесорастительных условий, или, иначе, типов условий местообитаний (Vogob'ev, 1953; Pogrebnyak, 1955) широко применяется в лесоводстве для характеристики почвенных и гидрологических условий лесных земель, определяющих рост и продуктивность лесов (Kozlovskiy et al., 1959; Groshev et al., 1980; Normativy..., 1993; Lesoustroitel'naya..., 2008; Khanina, 2019). В геоботанике и экологии чаще используется метод оценки почвенных условий по экологическим шкалам Д.Н. Цыганова (Pochvennye..., 2006; Zhukova et al., 2010; Pripulina et al., 2014, 2015; Buzuk, 2018; Gostev, 2020; и др.). Ранее было показано совпадение оценок тенденций изменения условий по диапазонным шкалам Д.Н. Цыганова с результатами, полученными по точечным шкалам Е. Ландольта, (Shirokikh, Martynenko, 2009; Zubkova, 2011) и Г. Элленберга (Shirokikh, Martynenko, 2009; Zubkova, 2011, 2012; Komarov, Zubkova, 2012; Pripulina et al., 2014, 2015). Для удобства работы со шкалами Д.Н. Цыганова (Tsyganov, 1983), Л.Г. Раменского с соавторами (Ramenskiy et al., 1956), Г. Элленберга (Ellenberg, 1991) и Е. Ландольта (Landolt et al., 2010) создана и используется компьютерная программа, позволяющая быстро проводить необходимые расчеты (Zubkova et al., 2008; Grokhlina, Khanina, 2015). Таблицы с данными по шкалам Д.Н. Цыганова (Tsyganov, 1983) приводятся на сайте “Ценофонд лесов Европейской России” (Zaugol'nova, Morozova, 2006; Tsenofond, 2006).

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Полевые исследования проводились в 2018–2021 гг. на юге Московской области в хвойных, хвойно-широколиственных и широколиственных лесах. Участки исследований расположены в Южном Подмоскowie на левом и правом берегах реки Оки в пределах широтного участка ее долины между городами Серпухов и Пушкино. Растительные сообщества ключевых участков 1–10 на левобережье (табл. 1) представлены сосняками бореальными (зеленомошно-лишайниковыми, зеленомошно-кустарничковыми); сосняками сложными (с липой и кленом) и липняками неморальными. В почвенном покрове им соответствуют дерново-подбуры, подзолы иллювиально-железистые и торфяно-подзолы иллювиально-гумусовые глееватые песчано-супесчаного гранулометрического состава (Nadporozhskaya et al., 2018; Pripulina et al., 2020). Растительные сообщества ключевых участков правого берега (11–15) представлены сосняками сложными и липняками неморальными (табл. 1), на серых среднесуглинистых почвах (Dmitrakov, 1979).

При закладке пробных площадок выбирались участки леса с доминированием определенных видов растений травяно-кустарничкового яруса в разных лесных сообществах однородные по условиям рельефа. Основные характеристики ключевых участков приведены в таблице 1. Для каждой пробной площадки размером 10 × 10 м было составлено геоботаническое описание (Polevaaya..., 1964; Ipatov, Mirin, 2008). Латинские названия растений приводятся по С.К. Черепанову (Czerepanov, 1995). Латинские названия типа леса даны по “Ценофонду лесов Европейской России” (Tsenofond..., 2006).

На всех ключевых участках были отобраны образцы растений травяно-кустарничкового яруса, доминирующих в исследуемых сообществах в разные сроки вегетации. Образцы растений каждого вида отбирали целиком, включая корни и корневища, с площадок 0.25 × 0.25 м (не менее чем в трехкратной повторности). Всего отобрано 16 доминирующих видов для определения содержания азота в их органах (в скобках указано суммарное число образцов растений каждого вида): *Aegopodium podagraria* (25), *Anemonoides ranunculoides* (3), *Ajuga reptans* (3), *Asarum europaeum* (3), *Calamagrostis arundinacea* (12), *Carex pilosa* (18), *Convallaria majalis* (12), *Corydalis solida* (3), *Galeobdolon luteum* (6), *Impatiens parviflora* (6), *Mercurialis perennis* (3), *Oxalis acetosella* (14), *Pteridium aquilinum* (6), *Pulmonaria obscura* (9), *Vaccinium myrtillus* (9), *Vaccinium vitis-idaea* (6). Подземные органы отмывали в проточной воде. Фракции биомассы разбирали по органам (листья, стебли или черешки листьев, корневища, корни), высушивали в помещении до воздушно-сухого состояния, а затем в сушильном

Таблица 1. Краткая характеристика ключевых участков
Table 1. Brief description of key plots

№	Тип леса Forest type	Характеристика древесного яруса Tree stand characteristics				Доминанты травяно-кустарничкового яруса Dominants of ground cover	Координаты Coordinates
		Формула древостоя ¹ Canopy composition ¹	Средний возраст, лет Average age, years	Высота, м Height, m	Сомкнутость крон Crown density		
1	Сосняк зеленомошно-лишайниковый <i>Pineta sylvestris hylocomioso-cladiposa</i>	10С	60–70	24–28	0.8	<i>Convallaria majalis</i> L.	N 54°52'46", E 37°31'24"
2	Сосняк кустарничково-зеленомошный <i>Pineta sylvestris fruticuloso-hylocomiosa</i>	9С1Б	60–70	28–30	0.8	<i>Vaccinium vitis-idaea</i> L.	N 54°54'10", E 37°39'56"
3	Сосняк кустарничково-зеленомошный <i>Pineta sylvestris fruticuloso-hylocomiosa</i>	9С1Б	60–70	28–30	0.8	<i>Vaccinium myrtillos</i> L., <i>Vaccinium vitis-idaea</i>	N 54°54'09", E 37°39'57"
4	Сосняк кустарничково-зеленомошный <i>Pineta sylvestris fruticuloso-hylocomiosa</i>	10С		20–22	0.5–0.6	<i>Convallaria majalis</i>	N 54°51'08", E 37°54'47"
5	Сосняк с елью кустарничково-зеленомошный <i>Pineta sylvestris fruticuloso-hylocomiosa</i>	5С5Е	70–80	22–25	0.8	<i>Vaccinium vitis-idaea</i>	N 54°53'18", E 37°33'26"
6	Сосняк сложный <i>Pineta sylvestris fruticuloso-hylocomiosa</i> Сосняк сложный <i>Pineta sylvestris composita (nemoro-boroheg-bosa)</i>	4С4Б2Е+Лп	70–80	22–25	0.8	<i>Calamagrostis arundinacea</i> (L.) Roth., <i>Convallaria majalis</i> , <i>Pteridium aquilinum</i> (L.) Kuhn, <i>Vaccinium myrtillos</i> , <i>Vaccinium vitis-idaea</i>	N 54°53'19", E 37°33'48"
7	Сосняк сложный <i>Pineta sylvestris composita (nemoro-boroheg-bosa)</i>	4С3Лп2Ос1 Б ед. Д	90–120	22–25	0.7–0.8	<i>Aegopodium podagraria</i> L., <i>Asarum europaeum</i> L. <i>Carex pilosa</i> Scop., <i>Galeobdolon luteum</i> L., <i>Impatiens parviflora</i> DC., <i>Mercurialis perennis</i> L., <i>Pulmonaria obscura</i> Dumort.	N 54°54'6", E 37°44'3"
8	Сосняк сложный со вторым подъярусом из ели <i>Pineta sylvestris composita (nemoro-boroheg-bosa)</i>	6С3Б1Лп +Е	70–80	22–25	0.7–0.8	<i>Convallaria majalis</i> , <i>Oxalis acetosella</i> L., <i>Vaccinium myrtillos</i>	N 54°54'06", E 37°39'15"

Таблица 1. Окончание

№	Тип леса Forest type	Характеристика древесного яруса Tree stand characteristics				ТЛУ ² TSC ²	Доминанты травяно-кустарничкового яруса Dominants of ground cover	Координаты Coordinates
		Формула древостоя ¹ Canopy composition ¹	Средний возраст, лет Average age, years	Высота, м Height, m	Сомкнутость крон Crown density			
9	Липняк неморальный Quercus-Tilieta nemoralherbosa	–	Вырубка (5–6 лет) Felling (5–6 yrs)		–	C ₂	<i>Calamagrostis arundinacea</i> , <i>Convallaria majalis</i>	N 54°54'20", E 37°44'3"
10	Липняк неморальный Quercus-Tilieta nemoralherbosa	10Лп	70–80	30	0.5–0.8	C ₂	<i>Carex pilosa</i>	N 54°54'33", E 37°30'24"
11	Сосняк сложный со вторым подъярусом из ели Pineta sylvestris composita (nemoro-boroher- bosa)	5С5Б+Е	60–70	22–25	0.8	C ₂	<i>Oxalis acetosella</i> , <i>Convallaria majalis</i>	N 54°49'47", E 37°38'57"
12	Сосняк сложный Pineta sylvestris composita (nemoro-boroher- bosa)	6С4Б	60–70	22–25	0.7–0.8	C ₂	<i>Aegopodium podagraria</i> , <i>Asarum europaeum</i> , <i>Galeob- dolon luteum</i> , <i>Oxalis ace- tosella</i> , <i>Pulmonaria obscura</i>	N 54°49'47", E 37°38'57"
13	Сосняк сложный Pineta sylvestris composita (nemoro-boroher- bosa)	5С5Б	60–70	22–25	0.7	C ₂	<i>Carex pilosa</i>	N 54°49'47", E 37°38'57"
14	Липняк неморальный Quercus-Tilieta nemoralherbosa	8Лп1Д1Б	90–110	25–27	0.8	D ₂	<i>Aegopodium podagraria</i> , <i>Anemonoides ranunculoides</i> (L.) Holub, <i>Asarum euro- paeum</i> , <i>Corydalis solida</i> (L.) Clairv.	N 54°50'9", E 37°37'31"
15	Липняк неморальный Quercus-Tilieta nemoralherbosa	8Лп1Д1Б	90–110	25–27	0.7	D ₃	<i>Aegopodium podagraria</i> , <i>Convallaria majalis</i> , <i>Impra- tiens parviflora</i>	N 54°50'9", E 37°37'31"

Примечание. ¹Условные обозначения в формуле древостоя: С – *Pinus sylvestris*, Б – *Betula* spp., Е – *Picea abies*, Лп – *Tilia cordata*, Ос – *Populus tremula*, Д – *Quercus robur*.
²Показатели типа лесорастительных условий (ТЛУ) рассчитаны на основе (Vorob'ev, 1953): Б₂ – свежая суборь, С₂ – свежий сугрудок, Д₂ – свежий груд, Д₃ – влажный груд.

Notes. ¹Symbols in canopy composition formulae: С – *Pinus sylvestris*, Б – *Betula* spp., Е – *Picea abies*, Лп – *Tilia cordata*, Ос – *Populus tremula*, Д – *Quercus robur*. ²Indices in the column mean the type of forest vegetation conditions (TFVC) calculated based on Vorob'ev (1953): Б₂ – fresh fairly infertile pine site type, С₂ – fresh fairly fertile site type, Д₂ – fresh fertile site type, Д₃ – moist fertile site type (English names of TFVCs are cited according to Bondar et al., 2020).

шкафу при температуре 60°C до абсолютно сухого состояния.

Параллельно с отбором растений, на каждой пробной площадке в трехкратной повторности были отобраны образцы лесной подстилки и корнеобитаемого слоя почвы — гумусового горизонта (Ah). В лесной подстилке выделяли три подгоризонта: O1 (или L по старой классификации) — свежий или слаборазложившийся опад; O2 (или F) — растительные остатки, частично сохранившие форму; O3 (или H) — сильно трансформированная растительная масса (Bogatyrev et al., 1998, 2004). Отбор образцов для определения содержания азота проводился стандартными методами.

Определение содержания азота (массовая доля, %) в органах растений и образцах почвы и лесной подстилки выполнено методом газовой хроматографии на элементном анализаторе EA 1110 (CHNS-O, методика измерений № 88-17641-004-2016 (ФР.1.31.2016.23502)) в сертифицированной лаборатории Института биологии ФИЦ Коми НЦ УрО РАН.

Для всех ключевых участков на основании геоботанических описаний по индикаторным видам (Vorob'ev, 1953) был определен тип лесорастительных условий (табл. 1) и получены оценки богатства почв азотом по шкале Цыганова с использованием компьютерной программы EcoScaleWin (Grokhlina, Khanina, 2015). Оценки богатства почв азотом выполнены с учетом баллов проективного покрытия растений методом средневзвешенной середины интервала (Zubkova et al., 2008). Список растений с их балловыми характеристиками, на основании которых были выполнены оценки богатства почв участков, приводится в табл. 2.

Для оценки связи содержания азота в органах растений с его локализацией в горизонтах лесной подстилки и органоминеральной части почвы, а также с параметрами “Тип лесорастительных условий” и “Доминирующие на ключевом участке виды травяно-кустарничкового яруса” выполнен регрессионный анализ данных в среде R. Проведена оценка связи этих параметров с содержанием азота в органах растений и с балловыми оценками границ толерантности видов по фактору богатства почв азотом шкалы Цыганова. Для сравнения содержания азота в органах растений, имеющих разные границы толерантности к азоту в почве, рассчитаны средние значения содержания азота для этих групп растений. Оценку различий между выборками проверяли непараметрическим U-критерием Манна-Уитни (Mann, Whitney, 1947; Avtomaticheskii..., 2022).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Содержание азота в органах растений

Для роста растениям требуется определенное количество азота, которое, как правило, видоспецифично. Показатели содержания азота в листьях, стеблях и корнях лесных трав и кустарничков приводятся в ряде работ (Remezov et al., 1959; Капров, 1969; Morozova, 1971; Archegova et al., 1975; Vakurov, Polyakova, 1982). В данном исследовании растительный материал был собран в трех типах лесорастительных условий по классификации Воробьева-Погребняка: В — субори (почвенные условия под сосняками на супесях с примесью таких пород как береза, ель), С — сугрудки (почвенные условия под сосняками с участием липы, клена — богаче субори, но беднее чем груды) и D — груды (наиболее богатые, в подзоне хвойно-широколиственных лесов, почвенные условия под липняками, кленовниками, дубравами на суглинках). Это позволило провести сравнительный анализ данных о содержании азота в фитомассе, в отношении видов, произрастающих в разных условиях почвенного богатства азотом (табл. 2, 3).

Жизнедеятельность доминирующих растений травяно-кустарничкового яруса вносит свой вклад в неоднородность содержания азота в почве. Растения разных жизненных форм имеют разное соотношение биомассы надземных и подземных органов, разную длительность их жизни и сроки отмирания. Эти данные учитываются при моделировании растений травяно-кустарничкового яруса (Frolov et al., 2020a, b, 2021). На ключевых участках в сосняках мозаика травяно-кустарничкового яруса создавалась следующими видами: *Vaccinium vitis-idaea* — вечнозеленый длиннокорневишный кустарничек, *Vaccinium myrtillus* — листопадный длиннокорневишный кустарничек; *Pteridium aquilinum* — длиннокорневишный папоротник, *Convallaria majalis* — длиннокорневишное травянистое растение, *Calamagrostis arundinacea* — дерновинное травянистое растение. В липняках и в сосняках с липой и кленом в травяно-кустарничковом ярусе на разных участках содоминировали виды: длиннокорневишные *Aegopodium podagraria*, *Carex pilosa*, *Oxalis acetosella*, *Pulmonaria obscura*; наземноползучие — *Ajuga reptans*, *Asarum europaeum*, *Galeobdolon luteum*; короткокорневишный — *Anemonoides ranunculoides*; клубнеобразующий — *Corydalis solida* (Maevskiy, 2014).

Оценки степени взаимосвязи между органом растения и содержанием в нем азота для разных видов, выполненные с использованием регрессионного анализа, показали сильную степень зависимости этих показателей ($R^2 = 0.86$), что можно объяснить определенным химическим составом тканей каждого органа. Для растений *Aegopodium*

Таблица 2. Растения-индикаторы богатства почв
Table 2. Plants-indicators of soil richness

Видовое название растения Name of plant species	Тип лесорастительных условий ¹ Type of forest vegetation conditions ¹ (Vorob'ev, 1953)	Tsyganov, 1983; Zubkova et al., 2008	
		Левая граница Left bound	Правая граница Right bound
<i>Acer platanoides</i> L.	C, D	1	9
<i>Aegopodium podagraria</i> L.	C, D	7	10
<i>Ajuga reptans</i> L.	C, D	5	9
<i>Andromeda polifolia</i> L.	A, B, C*	1	5
<i>Anemonoides ranunculoides</i> (L.) Holub	D	5	10
<i>Anthriscus sylvestris</i> (L.) Hoffm.	C, D	7	10
<i>Asarum europaeum</i> L.	C, D	5	9
<i>Betula pendula</i> Roth	C, D	1	9
<i>Calamagrostis arundinacea</i> (L.) Roth	B, C	3	9
<i>Calamagrostis epigeios</i> (L.) Roth	A, B, C	5	10
<i>Calluna vulgaris</i> (L.) Hill	A, B, C*	1	3
<i>Campanula persicifolia</i> L.	B, C, D	1	7
<i>Cardamine impatiens</i> L.	C, D	7	10
<i>Carex capillaris</i> L.	—	1	5
<i>Carex ericetorum</i> Pollich	A, B, C*	1	7
<i>Carex pilosa</i> Scop.	C, D	3	9
<i>Chamaecytisus ruthenicus</i> (Fisch. ex Vorosch.) Klask.	A, B, C	1	7
<i>Chamaenerion angustifolium</i> (L.) Scop.	A*, B, C, D*	4	10
<i>Convallaria majalis</i> L.	B, C, D*	3	7
<i>Corydalis bulbosa</i> (L.) DC.	—	6	10
<i>Corylus avellana</i> L.	C, D	1	9
<i>Deschampsia cespitosa</i> (L.) P. Beauv.	B, C, D	1	7
<i>Dryopteris carthusiana</i> (Vill.) H.P. Fuchs	C, D	1	7
<i>Dryopteris filix-mas</i> (L.) Schott	C, D	5	9
<i>Epilobium montanum</i> L.	C, D	5	9
<i>Epilobium parviflorum</i> Schreb.	—	3	9
<i>Eriophorum vaginatum</i> L.	A, B, C*	1	4
<i>Euonymus verrucosa</i> Scop.	B, C	1	7
<i>Festuca rubra</i> L.	B, C, D	1	11
<i>Ficaria verna</i> Huds.	—	5	11
<i>Fragaria vesca</i> L.	B, C, D*	5	9
<i>Frangula alnus</i> Mill.	A, B, C, D*	1	7
<i>Gagea lutea</i> (L.) Ker-Gawl.	—	5	10
<i>Galeobdolon luteum</i> (L.) L.	C, D	3	9
<i>Galium odoratum</i> (L.) Scop.	C, D	3	9
<i>Genista tinctoria</i> L.	A, B, C	1	5
<i>Geum urbanum</i> L.	C, D	5	11
<i>Hieracium umbellatum</i> L.	A, B, C	1	5
<i>Impatiens noli-tangere</i> L.	C, D	5	9

Таблица 2. Продолжение

Видовое название растения Name of plant species	Тип лесорастительных условий ¹ Type of forest vegetation conditions ¹ (Vorob'ev, 1953)	Tsyganov, 1983; Zubkova et al., 2008	
		Левая граница Left bound	Правая граница Right bound
<i>Impatiens parviflora</i> DC.	—	5	9
<i>Koeleria glauca</i> (Spreng.) DC.	A, B	1	5
<i>Lamium purpureum</i> L.	C, D	1	9
<i>Lathraea squamaria</i> L.	—	5	9
<i>Lathyrus vernus</i> (L.) Bernh.	C, D	1	9
<i>Lonicera xylosteum</i> L.	C, D	1	9
<i>Luzula multiflora</i> (Ehrh.) Lej.	B, C	1	7
<i>Luzula pilosa</i> (L.) Willd.	B, C	3	7
<i>Lysimachia nummularia</i> L.	D	1	9
<i>Maianthemum bifolium</i> (L.) F.W. Schmidt	B, C, D	1	7
<i>Melampyrum pratense</i> L.	A, B, C	1	7
<i>Melampyrum sylvaticum</i> L.	B, C	1	5
<i>Mercurialis perennis</i> L.	D	5	10
<i>Milium effusum</i> L.	C, D	1	9
<i>Moehringia trinervia</i> (L.) Clairv.	B, C, D	5	9
<i>Molinia caerulea</i> (L.) Moench	A, B, C	1	5
<i>Monotropa hypopitys</i> L.	A, B, C	1	7
<i>Neottia nidus-avis</i> (L.) Rich.	C, D	3	9
<i>Orthilia secunda</i> (L.) House	B, C	1	5
<i>Oxalis acetosella</i> L.	C, D	5	10
<i>Paris quadrifolia</i> L.	C, D	5	9
<i>Picea abies</i> (L.) Karst.	B, C, D	1	9
<i>Pinus sylvestris</i> L.	A, B, C	1	9
<i>Platanthera bifolia</i> (L.) Rich.	C	1	9
<i>Poa nemoralis</i> L.	C, D	1	7
<i>Polygonatum multiflorum</i> (L.) All.	C, D	3	7
<i>Populus tremula</i> L.	B, C, D	1	10
<i>Pteridium aquilinum</i> (L.) Kuhn ex Decken	B, C	1	7
<i>Pulmonaria obscura</i> Dumort.	C, D	5	10
<i>Quercus robur</i> L.	B, C, D	1	9
<i>Ranunculus cassubicus</i> L.	C, D	3	9
<i>Rubus idaeus</i> L.	C, D	5	11
<i>Rubus saxatilis</i> L.	B, C, D	3	7
<i>Rumex acetosella</i> L.	A, B, C	1	5
<i>Salix caprea</i> L.	A, B, C, D*	1	9
<i>Salix cinerea</i> L.	B, C, D	3	7
<i>Sambucus racemosa</i> L.	D	5	11
<i>Solidago virgaurea</i> L.	A, B, C, D*	3	9
<i>Sonchus arvensis</i> L.	B, C	1	11

Таблица 2. Окончание

Видовое название растения Name of plant species	Тип лесорастительных условий ¹ Type of forest vegetation conditions ¹ (Vorob'ev, 1953)	Tsyanov, 1983; Zubkova et al., 2008	
		Левая граница Left bound	Правая граница Right bound
<i>Sorbus aucuparia</i> L.	A*, B, C, D	1	9
<i>Stachys officinalis</i> (L.) Trevir.	B, C	1	7
<i>Stellaria holostea</i> L.	C, D	3	9
<i>Stellaria nemorum</i> L.	C, D	5	10
<i>Taraxacum officinale</i> F.H. Wigg.	A, B, C	5	11
<i>Tilia cordata</i> Mill.	B, C	3	9
<i>Trientalis europaea</i> L.	A*, B, C, D*	1	5
<i>Ulmus glabra</i> Huds.	D	5	10
<i>Urtica dioica</i> L.	C, D	5	11
<i>Vaccinium myrtillus</i> L.	A, B, C	1	7
<i>Vaccinium uliginosum</i> L.	A, B, C	1	7
<i>Vaccinium vitis-idaea</i> L.	A, B, C	1	5
<i>Veronica chamaedrys</i> L.	B, C, D*	1	9
<i>Veronica officinalis</i> L.	A, B, C	1	7
<i>Viburnum opulus</i> L.	C, D	5	9
<i>Viola collina</i> Bess.	—	1	5
<i>Viola mirabilis</i> L.	C, D	1	9

Примечание. * — Очень редко. ¹Типы лесорастительных условий, различающиеся по богатству почв (по Vorob'ev, 1953): A — бор, B — субор, C — сугрудок, D — груд.

Note. * — Very rare. ¹Types of forest vegetation conditions according to Vorob'ev (1953): A — infertile pine site type, B — fairly infertile pine site type, C — fairly fertile site type, D — fertile site type.

podagraria, *Ajuga reptans*, *Anemonoides ranunculoides*, *Asarum europaeum*, *Convallaria majalis*, *Carex pilosa*, *Corydalis solida*, *Galeobdolon luteum*, *Oxalis acetosella*, *Pulmonaria obscura* выявленная связь высоко достоверна ($P < 0.0001$). Это может свидетельствовать об органоспецифичности этого показателя (табл. 3).

Для растений травяно-кустарничкового яруса, доминирующих в исследуемых сообществах, проверялось существование связи между правой и левой границами диапазонов толерантности шкалы Цыганова и содержанием азота в листьях растения. Регрессионный анализ показал высоко достоверную ($P < 0.0001$), но слабую связь между содержанием азота в листьях растений с баллами границ диапазонов толерантности (соответственно, $R^2 = 0.19$ и 0.16). Чтобы выявить причины этого, были проанализированы средние показатели содержания азота в листьях и других органах растений (табл. 2). Анализ данных по видам свидетельствует о разном содержании азота в листьях растений, отнесенных к одному диапазону усло-

вий по шкале Цыганова. Так, более высокие показатели содержания азота в листьях характерны для многолетних эфемероидов *Anemonoides ranunculoides* и *Corydalis solida*, длительность вегетации которых составляет 1–2 месяца до массового распускания листьев древесного полога, после чего надземная часть отмирает до следующей весны. Определение содержания азота в других органах растений также показало наличие видовых особенностей (табл. 3).

В целом у растений из более богатых азотом местообитаний содержание азота в листьях, стеблях и корневищах выше, чем у растений, встречающихся в более бедных почвенных условиях (табл. 3). Для корней строгой закономерности между содержанием азота в корнях и оценкой почвенных условий произрастания растений не обнаружено (табл. 3). Возможность расти в определенных условиях, у растений, наряду с другими факторами, связана с их потребностью в азотном питании. В свою очередь, содержание азота в органах растений определяет их вклад в биогенный

Таблица 3. Содержание азота в органах растений травяно-кустарничкового яруса — индикаторов разных условий богатства почв
Table 3. Nitrogen content in the organs of ground cover plants — indicators of different conditions of soil richness

Вид Species	Диапазон Nt- шкалы Цыганова Tsyganov's Nt-scale range	Тип лесорастительных условий Types of forest vegetation conditions			Содержание азота (%) в органах растений Nitrogen content (%) in plant organs							
		B	C	D	Корни Roots		Корневище Rhizome		Стебель (черешок) Stem (petiole)		Листья Leaves	
					Среднее Average	Ст.откл. s.d.	Среднее Average	Ст.откл. s.d.	Среднее Average	Ст.откл. s.d.	Среднее Average	Ст.откл. s.d.
<i>Vaccinium vitis- idaea</i>	1–5	X			1.27	0.14	0.72	0.09	0.83	0.03	1.00	0.06
<i>Vaccinium myrtillus</i>	1–7	X	X		1.19	0.15	0.49	0.07	0.83	0.13	1.69	0.32
<i>Pteridium aquili- num</i>	1–7	X	X		0.57	0.05	0.67	0.08	0.65	0.16	1.75	0.34
<i>Convallaria majalis</i>	3–7	X	X	X	1.23	0.05	1.27	0.28	1.27	0.10	2.39	0.24
<i>Calamagrostis arundinacea</i>	3–9	X	X		0.92	0.23	1.23	0.26	0.78	0.20	1.79	0.38
<i>Carex pilosa</i>	3–9		X		1.08	0.26	1.41	0.39	–	–	2.50	0.40
<i>Ajuga reptans</i>	5–9		X		1.65	0.20	1.44	0.15	–	–	2.59	0.10
<i>Asarum europaeum</i>	5–9			X	2.40	0.33	–	–	2.16	0.14	2.87	0.47
<i>Impatiens parvi- flora</i>	5–9		X	X	2.07	0.11	–	–	2.25	0.32	3.78	0.49
<i>Anemonoides ranunculoides</i>	5–10			X	1.72	0.26	1.47	0.10	2.24	0.01	4.70	0.29
<i>Oxalis acetosella</i>	5–10		X		1.17	0.07	1.23	0.18	1.00	0.10	2.21	0.32
<i>Pulmonaria obscura</i>	5–10		X	X	1.06	0.16	1.37	0.28	1.75	0.30	3.00	0.46
<i>Aegopodium podagraria</i>	7–10		X	X	1.50	0.27	1.97	0.30	1.93	0.66	3.16	0.90
<i>Corydalis solida</i>	7–10			X	–	–	1.83	0.02	3.10	0.00	4.90	0.08

Примечание. Тип лесорастительных условий: B — суборь, C — сугрудок, D — груд. Знак “X” — показывает, в каком типе лесорастительных условий встречается растение.
Note. Types of forest vegetation conditions according to Vorob'ev (1953): B — fairly infertile pine site type, C — fairly fertile site type, D — fertile site type. The “X” sign indicates in which type of forest growing conditions the plant occurs; s.d. — standard deviation.

