

УДК 581.524.1:581.1

## ИНТЕРФЕРЕНЦИЯ ФАКТОРОВ В КОНКУРЕНТНОМ ВЗАИМОДЕЙСТВИИ ЧУЖЕРОДНОГО ВИДА *Pulmonaria saccharata* (Mill) С БАНКОМ СЕМЯН В УСЛОВИЯХ ИНТРОДУКЦИИ

© 2022 г. Е. В. Черняева\*, @, В. П. Викторов\*

\*Московский государственный педагогический университет, ул. Кибальчича, 6/3, Москва, 129164 Россия

@E-mail: ev.chernyaeva@mpgu.su

Поступила в редакцию 18.03.2021 г.

После доработки 16.05.2021 г.

Принята к публикации 20.12.2021 г.

В опытных посадках чужеродного вида – медуницы *Pulmonaria saccharata* обнаружен транспорт фитотоксичных фенолов со смывами с листьев в почву подкороновой области. При концентрации в смывах от 0 до 15.7 мкг/мл содержание фенолов в почве достигало 13.9 мкг/г. Показатели биомассы, отрастающей из банка семян растительности, достоверно зависели от накопления почвой фенольных веществ, интенсивности вегетативного размножения *P. saccharata* и освещенности. Эффект плотно-зависимой аллелопатии вызвал лаг-фазу в накоплении фенолов почвой. Предложена модель фенологически согласованного взаимодействия конкурентных признаков вида, включающего аллелопатический фактор. Отмечено, что предложенный подход может способствовать выяснению специфичности влияния чужеродных видов на аборигенные виды и сообщества.

**Ключевые слова:** банк семян, вегетативное размножение, конкуренция, смывы с листьев, плотно-зависимая аллелопатия, фенольные вещества, чужеродный вид, *Pulmonaria saccharata*

**DOI:** 10.31857/S1026347022040059

В ряде исследований особая роль в успешности инвазивных видов отведена аллелопатии – способности растений с помощью фитотоксичных экзометаболитов подавлять рост конкурентов. Мета-анализ глобальной библиотеки исследований в области аллелопатии выявил продуцирование большинством изученных инвазивных видов (51.4%) аллелопатических веществ и распространение аллелопатии в 71% семейств высших растений (Kalisz *et al.*, 2021). По данным еще одного мета-анализа 384-х исследований чужеродные, в том числе инвазивные виды, подавляют ростовые процессы аборигенных видов чаще и в большей степени, чем другие аборигенные виды (Zhang *et al.*, 2020).

Учитывая большое разнообразие экзометаболитов, производимых растениями, высока вероятность существования столь же разнообразных механизмов, лежащих в основе успеха инвазий – от прямых аллелопатических воздействий (Callaway, Ridenour, 2004; Fujii, 2017) до косвенных через взаимодействие с почвой (Dalton *et al.*, 1989; Blum *et al.*, 1999; Klironomos, 2002), почвенными микроорганизмами (Blum, Gerig, 2005; Zhu *et al.*, 2011), арбускулярной микоризой (Blossey, NoEtzold, 1995; Callaway *et al.*, 2008; Ehlers, 2011). К настоящему времени сложилось устойчивое мнение

о необходимости учета большого количества разнообразных факторов, влияющих на проявление аллелопатии, в том числе биогеографического (Yuan *et al.*, 2012; Lyytinen, Linsdstrom, 2019), фенологического (Reigosa, Carballeira, 2016), метеорологического (Goldenstein, Suding, 2014). Гипотеза “плотно-зависимой аллелопатии” предполагает зависимость дозы фитотоксина, получаемой каждой особью вида-мишени, от плотности его популяции (“density-dependent allelopathy”: Thijs *et al.*, 1994; Belz *et al.*, 2005; Barto, Chipollini, 2009; Симагина, 2010). Степень детерминированности аллелопатических эффектов, в особенности механизмов транспорта экзометаболитов, от биотических и абиотических факторов, ставит под сомнение феномен аллелопатического преимущества инвазивных видов.

В то же время растет число сообщений о более высокой конкурентности видов с аллелопатическими свойствами (Nilsson, 2004; He *et al.*, 2012; Quasem, 2017; Liu *et al.*, 2020). При этом сами аллелопатические эффекты оценены как сравнительно слабые, вклад аллелопатии в общую конкурентность изученных видов в среднем не превышал 10–25%, влияние фактора корневой конкуренции значительно превалировало. В настоящее время вопрос о возможности экспериментального раз-

деления эффектов аллелопатии и ресурсной конкуренции остается дискуссионным (Weidenhamer, 1989; Weidenhamer *et al.*, 1989; Inderjit, del Moral, 1997; Uddin, Robinson, 2017). В свете изложенных проблем актуальным является экологически реалистичное изучение механизмов интерференции конкурентных признаков и аллелопатического фактора, выявление условий реализации аллелопатического потенциала растений. Предполагается, что иерархия ответной реакции целевых видов образует ряд: аллелопатия < конкуренция < аллелопатия + конкуренция (Fernandez *et al.*, 2016).

Чужеродный вид медуница сахарная или белопятнистая *Pylmonaria. saccharata* Mill. является интересным объектом для изучения эколого-физиологического аспекта аллелопатии в целях лучшего понимания механизмов биоинтерференции, способствующих инвазиям. По нашим наблюдениям, в многолетних куртинах медуницы практически отсутствует сорная растительность. В своем предыдущем исследовании мы обнаружили биологическую активность экстрактов листьев и вытяжек почвы из подкрановой области *P. saccharata* (Chernyaeva, Viktorov, 2020). Обнаруженная фитотоксичность почвы означает, что средопреобразующее воздействие *P. saccharata* может вызывать трансформацию почвенного банка семян. Хотя исследования в этом направлении установили высокую вариабельность эффектов, чаще незначительные изменения разнообразия и численности банков семян, и меньшую чувствительность по сравнению с вегетирующей растительностью (Gooden, French, 2014; Giorgia *et al.*, 2014; Веселкин и др., 2018), этот вопрос требует дальнейшего изучения.

Мы предположили, что экзометаболиты медуницы транспортируются в почву в виде смывов естественными осадками. Целью работы было определение вклада аллелопатического фактора *P. saccharata* в подавление конкурирующей растительности в сопоставлении с другими конкурентными, или влияющими на конкурентность факторами — плотностью листового полога, интенсивностью вегетативного развития и размножения, условиями освещения.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

**Объект исследования.** *P. saccharata* — короткокорневищный травянистый поликарпик, мезоксерофит южноевропейского происхождения из семейства Boraginaceae (Juss.), введен в культуру в XVIII в. в качестве лекарственного и декоративного почвопокровного растения, вторичный ареал охватывает весь умеренный пояс (Purpi, Cristofolini, 1996). Размножается преимущественно вегетативно, образует напочвенный покров высотой 0.35–0.45 м. Летние листья в условиях Подмосковья вегетируют до установления снежного

покрова, далее часть из них остаются зелеными до конца весны следующего года. *P. saccharata* свойственен весенне-летне-осеннезеленый феноритмотип, в условиях интродукции сезонные ритмы устойчивы, вид адаптировался к новым условиям обитания (Васильева, Фомина, 2016). Для представителей семейства Boraginaceae характерно густое опушение из железистых волосков (трихом), способных накапливать вторичные метаболиты фенольной природы (Тамахина, Ахкубекова, 2018).

Эксперимент разработали с учетом представления о динамическом течении процесса конкуренции (Trinder *et al.*, 2013). Для этого в опытной посадке (новопосадке) проводили определение биологической активности и содержания сумм фенольных соединений в почве и смывах с листьев (1) в течение одного вегетационного сезона, фиксировали интенсивность вегетативного размножения особей *P. saccharata* (2) при разной плотности посадки (3) и освещенности (4). Одновременно под листовым пологом медуниц собирали образцы свободно произрастающей из семян почвенного банка растительности (травостоя) для определения влияния названных факторов на ее биомассу.

**Закладка опытных посадок.** Посадочный материал *P. saccharata* получили из коллекции почвопокровных растений учебно-опытного участка кафедры ботаники МПГУ (Черняева и др., 2014). Опытные посадки заложили в третьей декаде августа 2019 г. на территории городского округа Пушкино Московской области на многолетней залежи близ опушки соснового бора (56°06'00" с.ш., 37°83'84.5" в.д.). Две пары гряд (2 × 3.5 м каждая гряда) с дерново-подзолистой почвой суглинистого состава расположили на расстоянии 3 м друг от друга на открытой хорошо освещенной площадке. Первая пара гряд — вариант опыта "L" ("light"). Вторую пару гряд затенили притеночными щитами таким образом, чтобы интервалы прямого солнечного освещения не превышали 4 ч в день в совокупности — вариант опыта "S" ("shade"). Все локации находились вдали от крупных деревьев и кустарников, в окружении естественно произрастающего разнотравья. На каждую гряду высадили по 50 особей *P. saccharata*. Пары гряд отличались плотностью высадки растений — 25 × 25 см и 45 × 45 см (варианты опыта "L25", "L45", "S25", "S45"). При посадке в почву не вносили удобрения, предварительно выбрали корневища многолетних растений, обработку гербицидами и ручную прополку в течение эксперимента не проводили. В образцах почвы с каждой гряды определили рН<sub>водный</sub> в соотношении почвы и воды 1 : 5 с помощью анализатора Checker® рН Tester HI 98103 "Hanna Instruments" (рН 6.5–6.7). В течение вегетационного сезона 2020 г. проводили сбор образцов и мониторинг развития растений.

**Смывы с листьев.** Пластиковые кюветы с закрепленной по верху пластиковой сеткой  $5 \times 5$  мм расставили на отрезки геотекстиля (для устранения попадания почвы) под листовым пологом медуниц по 5 шт. на гряде рандомизированно (всего 20 шт.). Смывы собирали после дождя немедленно, объединяли в один смешанный образец, фильтровали через двойной бумажный фильтр “Красная лента” и помещали в закрытые стеклянные емкости. В качестве контроля использовали дождевую воду, собранную в кюветы с сеткой на открытой площадке без растительности не далее 10 м от опытных растений. Искусственные смывы с листьев получали двумя методами. Срезанные листья помещали в сосуды с дистиллированной водой в соотношении 1 : 4 масса листьев/объем экстрагента на 24 ч. Срезанные листья весом 300 г раскладывали на решетке и омывали мелкодисперсным потоком водопроводной воды объемом 500 мл. Полученные образцы использовали для биотестов и определений в тот же день или хранили при  $4^{\circ}\text{C}$  в течение 1–2 сут до анализа.

**Образцы почвы.** Образцы почвы собирали в первой декаде каждого месяца из-под полога медуниц с глубины 0–5 см методом “конверта” по 10 образцов с каждой гряды, из них получали один смешанный образец. Первый образец взяли с гряд до высадки растений. Почву высушили до воздушно-сухого состояния и просеяли через сито с ячейкой 2 мм, далее хранили при комнатной температуре в бумажных пакетах.

**Образцы травостоя.** В первой декаде каждого месяца с мая по октябрь с гряд собирали по 5 образцов травостоя по  $1 \text{ дм}^2$  каждый, рандомизированно. Первые образцы собрали через две недели после посадки в первой декаде сентября 2019 (“X19”). Почву с растениями вырезали садовым ножом на глубину 10 см, корни отмывали водопроводной водой, полученные образцы высушивали до воздушно-сухого состояния и хранили при комнатной температуре в бумажных пакетах. Для определения сухого веса (биомассы) собранные образцы поместили на 72 ч в термостат при  $70^{\circ}\text{C}$  и затем взвесили на аналитических весах.

**Биотесты.** Биологическую активность смывов и образцов почвы определяли по стандартной методике. В контрольных вариантах использовали дождевую воду и почву с гряд до высадки расте-

ний. В качестве тест-культуры во всех биотестах использовали кресс салат сорта Весенний, предварительно тестировали семена на всхожесть по ГОСТу (97%). Биотесты проводили в 2-х биологических и 5-ти аналитических повторностях. Ежедневно в течение 5 дней отмечали всхожесть, длину корней и гипокотилия.