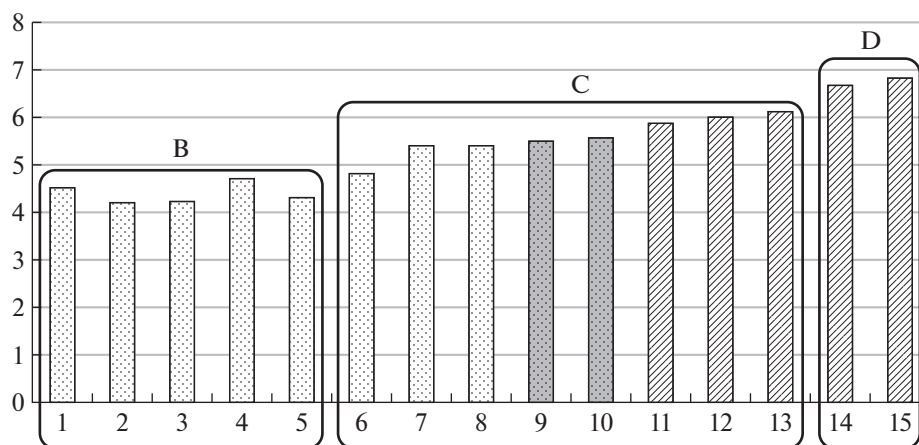


Рис. 1. Оценка условий богатства почв по шкале Цыганова. По оси абсцисс — ключевые участки исследований (табл. 1), по оси ординат — балловая оценка по шкале богатства почв азотом Цыганова. Рамками выделены типы лесорастительных условий по шкале Воробьева-Погребняка. Точками показаны участки с песчаными и супесчаными почвами, штриховкой — участки с суглинистыми почвами. Сосновые леса — белый цвет фона, липовые леса — серый.

Fig. 1. Assessment of soil richness conditions on the Tsyganov's scale. X-axis: key sites of the study (Table 1); Y-axis: point values on the Tsyganov's scale of soil richness in nitrogen. The types of forest vegetation conditions on the Vorobyov-Pogrebnyak's scale are highlighted by frames. Dotted columns — plots on sandy and sandy loam soils, hatched columns — plots on loamy soils. Pine forests — white background color, linden forests — gray color.

круговорот азота через поступление его в почву при отмирании листьев и других органов, что подтверждает высоко достоверная сильная связь вида растения с содержанием азота в верхних горизонтах лесной подстилки ($P < 0.0001$; $R^2 = 0.68$), сформированной поверхностными фракциями опада.

Оценка эдафических условий

Полученные оценки богатства почв по индикаторным видам Воробьева-Погребняка и шкале богатства почв азотом Цыганова показали совпадение оценок на качественном уровне (рис. 1). Градация условий по шкале Цыганова более детальная, так как эта шкала включает диапазоны от 1 до 11 баллов. Для сосняков зеленомошных и зеленомошно-кустарничковых (ключевые участки 1–5) почвенные условия определены по шкале Цыганова как “промежуточные от очень бедных до бедных азотом почв”. Несколько богаче почвенные условия в сосняках с участием липы (ключевые участки 6–8) и липняках на песчаных почвах (ключевые участки 9–10), где они оцениваются как “бедные азотом почвы”. Наиболее богатые из исследуемых почв — в липняках на суглинках (ключевые участки 14–15), условия которых соответствуют диапазону “от бедных к достаточно обеспеченным азотом почвам”. При этом в сложных сосняках с липой на песчаных и супесчаных почвах (ключевые участки 6–8) балл почвенного богатства ниже, чем в сосняках на суглинистых почвах (ключевые участки 11–13). Аналогично, липняки на супесчаных почвах (ключевые участки 9

и 10) имеют меньший балл богатства азотом, чем липняки на суглинистых почвах (ключевые участки 14 и 15) (рис. 1). Это объясняется участием в травяно-кустарничковом ярусе лесов на суглинках большего числа растений богатых местобитаний.

Сравнительный анализ результатов оценок по шкале Цыганова и группам типов лесорастительных условий выявил следующее: для В (субори) соответствует диапазон богатства почв азотом от 4.2 до 4.5 балла шкалы Цыганова, что характеризует почвенные условия как промежуточные между очень бедными и бедными; типу лесорастительных условий С (сугрудки) — от 4.8 до 5.8 балла — от бедных до промежуточных условий к достаточно обеспеченным азотом почвам; типу лесорастительных условий D (груды) — выше 5.8 балла, достаточно обеспеченные азотом почвы.

Регрессионный анализ данных содержания азота в горизонтах лесной подстилки (O1, O2, O3) и гумусовом горизонте почв (Ah) показал сильную ($R^2 = 0.78$) и высоко достоверную ($P < 0.0001$) связь содержания азота и его локализации в профиле лесных почв. Также показана сильная ($R^2 = 0.72$) высоко достоверная связь ($P < 0.0001$) содержания почвенного азота с типом лесорастительных условий. Для типов лесорастительных условий В и С показана связь с содержанием азота во всех слоях лесной подстилки (O1, O2, O3); для типа лесорастительных условий D — со слоем подстилки O1; для гумусового горизонта связи с типами лесорастительных условий не выявлены.

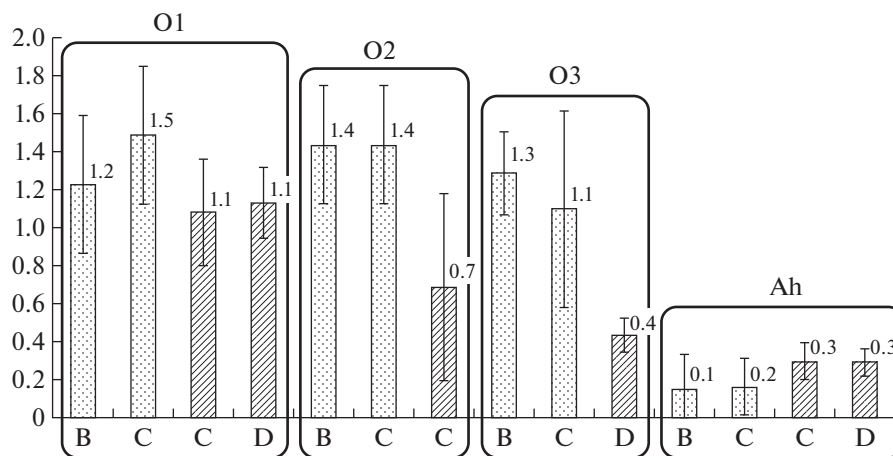


Рис. 2. Содержание азота в почве разных типов лесорастительных условий (средние значения и стандартное отклонение): В – суборь, С – сугрудок, D – груд. По оси абсцисс: O1, O2, O3 – слои лесной подстилки, Ah – верхний гумусовый горизонт минеральной почвы. Точками показаны участки с песчаными и супесчаными почвами, штриховкой – участки с суглинистыми почвами. По оси ординат – валовое содержание азота (массовая доля, %). На диаграмме приводятся планки погрешностей стандартного отклонения значений содержания азота.

Fig. 2. Nitrogen content in soils of different types of forest vegetation conditions (mean values and standard deviation): B – fairly infertile pine site type, C – fairly fertile site type, D – fertile site type. X-axis: O1, O2, O3 – forest litter layers, Ah – upper humus horizon of mineral soil. Dotted columns – plots on sandy and sandy loam soils, hatched columns – plots on loamy soils. Y-axis – gross nitrogen content (mass fraction, %). The chart shows error bars of standard deviation of nitrogen content values.

Данные о содержании азота в лесной подстилке и гумусовом горизонте в почвах разных типов лесорастительных условий представлены на рисунке 2. Так как тип лесорастительных условий С соответствовал ключевым участкам на супесчаных и суглинистых почвах, а анализ условий по шкале Цыганова показал их различие, при расчетах эти данные рассматривались отдельно. Более высокие средние значения содержания общего азота получены для всех горизонтов лесной подстилки песчаных почв по сравнению с подстилками суглинистых почв. В гумусовом горизонте, напротив, более высокое содержание азота получено для суглинистых почв.

Проверка данных для супесчаных и суглинистых почв типа лесорастительных условий С с помощью U-критерия Манна-Уитни показала значимость различий между этими почвами в содержании азота в горизонтах подстилки O1 и O2 и в гумусовом горизонте Ah. Проверка с помощью U-критерия Манна-Уитни показала, что для типов лесорастительных условий В и С на песках различия в содержании азота между слоями лесной подстилки не значимы. Также не обнаружена значимая разница между пробами гумусового горизонта почв на песках для этих типов лесорастительных условий. Это согласуется с ранее полученными данными об отсутствии значимых различий в содержании азота в лесных подстилках под чернично-брусничными парцеллами в сосняках кустарничковых (тип лесорастительных условий В) и сосняках сложных (тип С) (Zubkova et al., 2022b).

Для анализа содержания азота в разных лесорастительных условиях выполнены статистические расчеты по слоям подстилки (O1, O2, O3) и в гумусовом горизонте почвы (Ah). Коэффициент вариации показал однородность (с разной степенью рассеивания) для слоев подстилки: O1 и O2 (кроме С на суглинке) и гумусового горизонта почвы (кроме С на песках). Одновременно с этим в типах лесорастительных условий В и С выявлена большая неоднородность верхнего гумусового слоя минеральной почвы (стандартное отклонение значений 0.19 и 0.15) по сравнению с неоднородностью в типе лесорастительных условий D (стандартное отклонение 0.07), что, по нашему мнению, является отражением неравномерности процессов подзолообразования, идущих в почвах под сосняками.

Нас интересовал вопрос – есть ли связь содержания азота в лесной подстилке и гумусовом горизонте почвы с доминирующими видами растений в травяно-кустарничковом ярусе на ключевых участках. Регрессионный анализ данных выявил сильную ($R^2 = 0.78$) высоко достоверную ($P < 0.0001$) связь содержания азота в верхних горизонтах подстилки (O1, O2) с обилием растений *Calamagrostis arundinacea*, *Convallaria majalis*, *Carex pilosa*, *Oxalis acetosella*, *Mercurialis perennis*, *Pteridium aquilinum*, *Pulmonaria obscura*, *Vaccinium myrtillus*, *Vaccinium vitis-idaea*, а для *Aegopodium podagraria* – со слоем подстилки O1 ($P < 0.001$). Также выявлена высоко достоверная связь ($P < 0.0001$) содержания азота в горизонте O3 лесной подстилки и *Vaccinium myrtillus*, *Vaccinium vitis-idaea*, *Pteridium*

aquilinum, *Oxalis acetosella*, *Mercurialis perennis* и достоверная связь ($P < 0.001$) для *Calamagrostis arundinacea*.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Проведенное исследование позволило сравнить данные фитоиндикации с результатами определения содержания азота в доминирующих растениях травяно-кустарничкового яруса, горизонтах лесной подстилки и гумусовом горизонте почв в лесных сообществах, типичных для Южного Подмосковья. Согласно полученным данным, у растений из более богатых азотом местообитаний содержание азота в листьях, стеблях и корневищах выше, чем у растений, произрастающих на почвах, менее богатых азотом. Выявлена статистически значимая связь между содержанием азота в растениях и баллами богатства почв азотом по шкале Цыганова, а также типами лесорастительных условий и содержанием азота в почве.

Анализ показал, что растения: *Calamagrostis arundinacea*, *Convallaria majalis*, *Pteridium aquilinum*, *Vaccinium vitis-idaea*, *Vaccinium myrtillus* могут доминировать в травяно-кустарничковом ярусе на песчаных и супесчаных почвах со средними значениями содержания азота в гумусовом горизонте почв 0.15–0.16%; а виды *Aegopodium podagraria*, *Ajuga reptans*, *Anemonoides ranunculoides*, *Carex pilosa*, *Corydalis solida*, *Galeobdolon luteum*, *Oxalis acetosella*, *Pulmonaria obscura* встречаются с высоким обилием преимущественно на суглинистых и на богатых супесчаных почвах с содержанием азота 0.29–0.3%.

Для лесов Южного Подмосковья параллельные оценки богатства почв по индикаторным видам Воробьева-Погребняка и шкале богатства почв азотом Цыганова показали их совпадение на качественном уровне, что позволило установить соотношения между типами лесорастительных условий и баллами шкалы Цыганова.

Проведенное исследование подтверждает обоснованность использования методов фитоиндикации для сравнительной оценки почвенных условий и дополняет некоторые представления о фитоиндикационных шкалах.

БЛАГОДАРНОСТИ

Авторы благодарят к.б.н. П.В. Фролова и А.Б. Шечкова, оказавших помощь в сборе и обработке материала. Исследование выполнено в рамках темы государственного задания Федерального исследовательского центра “Пушинский научный центр биологических исследований Российской академии наук” (№ 122040.500037-6). Определение содержания азота в образцах растений и почв выполнено при финансовой поддержке Российского научного фонда (Проект № 18-14-00362).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- [Archeгова et al.] Арчегова И.Б., Заболоцкая Т.Г., Кононенко А.В., Русанова Г.В., Слобода А.В., Юдинцева И.И. 1975. Продуктивность и круговорот элементов в фитоценозах Севера. Л. 130 с.
- [Automaticcheskiy...] Автоматический расчет U-критерия Манна–Уитни. Электронный ресурс. <https://www.psychol-ok.ru/statistics/mann-whitney/> (дата обращения 12.04.2022).
- [Babeshina et al.] Бабешина Л.Г., Рогова Н.С., Рыжак ова Н.К., Зверев А.А., Меркулов В.Г. 2011. Корреляционная зависимость между содержанием химических элементов в сфагновых мхах и их экологическими оптимумами по трофности и увлажнению. — Вестн. Том. гос. ун-та. Биология. 2 (14): 122–131.
- [Barmin et al.] Бармин А.Н., Иолин М.М., Шарова И.С., Старичкова К.А., Сорокин А.Н., Николайчук Л.Ф., Голуб В.Б. 2010. Использование шкал Л.Г. Раменского и ДСА-ординации для индикации изменений условий среды в Волго-Ахтубинской пойме. — Изв. Самарского науч. Центра РАН. 11. 1 (4): 577–582.
- [Bekmansurov, Zhukova] Бекмансуров М.В., Жукова Л.А. 2000. Индикационные возможности видов растений и экологические шкалы. — Полевой экологический практикум. Уч. пособие. Ч. 1. Йошкар-Ола. С. 58–67.
- [Bogatyrev et al.] Богатырев Л.Г., Свентицкий И.А., Шарафутдинов Р.Н., Степанов А.Л. 1998. Лесные подстилки и диагностика современной направленности гумусообразования в различных природных зонах. — Почвоведение. 7: 864–875.
- [Bogatyrev et al.] Богатырев Л.Г., Демин В.В., Матышак Г.В., Сапожникова В.А. 2004. О некоторых теоретических аспектах исследования лесных подстилок. — Лесоведение. 4: 17–29.
- Bondar O., Rumiantsev M., Tkach L., Obolonyk I. 2020. Prevailing forest types in the river catchments within the Left-Bank Forest-Steppe zone, Ukraine — Folia Forestalia Polonica, A, 62 (2): 100–113. <https://doi.org/10.2478/ffp-2020-0011>
- [Buzuk] Бузук Г.Н. 2018. Фитоиндикация с применением экологических шкал и регрессионного анализа: сравнение методик расчета. — Вестник фармации. 4 (82): 38–43.
- [Czerepanov] Черепанов С.К. 1995. Сосудистые растения России и сопредельных государств (в пределах бывшего СССР). СПб. 992 с.
- [Didukh, Plyuta] Дідух Я.П., Плюта П.Г. 1994. Фітоіндикація екологічних факторів. Київ. 280 с.
- Diekmann M. 2003. Species indicator values as an important tool in applied plant ecology — a review. — Basic Appl. Ecol. 4: 493–506.
- [Dmitrakov] Дмитраков Л.М. 1979. Почвенный покров биосферных пикетов Пушинского Биосферного стационара. — В кн.: Экосистемы Южного Подмосковья. М. С. 70–77.
- Ellenberg H., Weber H.E., Düll R., Wirth V., Werner W., Paulißen D. 1991. Zeigerwerte von Pflanzen in Mitteleuropa. — Scr. Geobot. 18: 1–248.

- Frolov P.V., Shanin V.N., Zubkova E.V., Bykhovets S.S., Grabarnik P.Ya. 2020a. CAMPUS-S – The model of ground layer vegetation populations in forest ecosystems and their contribution to the dynamics of carbon and nitrogen. I. Problem formulation and description of the model. – *Ecol. Modell.* 431: 109184. <https://doi.org/10.1016/j.ecolmodel.2020.109184>
- Frolov P.V., Zubkova E.V., Shanin V.N., Bykhovets S.S., Mäkipää R., Salemaa M. 2020b. CAMPUS-S – The model of ground layer vegetation populations in forest ecosystems and their contribution to the dynamics of carbon and nitrogen. II. Parameterization, validation and simulation experiments. – *Ecol. Modell.* 431: 109183. <https://doi.org/10.1016/j.ecolmodel.2020.109183>
- Frolov P., Shanin V., Zubkova E.V., Salemaa M., Mäkipää R., Grabarnik P. 2021. Predicting biomass of bilberry (*Vaccinium myrtillus*) using rank distribution and root-to-shoot ratio models. – *Plant Ecol.* <https://doi.org/10.1007/s11258-021-01199-1>
- [Gostev] Гостев В.В. 2020. Фитоиндикация экологического режима на выработанном песчаном карьере. – В кн.: Белозерские чтения. Материалы Всероссийской (с международным участием) научно-практической конф., посвященной 120-летию со дня рождения ученого-флориста П.И. Белозерова. Кострома. С. 67–72.
- [Grokhlina, Khanina] Грохлина Т.И., Ханина Л.Г. 2015. О компьютерной обработке геоботанических описаний по экологическим шкалам. – В кн.: Материалы IV национальной науч. конф. с междунар. участием. Математическое моделирование в экологии, 18–22 мая 2015 г. Пушкино. С. 63–64.
- [Groshev et al.] Грошев Б.И., Сеницын С.Г., Мороз П.И., Сеперович И.П. 1980. Лесотаксационный справочник. 2-е изд., перераб. М. 288 с.
- [Ipatov] Ипатов В.С. 2014. Использование шкал Раменского и Цыганова для экологической оценки растительных сообществ. – *Бот. журн.* 99 (4): 476–482.
- [Ipatov, Mirin] Ипатов В.С., Мирин Д.М. 2008. Описание фитоценоза: Методические рекомендации. СПб. 71 с.
- [Karpov] Карпов В.Г. 1969. Экспериментальная фитоценология темнохвойной тайги. Л. 335 с.
- [Khanina] Ханина Л.Г. 2019. Классификация типов лесорастительных условий по индикаторным видам Воробьева-Погребняка база данных и опыт анализа лесотаксационных данных. – *Вопр. лесн. науки.* 2 (4): 1–30.
- [Komarov, Zubkova] Комаров А.С., Зубкова Е.В. 2012. Динамика распределения экологических ниш в сообществах лесных растений при сукцессии. – *Математическая биология и биоинформатика.* 7 (1): 152–161.
- [Komarova et al.] Комарова Т.А., Тимошенкова Е.В., Прохоренко Н.Б., Ащепкова Л.Я., Яковлева А.Н., Судаков Ю.Н., Селедец В.П. 2003. Региональные экологические шкалы для лесной растительности Дальнего Востока. Владивосток. 277 с.
- [Kogolyuk] Королюк А.Ю. 2007. Использование экологических шкал в геоботанических исследованиях. – В кн.: Актуальные проблемы геоботаники. III Всероссийская школа-конференция. Лекции. Петрозаводск. С. 176–197.
- [Kozlovskiy et al.] Козловский Б.А., Малахов А.Я., Панащенко К.А., Перн А.К. 1959. Справочник лесоустроителя. М.–Л. С. 148–150.
- Landolt E. 1977. *Ökologische Zeigerwerte zur Schweizer Flora.* – Veröff. Geobot. Inst. ETH. Zurich. 64: 1–208.
- Landolt E., Beat Bäumler A., Erhardt O., Hegg F., Klötzli Walter, Lämmli M., Nobis, Rudmann-Maurer K., Schweingruber F., Theurillat J.-P., Urmi E., Vust M., Wohlgenuth T. 2010. *Flora indicativa. – Ökologische Zeigerwerte und biologische Kennzeichen zur Flora der Schweiz und der Alpen.* Bern. S. 378.
- [Larin] Ларин И.В. 1953. Определение почв и сельскохозяйственных угодий по растительному покрову. М. 124 с.
- [Lesoustroitel'naya...] Лесоустроительная инструкция. Приложение к Приказу МПР РФ от 6 февраля 2008 N31. 2008. <https://www.garant.ru/products/ipo/prime/doc/12061628/> (дата обращения 31.03.2022).
- [Maevskiy] Маевский П.Ф. 2014. Флора средней полосы европейской части России. 11-е изд. М. 635 с.
- Mann H.B., Whitney D.R. 1947. On a test of whether one of two random variables is stochastically larger than the other. – *Annals of Mathematical Statistics.* 18: 50–60.
- [Migunova] Мигунова Е.С. 1993. Леса и лесные земли (количественная оценка взаимосвязей). М. 364 с.
- [Morozova] Морозова Р.М. 1971. Химический состав растений еловых и березовых лесов Карелии. – В кн.: Лесные растительные ресурсы Южной Карелии. Петрозаводск. С. 57–66.
- [Nadporozhskaya et al.] Надпорожская М.А., Зубкова Е.В., Фролов П.В., Быховец С.С., Чертов О.Г. 2018. Соподчиненность почвенных условий и растительных сообществ в сосняках как следствие действия комплекса факторов. – *Вестн. ТвГУ. Сер. Биология и экология.* 2: 122–138.
- [Normativy...] Нормативы для таксации лесов центрального и южного районов европейской части Российской Федерации (справочник). 1993. М. 418 с.
- [Osnovnye...] Основные положения организации и развития лесного хозяйства Московской области. 1999. М. С. 97–98.
- Persson S. 1981. Ecological Indicator Values as an Aid in the Interpretation of Ordination Diagrams. – *J. Ecology.* 69 (1): 71–84.
- [Pochvennye...] Почвенные процессы и пространственно-временная организация почв. 2006. М. 568 с.
- [Pogrebnyak] Погребняк П.С. 1955. Основы лесной типологии. Киев: 456 с.
- [Polevaaya...] Полевая геоботаника. 1964. М.–Л. 535 с.
- [Priputina et al.] Припутина И.В., Зубкова Е.В., Комаров А.С. 2015. Ретроспективная оценка динамики обеспеченности почв азотом сосновых лесов ближнего Подмосковья по данным фитоиндикации. – *Лесоведение.* 3: 172–181.
- [Priputina et al.] Припутина И.В., Фролова Г.Г., Шанин В.Н., Мякшина Т.Н., Грабарник П.Я. 2020. Распределение органического вещества и азота в дерново-подбурх Приокско-Террасного заповедника и его связь со структурой лесных фи-

- тоценозов. — Почвоведение. 8: 921–933.
<https://doi.org/10.31857/S0032180X20080122>
- Pripitina I., Zubkova E., Shanin V., Smirnov V., Komarov A. 2014. Evidence of plant biodiversity changes as a result of nitrogen deposition in permanent pine forest plots in central Russia. — *Ecoscience*. 21 (3–4): 286–300.
- [Ramenskiy] Раменский Л.Г. 1971 (1924). Основные закономерности растительного покрова и методы их изучения. — Вестн. опытного дела Средне-Черноземной обл. Январь-февраль. Воронеж. С. 37–73; по изд. 1924 г. Избранные работы. Проблемы и методы изучения растительного покрова. Л. С. 5–33.
- [Ramenskiy et al.] Раменский Л.Г., Цаценкин И.А., Чижиков О.Н., Антипов Н.А. 1956. Экологическая оценка кормовых угодий по растительному покрову. М. 472 с.
- [Remezov et al.] Ремезов Н.П., Быкова Л.Н., Смирнова К.М. 1959. Потребление и круговорот азота и зольных элементов в лесах европейской части СССР. М. 284 с.
- [Seledets] Селедец В.П. 2000. Метод экологических шкал в ботанических исследованиях на Дальнем Востоке России. Владивосток. 248 с.
- [Seledets] Селедец В.П. 2011. Экологическая оценка территории Дальнего Востока России по растительному покрову. Владивосток. 386 с.
- [Shanin et al.] Шанин В.Н., Шашков М.П., Иванова Н.В., Быховец С.С., Грабарник П.Я. 2018. Исследование структуры древостоев и микроклиматических условий под пологом леса на постоянной пробной площади в Приокско-Тerrasном заповеднике. — Труды Приокско-Тerrasного заповедника. 7: 72–85.
- Shanin V., Grabarnik P., Shashkov M., Ivanova N., Bykhovets S., Frolov P., Stamenov M. 2020. Crown asymmetry and niche segregation as an adaptation of trees to competition for light: conclusions from simulation experiments in mixed boreal stands. — *Mathematical and Computational Forestry and Natural-Resource Sciences*. 12 (1): 26–49.
- Shirokikh P.S., Martynenko V.B. 2009. Comparison of different ecological scales with respect to efficiency in assessing ecological conditions in forests of the Southern Ural Region. — *Russian Journal of Ecology*. 40 (7): 457–465.
- [Sozinov] Созинов О.В. 2018. Фитоиндикация в ботаническом ресурсоведении: качественные и количественные характеристики лекарственных растений на эколого-ценотических градиентах: Дис. ... докт. СПб. 268 с.
- [Tsatsenkin] Цаценкин И.А. 1967. Экологические шкалы для растений пастбищ и сенокосов горных и равнинных районов Средней Азии, Алтая и Урала. Душанбе. 226 с.
- [Tsenofond] Ценофонд. 2006. <http://cepl.rssi.ru/bio/flora/ecoscale.htm> (дата обращения 31.03.2022).
- [Tsyganov] Цыганов Д.Н. 1976. Экоморфы флоры хвойно-широколиственных лесов. М. 60 с.
- [Tsyganov] Цыганов Д.Н. 1983. Фитоиндикация экологических режимов в подзоне хвойно-широколиственных лесов. М. 196 с.
- Tyler T., Herbertsson L., Olofsson J., Olsson P.A. 2021. Ecological indicator and traits values for Swedish vascular plants. — *Ecological Indicators*. 120: 1–13.
- [Vakurov, Polyakova] Вакуров А.Д., Полякова А.Ф. 1982. Круговорот азота и минеральных элементов в низкопродуктивных ельниках северной тайги. — В кн.: Круговорот химических веществ в лесу. М. С. 20–43.
- [Viktorov] Викторов С.В. 1955. Использование геоботанического метода при геологических и гидрогеологических исследованиях. М. 227 с.
- [Vinogradov] Виноградов Б.В. 1964. Растительные индикаторы и их использование при изучении природных ресурсов. М. 328 с.
- [Vorob'ev] Воробьев Д.В. 1953. Типы лесов европейской части СССР. Киев. 452 с.
- [Zaugol'nova, Morozova] Заугольнова Л.Б., Морозова О.В. 2006. Типология и классификация лесов Европейской России: методические подходы и возможности их реализации. — *Лесоведение*. 1: 34–48.
- [Zaugol'nova et al.] Заугольнова Л.Б., Быховец С.С., Барин О.Г., Барина М.А. 1998. Верификация балловых оценок местообитаний по некоторым параметрам среды. — *Лесоведение*. 5: 48–58.
- [Zhukova et al.] Жукова Л.А., Дорогова Ю.А., Турмухаметова Н.В., Гаврилова М.Н., Полянская Т.А. 2010. Экологические шкалы и методы анализа экологического разнообразия растений. Йошкар-Ола. 368 с.
- [Zolotova, Ivanova] Золотова Е.С., Иванова Н.С. 2015. Использование шкал Д.Н. Цыганова для анализа экологического пространства типов леса Среднего Урала. — *Фундаментальные исследования*. 2–23: 5114–5119.
- [Zubkova] Зубкова Е.В. 2011. О некоторых особенностях диапазоновых экологических шкал растений Д.Н. Цыганова. — *Изв. Самарского науч. центра РАН*. 13 (5): 48–53.
- [Zubkova] Зубкова Е.В. 2012. Долговременная динамика видов лесных растений с различной шириной экологических ниш на постоянной пробной площади в сосняке с дубом и липой в Воронежском заповеднике. — *Изв. Самарского науч. центра РАН*. 14 (5): 49–55.
- [Zubkova et al.] Зубкова Е.В., Ханина Л.Г., Грохлина Т.И., Дорогова Ю.А. 2008. Компьютерная обработка геоботанических описаний по экологическим шкалам с помощью программы EcoScaleWin: Уч. пособие. Йошкар-Ола. 96 с.
- [Zubkova et al.] Зубкова Е.В., Быховец С.С., Стаменов М.Н., Фролов П.В. 2022а. Оценка световых условий под пологом для моделирования напочвенного покрова и возобновления деревьев. — В кн.: Седьмая национальная науч. конф. с междунар. участием “Математическое моделирование в экологии” (ЭКОМАТМОД-2021) 11.11.2021, Пушкино (Московская обл.). Пушкино. С. 40–42.
- [Zubkova et al.] Зубкова Е.В., Фролов П.В., Быховец С.С., Надпорожская М.А., Фролова Г.Г. 2022б. Мозаичность ценопопуляций черники и брусники и динамика органического вещества почвы в сосняках Южного Подмосковья. — *Лесоведение*. 1: 34–46.