**Определение суммарного содержания растворимых фенольных соединений.** В образцах почвы и смывах с листьев содержание суммы фенолов определяли спектрофотометрическим методом Фолина и Чокальтеу в модификации Синглтона и Росси (Singleton *et al.*, 1999; Коннова и др., 2015). Фенольные соединения почвы экстрагировали 24 ч в соотношении 1 : 1.5 *w/v*, в качестве экстрагента использовали 80%-ный этиловый спирт. Вытяжки центрифугировали 5000 об./мин 20 мин на центрифуге, супернатант использовали для определений. Оптическую плотность измеряли при 765 нм на спектрофотометре SmartSpec Plus Spectrophotometer “BioRad Laboratories” (США). При построении градуировочной зависимости в качестве стандарта применяли галловую кислоту. Определение проводили в 2-х биологических и 5-ти аналитических повторностях. Содержание суммы фенолов выражали в эквивалентах галловой кислоты в пересчете на единицу массы воздушно-сухой почвы или объема смывов.

**Коэффициент вегетативного размножения (КВР).** Число эпигеогенных корневищ с почками у каждой особи медуницы во всех вариантах опыта подсчитали во второй декаде мая.

**Анализ данных.** Относительную скорость роста (Relative Growth Rate) корня и гипокотилия проростков тест-культуры в биотестах рассчитали для второго, третьего и четвертого дней после посева семян по формуле:

$$RGR_n = (H_n - H_{n-1}) / H_{n-1},$$

где  $H_n$  – средняя длина корня или гипокотилия в день  $n$  после посева

Соотношение длины подземной и надземной частей проростков “Root/Aerial part ratio” ( $RA$ ) рассчитали по данным 4-го дня от посева для опытных и контрольных растений в биотестах по формуле:

$$RA = \text{длина корня (мм)} / \text{длина надземной части (мм)}.$$

Для статистической обработки данных использовали дисперсионный факторный анализ ANOVA с повторными измерениями и однофакторный анализ. Факторы освещенности, плотности посадки, коэффициента вегетативного размножения (КВР) считали детерминирующими, биомассу тра-

востоя и накопление фенолов почвой – зависимыми. Также оценивали влияние факторов освещенности и плотности посадки на КВР. Характер связи между динамикой накопления почвой фенольных соединений и динамикой изменений биомассы исследовали с помощью нелинейного регрессионного

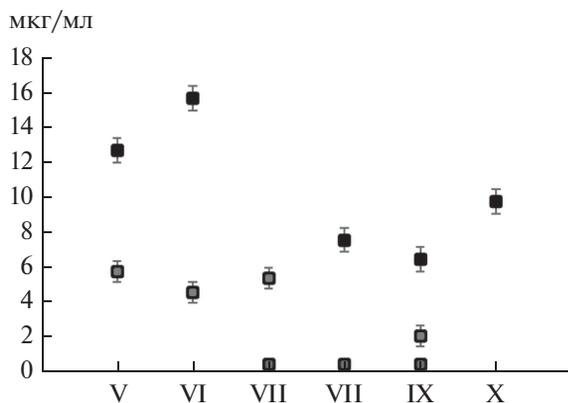


Рис. 1 Содержание фенолов в смывах. Бары – стандартная ошибка среднего. V–X – месяцы.

анализа и непараметрического корреляционного анализа с вычислением коэффициента ранговой корреляции Спирмена ( $\rho$ ). Значения признаков анализировали после логарифмирования. Парные сравнения выборок по одному или нескольким параметрам проводили с помощью Тьюки-теста (Tukey HSD). Учетная единица во всех случаях – среднее значение признака  $\pm$  стандартная ошибка ( $m \pm SE$ ). Расчеты выполнены в программе STATISTICA 12 (StatSoft USA).

## РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

**Содержание фенольных соединений и биологическая активность смывов с листьев.** Концентрация фенолов в дождевых смывах в течение периода наблюдений варьировала от 0 до 15.7 мкг/мл (рис. 1), кислотность – от 5.8 до 6.2.

В смывах после слабых или длительных затяжных дождей, а также полученных искусственным способом, биологическая активность отсутствовала, содержание фенолов было ниже порога чувствительности метода определения. Самые высокие концентрации получали после кратковременных обильных осадков, однако и в этих случаях нередко фиксировали средние, низкие или нулевые значения (рис. 1, 2).

Образцы смывов с содержанием фенольных соединений 9–15 мкг/мл оказали следующее влияние на ростовые процессы тест-культуры. Первые 1–2 сут всхожесть семян в опыте превышала контрольные значения на 25–30%, затем показатели выравнивались. Первые и вторые сутки с момента прорастания наблюдали ускорение роста гипокотили и корня проростков в 1.8–1.9 раза в сравнении с контролем (рис. 3).

На третий день относительная скорость роста гипокотили затормозилась до значения в 2.5 раза ниже контрольного, на четвертый – сравнялась с контролем.

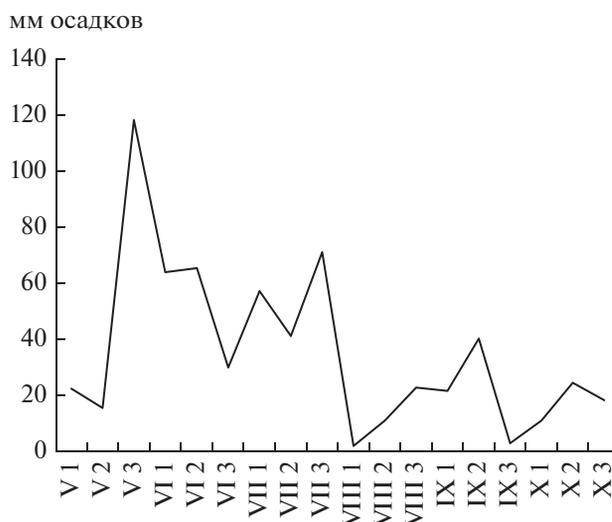


Рис. 2 Распределение осадков по месяцам и декадам в период вегетации *P. saccharata* в 2020 г. (по данным метеостанции в Шереметьево МО).