USE OF PHYTO-INDICATION METHODS IN ASSESSMENT OF RELATIONSHIP OF NITROGEN CONTENT IN PLANTS WITH THEIR GROWING CONDITIONS (ON THE EXAMPLE OF FORESTS IN THE SOUTHERN MOSCOW REGION)

E. V. Zubkova^{a,#}, M. N. Stamenov^{a,##}, I. V. Priputina^{a,###}, and V. I. Grabovsky^{a,b,####}

^a*Institute of Physicochemical and Biological Problems in Soil Science, Pushchino Center for Biological Research of RAS
Institutskaya Str., 2, Pushchino, Moscow Region, 142290, Russia*

^b*Center for Forest Ecology and Productivity of RAS
Profsoyuznaya Str., 84/32, bldg. 14, Moscow, 117997, Russia*

[#]*e-mail: zubkova@pbcras.ru*

^{##}*e-mail: stamenov@pbcras.ru*

^{###}*e-mail: priputina@pbcras.ru*

^{####}*e-mail: wgrabo57@gmail.com*

The relationship of the chemical composition of plants with conditions of their growth and their contribution to soil nitrogen during dying is revealed. The study was based on the materials of geobotanical relevés of 15 forest plots in the subzone of coniferous-deciduous forests in the south of the Moscow Region. Two methods of phytoindication were used. The type of habitat conditions was determined according to the Vorobyov-Pogrebnyak's indicator species. The point values of soil nitrogen richness were calculated according to the Tsyganov's scale. The nitrogen content in plant organs, samples of forest litter and soil was determined using gas chromatography. The analysis of the data showed a correlation between the types of forest vegetation conditions and the points on the Tsyganov's nitrogen richness scale for the conditions of the southern Moscow Region. The nitrogen content in the forest litter has a high reliable relationship with the types of habitat conditions. It is shown that plants from the habitats which are richer in nitrogen according to the Tsyganov's nitrogen richness scale have a higher nitrogen content in leaves, stems and rhizomes than plants growing in poorer soil conditions. The conducted study has shown the validity of using phytoindication scales for the assessment of soil conditions.

Keywords: type of forest vegetation conditions, Tsyganov's scale, ground cover

ACKNOWLEDGEMENTS

The authors thank their colleagues who assisted in the collection of the material. The study was supported financially by the Russian Science Foundation (project no. 18-14-00362). The analysis of the results of the research was performed according to State Assignment no. 122040.500037-6 of the Federal Research Center of Pushchino Scientific Center for Biological Research of the Russian Academy of Sciences.

REFERENCES

- Archegova I.B., Zabolotskaya T.G., Kononenko A.B., Rusanova G.V., Sloboda A.B., Yudinseva I.I. 1975. Produktivnost' i krugovorot elementov v fitotsenozakh Severa [Productivity and circulation of elements in the phytocenoses of the North.]. Leningrad. 130 p. (In Russ.).
- Avtomaticheskii raschet U-kriteriya Manna-Uitni [Automatic calculation of the Mann-Whitney U-test]. 2007. [\(https://www.psychol-ok.ru/statistics/mann-whitney/\(data obrashcheniya 12.04.2022\)\)](https://www.psychol-ok.ru/statistics/mann-whitney/(data obrashcheniya 12.04.2022)) (In Russ.).
- Babeshina L.G., Rogova N.S., Ryzhakova N.K., Zverev A.A., Merkulov V.G. 2011. Correlation dependence between content of chemical elements in sphagnum mosses and their ecological optima for soil fertility and soil moisture factors. — Vestn. Tomskogo. gos. un-ta. Biologiya. 2 (14): 122–131 (In Russ.).
- Barmin A.N., Iolin M.M., Sharova I.S., Starichkova K.A., Sorokin A.N., Nikolaychuk L.F., Golub V.B. 2010. Using Ramenskiy indicator values and DCA-ordination for indication of environment change in the Volga-Aktuba flood-plain. — Izv. Samarskogo nauch. Tsentra RAN. 11. 1 (4): 577–582 (In Russ.).
- Bekmansurov M.V., Zhukova L.A. 2000. Indikatsionnye vozmozhnosti vidov rasteniy i ekologicheskie shkaly. Polevoy ekologicheskii praktikum. Uchebnoe posobie [Indicative capabilities of plant species and ecological scales / Field environmental workshop. Study guide.]. 1. Yoshkar-Ola. P. 58–67 (In Russ.).
- Bogatyrev L.G., Demin V.V., Matyshak G.V., Sapozhnikova V.A. 2004. On some theoretical aspects of forest litter research. — Lesovedenie. 4: 17–29 (In Russ.).
- Bogatyrev L.G., Sventitskiy I.A., Sharafutdinov R.N., Stepanov A.L. 1998. Lesnye podstilki i diagnostika sovremennoy napravlenosti gumusobrazovaniya v razlichnykh prirodnnykh zonakh [Forest litter and diagnostics of the modern orientation of humus formation in various natural zones]. — Pochvovedenie. 7: 864–875 (In Russ.).

- Bondar O., Rumiantsev M., Tkach L., Obolonyk I. 2020. Prevailing forest types in the river catchments within the Left-Bank Forest-Steppe zone, Ukraine — *Folia Forestalia Polonica*, A, 62 (2): 100–113. <https://doi.org/10.2478/ffp-2020-0011>
- Buzuk G.N. 2018. Fitoindikatsiya s primeneniem ekologicheskikh shkal i regressionnogo analiza: sravnenie metodik rascheta [Phytoindication using ecological scales and regression analysis: comparison of calculation methods]. — *Vestnik farmatsii*. 4 (82): 38–43 (In Russ.).
- Czerepanov S.K. 1995. Vascular plants of Russia and neighboring countries (within the former USSR). St. Petersburg. 992 p. (In Russ.).
- Didukh Ya.P., Plyuta P.G. 1994. Fitoindikatsiya ekologicheskikh faktoriv [Phyto-indication of environmental factors]. Kiiiv. 280 p. (In Ukr.).
- Diekmann M. 2003. Species indicator values as an important tool in applied plant ecology — a review. — *Basic Appl. Ecol.* 4: 493–506 (In Russ.).
- Dmitrakov L.M. 1979. Pochvennyy pokrov biosfernykh piketov Pushchinskogo Biosfernogo statsionara [The soil cover of the biosphere pickets of the Pushchinskaya Biosphere Station]. — In: *Ekosistemy Yuzhnogo Podmoskov'ya*. Moscow. P. 70–77 (In Russ.).
- Ellenberg H., Weber H.E., Düll R., Wirth V., Werner W., Paulißen D. 1991. Zeigerwerte von Pflanzen in Mitteleuropa. — *Scr. Geobot.* 18: 1–248.
- Frolov P.V., Shanin V.N., Zubkova E.V., Bykhovets S.S., Grabarnik P.Ya. 2020a. CAMPUS-S — The model of ground layer vegetation populations in forest ecosystems and their contribution to the dynamics of carbon and nitrogen. I. Problem formulation and description of the model. — *Ecol. Modell.* 431: 125–139. <https://doi.org/10.1016/j.ecolmodel.2020.109184>
- Frolov P.V., Zubkova E.V., Shanin V.N., Bykhovets S.S., Mäkipää R., Salemaa M. 2020b. CAMPUS-S — The model of ground layer vegetation populations in forest ecosystems and their contribution to the dynamics of carbon and nitrogen. II. Parameterization, validation and simulation experiments. — *Ecol. Modell.* 431: 1–14. <https://doi.org/10.1016/j.ecolmodel.2020.109183>
- Frolov P., Shanin V., Zubkova E.V., Salemaa M., Mäkipää R., Grabarnik P. 2021. Predicting biomass of bilberry (*Vaccinium myrtillus*) using rank distribution and root-to-shoot ratio models. — *Plant Ecol.* (2021). P. 131–140. <https://doi.org/10.1007/s11258-021-01199-1>
- Gostev V.V. 2020. Phyto-indication of the ecological regime at the developed sand pit. — In: *Velozerskie chteniya m-ly Vserossiyskoy (s mezhdunarodnym uchastiem) nauchno-prakticheskoy konferentsii, posvyashchennoy 120-letiyu so dnya rozhdeniya uchenogo-florista P.I. Belozerova*. Kostroma. P. 67–72 (In Russ.).
- Grokhlin T.I., Khanina L.G. 2015. About computer processing of geobotanical descriptions according to ecological scales. — In: *Materialy Chetvertoy Natsional'noy nauchnoy konferentsii s mezhdunarodnam uchastiem Matematicheskoe modelirovanie v ekologii*, 18–22 maya 2015 r. Pushchino. P. 63–64.
- Groshev B.I., Sinityn S.G., Moroz P.I., Seperovich I.P. 1980. *Lesotaksatsionnyy spravochnik*. 2-e izd., pererab. [Forest tax reference guide. 2nd ed., reprint.]. Moscow. 288 p. (In Russ.).
- Ipatov V.S. 2014. Use of Ramensky's and Tsyganov's scales for ecological estimation of plant communities. — *Bot. Zhurn.* 99 (4): 476–482 (In Russ.).
- Ipatov V.S., Mirin D.M. 2008. *Opisanie fitotsenoza: Metodicheskie rekomendatsii* [Description of phytocenosis: Methodological recommendations]. St. Petersburg. 71 p. (In Russ.).
- Karpov V.G. 1969. *Eksperimental'naya fitotsenologiya temnokhvoynoy taygi* [Experimental phytocenology of the dark coniferous taiga]. Leningrad. 335 p.
- Khanina L.G. 2019. Classification of forest sites by the Vorobyov-Pogrebnyak's species indicator tables: database and experience of analysis of forest inventory data. — *Vopr. lesn. nauki*. 2 (4): 1–30 (In Russ.).
- Komarov A.S., Zubkova Ye.V. 2012. Dinamika raspredeleniya ekologicheskikh nish v soobshchestvakh lesnykh rasteniy pri suksessii [Dynamics of distribution of ecological niches in forest plant communities during succession]. — *Matem. Biol. i Bioinformatika*. 7 (1): 152–161 (In Russ.).
- Komarova T.A., Timoshchenkova Ye.V., Prokhorenko N.B., Ashchepkova L.Ya., Yakovleva A.N., Sudakov Yu.N., Seledets V.P. 2003. *Regional'nye ekologicheskie shkaly dlya lesnoy rastitel'nosti Dal'nego Vostoka* [Regional ecological scales for forest vegetation of the Far East]. Vladivostok. 277 p. (In Russ.).
- Korolyuk A.Yu. 2007. Ispol'zovanie ekologicheskikh shkal v geobotanicheskikh issledovaniyakh [The use of ecological scales in geobotanical research]. — In: *Aktual'nye problemy geobotaniki. III Vserossiyskaya shkola-konferentsiya. Lektsii*. Petrozavodsk. P. 176–197 (In Russ.).
- Kozlovskiy B.A., Malakhov A.Ya., Panashchenko K.A., Pern A.K. 1959. *Spravochnik lesoustroitel'ya* [Forest Planner's Handbook]. Moscow, Leningrad. P. 148–150 (In Russ.).
- Landolt E. 1977. *Okologische Zeigerwerte zur Schweizer Flora*. Veroff. Geobot. Inst. ETH. Zurich. 64. 1–208.
- Landolt E., Bäumler B., Erhardt A., Hegg O., Klötzli F., Lämmler W., Nobis M., Rudmann-Maurer K., Schweingruber F., Theurillat J.-P., Urmi E., Vust M., Wohlgemuth T. 2010. *Flora indicativa. Ökologische Zeigerwerte und biologische Kennzeichen zur Flora der Schweiz und der Alpen*. Bern. 378 p.
- Larin I.V. 1953. *Opredelenie pochvy i sel'skokhozyaystvennykh ugodiy po rastitel'nomu pokrovu* [Determination of soils and agricultural lands by vegetation cover]. Moscow. 124 p. (In Russ.).
- Lesoustroitel'naya instruksiya. Prilozhenie k Prikazu MPR RF ot 6 fevralya 2008 N31 [Forest management instructions. Appendix to the Order of the MPR of the Russian Federation dated February 6, 2008 N31]. 2008. <https://www.garant.ru/prod-ucts/ipo/prime/doc/12061628/> (data obrashcheniya 31.03.2022) (In Russ.).
- Maevskiy P.F. 2014. *Flora sredney polosy Yevropeyskoy chasti Rossii* [Flora of the middle zone of the European part of Russia]. 11-e izd. Moscow. 635 p. (In Russ.).

- Mann H.B., Whitney D.R. 1947. On a test of whether one of two random variables is stochastically larger than the other. — *Annals of Mathematical Statistics*. 18: 50–60.
- Migunova Ye.S. 1993. Lesa i lesnye zemli (kolichestvennaya otsenka vzaimosvyazey) [Forests and forest lands (quantitative assessment of interrelations)]. Moscow. 364 p. (In Russ.).
- Morozova R.M. 1971. Khimicheskiy sostav rasteniy elovykh i berezovykh lesov Karelii [Chemical composition of plants of spruce and birch forests of Karelia]. — In: *Lesnye rastitel'nye resursy Yuzhnoy Karelii*. Petrozavodsk. P. 57–66 (In Russ.).
- Nadporozhskaya M.A., Zubkova Ye.V., Frolov P.V., Bykhovets S.S., Chertov O.G. 2018. Sopotchinennost' pochvennykh usloviy i rastitel'nykh soobshchestv v sosnyakh kak sledstvie deystviya kompleksa faktorov [Factors of soil and ground vegetation formation in pine forests]. — *Vestn. TvGU. Ser. Biologiya i ekologiya*. 2: 122–138 (In Russ.).
- Normativy dlya taksatsii lesov tsentral'nogo i yuzhnogo rayonov Evropeyskoy chasti Rossiyskoy Federatsii (spravochnik) [Forest management instructions for the central and southern regions of the European part of the Russian Federation (handbook)]. 1993. Moscow. 418 p. (In Russ.).
- Osnovnye polozheniya organizatsii i razvitiya lesnogo khozyaystva Moskovskoy oblasti [The main provisions of the organization and development of forestry in the Moscow region]. 1999. Moscow. P. 97–98 (In Russ.).
- Persson S. 1981. Ecological indicator values as an aid in the interpretation of ordination diagrams. — *Journal of Ecology*. 69 (1): 71–84.
- Pochvennye protsessy i prostranstvennovremennaya organizatsiya pochv [Soil processes and spatial-temporal organization of soils]. 2006. Moscow. 568 p. (In Russ.).
- Pogrebnyak P.S. 1955. Osnovy lesnoy tipologii [Fundamentals of forest typology]. Kiev. 456 p. (In Russ.).
- Polevaya geobotanika [Field geobotany]. 1964. Moscow – Leningrad. 535 p. (In Russ.).
- Priputina I.V., Zubkova E.V., Komarov A.S. 2015. Dynamics of nitrogen availability of pine forests of Moscow Vicinities based on Phytoindication: a retrospective assessment. — *Lesovedenie*. 3: 172–181 (In Russ.).
- Priputina I., Zubkova E., Shanin V., Smirnov V., Komarov A. 2014. Evidence of plant biodiversity changes as a result of nitrogen deposition in permanent pine forest plots in central Russia. — *Ecoscience*. 21 (3–4): 286–300.
- Priputina I.V., Frolova G.G., Shanin V.N., Myakshina T.N., Grabarnik P.Ya. 2020. Spatial distribution of organic matter and nitrogen in the entic podzols of the Prioksko-terrasnyi reserve and its relationship with the structure of forest phytocenoses. — *Pochvovedenie*. 8: 921–933 (In Russ.). <https://doi.org/1031857/S0032180X20080122>
- Ramenskiy L.G. 1924. Osnovnye zakonomernosti rastitel'nogo pokrova i metody ikh izucheniya (Na osnovanii geobotanicheskikh issledovaniy v Voronezhskoiy gub.) [The main patterns of vegetation cover and their study (Based on geobotanical studies in the Voronezh Province.)]. — *Vestn. opytного dela Sredne-Chernozemnoy obl. Voronezh*. P. 37–73 (In Russ.).
- Ramenskiy L.G., Tsatsenkin I.A., Chizhikov O.N., Antipov N.A. 1956. Ekologicheskaya otsenka kormovykh ugodiy po rastitel'nomu pokrovu [Ecological assessment of forage lands by vegetation cover]. Moscow. 472 p. (In Russ.).
- Remezov N.P., Bykova L.N., Smirnova K.M. 1959. Potrebleniye i krugovorot azota i zol'nykh elementov v lesakh Evropeyskoy chasti SSSR [Consumption and circulation of nitrogen and ash elements in the forests of the European part of the USSR]. Moscow. 284 p. (In Russ.).
- Seledets V.P. 2000. Metod ekologicheskikh shkal v botanicheskikh issledovaniyakh na Dal'nem Vostoke Rossii [The method of ecological scales in botanical research in the Russian Far East]. Vladivostok. 248 p. (In Russ.).
- Seledets V.P. 2011. Ekologicheskaya otsenka territorii Dal'nego Vostoka Rossii po rastitel'nomu pokrovu. Vladivostok [Ecological assessment of the territory of the Russian Far East in terms of vegetation cover]. 386 p. (In Russ.).
- Shanin V.N., Shashkov M.P., Ivanova N.V., Bykhovets S.S., Grabarnik P.Ya. 2018. Issledovanie struktury drevostoev i mikroklimaticheskikh usloviy pod pologom lesa na postoyannoy probnoy ploshchadi v Prioksko-Terrasnom zapovednike [Study of the structure of forest stands and microclimatic conditions under the forest canopy on a permanent trial plot in the Prioksko-Terrasny Reserve]. — *Trudy Prioksko-Terrasnogo zapovednika*. 7: 72–85 (In Russ.).
- Shanin V., Grabarnik P., Shashkov M., Ivanova N., Bykhovets S., Frolov P., Stamenov M. 2020. Crown asymmetry and niche segregation as an adaptation of trees to competition for light: conclusions from simulation experiments in mixed boreal stands. — *Mathematical and Computational Forestry and Natural-Resource Sciences*. 12 (1): 26–49.
- Shirokikh P.S., Martynenko V.B. 2009. Comparison of different ecological scales with respect to efficiency in assessing ecological conditions in forests of the Southern Ural Region. — *Russian Journal of Ecology*. 40 (7): 457–465.
- Sozinov O.V. 2018. Fitoindikatsiya v botanicheskom resursovedenii: kachestvennyye i kolichestvennyye kharakteristiki lekarstvennykh rasteniy na ekologo-tsennosticheskikh gradientakh [Phytoindication in botanical resource science: qualitative and quantitative characteristics of medicinal plants on ecological and cenotic gradients]: Diss. ... Doct. Sci. St. Petersburg. 268 p. (In Russ.).
- Tsatsenkin I.A. 1967. Ekologicheskie shkaly dlya rasteniy pastbishch i senokosov gornyykh i ravninnykh rayonov Sredney Azii, Altaya i Urala [Ecological scales for plants of pastures and hayfields in mountain and plain regions of Central Asia, Altai and the Urals.]. Dushanbe. 226 p. (In Russ.).
- Tsenofond [Cenofond]. 2006. <http://cepl.rssi.ru/bio/flora/ecoscale.htm> (data obrashcheniya 31.03.2022). (In Russ.).
- Tsyganov D.N. 1976. Ekomorfy flory khvoyno-shirokolistvennykh lesov [Ecomorphs of the flora of coniferous-deciduous forests.]. Moscow. 60 p. (In Russ.).
- Tsyganov D.N. 1983. Fitoindikatsiya ekologicheskikh rezhimov v podzone khvoyno-shirokolistvennykh lesov

- [Phyto-indication of ecological regimes in the subzone of coniferous-deciduous forests.]. Moscow. 196 s. (In Russ.).
- Tyler T., Herbertsson L., Olofsson J., Olsson P.A. 2021. Ecological indicator and traits values for Swedish vascular plants. — *Ecological Indicators*. 120: 1–13.
- Vakurov A.D., Polyakova A.F. 1982. Krugovorot azota i mineral'nykh elementov v nizkoproduktivnykh yel'nikakh severnoy taygi [Circulation of nitrogen and mineral elements in low-yielding spruce forests of the Northern taiga]. — In: *Krugovorot khimicheskikh veshchestv v lesu*. Moscow. P. 20–43 (In Russ.).
- Viktorov S.V. 1955. Ispol'zovanie geobotanicheskogo metoda pri geologicheskikh i gidrogeologicheskikh issledovaniyakh [The use of the geobotanical method in geological and hydrogeological studies]. Moscow. 227 p. (In Russ.).
- Vinogradov B.V. 1964. Rastitel'nye indikatory i ikh ispol'zovanie pri izuchenii prirodnikh resursov [Plant indicators and their application in the study of natural resources]. Moscow. 328 p. (In Russ.).
- Vorob'ev D.V. 1953. Tipy lesov Yevropeyskoy chasti SSSR [Types of forests of the European part of the USSR]. Kiev. 452 p. (In Russ.).
- Zaugol'nova L.B., Morozova O.V. 2006. Typology and classification of forests of European Russia: methodological approaches and possibilities of their implementation. — *Lesovedenie*. 1: 34–48 (In Russ.).
- Zaugol'nova L.B., Bykhovets S.S., Barinov O.G., Barinova M.A. 1998. Verification of habitat scores for some environmental parameters. — *Lesovedenie*. 5: 48–58 (In Russ.).
- Zhukova L.A., Dorogova Yu.A., Turmukhametova N.V., Gavrilova M.N., Polyanskaya T.A. 2010. Ecological indicator values and methods of analysis of ecological diversity of plants. Yoshkar-Ola. 368 p. (In Russ.).
- Zolotova Ye.S., Ivanova N.S. 2015. Ispol'zovanie shkal D.N. Tsyganova dlya analiza ekologicheskogo prostanstva tipov lesa Srednego Urala [The use of D.N. Tsyganov's scales for the analysis of the ecological space of forest types in the Middle Urals]. — *Fundamental'nye issledovaniya*. 2–23: 5114–5119 (In Russ.).
- Zubkova Ye.V. 2011. Some peculiarities of Tsyganov's interval indicator values of plant species. — *Izv. Samarsk. nauchnogo tsentra RAN*. 13(5): 48–53 (In Russ.).
- Zubkova Ye.V. 2012. Long-term dynamics of species of forest plants with different width of ecological niches at permanent plot in pine forest with oaks and lime in Voronezh nature reserve. — *Izv. Samarsk. nauchnogo tsentra RAN*. 14(5): 49–55 (In Russ.).
- Zubkova Ye.V., Khanina L.G., Grokhлина T.I., Dorogova Yu.A. 2008. Komp'yuternaya obrabotka geobotanicheskikh opisaniy po ekologicheskim shkalam s pomoshch'yu programmy EcoScaleWin: Uchebnoe posobie [Computer processing of geobotanical descriptions on ecological scales using the program EcoScaleWin: Textbook]. Yoshkar-Ola. 96 p. (In Russ.).
- Zubkova Ye.V., Bykhovets S.S., Stamenov M.N., Frolov P.V. 2022a. Otsenka svetovykh usloviy pod pologom dlya modelirovaniya napochvennogo pokrova i vozobnovleniya derev'ev [Assessment of illumination conditions under the canopy for modeling of ground layer vegetation and tree renewal]. — In: *Sed'maya natsional'naya nauchnaya konferentsiya s mezhdunarodnym uchastiem "Matematicheskoe modelirovanie v ekologii" (EKOMATMOD-2021) 11.11.2021, Pushchino (Moskovskaya obl.)*. Pushchino. P. 40–42 (In Russ.).
- Zubkova Ye.V., Frolov P.V., Bykhovets S.S., Nadporozhskaya M.A., Frolova G.G. 2022b. Mosaic structure of blueberry and lingonberry cenopopulations and the dynamics of soil organic matter in the Southern Moscow Region pine forests. — *Lesovedenie*. 1: 34–46 (In Russ.).

ФЛОРИСТИЧЕСКИЕ
НАХОДКИ

НОВЫЙ ЧУЖЕРОДНЫЙ ВИД –
POTENTILLA TOBOLENSIS (ROSACEAE)
ВО ФЛОРЕ ХАБАРОВСКОГО КРАЯ

© 2023 г. Т. Н. Моторыкина

Институт водных и экологических проблем ДВО РАН
ул. Дикопольцева, 56, Хабаровск, 680021, Россия

e-mail: tanya-motorykina@yandex.ru

Поступила в редакцию 04.05.2023 г.

После доработки 09.10.2023 г.

Принята к публикации 10.10.2023 г.

В статье приводятся сведения о находке нового для Хабаровского края чужеродного вида *Potentilla tobolensis* Th. Wolf ex Juz. Ранее вид был известен как чужеродный с территории Приморского края и Восточной Европы. Представленные сведения о *Potentilla tobolensis* станут основой мониторинга его распространения в Хабаровском крае.

Ключевые слова: чужеродный вид, российский Дальний Восток, Хабаровский край, флора

DOI: 10.31857/S0006813623100058, **EDN:** AGJGNV

Важной составляющей региональных флористических работ является исследование процесса антропогенной трансформации флоры. Чужеродный компонент флоры является хорошим индикатором антропогенной динамики растительного покрова, в связи с чем его изучение представляется весьма актуальным.

Род *Potentilla* – самый крупный род чужеродной фракции флоры российского Дальнего Востока, представленный 15 видами (2.3% от общего числа видов чужеродной фракции флоры). В родовом спектре он занимает первое место (Kozhevnikov, 2003). По особенностям родового спектра материковую часть юга российского Дальнего Востока А.Е. Кожевников и З.В. Кожевникова (Kozhevnikov, Kozhevnikova, 2011) рассматривают как территорию с таксономическим спектром *Potentilla*-типа. При этом сохраняется вектор увеличения (от 4 до 15 видов) и усложнения таксономического разнообразия чужеродного комплекса *Potentilla* в направлении с северо-запада (Нюкжинский и Даурский флористические районы российского Дальнего Востока) на юго-восток (Уссурийский флористический район российского Дальнего Востока, с подрайонами) (Kozhevnikov, Kozhevnikova, 2011).

Для Хабаровского края С.Д. Шлотгауэр с соавторами (Schlotgauer et al., 2001) указывали 306 чужеродных видов растений (12.2% от общего количества видов), из которых семь видов из рода

Potentilla: *P. anserina* L., *P. argentea* L., *P. bifurca* L., *P. canescens* Bess., *P. intermedia* L., *P. multifida* L., *P. norvegica* L. Такое количество чужеродных видов во флоре данного региона достаточно высоко и с годами, как показывают анализ литературных данных и новейшие полевые исследования, прослеживается тенденция к увеличению чужеродной фракции во флоре Хабаровского края. К 2019 г. количество чужеродных видов растений в этом регионе увеличилось на 14 видов (Antonova, 2018), среди которых *Potentilla approximata* Bunge (Antonova, 2009).

Наиболее активным “поставщиком” чужеродных видов являются крупные железнодорожные узлы транссибирской магистрали, морские и речные порты (Antonova, 2005, 2009). В транспортных узлах создаются особые условия для натурализации “новых” компонентов флоры: дренирующие свойства субстрата, позволяющие “сбрасывать” излишнюю влагу в период муссонных дождей и глубокое прогревание гравийно-галечного материала железнодорожного полотна и откосов, легкость заноса диаспор подвижным транспортом, отсутствие конкуренции со стороны эдификаторных видов (Schlotgauer, 2010). Проникновение и натурализация чужеродных растений облегчается полным или почти полным отсутствием конкуренции со стороны аборигенных растений, препятствующей

шей их внедрению в природные сообщества (Kozhevnikov, 2003).

В результате анализа публикаций по чужеродным видам растений и проведенной ревизии гербарных материалов по роду *Potentilla*, хранящихся в Гербарии Института водных и экологических проблем ДВО РАН (КНА), выяснилось, что *P. toboleensis* является новым видом для флоры Хабаровского края. Дублиеты процитированных ниже гербарных экземпляров переданы в Ботанический институт им. В.Л. Комарова РАН (LE).

Potentilla toboleensis Th. Wolf ex Juz. — Хабаровский край, Бикинский район, станция Розенгартовка, на железнодорожной насыпи, 4 VIII 2009, Л.А. Антонова (КНА); Хабаровский край, Солнечный район, долина р. Горин, в среднем течении, каменистые россыпи у моста, 15 IX 2015, Крюкова М.В. (КНА).

Эунеофит, ксенофит, колонофит. Евразийский вид. *Potentilla toboleensis* встречается в Восточной Европе, Средней Азии, на юге Сибири и Дальнем Востоке. Является заносным видом на территории Восточной Европы, а также Дальнего Востока России (Kechaykin, 2016). Ранее *P. toboleensis* был известен из Приморского края (Yakubov, 1996).

Встречается очень редко на выгонах, у домов, на каменистых россыпях. По данным А.А. Кечайкина (Kechaykin, 2012) и А.А. Кечайкина с соавторами (Kechaykin et al., 2013) *Potentilla toboleensis* активно распространяется семенами вдоль автодорог, железнодорожных путей, а также по берегам крупных рек, озер и водохранилищ.

Potentilla toboleensis — гибрид, образующийся при гибридизации *P. supina* L. и *P. argentea* L. (Kamelin, 2001; Kechaykin, 2016).

Латинские названия растений и авторы таксонов приведены в соответствии с IPNI (The International Plant Name Index, URL://www.ipni.org/).

БЛАГОДАРНОСТИ

Автор выражает благодарность Л.А. Антоновой и М.В. Крюковой за предоставленные гербарные экземпляры *Potentilla toboleensis*.

Работа выполнена в рамках реализации государственного задания согласно тематическому плану Института водных и экологических проблем ДВО РАН (№ гос. регистрации 121021500060-4), тема “Динамика природных и природно-хозяйственных систем в условиях освоения Приамурья и Приохотья” (2021–2025).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- [Antonova] Антонова Л.А. 2005. Адвентивный компонент во флоре Нижнего Приамурья. — В сб.: Тезисы докладов II международного симпозиума. “Чужеродные виды в Голарктике (Борок-2)”. Рыбинск-Борок. С. 42–43.
- [Antonova] Антонова Л.А. 2009. Конспект адвентивной флоры Хабаровского края. Владивосток-Хабаровск ДВО РАН. 93 с.
- [Antonova] Антонова Л.А. 2018. Новые и редко встречающиеся адвентивные виды во флоре Хабаровского края. — *Turczaninowia*. 21 (3): 97–101. <https://doi.org/10.14258/turczaninowia.21.3.13>
- IPNI: The International Plant Name Index. 2023. <http://www.ipni.org> (Accessed 14.04.2023).
- [Kamelin] Камелин Р.В. 2001. Род Лапчатка — *Potentilla* L. — В кн.: Флора Восточной Европы. Т. 10. СПб. С. 394–452.
- [Kechaykin] Кечайкин А.А. 2012. Новые находки видов *Potentilla* L. (Rosaceae) в Юго-Западной Сибири и Восточном Казахстане. — *Turczaninowia*. 15 (1): 55–57.
- [Kechaykin] Кечайкин А.А. 2016. Флористические находки из рода *Potentilla* L. (Rosaceae) по материалам гербария им. П.Н. Крылова (ТК). — *Acta Biologica Sibirica*. 2 (1): 7–20. <https://doi.org/10.14258/abs.v2i1-4.923>
- [Kechaykin et al.] Кечайкин А.А., Смирнов С.В., Шмаков А.И., Камелин Р.В., Ваганов А.В., Галькин А.В. 2013. Флористические находки на юге Западной Сибири и в Казахстане. — *Turczaninowia*. 16 (4): 19–22. <https://doi.org/10.14258/turczaninowia.16.4.5>
- [Kozhevnikov] Кожевников А.Е. 2003. Биологическое разнообразие сосудистых растений российского Дальнего Востока: основные флористико-систематические параметры. — *Вестник ДВО РАН*. 3: 39–53.
- [Kozhevnikov, Kozhevnikova] Кожевников А.Е., Кожевникова З.В. 2011. Комплекс адвентивных видов растений как компонент природной флоры Дальнего Востока России: разнообразие и пространственные изменения таксономической структуры. — *Комаровские чтения*. 58: 5–36.
- [Schlotgauer] Шлотгауэр С.Д. 2010. Основные закономерности формирования урбанофлоры Дальнего Востока России. — *Бюл. Главного ботанического сада*. 196: 102–106.
- [Schlotgauer et al.] Шлотгауэр С.Д., Крюкова М.В., Антонова Л.А. 2001. Сосудистые растения Хабаровского края и их охрана. Владивосток-Хабаровск. 195 с.
- [Yakubov] Якубов В.В. 1996. Лапчатка — *Potentilla* L. — В кн.: Сосудистые растения советского Дальнего Востока. Т. 8. СПб. С. 168–206.

***POTENTILLA TOBOLENSIS* (ROSACEAE), A NEW ALIEN SPECIES TO THE FLORA OF THE Khabarovsk Territory**

T. N. Motorykina

*Institute of Water and Ecology Problems of the Far Eastern Branch of RAS
Dikopoltseva Str., 56, Khabarovsk, 680021, Russia*

E-mail: tanya-motorykina@yandex.ru

The article provides information on the discovery of a new alien species to the flora of the Khabarovsk Territory, *Potentilla toboensis* Th. Wolf ex Juz. The species was previously known as alien from the Primorie Territory and Eastern Europe. The presented information about *Potentilla toboensis* will make the basis for monitoring its distribution in the Khabarovsk Territory.

Keywords: alien species, flora, Khabarovsk Territory, Russian Far East

ACKNOWLEDGEMENTS

The author expresses her gratitude to L.A. Antonova and M.V. Kryukova for provided herbarium specimens of *Potentilla toboensis*.

The work was carried out within the State Assignment of the Institute of Water and Ecology Problems of the Far Eastern Branch of RAS (state registration number 121021500060-4) "Dynamics of natural and natural-economic systems in conditions of explorations of the Amur and the Sea of Okhotsk regions" (2021–2025).

REFERENCES

- Antonova L.A. 2005. Adventivnyi component vo flore Nizhnego Priamur'ya [Adventive component in the flora of the Lower Priamurye]. – In: "Chuzherodnye vidy v Golarknike (Borok-2)". Tezisy dokladov II mezhdunarodnogo simpoziuma. Rybinsk-Borok. P. 42–43 (In Russ.).
- Antonova L.A. 2009. Alien flora cadaster of Khabarovsk region. Vladivostok-Khabarovsk FEB RAS. 93 p. (In Russ.).
- Antonova L.A. 2018. New alien species and alien species of rare occurrence in the flora of Khabarovsk Krai. – Turczaninowia. 21 (3): 97–101 (In Russ.).
<https://doi.org/10/14258/turczaninowia.21.3.13>
- IPNI: The International Plant Name Index. 2023. <http://www.ipni.org> (Accessed 14.04.2023).
- Kamelin R.V. 2001. Lapchatka L. [*Potentilla* L.] – In: Flora Vostochnoy Evropy [Flora of Eastern Europe]. Vol. 10. St. Petersburg. P. 394–452 (In Russ.).
- Kechaykin A.A. 2012. New findings of *Potentilla* L. (Rosaceae) in South-West Siberia and East Kazakhstan. – Turczaninowia. 15 (1): 55–57 (In Russ.).
- Kechaykin A.A. 2016. Floristic findings of the genus *Potentilla* L. (Rosaceae) on materials of the herbarium of P.N. Krylov (TK). – Acta Biologica Sibirica. 2 (1): 7–20 (In Russ.).
<https://doi.org/10.14258/abs.v2i1-4.923>
- Kechaykin A.A., Smirnov S.V., Shmakov A.I., Kamelin R.V., Vaganov A.V., Gal'kin A.V. 2013. Floristic findings in the south of West Siberia and Kazakhstan. – Turczaninowia. 16 (4): 19–22 (In Russ.).
<https://doi.org/10.14258/turczaninowia.16.4.5>
- Kozhevnikov A.E. 2003. Biodiversity of the vascular plants in the Russian Far East: Main data on the floristic statistics. – Vestnik DVO RAN. 3: 39–53 (In Russ.).
- Kozhevnikov A.E., Kozhevnikova Z.V. 2011. Alien species plant complex as a component of the Russian Far East natural flora: diversity and regional changes of taxonomical structure. – Komarovskie chteniya [V.L. Komarov Memorial Lectures]. 58: 5–36 (In Russ.).
- Schlotgauer S.D. 2010. Osnovnye zakonomernosti formirovaniya urbanoflory Dal'nego Vostoka Rossii [The main patterns of formation of the urban flora of the Russian Far East]. – Byulleten' Glavnogo botanicheskogo sada [Bulletin of the Main botanical Garden]. 196: 102–106 (In Russ.).
- Schlotgauer S.D., Kryukova M.V., Antonova L.A. 2001. Vascular plants of the Khabarovsk Territory and their Protection. Vladivostok-Khabarovsk: FEB RAS. 195 p. (In Russ.).
- Yakubov V.V. 1996. Lapchatka L. [*Potentilla* L.]. – In: Sosudistye rasteniya sovetskogo Dal'nego Vostoka [Vascular plants of Soviet Far East]. St. Petersburg. Vol. 8. P. 168–206 (In Russ.).

МЕТОДИКА
ИССЛЕДОВАНИЙ

ОБЗОР МЕТОДОВ ПОДГОТОВКИ ПРЕПАРАТОВ
ДЛЯ СВЕТОВОЙ МИКРОСКОПИИ РЕПРОДУКТИВНЫХ СТРУКТУР
ВИДОВ *HELIANTHUS* (ASTERACEAE)

© 2023 г. А. А. Бабро^{1,*}, О. Н. Воронова^{1,**}

¹Ботанический институт им. В.Л. Комарова РАН
ул. Проф. Попова, 2, Санкт-Петербург, 197376, Россия

*e-mail: ABabro@binran.ru

**e-mail: o_voronova@binran.ru

Поступила в редакцию 17.01.2023 г.

После доработки 04.10.2023 г.

Принята к публикации 10.10.2023 г.

Методам обработки материала и окраски постоянных и временных препаратов для световой микроскопии посвящено большое количество исследований, но в процессе работы часто возникает необходимость в адаптации стандартных методов и схем к особенностям представителей определенных таксонов. При исследовании эмбриологии подсолнечника не все стандартные процедуры окрашивания дают желаемые результаты визуализации. В настоящей работе представлен обзор методов обработки материала для исследования репродуктивных структур у представителей рода *Helianthus* L. (*H. ciliaris* DC, *H. tuberosus* L., *H. maximiliani* Schrad., *H. annuus* L.), а также их модификации с целью получения максимально качественного представления о строении исследуемых структур.

В результате подбора параметров (условия и длительность обработки красителями, очередность их воздействия и др.) модифицированы классические методики и подобраны протоколы окраски, оптимальные для анализа строения большинства репродуктивных структур и стадий их развития (окраска толуидиновым синим, реактивом Шиффа с подкраской алциановым синим или толуидиновым синим, сафранином с подкраской алциановым синим).

Ключевые слова: *Helianthus*, методы окраски постоянных препаратов, методы просветления

DOI: 10.31857/S0006813623100022, **EDN:** ZZFBVW

Методам обработки материала и окраски постоянных и временных препаратов посвящено большое количество исследований, многие из них отличаются универсальностью и подходят для различных видов и для визуализации широкого круга структур. Однако в процессе работы исследователь может столкнуться с необходимостью адаптации стандартных методов и схем к особенностям представителей определенных таксонов и к конкретным научным задачам.

Еще в конце XIX века М. Goldflus (1899) и С.Г. Навашин (Nawaschin, 1900), используя метод световой микроскопии, описали общее строение зародышевого мешка подсолнечника. В работе Goldflus упоминается об окраске фуксином и йодной зеленью, в работе Навашина о методиках не говорится. В тексте и в пояснениях к рисункам в более ранних статьях этого автора говорится о просветлении жавелевой водой, глицерином, фиксации в спирте, окраске гематоксилином по Деляфильту, водным синим (для обнаружения пылевых трубок по зернам крахмала и каллоз-

ным пробкам); фуксином с метиленовым синим; гематоксилином с сафранином (Nawaschin, 1895); использовании фиксатора Флемминга и тройной окраске по Флеммингу (Nawaschin, 1898). Указанные красители известны и в большинстве доступны и в настоящее время (Barykina et al., 2000; Selivanov, 2003).

В дальнейшем формирование и развитие репродуктивной системы подсолнечника изучалось с использованием световой микроскопии разными авторами (Ustinova, 1951a, b, 1954, 1955, 1964a, b, 1970; Benetskaya, 1952, 1954; Ilyina, 1957; Dziubenko, 1959; Movsesyan, 1961; Maheswari, 1963; Pirev, 1966; Efremov, 1967; Marchenko, 1968; Tatintseva, 1971; Belyaeva, 1975; Pustovoyt et al., 1976; Konstantinova, 1980; Fedorenko et al., 1980, 1986; Toderich, 1988; Kovacik, Vlckova, 1988; Atlagic, 1990, 1996; Popielarska, 2005; Gotelli et al., 2010; Ochogavía et al., 2018). Наиболее часто использовались методы окраски по Фельгену; окраски растворами гематоксилина, приготовленными разными способами; сафранином (в сочетании с

другими красителями для подкраски цитоплазмы и клеточных оболочек); основным фуксином, генциан-виолетом, толуидиновым синим и др.; при исследовании микроспорогенеза и развития пыльцевого зерна, а также для оценки качества пыльцы, применялся раствор ацетокармина, иногда анилиновый синий и его производные (табл. 1).

До широкого распространения техники микрофотографирования результаты исследования были наглядно представлены в публикациях в виде рисунков, и оценить качество изображения при использовании тех или иных методов окраски не представлялось возможным, если только автор сам не обсуждал подобные вопросы. Более того, в некоторых ранних работах вообще отсутствует раздел “Материалы и методы”.

Особняком на фоне других публикаций стоит работа J. Telżyńska и H. Telżyński (Telżyńska, Telżyński, 1973), где представлены качественные, четкие микрофотографии, которые достойно смотрятся и в настоящее время. Авторы работы использовали различные методы окраски и привели свои выводы о качестве окраски (табл. 1).

Самым масштабным исследованием по эмбриологии подсолнечника, проведенным на нескольких видах (*H. rigidus* Desf., *H. scaberimus* Benth., *H. petiolaris* Nutt., *H. occidentalis* Riddell, *H. mollis* Lam., *H. debilis* Nutt. и три сорта *H. annuus*) с использованием светового микроскопа, в этот период была диссертация К.Н. Тодерич (Toderich, 1988), но в ней нет подробных описаний методов.

Эмбриологическое исследование подсолнечника мы начинали с использования преимущественно окраски гематоксилином по Гейденгайну (модификация — Zhinkina, Voronova, 2000) или гематоксилином по Эрлиху с подкрашиванием алциановым синим, но столкнулись с тем, что алциановый синий не дает достаточную интенсивность цвета, а гематоксин зачастую, наоборот, перекрашивает содержимое клеток некоторых структур. Например, цитоплазма пыльцевых зерен и клеток яйцевого аппарата окрашивалась так интенсивно, что в них не просматривались ядра. Затем были применены для подсолнечника методы окраски толуидиновым синим (Permyakov, 1988; Voronova, 2008), здесь также выявилась проблема избыточного окрашивания цитоплазмы, особенно для меристематических мелкоклеточных тканей. Применение тройной окраски (Kamelina et al., 1992) с использованием гематоксилина также показало негативный перекрашивающий эффект этого красителя на препараты, а следование классической методике окраски сафранином (Prozina, 1960) не позволило получить качественные препараты из-за вымывания красителя. В связи с этим была проведена модификация ряда методов окраски для их оптимального применения к объекту исследования.

Для исследования пыльцы были опробованы различные методы и способы окраски: прорастивание пыльцы (Voronova et al., 2011), окраска гематоксилином Карацци и Гарриса (“Биовитрум”), по П.И. Диакону (Diakon, 1962), по Александеру (Alexander, 1969; Atlagić, 1990, 1996; Atlagić et al., 2012); в том числе упрощенный (Peterson, Slovin, 2010). Для нашей работы был выбран ацетокарминовый метод (Prozina, 1960; Voronova, Gavrilova, 2019) как наиболее простой, доступный, позволяющий быстро получить качественную окраску.

В статье представлены методические обобщения, сделанные на основании исследований, проводившихся в течение ряда лет на культурных формах однолетнего подсолнечника *H. annuus* L. и диких многолетних видах *Helianthus ciliaris* DC, *H. tuberosus* L., *H. maximiliani* Scharad. Большинство методик целенаправленно отработывалось на примере *H. ciliaris*, а затем было успешно применено при исследовании других видов подсолнечника.

Обзор методов окраски препаратов и их модификация для изучения эмбриологии подсолнечника

Окраска толуидиновым синим

Для окраски препаратов толуидиновый синий чаще всего используется в виде водного раствора (на дистиллированной воде или, для регионов с мягкой водой, на водопроводной), а также приготовленный на буферных растворах с pH от 5 до 9 (O'Brien et al., 1964; Parker et al., 1982). Parker et al. (1982) предлагают использовать краситель в концентрации 0.05%, тогда как другие исследователи применяли более высокие концентрации, например 2%-ный раствор толуидинового синего, приготовленный на 2%-ной (Permyakov, 1988) или 1%-ной (Voronova, 2008) уксусной кислоте.

Мы применяли метод окраски толуидиновым синим в фосфатном буфере с pH 6.8. Следует отметить, что при его использовании необходимо исключить обезвоживание препаратов в 96° спирте, заменив этот процесс сушкой в термостате, иначе краситель сильно вымывается. При окрашивании водным раствором толуидинового синего обработка препаратов в спирте, напротив, необходима для удаления излишков красителя.

При сравнении постоянных препаратов подсолнечника, окрашенных водным (рис. 1а) и забуференным (рис. 1б) растворами толуидинового синего были отмечены некоторые различия в яркости и оттенках полученного цвета, но в целом существенной разницы в результатах не наблюдалось.

Практика применения данного красителя показала, что 0.5% раствор толуидинового синего в дистиллированной воде обеспечивает хорошее качество окраски и оптимален для постоянных

Таблица 1. Методы работы с материалом *Helianthus* по данным литературных источников
Table 1. Methods of material processing according to literature (genus *Helianthus*)

Область исследования Area of research	Методы Methods
Микроспорогенез, формирование пыльцы Microsporogenesis, pollen formation	Окраска по Фельгену (Pirev, 1966; Konstantinova, 1980; Tatintseva, 1971; Toderich, 1988) Гематоксилин: по Деляфилду (Maheshwari, 1963); по Гейденгайну (Tatintseva, 1971; Konstantinova, 1980; Toderich, 1988); по Эрлиху (Konstantinova, 1980); с использованием алцианового синего (Konstantinova, 1980) Ацетокармин: временные препараты (Efremov, 1967); по Беллингу (Marchenko, 1968); по Brown-Geitler с обработкой 4% водным раствором железо-аммонийным алюминием на давленных препаратах (Atlagic, 1996) Метилгрюн-пиронин по Унна (Pirev, 1966; Tatintseva, 1971) Сафранин по Картису, генцианвиолет по Ньютоу (Toderich, 1988) Просветление тканей раствором следующего состава: молочная кислота, хлоралгидрат, фенол, гвоздичное масло, ксилол (Herr, 1971) — Ochogavía et al., 2018 Feulgen's Stain (Pirev, 1966; Konstantinova, 1980; Tatintseva, 1971; Toderich, 1988) Haematoxylin: Delafield's (Maheshwari, 1963); Heidenhain's (Tatintseva, 1971; Konstantinova, 1980; Toderich, 1988); Erlich's (Konstantinova, 1980); with alcyan blue counter-stain (Konstantinova, 1980) Acetocarmine: temporary mounts (Efremov, 1967); Belling's (Marchenko, 1968); after Brown-Geitler's method following pretreatment with a 4% aqueous solution of ferrous ammonium alum (Atlagic, 1996) Methyl green with pyronine by Unna (Pirev, 1966; Tatintseva, 1971) Curtis's safranin, gentian violet by Newton (Toderich, 1988) Clarification with Herr's solution (lactic acid, chloral hydrate, phenol, clove oil, xylene (Herr, 1971) — Ochogavía et al., 2018)
Пыльцевые зерна, опыление Pollen grains, pollination	Просветление с последующей окраской: ацетокармином (Ustinova, 1951b); лихт-грюн, метиленовым синим (Movsesyan, 1961) — для исследования прорастания пыльцы на пестике Оценка жизнеспособности пыльцы: краситель на основе кислого фуксина (Efremov, 1967), по Александеру (Atlagic, 1996); флюоресцин диацетатом (Popielarska, 2005); лактофенолом с анилиновым синим (Ochogavía et al., 2018) Проращивание пыльцы: на рыльце пестика (Fedorenko et al., 1986); во влажной камере по Тракновскому (Toderich, 1988); на искусственной среде (Popielarska, 2005) Метод люминесценции (Fedorenko et al., 1986) Исследование структуры рыльца и столбика — окраска сафранином и фастгрюном (Gotelli et al., 2010); проверка готовности рыльца к опылению 1–2% раствором перманганата калия (Toderich, 1988) Clarification and staining by: acetocarmine (Ustinova, 1951b); light green, methylene blue (Movsesyan, 1961) — to observe pollen germination on the stigma Evaluation of pollen viability: stain based on the acid fuchsine (Efremov, 1967), Alexander's stain (Atlagic, 1996); fluorescein diacetate (Popielarska, 2005); lactophenol with aniline blue (Ochogavía et al., 2018) Pollen germination: on the stigma (Fedorenko et al., 1986); in the humid chamber after Trankovsky (Toderich, 1988); on solid artificial media (Popielarska, 2005) Luminescence method (Fedorenko et al., 1986) Stigma and style structure research: staining with safranin and fast green (Gotelli et al., 2010); stigma's readiness for pollination test: 1–2% potassium permanganate solution (Toderich, 1988)

Таблица 1. Продолжение

Область исследования Area of research	Методы Methods
Семязачаток, зародышевый мешок Ovule, embryo sac	Гематоксилин: по Деляфилду (Maheshwari, 1963) по Гейденгайну (Efremov, 1967; Belyaeva, 1975; Toderich, 1988), в том числе с подкраской метиловым синим и метиловым зеленым в анилине (Dziubenko, 1959) Окраска по Фельгену (Efremov, 1967, Belyaeva, 1975, Toderich, 1988); в том числе окраска зафиксированного материала для временных препаратов с подкраской лихтгрюн и гематоксилином по Эрлиху (Pustovoi et al., 1976) Метилгрюн-пиронин по Унна (Belyaeva, 1975); толуидиновый синий (Belyaeva, 1975; Popielarska, 2005); сафранин по Картису, генцианвиолет по Ньютоу (Toderich, 1988); по методу Модилевского (Dziubenko, 1959) Просветление тканей раствором (молочная кислота, хлоралгидрат, фенол, гвоздичное масло, ксилол (Herr, 1971)) для DIC по Номарскому и конфокальной микроскопии (Ochogavía et al., 2018) Haematoxylin: Delafield's (Maheshwari, 1963) Heidenhain's (Efremov, 1967; Belyaeva, 1975; Toderich, 1988), also with methyl blue and methyl green in aniline as counter-stain (Dziubenko, 1959) Feulgen's stain (Efremov, 1967, Belyaeva, 1975, Toderich, 1988); staining of the fixed material with Feulgen's stain and counter-stains (light green and Erlich's haematoxylin) for the temporary mounts (Pustovoi et al., 1976) Methyl green with pyronine by Unna (Belyaeva, 1975); toluidine blue (Belyaeva, 1975; Popielarska, 2005); Curtis' safranin, Newton's gentian violet (Toderich, 1988); Modilevsky's method (Dziubenko, 1959) Tissue clarification method based on the clearing solution (lactic acid, chloral hydrate, phenol, clove oil, xylene (Herr, 1971)) for Nomarski interference contrast optics and confocal microscopy (Ochogavía et al., 2018)
Процесс оплодотворения, эмбриогенез, зародыш Fertilization process, embryogenesis, embryo	По Фельгену (Ustinova, 1951b, 1954, 1964a, b, 1970; Telżyńska, Telżyński, 1973), в том числе с подкраской лихтгрюном (Ustinova, 1951b); Гематоксилин: железный с эритрозин (Ustinova, 1951b); по Гейденгайну (Benetskaya, 1952, 1954; Ustinova 1964a, b); по Деляфилду (Maheshwari, 1963), по Эрлиху, по Модилевскому (Ustinova 1964a, b); железно-алюминиевый (Telżyńska, Telżyński, 1973). Сафранин: с подкраской лихтгрюн (Kovacik, Vlckova, 1988); с генциановым фиолетовым (Ilyina, 1957). Метилгрюн-пиронин (Ustinova, 1954, 1964a, b) Основной фуксин в цитратно-фосфатном буфере при pH 2.6 с подкраской фаст-грин в 96° спирте; кристаллический фиолетовый (Telżyńska, Telżyński, 1973); толуидиновый синий (Popielarska, 2005) Устинова (Ustinova, 1951b) отмечает, что окраска по Фельгену дает лучшие результаты при исследовании процесса оплодотворения. Telżyńska, Telżyński (1973), напротив, сообщают о слабом окрашивании репродуктивных структур подсолнечника по Фельгену и наиболее четкой визуализации хроматина при окраске фуксином, а также отмечают переокрашивание содержимого пыльцевой трубки в зародышевом мешке гематоксилином и кристаллическим фиолетовым. Feulgen's stain (Ustinova, 1951b, 1954, 1964a, b, 1970; Telżyńska, Telżyński, 1973), also with light green counter stain (Ustinova, 1951b); Haematoxylin: iron haematoxyline with erithrosin (Ustinova, 1951b); Heidenhain's (Benetskaya, 1952, 1954; Ustinova 1964a, b); Delafield's (Maheshwari, 1963), Erlich's, after Modilevsky (Ustinova 1964a, b); iron-alum (Telżyńska, Telżyński, 1973). Safranin with light green (Kovacik, Vlckova, 1988); with gentian violet (Ilyina, 1957). Methyl green with pyronine by Unna (Ustinova, 1954, 1964a, b)

Таблица 1. Окончание

Область исследования Area of research	Методы Methods
Процесс оплодотворения, эмбриогенез, зародыш (продолжение) Fertilization process, embryogenesis, embryo (continued)	Basic fuchsin solution in citrate phosphate buffer, pH 2.6, fast green in 96° ethanol as a counter-stain; crystal violet (Telżyńska, Telżyński, 1973); toluidine blue (Popielarska, 2005) Ustinova (1951b) marked out the best results of using Feulgen's stain in fertilization research. Telżyńska, Telżyński, (1973), on the contrary, reported that sunflower's reproductive structures demonstrate weak Feulgen reaction. Fuchsin staining gave the most intense staining of chromatin in their research, and haematoxylin and crystal violet overstained the contents of pollen tube in the embryo sac.
Гистохимические исследования Histochemical research	Углеводы: нейтральный красный, сафранин, метиленовый синий (клеточные оболочки с пектином); йодная реакция по Граму (выявление крахмала) — Ilyina, 1957; раствор йода в хлоралгидрате, раствор Люголя (выявление крахмала) — Pirev, 1966; реакция Шабаша на полисахариды (Ustinova 1964); ШИК-реакция (Telżyńska, Telżyński, 1973) Жиры: растворы судана — Ilyina, 1957, Pirev, 1966; Gotelli et al., 2010; по Свешниковой (Ustinova 1964) Белки: раствор желтой кровяной соли в уксусной кислоте (Pirev, 1966); куасси бриллиантовый синий (Gotelli et al., 2010) Carbohydrates: neutral red, safranin, methylene blue (cell walls with pectine); Gram's iodic reaction (starch detection) — Ilyina, 1957; Iodine solution in chloral hydrate; Lugol's solution (starch detection) — Pirev, 1966; Shabadash's reaction (polysaccharides detection) — Ustinova 1964; PAS (Telżyńska, Telżyński, 1973) Lipids: Sudan solutions — Ilyina, 1957, Pirev, 1966; Gotelli et al., 2010; after Sveshnikova (Ustinova 1964) Proteins: yellow blood salt solution in acetic acid (Pirev, 1966); Coomassie brilliant blue (Gotelli et al., 2010)

препаратов подсолнечника. Хорошо визуализируется строение клетки и ядра. Повышение концентрации красителя в растворе до 1% вызывало слишком темное окрашивание.