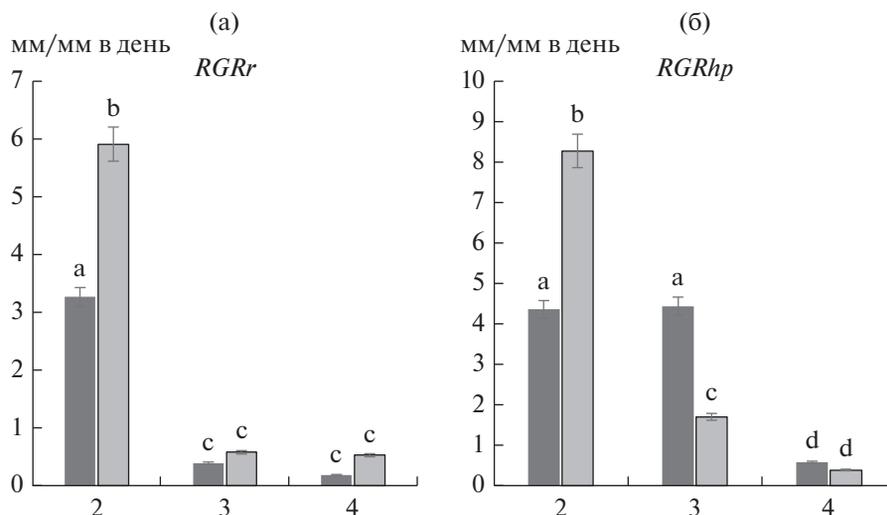
На четвертые сутки корни проростков опытного варианта значительно превосходили по длине корни контроля, что привело к достоверной, более чем трехкратной, разнице в соотношении надземной и подземной частей растений, ( $RA = 1.71 \pm 0.11$  и  $0.47 \pm 0.03$  соответственно,  $p < 0.001$ , Тьюки тест при  $n = 21$ ). Корни опытных растений отличались повышенной жесткостью и прочностью, отсутствием всасывающих корешков (рис. 4).

При концентрации фенольных веществ 4–7 мкг/мл смывы обладали меньшей активностью (удлинение корней на 10–35% по сравнению с контролем). Примерно в трети образцов регистрируемая активность отсутствовала.

**Содержание фенольных соединений и биологическая активность в образцах почвы.** Образцы почвы с подготовленных гряд до высадки растений, содержали следовые количества фенолов. К весне следующего года концентрация фенолов увеличилась в 4–5 раз по вариантам опыта, в вариантах L25 и L45 к началу мая, в S25 и S45 – к началу июня (рис.5).

В вариантах L25 и L45 накопление фенолов почвой происходило неравномерно, с выраженными лаг-фазой в мае-июне. В течение июля содержание фенолов в почве более чем двукратно увеличилось и далее не изменялось до конца периода наблюдений. В вариантах S25 и S45 накопление происходило более равномерно.

Всхожесть семян в биотестах с почвой на второй день составляла 119%, удлинение корней проростков к пятому дню привело к достоверной разнице значений  $RA$  контрольных и опытных растений ( $0.51 \pm 0.06$  и  $1.16 \pm 0.08$  соответственно,  $p = 0.0161$  согласно Тьюки тесту).



**Рис. 3** Влияние смывов с листьев *P. saccharata* на длину корня и гипокотыля проростков кресс-салата, содержание фенолов в образце 12.7 мкг/мл. *RGR<sub>r</sub>* – относительная скорость роста корня (а), *RGR<sub>hp</sub>* – относительная скорость роста гипокотыля (б); 2–4 – дни опыта. Темные столбцы – контроль, светлые столбцы – опыт. Бары – стандартная ошибка среднего. Разные буквы над столбцами обозначают различия между группами данных согласно Тьюки тесту на уровне  $p \leq 0.05$ .

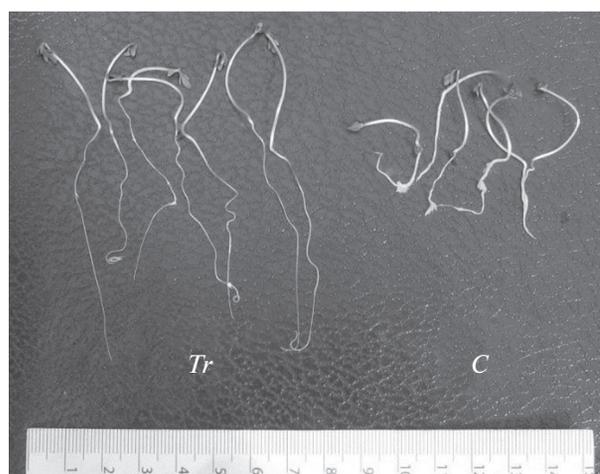
**Изменения биомассы травостоя.** Динамика изменения показателей биомассы была аналогичной во всех вариантах опыта (рис. 6). В начале мая значения достоверно различались на освещенных и затененных грядах в 10 раз. В течение мая и июня в вариантах L45 и L25 биомасса уменьшилась в 10 раз, в вариантах S45 и S25 – в 5 и 7 раз соответственно, далее в июле и августе во всех вариантах опыта – колебалась от относительно низких до близких к нулевым значениям.

## ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

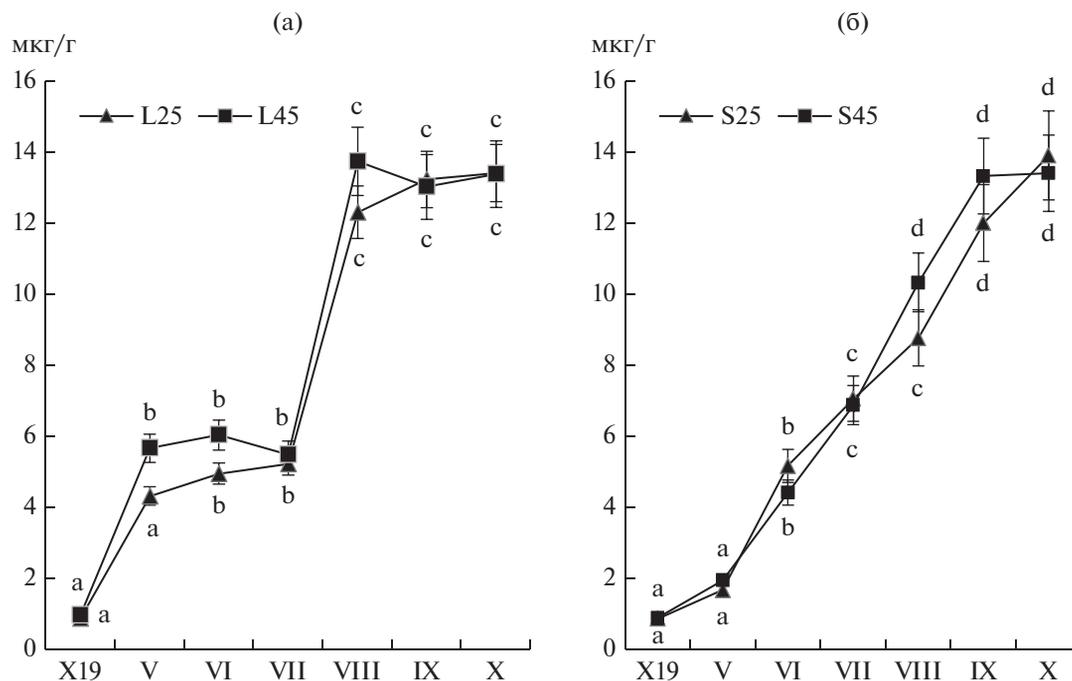
Полученные данные о специфической биологической активности в дождевых смывах с листьев подтвердили нашу гипотезу о механизме транспорта экзометаболитов *P. saccharata*.

В конце мая, июне и октябре концентрация фенолов в смывах была наибольшей (рис. 1), но в целом зависела от сложной динамики выпадения осадков (рис. 2). Высокая вариабельность концентрации экзометаболитов в смывах не позволила выявить связь с фенологией *P. saccharata*. Фенологические максимумы синтеза биологически активных веществ у значительной части инвазивных видов приходятся на весну и осень (Reigosa, Carballeira, 2016), у аборигенных видов медуниц – на середину лета (Худоногова, 2006). Вероятно, следующие факторы снижали концентрацию фенолов в смывах: а) разведение обильными осадками; б) малое количество зрелых трихом из-за частых осадков; в) устойчивость трихом к слабым осадкам (поэтому искусственные смывы не показали биологической активности); г) сни-

жение интенсивности синтеза вторичных метаболитов под влиянием биотических и абиотических факторов. Феномен устойчивости трихом к слабому дождю (в том числе к замачиванию и орошению при получении искусственных смывов) может быть объяснен его заведомой неэффективностью для промачивания почвы. Мы полагаем, что транспорт фенолов и их аккумуляция в почве происходили в том числе при запредельно низких для количественного определения концентрациях при условии большого объема осадков. Возможен перенос фенолов в почву талыми водами.



**Рис. 4.** Проростки кресс-салата на 4-ый день биотеста. *Tr* – влияние смывов с листьев *P. saccharata*, *C* – контроль (дождевая вода). Содержание фенолов в образце смывов 12.7 мкг/мл.



**Рис. 5.** Динамика содержания фенолов в почве подкроновой области *P. saccharata* по вариантам опыта L (а) и S (б). V–X – месяцы. Бары – стандартная ошибка среднего. Разные буквы обозначают различия между группами данных согласно Тьюки тесту (Tukey HSD) на уровне  $p \leq 0.05$ .

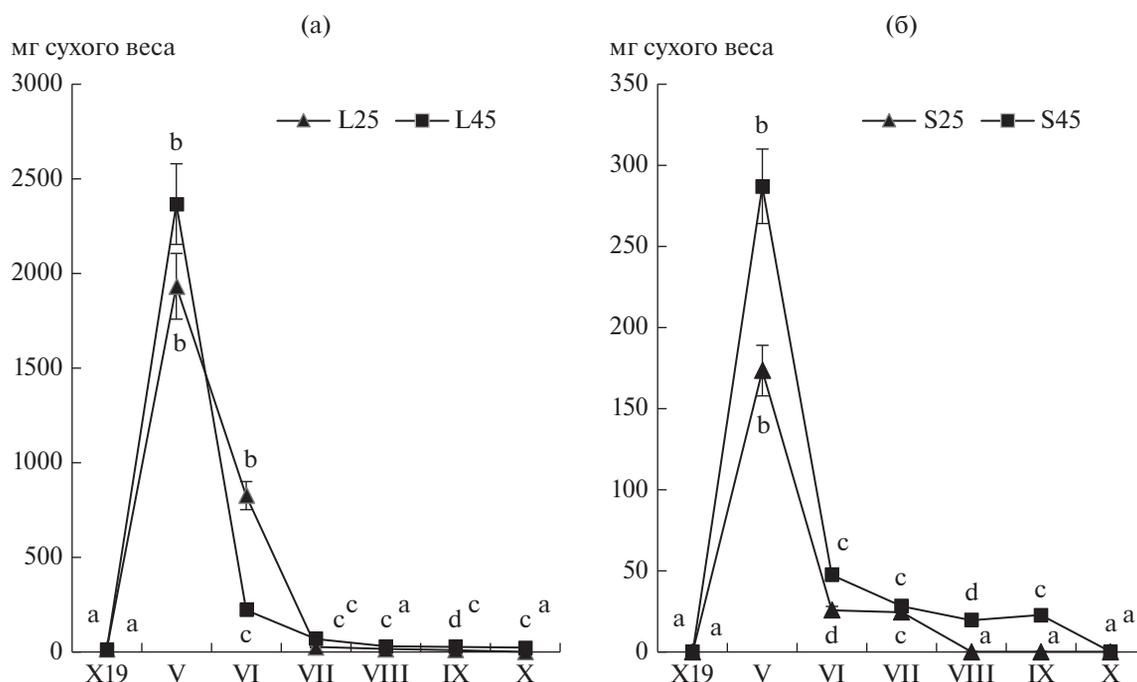
Биологическая активность смывов и почвенных образцов была стимулирующей. Аналогия реакций тест-культур на смывы с листьев и вытяжки из почвы подтверждает идентичность аллелопатических веществ *P. saccharata* в смывах и почве. В наших предыдущих экспериментах низкие концентрации экзометаболитов *P. saccharata* вызывали такие же первичные эффекты (Chernyaeva, Viktorov, 2020). За ними следовало торможение ростовых процессов на фоне нарушения водного обмена и снижения скорости накопления сухого вещества. Возможными причинами этого явления могли быть преждевременное истощение запасов питательных веществ семени, нарушения механизмов поглощения воды корнями и водного транспорта. Полученные данные согласуются с сообщениями о высокой скорости роста на экспоненциальной стадии прорастания семян, нарушении баланса надземной и подземной частей, недоразвитии тонких корней, лигнификации ксилемной части сосудистых пучков и нарушении водного обмена в качестве повреждающих факторов воздействия аллелопатических веществ фенольной природы (Кефели, 1974; Blum, Gerig, 2005; Li *et al.*, 2010; Симагина, Лыскова, 2010). Важно, что у тест-культур с низкой всхожестью экзометаболиты *P. saccharata* значительно увеличивали долю проросших диаспор, то есть активировали прорастание в том числе покоящихся и невыполненных семян. Однако, не только в лабо-