Данный метод окраски занимает мало времени и хорошо зарекомендовал себя для получения общего представления о репродуктивных структурах на первых этапах исследования нового материала (рис. 1а). Однако для детального исследования тех или иных структур мы, как правило, применяли другие методы окраски, основанные на сочетании двух и более красителей, чтобы получить более контрастные, информативные, наглядные цветные снимки.

Здесь и далее протоколы окраски и применяемые реактивы приведены в табл. 2.

Окраска гематоксилином по Гейденгайну

При окраске препаратов подсолнечника с использованием гематоксилина и алцианового синего, несмотря на повышение концентрации последнего красителя с 0.1 до 0.5–1% (в 3% уксусной кислоте), наблюдались случаи недостаточной интенсивности цвета, получаемого при окраске в течение 5–15 минут по стандартной методике (Zhinkina, Voronova, 2000). Эту проблему

устраняло увеличение времени воздействия красителя до 45–90 минут или повышение температуры при окраске до 60°C (в термостате).

Время дифференцировки гематоксилина в растворе железо-аммонийных квасцов подбиралось эмпирически, в табл. 2 указано приблизительно.

Для анализа стадий развития зародышевого мешка и зародыша данная окраска является одним из оптимальных вариантов (рис. 1с, d). Она дает достаточно контрастное изображение при визуальном наблюдении и на фотоснимках, при этом хорошо видны элементы зародышевого мешка, в ядрах хорошо заметны ядрышки.

Применение данного метода для окраски женских репродуктивных структур на ранних стадиях их развития нецелесообразно, так как цитоплазма мелких клеток семязачатка сильно перекрашивается, и изображение получается темным. При окраске препаратов пыльников на поздних стадиях развития также высок риск избыточного окрашивания микроспор и пыльцевых зерен. Однако при необходимости возможно получение удачных изображений — для этого необходимо в каждом конкретном случае точно подобрать время, необходимое для дифференцировки (рис. 1е).

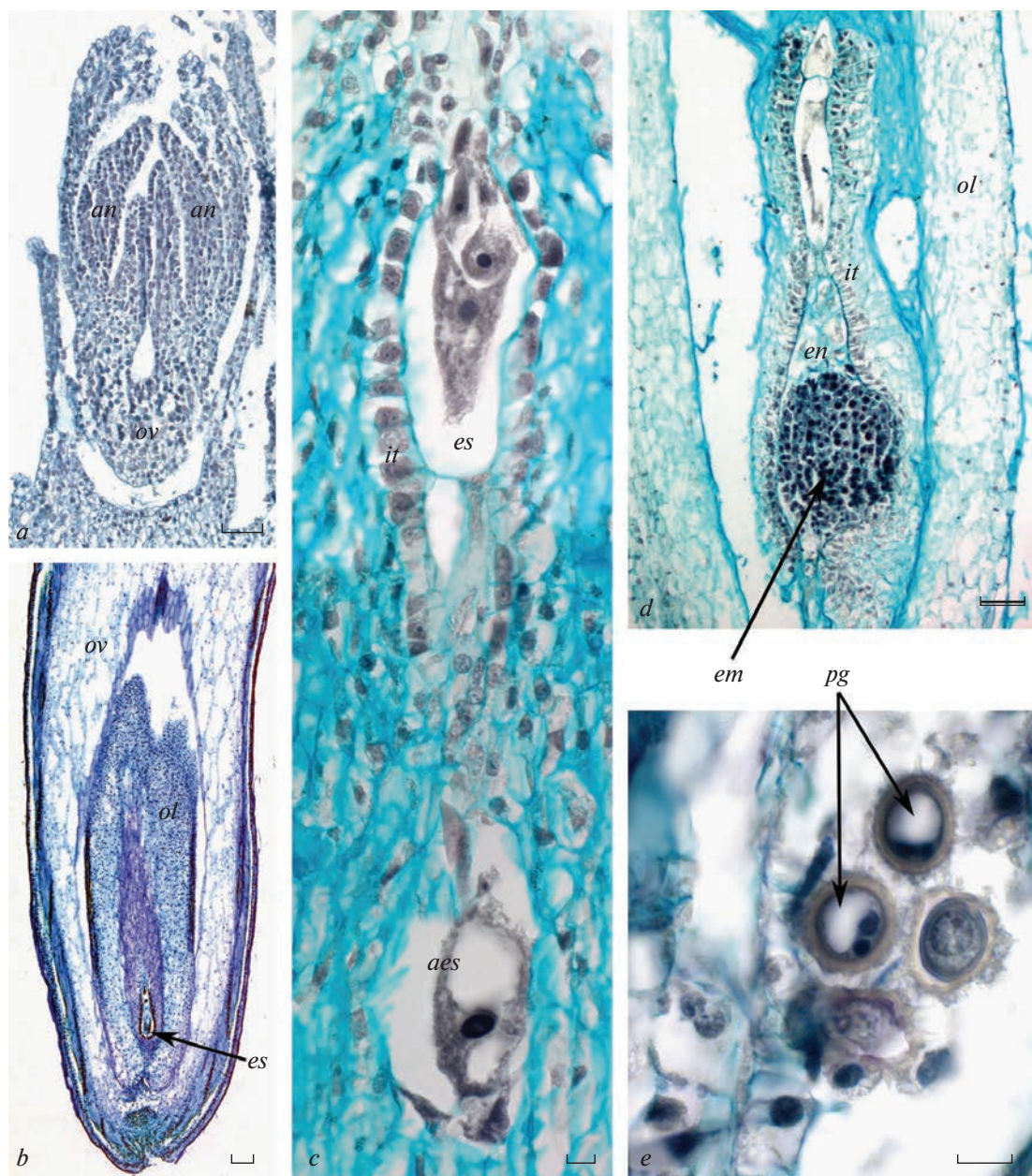


Рис. 1. Примеры окраски репродуктивных структур подсолнечника (*Helianthus ciliaris*) толуидиновым синим и гематоксилином по Гейденгайну. *a* – толуидиновый синий (трубчатый цветок, продольный срез); *b* – толуидиновый синий в фосфатном буфере (микропилярная часть завязи с семязачатком, содержащим зародышевый мешок, продольный срез); *c–e* – гематоксилин по Гейденгайну с подкраской алциановым синим (*c* – семязачаток со зрелым половым и апоспорическим зародышевыми мешками, *d* – часть развивающегося семени с зародышем, эндоспермом и остатками интегументального тапетума, *e* – микроспоры на стадиях от вакуолизации до деления ядра). *an* – пыльник, *aes* – апоспорический зародышевый мешок, *em* – зародыш, *en* – эндосперм, *es* – зародышевый мешок, *it* – интегументальный тапетум, *ol* – семязачаток, *ov* – завязь, *pg* – пыльцевое зерно. Линейки: *a*, *e* – 50 мкм, *b* – 100 мкм, *c*, *d* – 10 мкм.

Fig. 1. The illustrations of sunflower's (*Helianthus ciliaris*) reproductive structures staining by toluidine blue and by Heidenhain's haematoxylin. *a* – toluidine blue (tubular flower, longitudinal section); *b* – toluidine blue in phosphate buffer (micropylar part of the ovary with the ovule containing the embryo sac, longitudinal section); *c–e* – Heidenhain's haematoxylin with alcian blue as a counter-stain (*c* – ovule with mature genital and aposporic embryo sacs, *d* – part of the developing seed with embryo, endosperm and remnants of the integumental tapetum, *e* – microspores at the stages from vacuolization to division of nucleus). *an* – anther, *aes* – aposporic embryo sac, *em* – embryo, *en* – endosperm, *es* – embryo sac, *it* – integumental tapetum, *ol* – ovule, *ov* – ovary, *pg* – pollen grain. Bars: *a*, *e* – 50 μ m, *b* – 100 μ m, *c*, *d* – 10 μ m.

Таблица 2. Протоколы обработки материала
Table 2. Material processing protocols

Окраска толуидиновым синим/Toluidine blue staining O'Brien et al., 1964; Parker et al., 1982, Permyakov, 1988; Voronova, 2008	
Последовательность действий Sequence of actions	1. Депарафинирование 2. Толуидиновый синий (0.5% раствор) – 5 мин 3. Вода водопроводная – 10 мин. 4. Вода дистиллированная – 3–5 мин 5. Спирт 96° – 10 мин 6. Заключение в монтирующую среду Итого – от 1.5 часов (не учитывая времени на депарафинирование) 1. Dewaxing 2. Toluidine blue (0.5% solution) – 5 min 3. Tap water – 10 min 4. Distilled water – 3–5 min 5. 96° ethanol – 10 min 6. Mounting Total time – from 1.5 hours (without dewaxing).
Реактивы Reagents	Толуидиновый синий (Вектон) 0.5% раствор Toluidine blue (Vecton) 0.5% solution
Окраска гематоксилином по Гейденгайну/Staining with Heidenhain's haematoxylin Zhinkina, Voronova, 2000	
Последовательность действий Sequence of actions	1. Депарафинирование 2. Квасцы железо-аммонийные 3% раствор – 30 мин. при температуре 60°C (термостат) 3. Дистиллированная вода (ополоснуть тщательно) – 15 мин 4. Гематоксилин по Гейденгайну – 30 мин. при температуре 60°C (термостат) 5. Вода водопроводная проточная или несколько смен – 10 мин 6. Вода дистиллированная – 10 мин 7. Квасцы железо-аммонийные 3% раствор – 1–3 мин. (дифференцировка) 8. Вода дистиллированная – 5–10 мин 9. Уксусная кислота 3% – 1 мин 10. Алциановый синий – от 45 мин до 1.5 ч 11. Уксусная кислота 3% – 1 мин 12. Спирт 96° – 10 мин 13. Заключение в монтирующую среду Итого – от 4 часов 15 мин (не учитывая времени на депарафинирование) 1. Dewaxing 2. Iron-ammonium alum 3% solution – 30 min at 60°C (thermostat) 3. Distilled water (rinse thoroughly) – 15 min 4. Heidenhain's haematoxylin – 30 min at 60°C (thermostat) 5. Tap water (flowing or several changes) – 10 min 6. Distilled water – 10 min 7. Iron-ammonium alum 3% solution – 1–3 min (differentiating) 8. Distilled water – 5–10 min 9. Acetic acid 3% – 1 min 10. Alcian blue – from 45 min to 1.5 h 11. Acetic acid 3% – 1 min 12. 96° ethanol – 10 min 13. Mounting Total time – from 4 hours 15 minutes (without dewaxing)

Таблица 2. Продолжение

Окраска толуидиновым синим/Toluidine blue staining O'Brien et al., 1964; Parker et al., 1982, Permyakov, 1988; Voronova, 2008	
Реактивы Reagents	Квасцы железо-аммонийные (Реахим), раствор 3% Гематоксилин (Fluka AG), приготовление — по Zhinkina, Voronova, 2000 Алциановый синий (Loba Chemie), 0.5–1% раствор в 3% уксусной кислоте / Iron-ammonium alum (Reahim), 3% solution Haematoxylin (Fluka AG), preparation of staining solution — according to Zhinkina, Voronova, 2000 Alcian blue (Loba Chemie), 0.5–1% solution in 3% acetic acid
Окраска гематоксилином по Эрлиху Erlich's haematoxylin Kamelina et al., 1992	
Последовательность действий Sequence of actions	Вариант 1 (с алциановым синим) 1. Депарафинирование 2. Гематоксилин по Эрлиху — 15 мин 3. Вода водопроводная проточная или несколько смен — 20 мин 4. Вода дистиллированная — 10 мин 5. Уксусная кислота 3% — 1 мин 6. Алциановый синий — от 45 мин до 1.5 ч 7. Уксусная кислота 3% — 1 мин 8. Вода дистиллированная — 10 мин* 9. Заключение в монтирующую среду Итого — от 3 ч 30 мин (не учитывая времени на депарафинирование) *для придания структурам фиолетового оттенка после данного этапа можно ополоснуть стекла в растворе нашатырного спирта (1 капля на 100 мл дистиллированной воды) — 1 мин и промыть дистиллированной водой (5 мин). Вариант 2 (с толуидиновым синим): пункты 5–8 заменяются: 5. Толуидиновый синий — 3–5 мин 6. Вода водопроводная — 10 мин 7. Вода дистиллированная — 3–5 мин 8. Спирт 96° — 10 мин Итого — от 2 ч 45 мин (не учитывая времени на депарафинирование) Variation 1 (with alcian blue) 1. Dewaxing 2. Erlich's haematoxylin — 15 min 3. Tap water (flowing or several changes) — 20 min 4. Distilled water — 10 min 5. Acetic acid 3% — 1 min 6. Alcian blue — from 45 min to 1.5 h 7. Acetic acid 3% — 1 min 8. Distilled water — 10 min* 9. Mounting Total time — from 3 h 30 min (without dewaxing) *to give a violet shade to the stain, rinse the slides with ammonia solution (1 drop per 100 ml distilled water) and rinse with distilled water (5 min) after this step Variation 2 (with toluidine blue): the steps 5–8 must be replaced with: 5. Toluidine blue — 3–5 min 6. Tap water — 10 min 7. Distilled water — 3–5 min 8. 96° ethanol — 10 min Total time — from 2 h 45 min (without dewaxing)

Таблица 2. Продолжение

Окраска толуидиновым синим/Toluidine blue staining O'Brien et al., 1964; Parker et al., 1982, Permyakov, 1988; Voronova, 2008	
Реактивы Reagents	Гематоксилин (Fluka AG), приготовление – по Kamelina et al. (1992) Алциановый синий (Loba Chemie), 0.5–1% раствор в 3% уксусной кислоте или толуидиновый синий (Вектон) 0.5% раствор Haematoxylin (Fluka AG), preparation of staining solution – according to Kamelina et al. (1992) Alcian blue (Loba Chemie), 0.5–1% solution in 3% acetic acid, or Toluidine blue (Vecton) 0.5% solution
Окраска реактивом Шиффа/Staining with Schiff's reagent Kamelina et al., 1992	
Последовательность действий Sequence of actions	Вариант 1 (с алциановым синим) 1. Депарафинирование 2. Раствор HCl 1N (однонормальный) – 5 мин 3. Раствор HCl 5N (пятинормальный) – 30 мин 4. Раствор HCl 1N – 5 мин 5. Реактив Шиффа – до начала следующего рабочего дня, примерно 18–20 ч 6. Сернистые воды – 3 смены по 10 мин 7. Водопроводная вода (проточная или часто менять) – 2–3 ч 8. Уксусная кислота 3% – 1 мин 9. Алциановый синий – 45 мин–1.5 ч 10. Уксусная кислота 3% – 1 мин 11. Спирт 70° – менее 1 мин 12. Заключение в монтирующую среду Итого – 1 день от 2 ч (без учета депарафинирования), 2 день от 3 ч 45 мин Вариант 2 (с толуидиновым синим): до п. 8 так же, как в варианте 1, далее 8. Вода дистиллированная – 10 мин 9. Толуидиновый синий – 5 мин 10. Вода водопроводная проточная или несколько смен – 10 мин 11. Вода дистиллированная – 3–5 мин 12. Спирт 96° – 10 мин 13. Заключение в монтирующую среду Итого – 1 день от 2 ч (без учета депарафинирования), 2 день от 3.5 ч Variation 1 (with alcian blue) 1. Dewaxing 2. HCl 1N solution – 5 min 3. HCl 5N solution – 30 min 4. HCl 1N solution – 5 min 5. Schiff's reagent – until the next working day begins, approximately 18–20 h 6. Sulphurous waters – 3 changes, 10 min each 7. Tap water (flowing or change 5–6 or more times) – 2–3 h 8. Acetic acid 3% – 1 min 9. Alcian blue – from 45 min to 1.5 h 10. Acetic acid 3% – 1 min 11. 70° ethanol – less than 1 min 12. Mounting Total time – 1st day – from 2 h (without dewaxing), 2nd day – from 3 h 45 min Variation 2 (with toluidine blue): until the step 8 as in variation 1, then: 8. Distilled water – 10 min 9. Toluidine blue – 5 min 10. Tap water (flowing or several changes) – 10 min 11. Distilled water – 3–5 min

Таблица 2. Продолжение

Окраска толуидиновым синим/Toluidine blue staining O'Brien et al., 1964; Parker et al., 1982, Permyakov, 1988; Voronova, 2008	
	12. 96° ethanol – 10 min 13. Mounting Total time – 1 st day – from 2 h (without dewaxing), 2 nd day – from 3.5 h
Реактивы Reagents	Приготовление реактива Шиффа, сернистых вод, гематоксилина по Эрлиху (при необходимости) осуществляется в соответствии с методиками, приведенными в статье Kamelina et al. (1992) Фуксин основной для фуксинсернистой кислоты (Реахим) Натрий сернистокислый безводный (Реахим) Гематоксалин (Fluka AG) Алциановый синий (Loba Chemie), 0.5–1% раствор в 3% уксусной кислоте или толуидиновый синий (Вектон) 0.5% раствор Preparation of Schiff's reagent, sulphurous waters, Erlich's haematoxylin (if needed) – according to Kamelina et al. (1992) Basic fuchsin for fuchsin-sulfurous acid (Reahim) Sodium sulphite, anhydrous (Reahim) Haematoxylin (Fluka AG) Alcian blue (Loba Chemie), 0.5–1% solution in 3% acetic acid or toluidine blue (Vecton) 0.5% solution
Окраска сафранином/Staining with safranin Spicer, 1960; Prozina, 1960; Barykina et al., 2000	
Последовательность действий Sequence of actions	Вариант 1 1. Депарафинирование (без дистиллированной воды) 2. Спирт 50° – 5 мин 3. Сафранин (1% раствор в 50° спирте) – 2.5–3 ч в термостате при температуре +60°C 4. Вода водопроводная проточная или несколько раз сменить – 5–10 мин 5. Спирт 70° (с лимонной кислотой на кончике ножа) – менее 1 мин 6. Спирт 70° – менее 1 мин 7. Уксусная кислота 3% – менее 1 мин 8. Алциановый синий – 10 мин 9. Уксусная кислота 3% – менее 1 мин 10. Спирт 70° – менее 1 мин 11. Спирт 96° – менее 1 мин 12. Заключение в монтирующую среду Итого – от 3.5 ч (не учитывая времени на депарафинирование) Вариант 2 1. Депарафинирование 2. Уксусная кислота 3% – менее 1 мин 3. Алциановый синий – не менее 45 мин 4. Уксусная кислота 3% – менее 1 мин 5. Спирт 50° – 1 мин 6. Сафранин (1% раствор в 50° спирте) – 1 ч в термостате при температуре +60°C 7. Вода водопроводная проточная или несколько раз сменить – 5–10 мин 8. Спирт 70° (с лимонной кислотой на кончике ножа) – менее 1 мин 9. Спирт 70° – менее 1 мин 10. Спирт 96° – менее 1 мин 11. Заключение в монтирующую среду Итого – от 3.5 ч (не учитывая времени на депарафинирование) Variation 1.

Таблица 2. Продолжение

Окраска толуидиновым синим/Toluidine blue staining O'Brien et al., 1964; Parker et al., 1982, Permyakov, 1988; Voronova, 2008	
	1. Dewaxing (no distilled water needed) 2. 50° ethanol – 5 min 3. Safranin (1% solution in 50° ethanol) – 2.5–3 h at +60°C (thermostat) 4. Tap water (flowing or several changes) – 5–10 min 5. 70° ethanol (with a small amount of citric acid) – less than 1 min 6. 70° ethanol – less than 1 min 7. 3% acetic acid – less than 1 min 8. Alcian blue – 10 min 9. 3% acetic acid – less than 1 min 10. 70° ethanol – less than 1 min 11. 96° ethanol – less than 1 min 12. Mounting Total time – from 3.5 h (without dewaxing) Variation 2. 1. Dewaxing 2. Acetic acid 3% – less than 1 min 3. Alcian blue – from 45 min to 1 h 30 min 4. Acetic acid 3% – less than 1 min 5. 50° ethanol – 1 min 6. Safranin (1% solution in 50° ethanol) – 1 h at +60°C (thermostat) 7. Tap water (flowing or several changes) – 5–10 min 8. 70° ethanol (with a small amount of citric acid) – less than 1 min 9. 70° ethanol – less than 1 min 10. 96° ethanol – less than 1 min 11. Mounting Total time – from 3.5 h (without dewaxing)
Реактивы Reagents	Сафранин (Lachema) 1% раствор в 50° этиловом спирте Алциановый синий (Loba Chemie), 0.5–1% раствор в 3% уксусной кислоте Safranin (Lachema) 1% solution in 50° ethanol Alcian blue (Loba Chemie), 0.5–1% solution in 3% acetic acid
ШИК-реакция/PAS reaction McManus, 1948; Lillie, 1954; Jensen, 1965	
Последовательность действий Sequence of actions	1. Депарафинирование 2. Периодная кислота 0.5–0.8% или 1% раствор периодата калия (натрия) в 1N серной кислоте – 4–5 мин 3. Вода водопроводная – 2 смены по 5 мин 4. Вода дистиллированная – ополоснуть 5. Реактив Шиффа – 30–40 мин 6. Сернистые воды – 3 смены по 2 мин 7. Вода водопроводная – 10 мин 8. Вода дистиллированная – 10 мин 9. Спирт 70° – ополоснуть 10. Спирт 96° (после окраски) – 10 мин 11. Заключение в монтирующую среду Итого – от 2 ч 50 мин (не учитывая времени на депарафинирование) Dewaxing 2. Iodic acid 0.5–0.8% solution or 1% potassium (sodium) periodat solution in 1N sulphuric acid – 4–5 min 3. Tap water – 2 changes, 5 min each 4. Distilled water – rinse

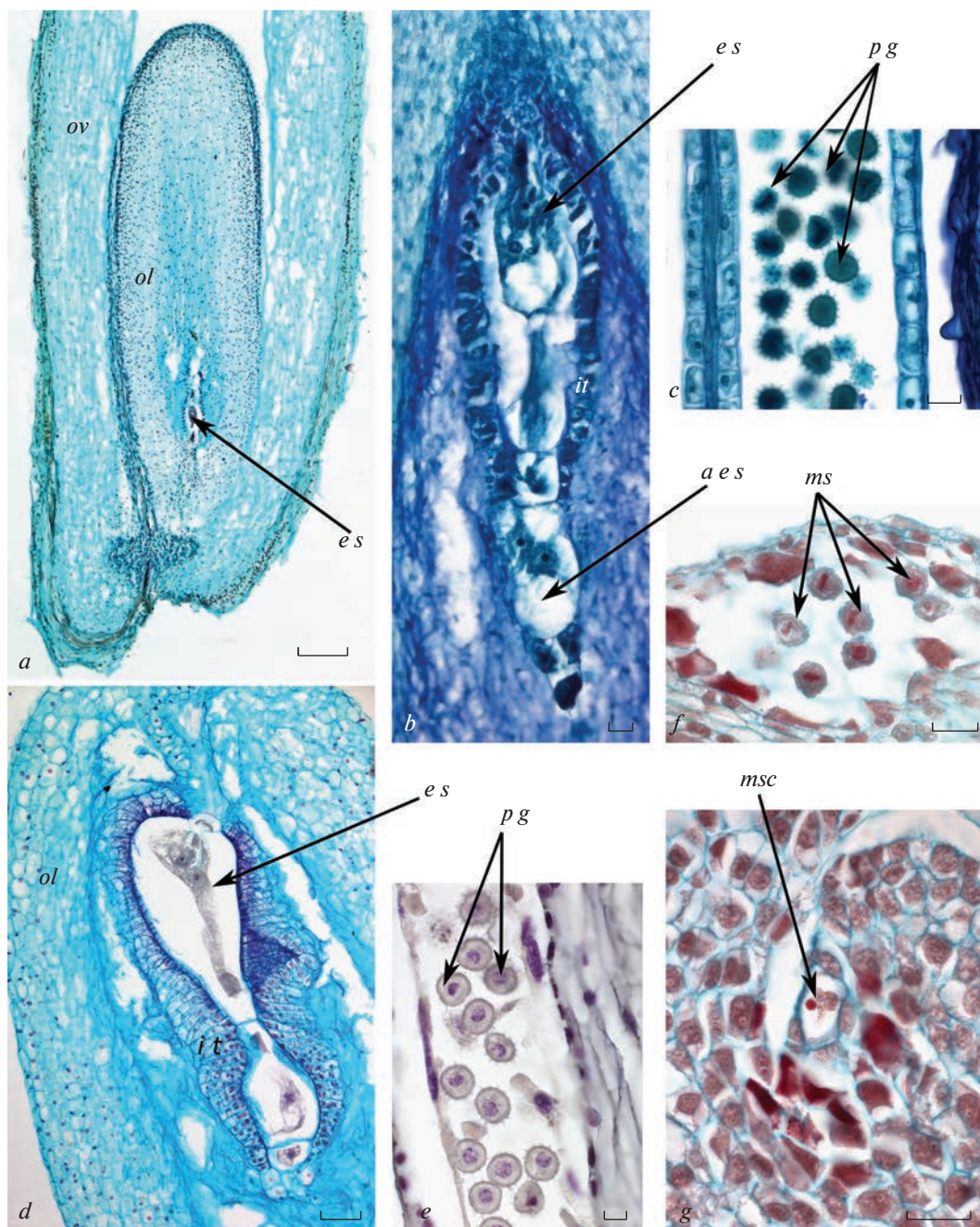
Таблица 2. Окончание

Окраска толуидиновым синим/Toluidine blue staining O'Brien et al., 1964; Parker et al., 1982, Permyakov, 1988; Voronova, 2008	
	5. Schiff's reagent – 30–40 min 6. Sulphurous waters – 3 changes, 2 min each 7. Tap water – 10 min 8. Distilled water – 10 min 9. 70° ethanol – rinse 10. 96° ethanol – 10 min 11. Mounting Total time – from 2 h 50 min (without dewaxing)
Реактивы Reagents	Реактив Шиффа, сернистые воды – по Kamelina et al. (1992) Фуксин основной для фуксинсернистой кислоты (Реахим) Натрий сернистокислый безводный (Реахим) Натрий йоднокислый (Reanal) 1% раствор в 1N серной кислоте Для получения 100 мл 1N (однонормального, или нормального) раствора серной кислоты необходимо 2.8 мл концентрированной серной кислоты и 97.2 мл воды Preparation of Schiff's reagent, sulphurous waters – according to Kamelina et al. (1992) Basic fuchsin for fuchsin-sulfurous acid (Reahim) Sodium sulphite, anhydrous (Reahim) Sodium periodate (Reanal), 1% solution in 1N sulphuric acid For 100 ml 1N (mononormal, or normal, or standard) solution 2.8 ml of strong sulphuric acid and 97.2 ml of water are needed
Просветление метилбензоатом/Clarification with methyl benzoate Prozina, 1960; Voronova, 2008	
Последовательность действий Sequence of actions	1. Спирт этиловый 80° – 15–30 мин 2. Спирт этиловый 90° – 15–30 мин 3. Спирт этиловый 96° – 15–30 мин 4. Смесь I – 15–30 мин 5. Смесь II – 15–30 мин 6. Смесь III – 15–30 мин 7. Метилбензоат – 15–30 мин 1. 80° ethanol – 15–30 min 2. 90° ethanol – 15–30 min 3. 96° ethanol – 15–30 min 4. Mixture I – 15–30 min 5. Mixture II – 15–30 min 6. Mixture III – 15–30 min 7. Methyl benzoate – 15–30 min
Реактивы Reagents	Смесь I – 1 часть метилбензоата: 2 части 96° этилового спирта; Смесь II – 2:2 Смесь III – 2:1 Метилбензоат (Acros) Mixture I – methyl benzoate: 96° ethanol 1:2 by volume; Mixture II – 2:2 Mixture III – 2:1 Methyl benzoate (Acros)

Окраска гематоксилином по Эрлиху

Данный метод предполагает сочетание гематоксилина по Эрлиху с алциановым синим, что соответствует окраске последними двумя компонентами “тройной окраски” (по Kamelina et al., 1992).

При данном способе окраски, как и при использовании гематоксилина по Гейденгайну, для препаратов подсолнечника возникали сложности с окрашиванием клеточных стенок алциановым синим и требовалось увеличение времени воздей-



ствия данного реагента или проведение окраски при температуре 60° (в термостате).

Хорошие результаты показало использование красителей в обратном порядке — сначала гематоксилином, затем алциановым синим (рис. 2a). При этом алциановый синий дает более яркую окраску за счет того, что меньше вымывается, а гематоксин, напротив, подвергается некоторой дифференцировке в уксусной кислоте, используемой перед переносом препаратов в алциановый синий.

Для уменьшения времени окраски по данной схеме можно заменять алциановый синий на толуидиновый синий (рис. 2b, c), который окрашивает срезы в течение 5 мин или менее. Несмотря на существенные различия свойств этих красителей, они дают похожие результаты (визуализацию клеточных стенок).