раторных условиях, но и в естественной среде перечисленные метаболические нарушения были нелетальными и обратимыми, по крайней мере часть проростков могла выживать и продолжать развитие. Поскольку фенольные вещества *P. saccharata* накапливаются в почве, слабая токсичность важна для исключения аутоинтоксикации донора. Таким образом, этого слабого воздействия не достаточно для полного устранения конкурентов в подкроновой области.

Мы полагаем, что под влиянием экзометаболитов почвы и смывов происходила активация и синхронизация прорастания семян почвенного банка в опытных посадках *P. saccharata* с результирующим снижением жизнеспособности проростков.

В мае биомасса травостоя достоверно с высокой детерминацией зависела от освещенности, и не зависела от плотности посадки (табл. 1). Численность и разнообразие банка семян, вероятно, не отличались по вариантам опыта, но на затененных грядах проростки погибали от недостатка света. Всего мы обнаружили на всех грядах 14 видов трав. В начале мая, на пике развития, в образцах с гряд с полным освещением было по 10–22 особи, с затененных – по 6–10.

Тесная отрицательная корреляция между динамикой изменения биомассы и накоплением фенолов почвой подтверждает гипотезу о статистически значимом вкладе аллелопатического фактора *P. saccharata* в подавление конкурирую-



**Рис. 6.** Динамика изменений биомассы (сухого веса) сорной растительности по вариантам опыта L (а) и S (б). V–X – месяцы. Бары – стандартная ошибка среднего. Разные буквы обозначают различия между группами данных согласно Тьюки тесту (Tukey HSD) на уровне  $p \leq 0.05$ .

щей растительности (табл. 2). Данные анализа различались по вариантам опыта L и S. Коэффи-

циенты детерминации регрессионной модели были значительно ниже и также различались по

**Таблица 1.** Значимость влияния факторов на биомассу и содержание фенолов в почве в дисперсионном анализе ANOVA

Признаки	Факторы												
	Освещенность				Плотность посадки				КВП				
Коэффициенты	<i>F</i>	<i>df</i>	$R_{adj}^2$	<i>P</i>	<i>F</i>	<i>df</i>	$R_{adj}^2$	<i>p</i>	<i>F</i>	<i>df</i>	$R_{adj}^2$	<i>p</i>	
Биомасса	V	73.01	2	0.9600	<b>0.0134</b>	0.0405	2	0.4702	0.8590	292.67	2	<b>0.9948</b>	<b>0.0412</b>
	VI	2.5983	2	0.3475	0.2482	0.5057	2	0.1972	0.5507	887.56	2	<b>0.9983</b>	<b>0.0237</b>
	VII	0.8295	2	0.0602	0.4585	1.3940	2	0.1160	0.3591	106.36	2	0.9859	0.6840
	VIII	0.8731	2	0.0441	0.4487	4.200	2	0.5164	0.1768	0.5870	2	0.0379	0.6782
	IX	0.1908	2	0.3693	0.7048	17.522	2	0.8463	0.0526	0.3715	2	0.7211	0.7574
	X	0.9002	2	0.0032	0.4245	0.7353	2	0.0967	0.4815	76.50	2	0.9805	0.0805
Содержание фенолов в почве	V	21.58	2	<b>0.8727</b>	<b>0.0433</b>	0.1250	2	0.4117	0.7574	150.59	2	0.0990	0.0575
	VI	0.8679	2	0.0460	0.4498	0.2249	2	0.3483	0.6820	4.34	2	0.6905	0.3211
	VII	104.976	2	<b>0.9719</b>	<b>0.0093</b>	0.0011	2	0.4991	0.9755	82.04	2	0.9818	0.0778
	VIII	159.06	2	<b>0.9813</b>	<b>0.0062</b>	0.0251	2	0.4813	0.8885	83.38	2	0.9821	0.0772
	IX	0.0558	2	0.1738	0.5336	0.8299	2	0.061	0.4584	0.1493	2	0.5067	0.8775
	X	1.1196	2	0.0383	0.4009	1.1195	2	0.0383	0.4009	0.2827	2	0.9640	0.7992

Примечание.  $R_{adj}^2$  – скорректированный на число параметров коэффициент детерминации ( $R^2$ ). Значения  $p < 0.05$  выделены полужирным шрифтом.

**Таблица 2.** Значимость корреляции и регрессии между накоплением почвой фенольных соединений и динамикой биомассы сорных растений

Признак	Фактор					
Биомасса	содержание фенолов в почве					
Вид анализа	корреляционный анализ		регрессионный анализ			
Вариант опыта Коэффициенты	$\rho$	$p$	$F$	$R_{adj}^2$	$p$	Log $b$
L + S	-0.7370	<b>0.0133</b>	9.1460	0.3115	<b>0.0076</b>	-0.59
L	-0.6690	<b>0.0173</b>	15.4365	0.5675	<b>0.0282</b>	-0.78
S	-0.8933	<b>&lt;0.0001</b>	20.9639	0.6447	<b>&lt;0.001</b>	-0.82

Примечание.  $R_{adj}^2$  – скорректированный на число параметров коэффициент детерминации ( $R^2$ ). Значения  $p < 0.05$  выделены полужирным шрифтом.

вариантам опыта. Этому явлению требуется иное объяснение, чем логически и смыслово очевидная опосредованность связи между признаками или возможное несовершенство математических моделей. Необходимо учесть прямое влияние еще двух факторов, один из которых изменил динамику накопления фенолов почвой, а другой вызвал резкое снижение значений биомассы.

Эффект плотностно-зависимой аллелопатии (density-dependent allelopathy) заключается не только в обратной пропорциональности дозы фитотоксина плотности особей-мишеней, но и в его поглощении целевыми растениями, то есть расходовании. В вариантах L25 и L45 весенняя стимуляция прорастания семян почвенного банка экзометаболитами привела к ускоренному набору биомассы травостоя и одновременно повышенному расходованию экзометаболитов, как поступающих со смывами, так и аккумулированных в почве. Смещение динамического баланса накопления, потерь и расходований фенолов в сторону убыли стало причиной лаг-фазы накопления фенолов почвой в мае и июне (рис. 5). Теснота связи корреляции между анализируемыми признаками в этих вариантах опыта была наименьшей (табл. 2). В вариантах опыта S25 и S45 в связи с сравнительно более низкими значениями биомассы баланс был смещен в сторону накопления, процесс развивался по линейной модели, теснота связи была наибольшей.

В условиях интродукции в сравнении с аборигенными представителями рода фенофазы у *P. saccharata* проходят на 7–10 дней позже (Васильева, Фомина, 2016). В начале второй декады апреля мы отметили первые цветущие особи в

опытных насаждениях. Перезимовавшая особь несла 3–4 прошлогодних вегетирующих листа и немногочисленные весенние листья на генеративно-вегетативных побегах. В период весеннего светового “окна” со второй декады апреля по вторую декаду мая под изреженным пологом насаждений *P. saccharata* сложились благоприятные условия для прорастания семян почвенного банка. Со второй декады мая до середины июня длилась фаза развития эпигеогенных корневищ с розетками. Значительное увеличение размеров отдельной особи *P. saccharata* происходило в короткий срок в результате формирования клона с погружающимися в почву 5–9 новообразованными корневищами длиной 6–8 см с придаточными корнями и парциальными розетками летних листьев. С этой фенофазой совпало по времени 5–10 кратное снижение биомассы травостоя (рис. 5).

Показатель КВР отражает интенсивность пространственной экспансии, накопления надземной биомассы и увеличения плотности листового полога, что в совокупности является важным конкурентным признаком вида в борьбе за пространство и ресурсы. Значения КВР в вариантах L25 и L45 составили  $6.02 \pm 0.1$  и  $5.5 \pm 0.09$ , в вариантах S25 и S45 –  $7.62 \pm 0.13$  и  $7.82 \pm 0.14$ . Как фактор детерминации КВР достоверно оказывал обратное пропорциональное влияние на динамику биомассы, с максимальными коэффициентами в мае и июне ( $R_{adj}^2 = 0.9948, 0.9983, p = 0.0412, 0.0237$  соответственно) (табл. 1).

Значения КВР были в высокой степени детерминированы условиями освещения ( $R_{adj}^2 = 0.9419, p = 0.001$ ), в вариантах L25 и L45 – еще и плотно-

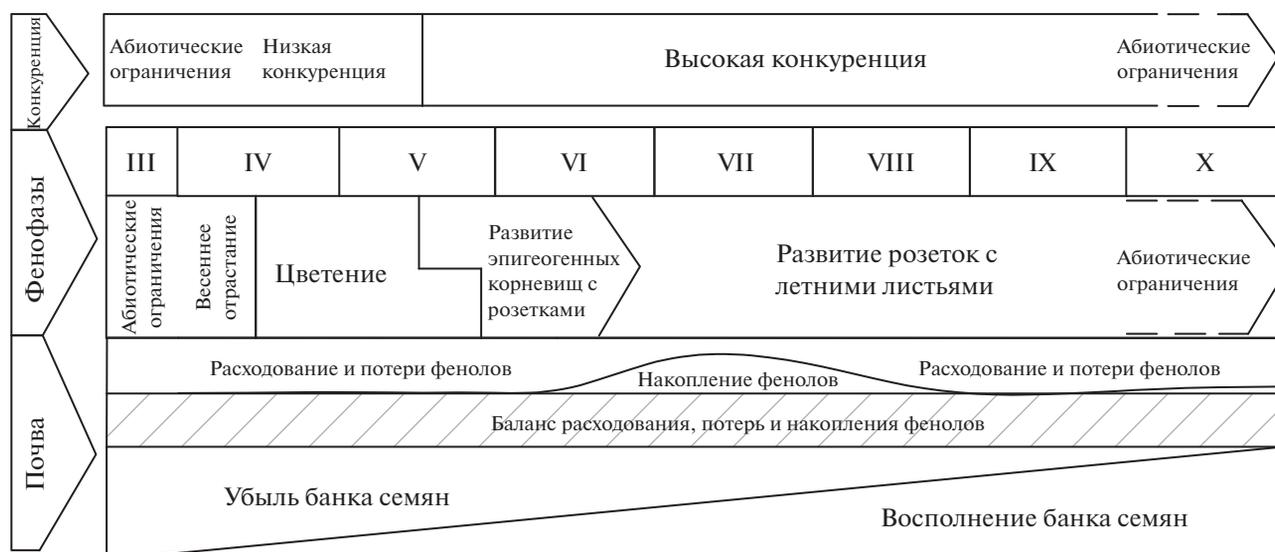


Рис. 7. Схема фенологически согласованных процессов в насаждениях *P. saccharata* в условиях интродукции.

стью высадки ( $R_{adj}^2 = 0.6034$ ,  $p < 0.01$ ). В природном ареале мезоксерофит *P. saccharata* обитает в полутени под пологом разреженных лесов, на открытых площадках растения могут страдать от перегрева и иссушения (Puppi, Cristofolini, 1996). Поэтому значения КВР достоверно различались между световым и теневым вариантами опыта, а также между L45 и L25 ( $p = 0.0276$ , согласно Тьюки тесту). В последнем случае разницу можно объяснить самозатенением растений.