При использовании в данной схеме окраски алцианового синего во избежание его вымывания перед заключением препаратов в монтировочные среды вместо обработки 96° спиртом подсушивали препараты в термостате для их обезвоживания.

Рис. 2. Примеры окраски репродуктивных структур подсолнечника (*Helianthus annuus*, *Helianthus tuberosus*, *Helianthus ciliaris*) гематоксилином по Эрлиху, реактивом Шиффа и сафранином. *a* — гематоксилин по Эрлиху с последующей последующей подкраской алциановым синим (часть завязи с семязачатком и зародышевым мешком, продольный срез), *b* — гематоксилин по Эрлиху с последующей подкраской толуидиновым синим (семязачаток с зародышевым мешком, видна яйцеклетка, продольный срез), *c* — гематоксилин по Эрлиху с последующей подкраской толуидиновым синим (гнездо пыльника, продольный срез), *d* — реактив Шиффа с подкраской алциановым синим; до окраски материал был просветлен раствором хлоралгидрата (зародышевый мешок перед оплодотворением, продольный срез), *e* — реактив Шиффа с подкраской толуидиновым синим (пыльник с формирующимися пыльцевыми зернами, продольный срез), *f, g* — сафранин с алциановым синим (*f* — первое деление ядер микроспор, поперечный срез, *g* — семязачаток с мегаспороцитом, продольный срез). *a, f, g* — *H. tuberosus*, *b, c* — *H. annuus* BK-571, *d, e* — *H. ciliaris*. *a e s* — апо-спорический зародышевый мешок, *e s* — зародышевый мешок, *i t* — интегументальный тапетум, *ms* — microspore, *msc* — megasporocyte, *ol* — семязачаток, *ov* — завязь, *p g* — пыльцевое зерно. Линейка: *a* — 200 мкм, *b, c, e, f, g* — 20 мкм, *d* — 50 мкм.

Fig. 2. The illustrations of sunflower's (*Helianthus annuus*, *Helianthus tuberosus*, *Helianthus ciliaris*) reproductive structures staining by Erlich's haematoxyline, by Schiff's reagent and by safranin. *a* — Ehrlich's haematoxylin stained with alcian blue as a counter-stain (part of the ovary with ovule and embryo sac, longitudinal section), *b* — Ehrlich's haematoxylin counter-stained with toluidine blue (ovule with embryo sac, egg is visible, longitudinal section), *c* — Ehrlich's haematoxylin with toluidine blue (anther's locule, longitudinal section), *d* — Schiff's reagent with alcian blue; the material was clarified with a solution of chloral hydrate before staining (embryo sac before fertilization, longitudinal section); *e* — Schiff's reagent with toluidine blue (anther with developing pollen grains, longitudinal section), *f, g* — safranin and alcian blue (*f* — first division of microspore nuclei, transverse section, *g* — ovule with megasporocyte, longitudinal section). *a, f, g* — *H. tuberosus*; *b, c* — *H. annuus* BK-571; *d, e* — *H. ciliaris*. *a e s* — aposporic embryo sac, *e s* — embryo sac, *i t* — integumental tapetum, *ms* — microspore, *msc* — megasporocyte, *ol* — ovule, *ov* — ovary, *p g* — pollen grain. Bars: *a* — 200 µm, *b, c, e, f, g* — 20 µm, *d* — 50 µm.

В случае замены этого красителя на толуидиновый синий, препараты выдерживали в спирте в течение 10 мин.

Как и при окраске гематоксилином по Гейдэнгайну, при использовании данного метода возможно слишком интенсивное окрашивание цитоплазмы некоторых структур (пыльцевые зерна, элементы зародышевого мешка на ранних стадиях развития), при этом хуже могут просматриваться ядра (рис. 2с).

В качестве методов окрашивания, дающих хорошее качество окраски и возможность рассмотреть как мужские, так и женские репродуктивные структуры видов подсолнечника на разных стадиях их развития, хорошо зарекомендовали себя методы окрашивания реактивом Шиффа и сафранином.

Окраска реактивом Шиффа

Данный метод также основан на модификации тройной окраски (Kamelina et al., 1992), при которой из протокола был исключен гематоксилин по Эрлиху, так как при его использовании некоторые структуры слишком переокрашиваются.

Окраска реактивом Шиффа позволяет выявить особенности строения некоторых тканей, а также расположение ядер в клетках. При хорошем качестве реактивов изображение получается достаточно четким и не перегружено темными тонами (рис. 2д).

В то же время этот способ окраски, по сравнению с другими методами, более трудоемкий, занимает больше времени, а реактив Шиффа требует особых условий хранения, и при их нарушении (например, колебания температуры, влажности,

которые могут произойти из-за нестабильной работы холодильного оборудования, перебоев в электроснабжении) теряет красящие свойства.

В данном протоколе (табл. 2) возможна замена алцианового синего на толуидиновый синий (рис. 2е). В этом случае после завершения окраски препараты обезживают в 96° спирте в течение 10 мин.

В некоторых случаях, когда после обработки реактивом Шиффа полученная окраска оказывается слишком бледной, мы использовали гематоксилин по Эрлиху, уменьшая время его воздействия до 5–7 мин, до окраски алциановым синим (в табл. 2 после п. 12 нижеприведенной схемы: вода дистиллированная — 2 смены по 10 мин; гематоксилин по Эрлиху — 5–7 мин; вода водопроводная — 20 мин; и далее от п. 13).

Окраска сафранином с алциановым синим

Упоминание о применении сафранина в сочетании с алциановым синим можно встретить в различных работах (Spicer, 1960, Gusel'nikova, 2016). Особенно широко используются сафранин с алциановым синим в области зоологии, где эта комбинация красителей, иногда с дополнительной подкраской, часто применяется для выявления мукополисахаридов. Также этот метод окраски (иногда алциановый синий заменяют красителем лихт-грюн) является одним из традиционно применяемых в эмбриологии растений.

В ботанической микротехнике существуют различные способы приготовления сафранина и сочетания с другими красителями, применяемые для окрашивания ядер и клеточных оболочек. Они подробно описаны в справочниках

М. Н. Прозиной (Prozina, 1960) и Р. П. Барыкиной с соавторами (Barykina et al., 2000).

При окраске нашего материала по предложенным методикам мы столкнулись с практически полным вымыванием сафранина на последующих этапах окрашивания. В связи с этим возникла необходимость модифицировать методику. Примененный нами метод позволил достаточно быстро получить препараты с четкой контрастной окраской.

Экспериментальным путем мы подобрали два варианта модификации протокола для окраски препаратов подсолнечника. В первом варианте сначала окрашивали сафранином, затем алциановым синим, во втором, наоборот, — сначала алциановым синим, затем сафранином. Для предотвращения вымывания сафранина мы сократили до минимума (менее 1 мин) время нахождения препаратов в растворах уксусной кислоты и спиртов. Оба варианта дают примерно одинаковые результаты, поэтому можно одновременно окрашивать две партии препаратов, одну в прямой последовательности, другую — в обратной, что сокращает общее время обработки.

В первом варианте в растворе алцианового синего препараты окрашивали в течение 10 мин, что не приводило к значительному вымыванию сафранина, в растворе которого препараты выдерживались в течение 2.5–3 часов. (рис. 2f, g). Во втором варианте время окраски в алциановом синем составляло от 45 мин до 1.5 ч; в растворе сафранина окрашивали в течение 1 ч.

В обоих вариантах перед наклеиванием покровных стекол препараты высушивали в термостате при температуре 60°C и погружали в ксилол на 5–10 мин.

ШИК-реакция

Несмотря на то, что данная методика (McManus, 1948; Jensen, 1965) применяется для выявления нерастворимых углеводов, эта окраска позволяет визуализировать строение исследуемых структур, т.к. окрашивается не только крахмал внутри клетки (которого у подсолнечника немного, основным запасным веществом являются жиры), но и полисахариды клеточных стенок, и для всех исследуемых образцов дала хорошие результаты.

Необходимо отметить, что вместо водного раствора йодной кислоты можно использовать и ее производные (например, водный раствор периодата калия, растворы йодата натрия или йодата калия в 0.3–0.5% растворе азотной кислоты; периодатная кислота в водном или спиртовом растворе ацетата натрия), длительность воздействия которых на материал различна (Lillie, 1954). Мы использовали 1% раствор периодата калия или натрия в 1N (однонормальной) серной кислоте.

Возможно дополнительное окрашивание срезов светлым зеленым, гематоксилином или другими красителями, о чем говорится в ряде публикаций (Jensen, 1965; Barykina et al., 2000). Однако в нашей работе в этом не было необходимости, изображение получалось четким, контрастным, не перегруженным темными тонами.

Окраска ацетокармином

Метод окраски раствором ацетокармина хорошо подходит для определения качества пыльцы у подсолнечника. Обычно при его использовании рекомендуется нагревать пыльцу в капле ацетокармина непосредственно на предметном стекле (Barykina et al., 2000). Однако при необходимости исследовать большое количество образцов, удобнее и рациональнее окрашивать раствором ацетокармина свежие или зафиксированные пыльники в лунках пластикового планшета или любого аналогичного предмета (например, блистера) в термостате при температуре +60°C в течение 2 ч (Voronova, Gavrilova, 2019).

Для получения постоянных препаратов в качестве монтировочной среды целесообразно использовать поливиниловый спирт Mowiol (Fluka, Germany) или глицерин-желатин (Barykina et al., 2004). Такие препараты перед просмотром сушат в течение суток.

Удаление парафина

В приводимых схемах для удаления парафина перед началом окраски указан раствор BioClear (Bio-Optica), но он может быть заменен на более привычные ксилол или толуол.

BioClear позволяет более полно и аккуратно удалить парафин и лучше отмывается с поверхности стекол при дальнейшей обработке, кроме того, производителем указывается на его низкую токсичность, меньшую летучесть и меньшую пожароопасность по сравнению с ксилолом (BioClear..., 2022).

В таблице 2 данный этап вместе с обработкой 96° спиртом и дистиллированной водой обозначен как “депарафинирование”.

Обезвоживание материала и заключение в монтировочную среду

Для изготовления постоянных препаратов, как правило, использовались монтировочные среды на основе ксилола: канадский бальзам или Bio-Mount (Bio-Optica). Для более полного обезвоживания и удаления остатков спирта после окраски мы подсушивали предметные стекла на воздухе при комнатной температуре. Если на стекле оставались единичные капли, осторожно удаляли их фильтровальной бумагой. В том случае, если препараты после окраски не обезвоживались в 96°

спирте или погружались в него на короткое время (менее 1 минуты) для ускорения процесса сушки, обезвоживание препаратов перед переносом в ксилол осуществлялось в термостате при температуре 60°C. После сушки препараты помещали в ксилол согласно общепринятой методике.

Монтировочные среды на основе поливинилового спирта (Mowiol, Fluka, Germany) позволяют ускорить процесс окраски, так как исключают процедуру обезвоживания. Тем не менее, нами они применялись ограниченно — для препаратов пыльцы, окрашенной ацетокармином, не требующих длительного хранения. Это связано с меньшим сроком хранения таких препаратов, а также из-за агрессивного воздействия поливинилового спирта на некоторые красители (например, толуидиновый синий), разрушающего их красящие свойства.

Последние этапы изготовления препаратов, включающие подсушивание, обработку ксилолом и наклеивание покровного стекла в таблице 2 обозначены как “заклучение в монтирующую среду”.

Методы просветления для изучения структуры семязачатка подсолнечника

Одним из способов, позволяющих быстро оценить стадию развития семязачатка, проверить наличие зародыша и эндосперма, обнаружить апо-спорические зародышевые мешки, является приготовление тотальных препаратов семязачатков с обработкой просветляющими жидкостями.

Для просветления семязачатков подсолнечника мы использовали метилбензоат (Voropova, 2008), хлоралгидрат, реагент BioClear. Перед просветлением материал, зафиксированный в фиксаторе FAA (формалин, уксусная кислота и этиловый спирт в соотношении 100 : 7 : 7 мл) отмывали и переводили в 70° спирт.

Просветление метилбензоатом

Для постепенного замещения спирта метилбензоатом материал проводят через серию смесей (табл. 2). Необходимо иметь в виду, что на заключительных стадиях проводки (в смеси III) материал становится полупрозрачным и плохо заметным в растворе. Из чистого метилбензоата семязачатки переносятся на предметное стекло в каплю метилбензоата — для изготовления временных препаратов, или в каплю канадского бальзама или аналогичной монтирующей среды — для постоянных препаратов. Временные препараты можно размонтировать, материал пригоден для пропитки парафином с последующим получением срезов по общепринятой методике (Voropova, 2008).

Просветление хлоралгидратом

Семязачатки помещали в раствор хлоралгидрата на 1–2 ч перед началом наблюдения, затем их переносили на предметное стекло в каплю раствора хлоралгидрата и закрывали покровным. Раствор хлоралгидрата для просветления готовили из расчета 5 г хлоралгидрата на 2 мл дистиллированной воды (Pausheva, 1974; Barykina et al., 2000).

Для более детального исследования и хранения временные препараты можно перевести в постоянные. Для этого необходимо: снять покровное стекло, перенести материал в 70° спирт и сделать проводку в парафин по общепринятой методике (Prozina, 1960; Barykina et al., 2000). Такие постоянные препараты не имеют каких-либо особенностей по сравнению с препаратами, изготовленными без просветления.

Просветление раствором BioClear

BioClear, используемый для удаления парафина перед окраской постоянных препаратов, характеризуется просветляющими свойствами и дает удовлетворительные результаты при изготовлении временных препаратов.

Для просветления данным раствором материал, хранящийся в 70° спирте, был переведен в абсолютный спирт или Dehyol Absolute (Bio-Optica), а затем помещен в BioClear (2 смены по 30 минут). Затем материал переносили в свежий раствор BioClear, в котором материал находился в течение 2–3 суток до начала наблюдения.

В отличие от метилбензоата и хлоралгидрата, материал, просветленный с помощью BioClear, использовать для получения срезов пока не удалось. В опыте к семязачаткам в растворе Bio Clear была добавлена парафиновая стружка, емкости были установлены в термостат при температуре +60°C. После испарения растворителя (около 1 месяца) вокруг материала обнаруживалось тягучее липкое вещество, сохранялся характерный запах Bio Clear, дальнейшая обработка материала для изготовления срезов была невозможна.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, при окрашивании препаратов представителей рода *Helianthus* по общераспространенным стандартным методикам окраски (Barykina et al., 2000; Zhinkina, Voronova, 2000; Kamelina et al., 1992) некоторые красители дают слишком бледную окраску (например, алциановый синий) или практически полностью вымываются на следующем этапе обработки (например, сафранин). Для устранения этих недостатков были адаптированы классические схемы окраски препаратов за счет следующих приемов:

- увеличения длительности воздействия красителей;
- воздействия повышенной температуры при окраске;
- сокращения времени воздействия веществ (например, спирт, уксусная кислота), вымывающих краситель, но необходимых для некоторых этапов окраски (например, обезвоживание спиртом перед переводом препаратов в ксилол);
- смены очередности красителей;
- изменения способа обезвоживания препаратов (сушка в термостате вместо обработки спиртом).

Анализ различных протоколов окраски показал, что, применяя эти модификации, для подсолнечника можно использовать практически все классические красители, применяемые для визуализации структур при световой микроскопии (гематоксилин, фуксин, сафранин, толуидиновый синий и др.). Однако, следует отметить, что окраску толуидиновым синим лучше применять в начале исследования, она позволяет быстро получить представление о внутреннем строении объекта исследования, уточнить стадии развития зафиксированного материала и подобрать наиболее подходящие параметры дальнейшей гистологической обработки (толщина срезов, красители и др.).

Окрашивание гематоксилином по Гейденгайну дает хорошие результаты и является одним из оптимальных вариантов окраски для изучения зародышевого мешка и зародыша.

Гематоксилин по Эрлиху может быть применен при исследовании семязачатка до формирования зародышевого мешка, а также пыльника до распада тетрад и формирования пыльцевых зерен. Лучшие результаты при окраске гематоксилином по Эрлиху получаются, если сначала окрашивать гематоксилином, затем алциановым синим.

Окраски реактивом Шиффа в сочетании с алциановым или толуидиновым синим и сафранином с алциановым синим подходят практически для всех репродуктивных структур на различных стадиях развития. Эти красители дают четкое, контрастное изображение ядер и клеточных стенок, изображение не перегружено темными тонами. При этом окраска сафранином занимает меньше времени и не требует специальных условий для хранения реактивов, в отличие от реактива Шиффа, который очень чувствителен к соблюдению условий его хранения.

Для определения качества пыльцы подсолнечника оптимально использовать раствор ацетокармина, при этом можно получить как временные, так и постоянные препараты.

Для просветления семязачатков подсолнечника могут быть применены хлоралгидрат, метилбензоат, реагент BioClear. Материал, обработан-

ный хлоралгидратом или метилбензоатом, после просмотра временных препаратов может быть переведен в парафин и использован для изготовления классических постоянных препаратов.

БЛАГОДАРНОСТИ

Авторы выражают благодарность за помощь и научные консультации д.б.н. И.И. Шамрову, к.б.н. Н.А. Жинкиной, к.б.н. Г.М. Анисимовой и к.б.н. Г.Ю. Виноградовой (БИН РАН).

Работа выполнена в рамках государственного задания Ботанического института им. В.Л. Комарова РАН № 122011900036-5 “Поливариантность морфогенетических программ развития репродуктивных структур растений, естественные и искусственные модели их реализации” (2019–2023 гг.). Для проведения исследования использовано оборудование ЦКП “Клеточные и молекулярные технологии изучения растений и грибов” Ботанического института им. В.Л. Комарова РАН (Санкт-Петербург).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Alexander M.P. 1969. Differential staining of aborted and nonaborted pollen. — *Stain Technology*. 11 (3): 117–123.
<https://doi.org/10.3109/10520296909063335>
- Atlagic J. 1990. Pollen fertility in some *Helianthus* L. species and their F1 hybrids with the cultivated sunflower. — *Helia*. 13: 47–54.
- Atlagic J. 1996. Cytogenetic studies in hexaploid *Helianthus* species and their F1 hybrids with cultivated sunflower, *H. annuus*. — *Plant Breeding*. 115: 257–260.
<https://doi.org/10.1111/j.1439-0523.1996.tb00913.x>
- Atlagić J., Terzić S., Marjanović Jeromela A. 2012. Staining and fluorescent microscopy methods for pollen viability determination in sunflower and other plant species. — *Industrial Crops and Products*. 35: 88–91.
<https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2011.06.012>
- [Barykina et al.] Барыкина Р.П., Веселова Т.Д., Девятков А.Г. Джалилова Х.Х., Ильина Г.М., Чубатова Н.В. 2000. Основы микротехнических исследований в ботанике. М. 127 с.
- [Barykina et al.] Барыкина Р.П., Веселова Т.Д., Девятков А.Г., Джалилова Х.Х., Ильина Г.М., Чубатова Н.В. 2004. Справочник по ботанической микротехнике. Основы и методы. М. 312 с.
- [Belyaeva] Беляева Н.С. 1975. К вопросу стерильности топинамбура (развитие женского гаметофита). — *Изв. Академии наук Туркменской ССР. Серия Биологических наук*. 4: 37–43.
- [Benetskaya] Бенецкая Г.К. 1952. Оплодотворение и эмбриогенез у подсолнечника при различных способах опыления. — *Изв. Академии наук Армянской ССР. Биол. и сельхоз. науки*. V (7): 17–33.
- [Benetskaya] Бенецкая Г.К. 1954. Оплодотворение и первые фазы эмбриогенеза у подсолнечника. — *Изв. Академии наук Армянской ССР. Биол. и сельхоз. науки*. VII (12): 7–17.

- BioClear clearing agent of terpene origin: Technical data sheet. 2017. Revised 16.05.2022. Bio-Optica Milano S.p.A. https://www.bio-optica.it/ftp/Sito/technical_data-sheet/1782_en.pdf. 2 p. (accessed 20.03.2023)
- [Diakon] Диакон И.П. 1962. Определение жизнеспособности пыльцы полевых культур с применением трифенилтетразоля хлорида. — Селекция и семеноводство. 3: 68–69.
- [Dziubenko] Дзюбенко Л.К. 1959. Цитоембріологічне дослідження жіночої генеративної зони в насінному зачатку соняшника (*Helianthus L.*). — Український ботаничний журнал. 16 (3): 8–19.
- [Efremov] Ефремов А.Е. 1967. Морфологические и цитозембріологические особенности тетраплоидного подсолнечника. — Генетика. 11: 31–36.
- [Fedorenko et al.] Федоренко Т.С., Прокопенко А.И., Данкова З.А. 1980. Влияние условий опыления на скрещиваемость при отдаленной гибридизации подсолнечника. — В кн.: Селекция и семеноводство масличных культур. Краснодар. С. 60–64.
- [Fedorenko et al.] Федоренко Т.С., Воскобойник Л.К., Прокопенко А.И. 1986. Влияние гиббереллина на формирование генеративных органов подсолнечника. — В кн.: Вопросы прикладной физиологии и генетики масличных растений. Краснодар. С. 25–30.
- Goldflus M. 1899. Sur la structure et les fonctions de l'assise epitheliale et des antipodes. — Journal de botanique. 13: 87–96.
- Gotelli M.M., Galati B.G., Medan D. 2010. Structure of the stigma and style in sunflower (*Helianthus annuus L.*). — Biocell. 34 (3): 133–138.
- [Gusel'nikova] Гусельникова В.В. 2016. Морфофункциональная характеристика популяции тучных клеток тимуса мыши: Дис. ... канд. биол. наук. СПб. 127 с.
- Herr J.M. 1971. A new clearing-squash technique for the study of ovule development in angiosperms. — Am. J. Bot. 58: 785–790. <https://doi.org/10.1002/j.1537-2197.1971.tb10031.x>
- [Ilyina] Ильина А.И. 1957. О взаимоотношениях между зародышем и эндоспермом в семени масличных растений. — Вестник сельскохозяйственной науки. 6: 99–108.
- [Jensen] Дженсен У. Ботаническая гистохимия: Пер. с англ. 1965. 380 с.
- [Kamelina et al.] Камелина О.П., Проскурина О.Б., Жинкина Н.А. 1992. К методике окраски эмбриологических препаратов. — Бот. журн. 77 (4): 93–96.
- [Konstantinova] Константинова Л.Н. 1980. Цитологические нарушения развития пыльников при гаметоцидной мужской стерильности у подсолнечника (*Helianthus annuus L.*). — Труды по прикл. бот., генет. и селекции. 67 (3): 134–140.
- Kovacik A., Vlckova V. 1988. Comparative study of embryogenesis in sunflower (*Helianthus annuus L.*). — Genetic and Plant Breeding. 24 (4): 271–280.
- Lillie R.D. 1954. Histopathologic technique and practical histochemistry. Ed. 2. New York. 501 p.
- Maheswari D.H. 1963. Embryological studies in Compositae. IV. Helianthae. — Proceedings of the Indian Academy of Sciences. 58B (4): 274–290. <https://doi.org/10.1007/BF03052108>
- [Marchenko] Марченко И.И. 1968. Топинамбур — подсолнечниковые гибриды и их цитологическое исследование. — Цитология и генетика. II (1): 41–48.
- McManus J.F.A. 1948. Histological and histochemical uses of periodic acid. Stain technol. 23: 99–108.
- [Movsesyan] Мовсесян С.Н. 1961. Изменения в зародышевом мешке подсолнечника вследствие опыления рылец стареющей пыльцой. — Изв. Академии наук Армянской ССР. Биологические науки. XIV (6): 29–37.
- [Nawaschin] Навашин С.Г. 1895. Об обыкновенной березе и о морфологическом значении халацогамии. — Труды СПб общества естествоиспытателей. Отд. Бот. 25: 5–61.
- Nawaschin S.G. 1898. Resultate einer Revision der Befruchtungsvorgange bei *Lilium Martagon* und *Fritillaria tenella*. — Bull. de l'Acad. des Sci. de St.-Petersbourg. 9 (4): 377–382.
- [Nawaschin] Навашин С.Г. 1900. Об оплодотворении у сложноцветных и орхидных. — Изв. Императорской Академии наук. 13 (3): 335–340.
- O'Brien T.P., Feder N., McCully M.E. 1964. Polyhromatic Staining of Plant Cell Walls by Toluidine Blue O. — Protoplasma. 59 (2): 367–373. <https://doi.org/10.1007/BF01248568>
- Ochogavia A.C., Novello M.A., Bianchi M.B., Picardi L.A., Nestares G.M. 2018. Partial male sterility in Imisun sunflower: Imazapyr treatment in advanced vegetative stages decreases pollen yield and alters *ahas* gene expression. — Crop Sci. 58: 1877–1889. <https://doi.org/10.2135/cropsci2017.12.0726>
- Parker A.J., Haskins E.F., Deyrup-Olsen I. 1982. Toluidine blue: A simple, effective stain for plant tissues. — Amer. Biol. Teacher. 44: 487–489. <https://doi.org/10.2307/4447575>
- [Pausheva] Паушева З.П. 1974. Практикум по цитологии растений. М. 288 с.
- [Permyakov] Пермяков А.И. 1988. Микротехника. М. 58 с.
- Peterson R., Slovin J.P. 2010. A simplified method for differential staining of aborted and non-aborted pollen grains. — International Journal of Plant Biology. 1 (13): 66–69. <https://doi.org/10.30901/2227-8834-2019-1-95-104>
- [Pirev] Пирев М.Н. 1966. Гистохимическое исследование пыльников фертильных и стерильных по пыльце форм подсолнечника. — В кн.: Биология оплодотворения и гетерозис культурных растений. Вып. 4. Кишинев. С. 98–113.
- Popielarska M. 2005. In vitro pollination of isolated ovules of sunflower (*Helianthus annuus L.*). — Acta Biologica Cracoviensia. 47 (1): 85–92.
- [Prozina] Прозина М.Н. 1960. Ботаническая микротехника. М. 206 с.
- [Pustovoit et al.] Пустовойт Г.В., Федоренко Т.С., Прокопенко А.И. 1976. Морфологическая характеристика женских генеративных органов тетраплоидного подсолнечника. — Бюллетень научно-технической информации по масличным культурам ВНИИ масличных культур. 3: 13–16.

- [Selivanov] Селиванов Е.В. 2003. Красители в биологии и медицине. Справочник. Барнаул. 40 с.
- Spicer S.S. 1960. A correlative study of the histochemical properties of rodent acid mucopolysaccharides. — *Journal of Histochemistry and Cytochemistry*. 8 (1): 18–35. <https://doi.org/10.1177/8.1.18>
- [Tatintseva] Татинцева С.С. 1971. Развитие мужского гаметофита топинамбура (*Helianthus tuberosus* L.). — Изв. Академии наук Туркменской ССР. Серия биологических наук. 1: 14–21.
- Telżyńska J., Telżyński H., 1973. Double fertilization in *Helianthus*. — *Societatis Botanicorum Poloniae*. XLII (2): 323–343. <https://doi.org/10.5586/asbp.1973.025>
- [Toderich] Тодерич К.Н. 1988. Эмбриология подсолнечника (*Helianthus annuus*, *H. rigidus* и другие): Дис. ... канд. биол. наук. Л. 256 с.
- [Ustinova] Устинова Е.И. 1951a. Случаи апоспории у подсолнечника. — *Природа*. 8: 43–45.
- [Ustinova] Устинова Е.И. 1951b. Эмбриологический анализ завязей подсолнечника при опылении смесью пыльцы. — *Агроботаника*. 3: 104–113.
- [Ustinova] Устинова Е.И. 1954. Влияние количества и разнообразия пыльцы на оплодотворение и развитие зародыша у подсолнечника. — Изв. Академии наук СССР. Серия биологическая. 5: 74–87.
- [Ustinova] Устинова Е.И. 1955. Явление апоспории у подсолнечника. — *Доклады Академии наук СССР*. 100 (6): 1163–1166.
- [Ustinova] Устинова Е.И. 1964a. Изменчивость женского гаметофита у подсолнечника (*Helianthus annuus* L.). — Бюл. МОИП. Отдел биологический. 69 (4): 111–117.
- [Ustinova] Устинова Е.И. 1964b. Процесс оплодотворения и эмбриогенез у подсолнечника при разных условиях опыления. — В кн.: Проблемы современной эмбриологии. М. 566 с.
- [Ustinova] Устинова Е.И. 1970. Апомиксис у подсолнечника. — В кн.: Апомиксис и селекция. М. С. 110–116.
- [Voronova] Воронова О.Н. 2008. Экспресс-анализ методом просветления и его использование в эмбриологии. — *Бот. журн.* 93 (10): 1620–1625.
- [Voronova et al.] Воронова О.Н., Гаврилова В.А., Толстая Т.Т., Рожкова В.Т. 2011. Определение фертильности пыльцы у ряда диких многолетних видов и образцов подсолнечника из коллекции, произрастающей на Кубанской станции ВИР. — Труды по прикладной ботанике, генетике и селекции. 167: 145–158.
- [Voronova, Gavrilova] Воронова О.Н., Гаврилова В.А. 2019. Количественный и качественный анализ пыльцы подсолнечника (*Helianthus* L.) и его использование в селекционной работе. — Труды по прикладной ботанике, генетике и селекции. 180 (1): 95–104. <https://doi.org/10.30901/2227-8834-2019-1-95-104>
- [Zhinkina, Voronova] Жинкина Н.А., Воронова О.Н. 2000. К методике окраски эмбриологических препаратов. — *Бот. журн.* 85 (6): 168–171.

OVERVIEW OF TECHNIQUES TO PREPARE LIGHT MICROSCOPIC MOUNTS OF *HELIANTHUS* (ASTERACEAE) REPRODUCTIVE STRUCTURES

A. A. Babro^{a,#} and O. N. Voronova^{a,##}

^aKomarov Botanical Institute RAS
Prof. Popov Str., 2, St. Petersburg, 197022, Russia

[#]e-mail: ABabro@binran.ru

^{##}e-mail: o_voronova@list.ru

There are many investigations concerning material processing and staining of permanent or temporal mounts for light microscopy, and there are many works on *Helianthus* embryology either with the description of the methods or without it. Our aim was to make a review of these methods and to customize existing methods of permanent and temporal mounts staining for the work with representatives of the genus *Helianthus* to get good quality photo images.

Wild perennial species *Helianthus ciliaris*, *H. tuberosus*, *H. maximilianii*, as well as cultivated forms of annual sunflower *H. annuus* were included in our research. The most of methods were worked out on *H. ciliaris*, and then were successfully used in the work with other *Helianthus* species listed above.

When following classical methods, some stains become very pale or wash out completely during processing of the sunflower mounts. We developed some practices to avoid these failures. They are: prolongation of stains exposure; staining at higher temperature; reducing the time of processing by ethanol, acetic acid and other substances that can wash out the stain; changing the order of stains exposure; changing the way of mounts dehydration (drying in thermostat instead of treatment by absolute ethanol).

We found out optimal techniques for staining of male and female reproductive structures of sunflower and the methods suitable for all structures: toluidine blue, Schiff's reactive with alcian or toluidine blue as counter-stains, safranin with alcian blue. It is convenient to use acetocarmine solution for the estimation of sunflower pollen viability.

Chloral hydrate, methyl benzoate or "Bio Clear" solution are applicable reagents for clearing ovules. The material after chloral hydrate or methyl benzoate is satisfactory to embed in paraffin and to make permanent mounts.

Keywords: *Helianthus*, staining methods, clearing methods, permanent mounts

ACKNOWLEDGEMENTS

The authors are grateful to Doctor of Biological Sciences I.I. Shamrov, and to Candidates of Biological Sciences N.A. Zhinkina, G.M. Anisimova and G.Yu. Vinogradova for their help and advice.

The research was carried out within the framework of the institutional research project of the Komarov Botanical Institute of RAS "Polyvariation of morphogenetic developmental programs of plant reproductive structures, natural and artificial models of their realization" (state registration number 122011900036-5). The equipment of Center for Collective Usage "Cell and molecular technologies of plants and fungi research" of the Komarov Botanical Institute of RAS (Saint-Petersburg) was operated in the course of our investigation.

REFERENCES

- Alexander M.P. 1969. Differential staining of aborted and nonaborted pollen. — *Stain Technology*. 11 (3): 117–123.
<https://doi.org/10.3109/10520296909063335>
- Atlagic J. 1990. Pollen fertility in some *Helianthus* L. species and their F1 hybrids with the cultivated sunflower. — *Helia*. 13: 47–54.
- Atlagic J. 1996. Cytogenetic studies in hexaploid *Helianthus* species and their F1 hybrids with cultivated sunflower, *H. annuus*. — *Plant Breeding*. 115: 257–260.
<https://doi.org/10.1111/j.1439-0523.1996.tb00913.x>
- Atlagić J., Terzić S., Marjanović-Jeromela A. 2012. Staining and fluorescent microscopy methods for pollen viability determination in sunflower and other plant species. — *Industrial Crops and Products*. 35: 88–91.
<https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2011.06.012>
- Barykina R.P., Veselova T.D., Devyatov A.G., Dzhalilova H.H., Ilyina G.M., Chubatova N.V. 2000. Osnovy mikrotekhnicheskikh issledovaniy v botanike [The basics of microtechnical investigations in botany]. Moscow. 127 p. (In Russ.).
- Barykina R.P., Veselova T.D., Devyatov A.G., Dzhalilova H.H., Ilyina G.M., Chubatova N.V. 2004. Spravochnik po botanicheskoy mikrotekhnike. Osnovy i metody [The handbook on botanical microtechnique. Basics and methods]. Moscow. 312 p. (In Russ.).
- Belyaeva N.S. 1975. K voprosu sterilnosti topinambura (razvitiye zhenskogo gametophyta) [Concerning *Helianthus tuberosus* sterility (female gametophyte development)]. — *Izv. AN Turkmenskoy SSR. Ser. Biol.* 4: 37–43 (In Russ.).
- Benetskaya G.K. 1952. Oplodotvoreniye i embriogeneza u podsolnechnika pri razlichnykh sposobakh opyleniya [Fertilization and embryogenesis in sunflower with different ways of pollination]. — *Izv. AN Armyanskoy SSR. Biol. i selkhoz. nauki*. V (7): 17–33 (In Russ.).
- Benetskaya G.K. 1954. Oplodotvoreniye i pervye fazy embriogeneza u podsolnechnika [Fertilization and first phases of embryogenesis in sunflower]. — *Izv. AN Armyanskoy SSR. Biol. i selkhoz. nauki*. VII (12): 7–17 (In Russ.).
- BioClear clearing agent of terpene origin: Technical data sheet. 2017. Revised 16.05.2022. Bio-Optica Milano S.p.A. https://www.bio-optica.it/ftp/Sito/technical_datasheet/1782_en.pdf. 2 p. (accessed 20.03.2023)
- Diakon I.P. 1962. Opredeleniye zhiznesposobnosti pyl'tsy polevykh kultur s primeneniym trifeniltetrazolya khlorida [Evaluation of pollen viability in field crops using trifeniltetrasole chloride]. — *Selektsiya i semenovodstvo*. 3: 68–69.
- Dziubenko L.K. 1959. Cytoembryological investigation of the female generative zone in the ovule in *Helianthus* L. — *Ukr. bot. zhurn.* 16 (3): 8–19 (In Ukr.).
- Efremov A.E. 1967. Morphological and cytoembryological characteristics of the tetraploid sunflower. — *Russian Journal of Genetics*. 11: 31–36 (In Russ.).
- Fedorenko T.S., Prokopenko A.I., Dankova Z.A. 1980. Vliyaniye usloviy opyleniya na skreshchivayemost' pri otalennomy gybridizatsii podsolnechnika [The influence of pollination conditions on the combining ability in the course of distant hybridization of sunflower.]. — In: *Selektsiya i semenovodstvo maslichnykh kultur*. Krasnodar. P. 60–64 (In Russ.).
- Fedorenko T.S., Voskoboinik L.K., Prokopenko A.I. 1986. Vliyaniye gibberellina na formirovaniye generativnykh organov podsolnechnika [The influence of gibberelline on generative organs' formation in sunflower]. — In: *Voprosy prikladnoy fiziologii i genetiki maslichnykh rasteniy*. Krasnodar. P. 25–30 (In Russ.).
- Goldflus M. 1899. Sur la structure et les fonctions de l'assise épithéliale et des antipodes. — *Journal de Botanique*. 13: 87–96.
- Gotelli M.M., Galati B.G., Medan D. 2010. Structure of the stigma and style in sunflower (*Helianthus annuus* L.). — *Biocell*. 34 (3): 133–138.
- Gusel'nikova V.V. 2016. Morfofunktsional'naya kharakteristika populyatsii tuchnykh kletok timusa myshi [Morpho-functional characteristic of mast cells population

- in the thymus of mouse]. Diss. Kand. Sci. Saint Petersburg. 127 p. (In Russ.).
- Herr J.M. 1971. A new clearing-squash technique for the study of ovule development in angiosperms. — *Am. J. Bot.* 58: 785–790.
<https://doi.org/10.1002/j.1537-2197.1971.tb10031.x>
- Ilyina A.I. 1957. Embryo and endosperm in oil seed. *Vestnik sel'skohozyaystvennoy nauki.* 6: 99–108 (In Russ.).
- Jensen W.A. 1965. Botanical histochemistry. Principles and practice. Translated from English. Moscow. 380 p. (In Russ.).
- Kamelina O.P., Proskurina O.B., Zhinkina N.A. 1992. On staining technique of embryological slides. — *Bot. Zhurn.* 77 (4): 93–96 (In Russ.).
- Konstantinova L.N. 1980. Cytological disturbances in the process of anther development as a result of gametocyte sterility in the sunflower (*Helianthus annuus* L.). — Proceedings on Applied Botany, Genetics and Breeding. 67 (3): 134–140 (In Russ.).
- Kovacik A., Vlckova V. 1988. Comparative study of embryogenesis in sunflower (*Helianthus annuus* L.). — *Genetic and Plant Breeding.* 24 (4): 271–280.
- Lillie R.D. 1954. Histopathologic technique and practical histochemistry. Ed. 2. New York. 501 p.
- Maheswari D.H. 1963. Embryological studies in Compositae. IV. Helianthae. — Proceedings of the Indian Academy of Sciences. 58B (4): 274–290.
<https://doi.org/10.1007/BF03052108>
- Marchenko I.I. 1968. Jerusalem artichoke-sunflower hybrids and their cytological investigation. — *Cytology and Genetics.* II (1): 41–48 (In Russ.).
- McManus J.F.A. 1948. Histological and histochemical uses of periodic acid. *Stain technol.* 23: 99–108.
- Movsesyan S.N. 1961. Izmeneniya v zarodyshevom meshke podsolnechnika vsledstviye opyleniya rylets stareyushey pyltsoy [The shifts in sunflower's embryo sac as a result of pollination of stigmas with senescent pollen]. — *Izv. AN Armyanskoy SSR. Biol. nauki.* XIV (6): 29–37 (In Russ.).
- Nawaschin S.G. 1895. Ob obyknovennom bereze i o morfolicheskom znachenii khalazogamii [On the common birch and on the morphological significance of chalazogamy]. — *Trudy SPb Obschestva estestvoispytateley. Otd. bot.* 25: 5–61 (In Russ.).
- Nawaschin S.G. 1898. Resultate einer Revision der Befruchtungsvorgänge bei *Lilium Martagon* und *Fritillaria tenella*. — *Bull. De l'Acad. des Sci. de St.-Petersbourg.* 9 (4): 377–382.
- Nawaschin S.G. 1900. On fertilization in Compositae and Orchidaceae. — *Izvestiya Imperatorskoy Akademii nauk.* 13 (3): 335–340 (In Russ.).
- O'Brien T.P., Feder N., McCully M.E. 1964. Polyhromatic Staining of Plant Cell Walls by Toluidine Blue O. — *Protoplasma.* 59 (2): 367–373.
<https://doi.org/10.1007/BF01248568>
- Ochogavia A.C., Novello M.A., Bianchi M.B., Picardi L.A., Nestares G.M. 2018. Partial male sterility in Imisun sunflower: Imazapyr treatment in advanced vegetative stages decreases pollen yield and alters *ahas* gene expression. — *Crop Sci.* 58: 1877–1889.
<https://doi.org/10.2135/cropsci2017.12.0726>
- Parker A.J., Haskins E.F., Deyrup-Olsen I. 1982. Toluidine blue: A simple, effective stain for plant tissues. — *Am. Biol. Teacher.* 44: 487–489.
<https://doi.org/10.2307/4447575>
- Pausheva Z.P. 1974. Prakticum po tsitologii rasteniy [The practicum on plant cytology]. Moscow. 288 p. (In Russ.).
- Permyakov A.I. 1988. Mikrotehnika [Microtechnique]. Moscow. 58 p. (In Russ.).
- Peterson R., Slovin J.P. 2010. A simplified method for differential staining of aborted and non-aborted pollen grains. — *International Journal of Plant Biology.* 1 (13): 66–69.
<https://doi.org/10.30901/2227-8834-2019-1-95-104>
- Pirev M.N. 1966. Gistokhimicheskoye issledovaniye pyl'nikov fertil'nykh i steril'nykh po pyl'tse form podsolnechnika [Gistochemical study of anthers of sunflower forms with fertile and sterile pollen.]. — In: *Biologiya oplodotvoreniya i geterozis kulturnykh rasteniy* [Fertilization biology of and heterosis in cultivated plants]. Iss. 4. Kishinev. P. 98–113 (In Russ.).
- Popielarska M. 2005. In vitro pollination of isolated ovules of sunflower (*Helianthus annuus* L.). — *Acta Biologica Cracoviensia.* 47 (1): 85–92.
- Prozina M.N. 1960. Botanicheskaya mikrotehnika [The botanical microtechniques]. Moscow. 206 p. (In Russ.).
- Pustovoi G.V., Fedorenko T.S., Pokopenko A.I. 1976. Morfolicheskaya kharakteristika zhenskikh generativnykh organov tetraploidnogo podsolnechnika [Morphological characteristics of female generative organs in tetraploid sunflower]. — *Bulletin nauchno-tehnicheskoy informatsii po maslichnym kulturam VNIIMK.* 3: 13–16 (In Russ.).
- Selivanov E.V. 2003. Krasiteli v biologii i meditsine. Spravochnik. [The stains in biology and medicine. The handbook]. Barnaul. 40 p. (In Russ.).
- Spicer S.S. 1960. A correlative study of the histochemical properties of rodent acid mucopolysaccharides. — *Journal of Histochemistry and Cytochemistry.* 8 (1): 18–35.
<https://doi.org/10.1177/8.1.18>
- Tatintseva S.S. 1971. The development of male gametophyton of *Helianthus tuberosus* L. — *Izvestiya Akademii nauk Turkmenskoy SSR. Seriya biologicheskikh nauk.* 1: 14–21 (In Russ.).
- Telzyńska J., Telzyński H. 1973. Double fertilization in *Helianthus*. — *Societatis Botanicorum Poloniae.* XLII (2): 323–343. <https://doi.org/10.5586/asbp.1973.025>
- Toderich K.N. 1988. Embryologiya podsolnechnika (*Helianthus annuus*, *H. rigidus* i drugiye) [Embryology of sunflower (*Helianthus annuus*, *H. rigidus* and others)]: Diss. ... cand. sci. Leningrad. 256 p. (In Russ.).
- Ustinova E.I. 1951a. Sluchay aposporii u podsolnechnika [The cases of apospory in sunflower]. — *Priroda.* 8: 43–45 (In Russ.).
- Ustinova E.I. 1951b. Embriologicheskii analiz zavyazey podsolnechnika pri opylenii smes'yu pylttsy [Embryological analysis of sunflower ovaries in the case of pollination by pollen mix]. — *Agrobiologiya.* 3: 104–113 (In Russ.).
- Ustinova E.I. 1954. Vliyaniye kolichestva i raznoobraziya pylttsy na oplodotvoreniye i razvitiye zarodysha u

- podsolnechnika [The effect of pollen quantity and diversity on fertilization and embryo development in sunflower]. — *Izvestiya Akademii nauk SSSR. Seriya biologicheskaya*. 5: 74–87 (In Russ.).
- Ustinova E.I. 1955. Yavleniye aposporii u podsolnechnika [The phenomenon of apospory in sunflower]. — *Dokl. AN SSSR*. 100 (6): 1163–1166 (In Russ.).
- Ustinova E.I. 1964a. The variability of female gametophyte by sunflower (*Helianthus annuus* L.). — *Byul. MOIP. Otd. Biol.* 69 (4): 111–117 (In Russ.).
- Ustinova E.I. 1964b. Process oplodotvoreniya i embryogenez u podsolnechnika pri raznykh usloviyakh opyleniya [Fertilization process and embryogenesis in sunflower under different conditions of pollination]. — In: *Problemy sovremennoy embryologii* [Problems of modern embryology]. Moscow. 566 p. (In Russ.).
- Ustinova E.I. 1970. Apomiksis u podsolnechnika [Apomixis at sunflower]. — In: *Apomiksis i selektsiya*. Moscow. P. 110–116 (In Russ.).
- Voronova O.N. 2008. Rapid analysis by clearing method and its use in embryology. — *Bot. Zhurn.* 93 (10): 1620–1625 (In Russ.).
- Voronova O.N., Gavrilova V.A., Tolstaya T.T., Rozhkova V.T. 2011. Estimation of the pollen fertility in some wild perennials species and samples of sunflower from the collection growing at Kuban experimental station of VIR. — *Bulletin of applied botany, of genetics and plant breeding*. 167: 145–158 (In Russ.).
- Voronova O.N., Gavrilova V.A. 2019. Quantitative and qualitative analysis of sunflower pollen (*Helianthus* L.) and its use in breeding work. — *Proceedings of applied botany, genetics and breeding*. 180 (1): 95–104 (In Russ.).
<https://doi.org/10.30901/2227-8834-2019-1-95-104>
- Zhinkina N.A., Voronova O.N. 2000. On staining technique of embryological slides. — *Bot. Zhurn.* 85 (6): 168–171 (In Russ.).

ЮБИЛЕИ
И ДАТЫ

К 85-ЛЕТИЮ АННЫ ЯКОВЛЕВНЫ ГРИГОРЬЕВСКОЙ

© 2023 г. С. А. Сенатор^{1,*}, Д. Р. Владимиров², Г. С. Розенберг³,
Н. М. Решетникова¹, И. Н. Сафронова⁴

¹Главный ботанический сад им. Н.В. Цицина РАН
ул. Ботаническая, 4, стр. 1, Москва, 127276, Россия

²Воронежский государственный университет
ул. Хользунова, 40, Воронеж, 394068, Россия

³Самарский федеральный исследовательский центр РАН, Институт экологии Волжского бассейна РАН
ул. Комзина, 10, Тольятти, 445003, Россия

⁴Ботанический институт им. В.Л. Комарова РАН
ул. Проф. Попова, 2, Санкт-Петербург, 197376, Россия

*e-mail: stsенатор@yandex.ru

Поступила в редакцию 18.09.2023 г.

После доработки 26.09.2023 г.

Принята к публикации 10.10.2023 г.

DOI: 10.31857/S0006813623100071, EDN: HXNZIA

Анна Яковлевна Григорьевская — доктор географических наук, профессор факультета географии, геоэкологии и туризма Воронежского государственного университета, специалист в области биогеографии и охраны природы, флорист и геоботаник, популяризатор и организатор науки, почетный работник университета (2008). Благодаря ее вкладу в региональные исследования охраняемых территорий, растительный покров Центрального Черноземья является одним из наиболее изученных в Европейской России.

Анна Яковлевна родилась 17 марта 1938 г. в с. Красногвардейское Красногвардейского района Белгородской области. В 1961 г. поступила на экономический факультет Воронежского сельскохозяйственного института, но вскоре поняла, что выбранное направление не соответствует ее интересам. В 1963 г. перевелась на биолого-почвенный (в настоящее время — медико-биологический) факультет Воронежского государственного университета. Мест на втором курсе не было, поэтому Анну Яковлевну зачислили на дневное отделение со второго семестра третьего курса с условием ликвидации задолженностей за полтора года и без права получать стипендию. В университете она училась у известного биогеоценолога и ботаника-географа Николая Сергеевича Камышева на кафедре морфологии, систематики и географии растений (сейчас — кафедра ботаники и микологии). В этот период Н.С. Камышев возглавлял большую работу коллектива кафедры по изучению растительного покрова Черноземья (Barabash et al., 2019). В 1964 г. он определил А.Я. Григорьевскую на преддипломную практику

в Тамбовскую область, результатом практики явилось выполнение дипломной работы “Сфагновые болота Петровского района Тамбовской области”.



Анна Яковлевна Григорьевская
Anna Yakovlevna Grigorjevskaya

По окончании Воронежского государственного университета в 1965 г. Анна Яковлевна была направлена на работу на учебно-опытную агробиологическую станцию “Галичья гора” при Воронежском государственном университете. Директором станции в то время был Сергей Владимирович Голицын — выдающийся ботаник, биогеограф, знаток флоры Среднерусской лесостепи; благодаря его энергии и оптимизму преодолевались многие трудности (Krouychik, 2013; Fedotov, Fedotov, 2020). Темой научно-исследовательской работы Анны Яковлевны стала “Флора и растительность “Галичьей Горы”. Ею впервые произведено геоботаническое картирование участков заповедника, а также начаты ежегодные исследования сезонной динамики флоры и растительности. Первая публикация А.Я. Григорьевской была в соавторстве с Сергеем Владимировичем Голицыным (Golitsin, Grigorjevskaya, 1966). В 1971 г. Анной Яковлевной впервые была опубликована карта растительности “Галичьей Горы”. Позже опубликованы карты растительности других участков заповедника (Golitsin, Grigorjevskaya, 1971; Grigorjevskaya, 1971, 1972, 1977, 1987; Grigorjevskaya, Kazakova, 1986). Защита кандидатской диссертации по теме “Флора и растительность заповедника Галичья Гора”, выполненной под руководством Н.С. Камышева, состоялась в Воронежском государственном университете в 1973 г.

На агробиостанции, а позже в заповеднике “Галичья Гора” (с 1967 г.), Анна Яковлевна работала в должности лаборанта, затем старшего лаборанта, старшего научного сотрудника. В 1966–1967 гг. была директором агробиостанции, а в 1973–1986 гг. — директором заповедника (Grigorjevskaya..., 2017). Как вспоминает Анна Яковлевна, условия жизни были трудными. Жилого фонда в то время в заповеднике не было и научные сотрудники в холодное время года уезжали в Воронеж для обработки на кафедре собранного на биостанции материала. Анна Яковлевна одна зимовала на “Галичьей Горе”, но все тяжелые моменты забывались за работой и исполнением обязанностей.

Под руководством А.Я. Григорьевской была сформирована инфраструктура заповедника, решен кадровый вопрос, получили развитие научные исследования по теме “Экологические основы охраны и рационального использования склоновых типов местности”. Кроме того, были созданы лаборатории почвоведения, энтомологии, позвоночных животных, физиологии растений, возобновилась работа микологической лаборатории. Начались исследования для ведения Летописи природы, организован Ученый совет заповедника. Исследования ориентировались на отслеживание многолетних изменений флоры, фауны и абиотической среды заповедных урочищ, а также гораздо более обширных территорий — Северо-Донского района, Липецкой области, бассейна

Верхнего Дона в целом. В заповеднике была создана материальная база и углублены научные исследования по теме “Экологические основы охраны и рационального использования склоновых типов местности”.

Особое внимание Анна Яковлевна уделяла Гербарию заповедника (имеет название Гербарий Среднерусской возвышенности (VU)). Она бережно сохраняла сборы, сделанные С.В. Голицыным, и проводила пополнение коллекции сборами разных коллекторов из экспедиций по Среднерусской возвышенности: Курской, Липецкой, Воронежской, Белгородской и других областей. В гербарии работали выдающиеся систематики и флористы — Т.В. Егорова, П.А. Смирнов, В.Н. Тихомиров, Н.Н. Цвелев, С.В. Юзепчук и другие.

При А.Я. Григорьевской была создана Фондовая коллекция беспозвоночных и Фондовая микологическая коллекция, которые к настоящему времени стали самыми крупными среди аналогичных коллекций заповедников России и крупнейшими в Центрально-Черноземном регионе (Sarichev, Saricheva, 2022). Для выполнения рабочих планов важно было создать условия для жизни сотрудников. Строительство жилого фонда, подъездных путей, водоснабжения, электрической подстанции, введение в рабочее состояние зданий и организация других работ требовали много времени, но были осуществлены Анной Яковлевной. Активная деятельность А.Я. Григорьевской способствовала тому, что за время ее работы в заповеднике прошло учебную и производственную практики наибольшее количество студентов Воронежского государственного университета. В 1973 г. член-корреспондент РАН В.Н. Тихомиров по приглашению Анны Яковлевны впервые привез на “Галичью Гору” студентов Московского государственного университета им. М.В. Ломоносова. Эта практика стала ежегодной, и продлилась вплоть до 1997 г.

Совместно с Вадимом Николаевичем Анна Яковлевна провела большую работу по подготовке документов на расширение площади заповедника до 1000 га. К сожалению, площадь заповедника осталась прежней, но рекомендуемые к заповеданию урочища были объявлены государственными ландшафтными заказниками регионального значения решением Липецкого Облисполкома от 13.11.1981 г. № 633. Это решение было утверждено Малым советом Липецкого областного совета Народных депутатов от 15.07.1993 г. № 149.

Общение с такими крупными учеными, как Н.С. Камышев, С.В. Голицын, Р.Е. Левина, В.Н. Тихомиров способствовали формированию А.Я. Григорьевской как ученого. По словам Анны Яковлевны, для нее “Галичья Гора” — это терри-

тория духовной свободы, территория добра и демократизма (Kroychik, 2013).

С 1986 г. и по настоящее время А.Я. Григорьевская работает на факультете географии, геоэкологии и туризма Воронежского государственного университета. Многолетнее изучение динамики изменений растительных сообществ, анализ антропогенной трансформации растительного покрова региона позволили представить материалы в виде докторской диссертации “Антропогенная трансформация растительного покрова Среднерусской лесостепи”, защищенной в 2003 г. В работе показана возможность использования биогеографического анализа для изучения антропогенного изменения растительного покрова при различных режимах природопользования, оптимизации сети ООПТ. Впервые разработаны и применены подходы и методы оценки трансформированных экосистем по биотическому компоненту с антропотолерантным и биоморфологическим анализом его структуры через эко-индикационные ряды растительности и индекс экологического состояния (Grigorjevskaya, 2003).

А.Я. Григорьевская считается одним из лучших вузовских флористов России. С ее приходом на факультет основан Гербарий, в котором числится более 25000 гербарных образцов высших сосудистых растений (Grigorjevskaya, 2022; Grigorjevskaya et al., 2022). В 2004 г. гербарий зарегистрирован в международной базе данных “Index Herbariorum” с акронимом VORG. Это одна из самых аккуратно оформленных региональных коллекций — все образцы не просто смонтированы и этикетированы, но проложены отдельно калкой с целью защиты от повреждений. Коллекция является востребованной — ежегодно с ней работают ведущие систематики и флористы из Москвы, Санкт-Петербурга, Екатеринбурга и других городов. Бережное отношение к коллекции позволяет использовать ее в учебном процессе на факультете географии, геоэкологии и туризма ВГУ. В 2013 г. Гербарию вручен сертификат ЮНЕСКО, подтверждающий признание его национальным достоянием России. На основе качественного гербарного материала могут быть организованы не только региональные работы по изучению морфологии и распространения видов, но и современные геносистематические исследования. Созданная А.Я. Григорьевской коллекция — это большая фундаментальная работа, значение которой трудно переоценить.

В сфере научных интересов Анны Яковлевны — вопросы и методы исследований биологического разнообразия и антропогенной трансформации экосистем. С 2012 г. она является участником проекта “Флора Центрального Черноземья”, возглавляемого Н.Н. Золотухиным, сотрудником Центрально-Черноземного государственного природ-

ного биосферного заповедника имени В.В. Алехина. Для выполнения этого проекта Анна Яковлевна активно проводит ревизию своих сборов и привлекает к работе с гербарием специалистов.

А.Я. Григорьевская — автор 474 научных публикаций, среди которых 27 монографий и учебных пособий, очерки для Красных книг Воронежской и Липецкой областей, для Эколого-географического атласа Воронежской области и Воронежской энциклопедии. Особое внимание заслуживает монография “Адвентивная флора Воронежской области: исторический, биогеографический, экологический аспекты”, которая стала одной из первых монографий, посвященных вопросу биологических инвазий.

Анна Яковлевна принимает активное участие в подготовке кадров высшей квалификации — под ее руководством защищены шесть диссертаций на соискание ученой степени кандидата наук, она выступала оппонентом ряда диссертационных работ на соискание ученых степеней кандидатов и докторов биологических наук в разных научных организациях страны.

Активная научно-исследовательская, природоохранная, эколого-просветительская и образовательная деятельность А.Я. Григорьевской получили признание еще в начале ее трудовой деятельности. Она дважды награждена знаком “Победитель соцсоревнования” (1974, 1976), почетным знаком ВООП “За охрану природы России” (1977, 1984); является лауреатом премий Администрации Воронежской области (2005) и Правительства Воронежской области (2013, 2022), имеет звание “Почетный работник ВГУ” (2008). В 2019 г. Анне Яковлевне присвоено звание Почетный работник сферы образования Российской Федерации.

От души поздравляем Анну Яковлевну с юбилеем и желаем крепкого здоровья и сил. Продолжайте радовать близких и коллег своим вниманием, открывать новые черты богатства флоры Центрального Черноземья, вдохновлять учеников своим опытом и примером беззаветного служения науке!

БЛАГОДАРНОСТИ

Работа поддержана темой государственного задания ГБС РАН “Биологическое разнообразие природной и культурной флоры: фундаментальные и прикладные вопросы изучения и сохранения” (№ 122042700002-6).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

[Barabash et al.] Барабаш Г.И., Мелькумов Г.М., Муковнина З.П. 2019. К 120-летию со дня рождения профессора Николая Сергеевича Камышева (1899–1985). — Вестник ВГУ, Серия: Химия. Биология. Фармация. 4: 124–126.

- [Fedotov, Fedotov] Федотов В.И., Федотов С.В. 2020. Профессор Ф.Н. Мильков и профессор С.В. Голицын — полюсы взаимоприятия. — Вестник Воронежского государственного университета. Серия География. Геоэкология. 3: 104–106. <https://doi.org/10.17308/geo.2020.3/3032>
- [Golitsyn, Grigorjevskaya] Голицын С.В., Григорьевская А.Я. 1966. Справочник-указатель семян Северо-Донского реликтового и других районов Среднерусской возвышенности и сопредельных областей. Вып. 6. Воронеж. 26 с.
- [Golitsyn, Grigorjevskaya] Голицын С.В., Григорьевская А.Я. 1971. Флора Галичской горы. — В кн.: Растительный покров Галичской горы и история его исследования. Воронеж. С. 9–89.
- [Grigorjevskaya] Григорьевская А.Я. 1971. Растительность Галичской горы. — В кн.: Растительный покров Галичской горы и история его исследования. Воронеж. С. 90–127.
- [Grigorjevskaya] Григорьевская Анна Яковлевна. 2017. Биология, биогеография, экология: автобиографический справочник. Воронеж. 155 с.
- [Grigorjevskaya] Григорьевская А.Я. 1972. Флора и растительность заповедника “Галичская гора”: Автореф. дис. ... канд. биол. наук. Воронеж. 17 с.
- [Grigorjevskaya] Григорьевская А.Я. 1977. Растительность Морозовой горы. — В кн.: Материалы к познанию природы Галичской горы. Воронеж. С. 43–73.
- [Grigorjevskaya] Григорьевская А.Я. 1987. Растительность долины р. Воргол. — В кн.: Природа малых охраняемых территорий. Воронеж. С. 9–53.
- [Grigorjevskaya] Григорьевская А.Я. 2003. Антропогенная трансформация растительного покрова Среднерусской лесостепи: Автореф. дис. ... докт. географич. наук. Воронеж. 40 с.
- [Grigorjevskaya] Григорьевская А.Я. 2022. База данных сосудистых растений гербария VORG / Свидетельство о государственной регистрации базы данных, рег. № 2022620652 от 28.03.2022. М.
- [Grigorjevskaya et al.] Григорьевская А.Я., Владимиров Д.Р., Субботин А.С. 2022. Перспективы создания и практического использования регионального флористического ресурса “Цифровой гербарий сосудистых растений — VORG”. — В кн.: Коллекции как основа изучения генетических ресурсов растений и грибов: Тезисы докл. Всерос. конф. СПб. С. 10.
- [Grigorjevskaya, Kazakova] Григорьевская А.Я., Казакова М.В. 1986. Динамика растительности Галичской горы за 60 лет. — В кн.: Изучение и охрана природы малых заповедных территорий. Воронеж. С. 5–33.
- [Kroychik] Кройчик Л.Е. 2013. Alma mater. — Третий выпуск. Воронеж. 296 с.
- [Sarichev, Saricheva] Сарычев В.С., Сарычева Л.А. 2022. Галичская гора: открытие для науки и роль в изучении природы Верхнего Дона. — В кн.: VII Семеновские чтения: наследие П.П. Семенова-Тян-Шанского и современная наука: Материалы Международ. науч. конф. К 195-летию со дня рождения П.П. Семенова-Тян-Шанского. Липецк. С. 166–170.

TO THE 85th ANNIVERSARY OF ANNA YAKOVLEVNA GRIGORJEVSKAYA

S. A. Senator^{a, #}, D. R. Vladimirov^b, G. S. Rosenberg^c,
N. M. Reshetnikova^a, and I. N. Safronova^d

^a*Tsitsin Main Botanical Garden of RAS
Botanicheskaya Str., 4, bldg. 1, Moscow, 127276, Russia*

^b*Voronezh State University
Kholzunova Str., 40, Voronezh, 394068, Russia*

^c*Samara Federal Research Center of the Russian Academy of Sciences, Institute of Ecology of the Volga River Basin of RAS
Komzina Str., 10, Tolyatti, 445003, Russia*

^d*Komarov Botanical Institute of RAS
Prof. Popov Str., 2, St. Petersburg, 197022, Russia*

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

ACKNOWLEDGEMENTS

This research was carried out within the framework of a State Assignment no. 122042700002-6 (Tsitsin Main Botanical Garden of RAS).

REFERENCES

- Barabash G.I., Mel'kumov G.M., Mukovnina Z.P. 2019. K 120-letiyu so dnya rozhdeniya professora Nikolaya Sergeevicha Kamysheva (1899–1985) [To the 120th anniversary of the birth of Professor Nikolai Sergeevich Kamyshev (1899–1985)]. — Vestnik VGU, Seriya: Himiya. Biologiya. Farmatsiya. 4: 124–126 (In Russ.).
- Fedotov V.I., Fedotov S.V. 2020. Poles of mutual attraction of Professor F.N. Milkov and Professor S.V. Golitsyn. — Vestnik VGU. Seriya Geografiya. Geoekologiya. 3: 104–106 (In Russ.). <https://doi.org/10.17308/geo.2020.3/3032>
- Golitsyn S.V., Grigor'evskaya A.Ya. 1966. Directory-index of seeds of the North-Don relict and other regions of the Central Russian Upland and adjacent regions. Vol. 6. Voronezh. 26 p (In Russ.).
- Golitsyn S.V., Grigor'evskaya A.Ya. 1971. Flora Galich'ey gory [Flora of Galichya Mountain]. — In: Vegetation cover of Galichya Mountain and the history of its research. Voronezh. P. 9–89 (In Russ.).

- Grigor'evskaya A.Ya. 1971. Rastitel'nost' Galich'ey gory [Vegetation of Galichya Mountain]. — In: Vegetation cover of Galichya Mountain and the history of its research. Voronezh. P. 90–127 (In Russ.).
- Grigor'evskaya A.Ya. 1972. Flora i rastitel'nost' zapovednika "Galich'ya gora" [Flora and vegetation of Galichya Mountain]: Abstr. ... Diss. Kand. Sci. Voronezh. 17 p. (In Russ.).
- Grigor'evskaya A.Ya. 1977. Rastitel'nost' Morozovoy gory [Vegetation of Morozova Mountain]. — In: Materials for understanding the nature of Galichya Mountain. Voronezh. P. 43–73 (In Russ.).
- Grigor'evskaya A.Ya. 1987. Rastitel'nost' doliny reki Vargol [Vegetation of Vargol river valley] — In: Nature of small protected areas. Voronezh. P. 9–53 (In Russ.).
- Grigor'evskaya A.Ya. 2003. Antropogennaya transformatsiya rastitel'nogo pokrova Srednerusskoy lesostepi [Anthropogenic transformation of the Central Russian forest-steppe vegetation cover]: Diss. ... Abstr. Sci. Voronezh. 40 p (In Russ.).
- Grigor'evskaya A.Ya. 2022. Database of vascular plants of the VORG herbarium. Certificate of state registration of the database reg. № 2022620652 ot 28.03.2022. Moscow. (In Russ.).
- Grigor'evskaya A.Ya., Kazakova M.V. 1986. Dinamika rastitel'nosti Galich'ey gory za 60 let [Dynamics of Galich'ya Mountain vegetation over 60 years]. — In: Study and conservation of small protected areas. Voronezh. P. 5–33 (In Russ.).
- Grigor'evskaya A.Ya., Vladimirov D.R., Subbotin A.S. 2022. Perspektivy sozdaniya i prakticheskogo ispol'zovaniya regional'nogo floristicheskogo resursa "Cifrovoy gerbariy sosudistyh rasteniy — VORG" [Prospects for the creation and practical use of a regional floristic resource "Digital Herbarium of Vascular plants — VORG"]. — In: Collections as a basis for studying genetic resources of plants and fungi: Tezisy dokl. St. Petersburg. P. 10 (In Russ.).
- Grigor'evskaya Anna Yakovlevna. Biology, biogeography, ecology: autobiobibliographic reference book. 2017. Voronezh. 155 p. (In Russ.).
- Krojchik L.E. 2013. Alma mater. — Tretiy vypusk. Voronezh. 296 p. (In Russ.).
- Sarychev V.S., Sarycheva L.A. 2022. Galich'ya gora: otkrytie dlya nauki i rol' v izuchenii prirody Verhnego Dona [Galichya Mountain: discovery for science and role in the study of the nature of the Upper Don]. — In: VII Semenov readings: the legacy of P.P. Semenov-Tyan-Shansky and modern science: Materials of the International. sc. conf. on the 195th anniversary of P.P. Semenov-Tyan-Shansky birth. Lipetsk. P. 166–170 (In Russ.).

ВСЕРОССИЙСКАЯ НАУЧНАЯ КОНФЕРЕНЦИЯ “ИЗУЧЕНИЕ И СОХРАНЕНИЕ БИОРАЗНООБРАЗИЯ ЭКОСИСТЕМ ЕВРОПЕЙСКОЙ РОССИИ”

© 2023 г. В. М. Васюков^{1,*}, Л. А. Новикова^{2,**}

¹Самарский федеральный исследовательский центр РАН, Институт экологии Волжского бассейна РАН
ул. Комзина, 10, Самарская обл., Тольятти, 445003, Россия

²Пензенский государственный университет
ул. Красная, 40, Пенза, 440026, Россия

*e-mail: vvasjukov@yandex.ru

**e-mail: la_novikova@mail.ru

Поступила в редакцию 20.09.2023 г.

После доработки 04.10.2023 г.

Принята к публикации 10.10.2023 г.

С 4 по 7 июля 2023 г. на базе Института экологии Волжского бассейна РАН (г. Тольятти) была проведена Всероссийская научная конференция “Изучение и сохранение биоразнообразия экосистем Европейской России”, посвященная 150-летию со дня рождения доктора биологических наук, профессора И.И. Спрыгина и 40-летию Института экологии Волжского бассейна РАН. В работе конференции приняли очное участие 55 ученых (из них 32 иногородних) из 20 научных учреждений России.

Ключевые слова: конференция, биоразнообразие, Европейская Россия

DOI: 10.31857/S0006813623100083, **EDN:** HXMRAS

Иван Иванович Спрыгин — русский ученый, ботаник, доктор биологических наук, профессор, знаток флоры Среднего Поволжья, внес большой вклад в становление современной флористики и геоботаники (рис. 1).

И.И. Спрыгин стоял у истоков создания Пензенского общества любителей естествознания — ПОЛЕ (1905 г.). Именно им был создан Гербарий (1894 г.), который с 1939 г. получил международный акроним — РКМ. Он был одним из основателей Краеведческого музея (1911 г.) и Ботанического сада (1917 г.) в г. Пензе. По его инициативе были созданы заповедники в Среднем Поволжье: “Пензенский заповедник” (1924 г.), “Жигулевский заповедник” (1927 г.) и в Казахстане — “Наурызумский заповедник” (1934 г.).

Именем И.И. Спрыгина были названы Гербарий, Ботанический сад и Жигулевский заповедник. В его честь были названы 1 род (*Sprygina* М. Роров), 12 видов растений. Большой вклад в сохранение наследия И.И. Спрыгина внесла его дочь — Людмила Ивановна Спрыгина (*Sprygina*..., 1982).

Конференции, посвященные памяти И.И. Спрыгина, сначала проводились в г. Пензе в виде заседаний местных краеведов. Особенно широко отмечался 100-летний юбилей ученого в 1973 г. Проведение



Рис. 1. И.И. Спрыгин (1873–1942).

Fig. 1. I.I. Sprygina (1873–1942).

ние этих конференций стало носить систематический характер (через каждые 5 лет) с 1993 г.

В 1993 г. Спрыгинская конференция одновременно проводилась в г. Пензе и в “Жигулевском заповеднике” (с. Бахилова Поляна).

В г. Пензе часть этих материалов были сразу опубликованы в журнале “Из истории области. Очерки краеведов” под редакцией канд. биол. наук А.А. Солянова (Sbornik..., 1993). Другая часть была опубликована позже под редакцией проф. В.Н. Хрянина только в 1998 г. (Materialy..., 1998). Важно отметить, что первая пензенская конференция проводилась по инициативе сотрудников Краеведческого музея, особенно активно участвовал в этом процессе В.Н. Зименков.

Материалы конференции, проводившейся в с. Бахилова Поляна, были опубликованы в этом же году в журнале “Самарская Лука” (Materialy..., 1993) под редакцией проф. С.В. Саксонова.

В 1998 г. Спрыгинская конференция проводилась на базе Приволжского дома знаний; редактором сборника, опубликованного по материалам конференции, стал проф. А.И. Иванов (Problemy..., 1998). С 1998 г. Спрыгинская конференция в г. Пензе стала использовать логотип в виде стилизованного растения адониса весеннего, выполненного правнучкой И.И. Спрыгина по Урановской линии — Урановой Марией Леонардовной.

В 2003 г. Спрыгинская конференция проводилась на базе Пензенского государственного педагогического университета им. В.Г. Белинского (Okhrana..., 2003).

В 2008 г. конференция привлекла к себе большое внимание и стала носить международный характер, поэтому материалы конференции в г. Пензе были опубликованы в двух томах под редакцией проф. В.Н. Хрянина (Bioraznoobrasie..., 2008).

В 2013 г. Спрыгинская конференция продолжала сохранять международный характер, и по ее итогам был опубликован сборник под редакцией проф. Л.А. Новиковой и канд. биол. наук Н.А. Леоновой (Lesostep..., 2013).

В 2018 г. материалы конференции были опубликованы в виде монографии, посвященной природоохранной деятельности И.И. Спрыгина (Saksonov et al., 2018).

Конференции в г. Пензе обычно начинались панихидой на могиле И.И. Спрыгина и сопровождалась выставками, посвященными юбилею и его окружению и экскурсиями на один из участков Государственного природного заповедника “Приволжская лесостепь”: Попереченский, Островцовский, Кунчеровский.

Особенно важно отметить то, что в материалах конференций (1993, 1998, 2008, 2013 гг.) были впервые опубликованы отдельные труды И.И. Спрыгина, ранее не издававшиеся: 1) “Раститель-

ность рек и озер (Пензенский район)”; 2) “Опыт анализа флоры Среднего Поволжья и его заповедников. Вып. 1” (составитель — дочь ученого, канд. геогр. наук Л.И. Спрыгина); 3) “Растительность Кичкилейки”; 4) “Отзыв о работе — Л.М. Черепнин. “Растительность каменистой степи Жигулевских гор” (Диссертация на соискание ученой степени кандидата биологических наук. Рукопись 1941 г.) (составитель — докт. биол. наук, проф. Л.А. Новикова) (Novikova et al., 2013).

С 4 по 7 июля 2023 г. на базе Института экологии Волжского бассейна РАН — филиала Самарского федерального исследовательского центра РАН (г. Тольятти) была проведена седьмая Всероссийская научная конференция “Изучение и сохранение биоразнообразия экосистем Европейской России”, посвященная 150-летию со дня рождения доктора биологических наук, профессора И.И. Спрыгина и 40-летию Института экологии Волжского бассейна РАН.

В работе конференции приняли очное участие 55 ученых (из них 32 иногородних) из 20 научных учреждений России: Борка Ярославской обл., Екатеринбург, Иваново, Инжавино Тамбовской обл., Казани, Москвы, Оренбурга, Пензы, Рязани, Самары, Саранска, Саратова, Тольятти, Улан-Удэ (рис. 2). В числе участников 9 докторов и 30 кандидатов наук, 14 молодых ученых (из них 4 аспиранта).

Научная программа конференции включала три секции и отражала работу исследователей по следующим направлениям:

- экология, рациональное использование и охрана биоразнообразия;
- антропогенные воздействия на биоразнообразие и их последствия;
- структура, динамика и экология растительных сообществ, их классификация;
- флора, систематика растений;
- фауна, систематика животных;
- проблемы ведения Красных книг;
- изучение генетических ресурсов растений, животных и грибов.

На заседаниях были заслушаны 10 пленарных докладов по актуальным направлениям изучения и сохранения биоразнообразия:

- Новикова Л.А., Можая Г.Ф. (Пенза, ПГУ) “Научное наследие Ивана Ивановича Спрыгина”;
- Иванова А.В., Васюков В.М. (Тольятти, ИЭВБ РАН) “Экспедиция-конференция Института экологии Волжского бассейна РАН 2003 года, посвященная И.И. Спрыгину”;
- Бакиев А.Г. (Тольятти, ИЭВБ РАН) “40-летие Института экологии Волжского бассейна РАН”;
- Аникин В.В. (Саратов, СГУ им. Н.Г. Чернышевского) “Создание каталога фауны члени-



Рис. 2. Участники научной конференции на экскурсии в национальном парке “Самарская Лука”: Д.В. Санданов (г. Улан-Удэ), Г.Ф. Можяева (г. Пенза), Е.А. Сухолозова (г. Пенза), Е.А. Сухолозов (г. Пенза), Н.А. Соболев (г. Москва), А.А. Курганов (г. Иваново), В.В. Осипов (г. Пенза), Н.К. Конотоп (пос. Борок, Ярославская обл.), Л.А. Новикова (г. Пенза), А.В. Иванова (г. Тольятти), Е.А. Борисова (г. Иваново), Т.Б. Силаева (г. Саранск), В.М. Васюков (г. Тольятти), М.Н. Стаменов (г. Инжавино, Тамбовская обл.).

Fig. 2. Participants of the Conference on the excursion to the Samarskaya Luka National Park.: D.V. Sandanov (Ulan-Ude), G.F. Mozhaeva (Penza), E.A. Sukholozova (Penza), E.A. Sukholozov (Penza), N.A. Sobolev (Moscow), A.A. Kurganov (Ivanovo), V.V. Osipov (Penza), N.K. Konotop (Borok village, Yaroslavl region), L.A. Novikova (Penza), A.V. Ivanova (Togliatti), E.A. Borisova (Ivanovo), T.B. Silaeva (Saransk), V.M. Vasjukov (Togliatti), M.N. Stamenov (Ingavino, Tambov region).

стоногих Национального парка “Хвалынский” (Саратовская область)”;

– Борисова Е.А. (Иваново, ИГУ) “Инвазионные виды растений в природных экотопах города Иваново”;

– Кин Н.О. (Оренбург, ИС УрО РАН) “Формирование ценотической структуры флоры боров Русской равнины в зависимости от зональной принадлежности видов”;

– Санданов Д.В. (Улан-Удэ, ИОиЭБ СО РАН) “Особенности моделирования распространения видов с использованием метода максимальной энтропии”;

– Силаева Т.Б. (Саранск, МГУ им. Н.П. Огарева). “Материалы для ведения Красных книг Среднего Поволжья”;

– Селезнев В.А. (Тольятти, ИЭВБ РАН) “Влияние массового развития цианобактерий на формирование качества воды Куйбышевского водохранилища (проблема и пути решения)”;

– Щербаков А.В., Сенатор С.А. (Москва, МГУ им. М.В. Ломоносова, ГБС им. Н.В. Цицина

РАН) “Брянский гербарий БИН РАН (LE) и черниговская ботаническая экспедиция под руководством И.И. Спрыгина”.

В целом, в ходе работы конференции было представлено 47 докладов, включая стендовые.

Материалы докладов бесплатно опубликованы с присвоением DOI и размещением в РИНЦ в журналах “Фиторазнообразие Восточной Европы” (с 22.05.2023 в Перечне ВАК), “Известия Самарского научного центра РАН” (Перечень ВАК), “Известия высших учебных заведений. Поволжский регион. Естественные науки” (Перечень ВАК), “Russian Journal of Ecosystem Ecology” (Перечень ВАК) и “Самарская Лука: проблемы региональной и глобальной экологии”.

Для участников конференции были проведены экскурсии: водная по Куйбышевскому водохранилищу, полевая на Молодецкий курган (национальный парк “Самарская Лука”) (рис. 2) и обзорная по г. Тольятти.

БЛАГОДАРНОСТИ

Исследования выполнены в рамках государственного задания Института экологии Волжского бассейна РАН “Структура, динамика и устойчивое развитие экосистем Волжского бассейна” (регистрационный номер 1021060107217-0-1.6.19).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- [Bioraznoobrasie...] Биоразнообразие: проблемы и перспективы сохранения: материалы международной научной конференции, посвященной 135-летию со дня рождения И.И. Спрыгина / в 2-х томах (г. Пенза, 13–16 мая 2008 г.). 2008. Пенза. Т. 1: 420 с.; Т. 2: 515 с.
- [Lesostep...] Лесостепь Восточной Европы: структура, динамика и охрана”: сборник статей международной научной конференции, посвященной 140-летию со дня рождения И.И. Спрыгина (г. Пенза, 10–13 июня 2013 г.). 2013. Пенза. 410 с.
- [Materialy...] Материалы конференции, посвященной 120-летию со дня рождения И.И. Спрыгина (с. Бахилова Поляна, июль 1993 г.). 1993. — Бюллетень “Самарская лука”. 4: 3–297.
- [Materialy...] Материалы конференции, посвященной 120-летию со дня рождения И.И. Спрыгина (г. Пенза, 24–26 мая 1993 г.). 1998. Пенза. 120 с.
- [Novikova et al.] Новикова Л.А., Сенатор С.А., Саксонов С.В., Васюков В.М. 2013. Пять конференций (1993–2013), посвященных И.И. Спрыгину: библиографическое описание работ. — Самарская Лука: проблемы региональной и глобальной экологии. 22(3): 161–211.
- [Okhrana...] Охрана растительного и животного мира Поволжья и сопредельных территорий: материалы Всероссийской науч. конф., посвященная 130-летию со дня рождения И.И. Спрыгина (г. Пенза, 20–21 мая 2003 г.). 2003. Пенза. 354 с.
- [Problemy...] Проблемы охраны и рационального использования природных экосистем и биологических ресурсов: материалы Всероссийской науч.-практ. конф., посвященной 125-летию со дня рождения И.И. Спрыгина (г. Пенза, 18–19 мая 1998 г.). 1998. Пенза. 466 с.
- [Saksonov et al.] Саксонов С.В., Новикова Л.А., Сенатор С.А., Васюков В.М., Конева Н.В., Сидякина Л.В. 2018. Развитие природоохранных идей в Среднем Поволжье в XIX–XXI вв.: монография. Тольятти. 230 с.
- [Sbornik...] Сборник, посвященный 120-летию со дня рождения И.И. Спрыгина. 1993. — Из истории области. Пенза. 4: 3–240.
- [Sprygina...] Спрыгина Л.И. 1982. Спрыгин Иван Иванович. М. 176 с.

ALL-RUSSIAN SCIENTIFIC CONFERENCE “STUDY AND CONSERVATION OF BIODIVERSITY OF ECOSYSTEMS OF EUROPEAN RUSSIA”

V. M. Vasjukov^{a,#} and L. A. Novikova^{b,##}

^aSamara Federal Research Center of RAS, Institute of Ecology of the Volga Basin of RAS
Komzina Str., 10, Tolyatti, Samara Region, 445003, Russia

^bPenza State University
Krasnaya Str., 40, Penza, 440026, Russia

[#]e-mail: vvasjukov@yandex.ru

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

The All-Russian scientific conference “Study and conservation of biodiversity of ecosystems of European Russia” dedicated to the 150th anniversary of Doctor of Biological Sciences, Professor I.I. Sprygin and the 40th anniversary of the Institute of Ecology of the Volga Basin of the Russian Academy of Sciences was held from July 4 to July 7, 2023, at the Institute of Ecology of the Volga Basin of RAS (Tolyatti). 55 scientists (32 of them from other cities) from 20 scientific institutions of Russia took part in the Conference in person.

Keywords: conference, biodiversity, European Russia

ACKNOWLEDGEMENTS

The study was carried out within the framework of state assignment No. 1021060107217-0-1.6.19 of the Institute of Ecology of the Volga River Basin of Russian Academy of Sciences.

REFERENCES

- Bioraznoobrazie: problemy i perspektivy sokhraneniya: materialy mezhdunarodnoy nauchnoy konferentsii, posvyashchennoy 135-letiyu so dnya rozhdeniya I.I. Sprygina / v 2-kh tomakh (Penza, 13–16 maya 2008 g.). [Biodiversity: problems and prospects of conservation: proceedings of the international scientific conference dedicated to the 135th anniversary of the birth of I.I. Sprygin / in 2 volumes (Penza, May 13–16, 2008)]. 2008. Penza. Vol. 1: 420 p.; Vol. 2: 515 p. (In Russ.).
- Lesostep Vostochnoy Evropy: struktura, dinamika i okhrana”: sbornik statey mezhdunarodnoy nauchnoy kon-

- ferentsii, posvyashchennoy 140-letiyu so dnya rozhdeniya I.I. Sprygina (Penza, 10–13 iyunya 2013 g.). [Forest-steppe of Eastern Europe: structure, dynamics and protection]: collection of articles of the international scientific conference dedicated to the 140th anniversary of the birth of I.I. Sprygin (Penza, June 10–13, 2013)]. 2013. Penza. 410 p. (In Russ.).
- Materialy konferentsii, posvyashchennoy 120-letiyu so dnya rozhdeniya I.I. Sprygina (Baxilova Polyana, iyul 1993 g.). [Materials of the conference dedicated to the 120th anniversary of the birth of I.I. Sprygin (Bakhilova Polyana, July 1993)]. 1993. — Bulletin “Samara Luka”. 4: 3–297 (In Russ.).
- Materialy konferentsii, posvyashchennoy 120-letiyu so dnya rozhdeniya I.I. Sprygina (Penza, 24–26 maya 1993 g.). [Materials of the conference dedicated to the 120th anniversary of the birth of I.I. Sprygin (Penza, May 24–26, 1993)]. 1998. Penza. 120 p. (In Russ.).
- Novikova L.A., Senator S.A., Saksonov S.V., Vasjukov V.M. 2013. Five conferences (1993–2013) dedicated to I.I. Sprygin: bibliographic description of works. — Samara Luka: problems of regional and global ecology. 22(3): 161–211 (In Russ.).
- Okhrana rastitelnogo i zhivotnogo mira Povolzhya i sopredelnykh territoriy: materialy Vserossiysk. nauchn. konferentsii, posvyashchennoy 130-letiyu so dnya rozhdeniya I.I. Sprygina (Penza, 20–21 maya 2003 g.) [Protection of flora and fauna of the Volga region and adjacent territories: materials of the All-Russian Scientific Conference dedicated to the 130th anniversary of the birth of I.I. Sprygin (Penza, May 20–21, 2003)]. 2003. Penza. 354 p. (In Russ.).
- Problemy okhrany i ratsional'nogo ispolzovaniya prirodnikh ekosistem i biologicheskikh resursov: materialy Vserossiyskoy nauchno-prakticheskoy konferentsii, posvyashchennoy 125-letiyu so dnya rozhdeniya I.I. Sprygina (Penza, 18–19 maya 1998 g.). [Problems of protection and rational use of natural ecosystems and biological resources: materials of the All-Russian Scientific and Practical Conference dedicated to the 125th anniversary of the birth of I.I. Sprygin (Penza, May 18–19, 1998)]. 1998. Penza. 466 p. (In Russ.).
- Saksonov S.V., Novikova L.A., Senator S.A., Vasjukov V.M., Koneva N.V., Sidiyakina L.V. 2018. The development of environmental ideas in the Middle Volga region in the XIX–XXI centuries: monograph. Togliatti. 230 p. (In Russ.).
- Sbornik, posvyashchennyy 120-letiyu so dnya rozhdeniya I.I. Sprygina [A collection dedicated to the 120th anniversary of the birth of I.I. Sprygin]. 1993. — From the history of the region. Penza. 4: 3–240 (In Russ.).
- Sprygina L.I. 1982. Sprygin Ivan Ivanovich. Moscow. 176 p. (In Russ.).