Предположительно, значения КВР связаны обратно пропорциональной зависимостью с накоплением фенолов почвой ( $p = 0.0575$ ,  $0.0772$ ,  $0.0778$  в мае, июле, августе соответственно, близкие к достоверности) (табл. 1). Таким образом, в неблагоприятных условиях избыточной инсоляции возможна аллокация ресурсов с роста и развития на синтез экзометаболитов. В июле и августе на накопление фенолов косвенно оказал достоверное положительное влияние фактор освещенности (табл. 1), что объяснимо зависимостью фотосинтеза и образования вторичных метаболитов от интенсивности освещения.

На основе полученных данных мы создали экологически реалистичную модель конкурентности *P. saccharata* по отношению к банку семян аборигенных видов. В варианте L45 в неблагоприятных для *P. saccharata* условиях значение КВР было минимальным. Экзометаболиты индуцировали дружное прорастание семян почвенного банка и формирование проростков с низкой конкурентностью. В условиях достаточного освещения значение биомассы в этом варианте опыта было максимальным. Доза экзометаболитов в этом случае

снизилась (Tseng *et al.*, 2003), но фитотоксичность могла оставаться относительно высокой, если предположить сравнительно большую чувствительность вегетирующих растений. Затем дублирующее взаимодействие аллелопатического фактора и вегетативного развития особей *P. saccharata* с усилением конкуренции за ресурсы и пространство, привело к практически полной элиминации конкурирующей растительности в этом, и во всех других вариантах опыта (рис. 5). Мы полагаем, что своевременную весеннюю активизацию прорастания семян почвенного банка вызвали экзометаболиты, накопленные почвой в предыдущем сезоне, а не смывы, поскольку в фазах отрастания и цветения перезимовавшие особи находились в состоянии физиологического компромисса между ростом, развитием и синтезом экзометаболитов.

Таким образом, успех в борьбе с конкурирующей растительностью определялся фенологической согласованностью индукции прорастания банка семян фенолами и форсированного разрастания особей *P. saccharata* в фазе вегетативного развития и размножения (рис. 7).

Полученные нами данные, на первый взгляд, не противоречат ранее опубликованному в отношении банка семян. Его численность находится в динамическом равновесии между ежегодным восполнением и убылью проросших и погибших диаспор. Истощение возможно при условии, если плотный листовый полог *P. saccharata* летом и осенью препятствует заносу семян. Летне-осенняя лаг-фаза в накоплении фенолов в условиях высокой конкуренции могла быть связана с продолжающимися в меньших объемах процессами активации прораста-

ния и элиминации, или с сезонным снижением интенсивности синтеза метаболитов, или сложением этих факторов (рис. 5). Таким образом, вопросы восстановления численности и сохранения разнообразия банка семян остаются открытыми, хотя видовые различия могут сглаживаться в условиях эффективного взаимодействия аллелопатии и ресурсной конкуренции (Fernandez *et al.*, 2016).

Таким образом, проведенное исследование эколого-физиологических особенностей конкурентности *P. saccharata* может пролить свет на вопрос, насколько специфичными могут быть эффекты со стороны чужеродных видов на аборигенные виды и сообщества.

Предложенная нами модель конкурентности *P. saccharata* по отношению к банку семян обладает инвариантностью благодаря связи аллелопатического фактора с регулярными метеорологическими явлениями, и интеграции с конкурентными признаками вида в плоскостях фенологии, физиологии, морфологии, экологии. Согласно этой модели, экзометаболиты транспортируются в почву с осадками. Накопленные почвой в предыдущем сезоне фенольные вещества стимулируют раннее и дружное прорастание семян почвенного банка, затем ослабленные фитотоксинами растения не выдерживают конкуренции за ресурсы и пространство в результате форсированного вегетативного развития *P. saccharata*. В условиях интродукции процесс характеризуется фенологической согласованностью. Расход экзометаболитов на подавление конкурирующей растительности в период вегетации и естественные потери компенсируют регулярные поступления со смывами с листьев, поддерживающие динамический баланс фенольных соединений в почве.

Нам не удалось выявить фенологические максимумы секреции экзометаболитов, нет ясности в дальнейшей судьбе банка семян, что может быть предметом будущих исследований. Поскольку аллелопатическая интерференция является относительно слабым взаимодействием, просто секреции экзометаболитов не достаточно для реализации конкурентного преимущества. Представляется, что роль аллелопатии в конкурентном успехе видов целесообразно оценивать не столько по уровню фитотоксичности, сколько по согласованности и устойчивости динамического взаимодействия между конкурирующими растениями, включающего аллелопатический фактор.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Васильева О.Ю., Фомина Т.И. Особенности сезонного развития видов рода *Pulmonaria* L. в условиях интродукции // Вестник КрасГАУ. 2016. № 5. С. 50–56.
- Веселкин Д.В., Киселева О.А., Екшибаров Е.Д., Рафикина О.С., Коржиневская А.А. Богатство и численность проростков из почвенного банка семян в куртинах инвазивного вида *Acer negundo* L. // Рос. Журн. Биол. Инв. 2018. № 1. С. 18–25.
- Кефели В.И. Природные регуляторы роста и фитогормоны. М.: Наука, 1974. 253 с.
- Коннова С.А., Каневский М.В., З.О., Шувалова Е.П. Методы выделения и анализа флавоноидов высших растений и исследование их активности в отношении ризобактерий. Саратов: Изд-во Саратов. Ун-та, 2015. 31 с.
- Симагина Н.О. Особенности проявления фитотоксического эффекта в модельных системах. Уч. зап. Тавр. нац. унив. им. В.И.Вернадского // Сер. “Биол. и хим.”. 2010. Т. 23(62). № 4. С. 181–187.
- Симагина Н.О., Лыскова Н.Ю. Влияние аллелопатических взаимодействий на лигнификацию анатомических структур однолетних галофитов // Эко-системы, их оптимизация и охрана. 2010. Вып. 2. С. 18–20.
- Тамахина А.Я., Ахкубекова А.А. Микроморфологические особенности эпидермы и гистохимические методы идентификации вторичных метаболитов в листьях травянистых растений семейства *Boraginaceae* // Экол. раст. 2018. Т. 13. № 3. С. 31–41.
- Худоногова Е.Г. Связь между фазами фенологического развития медуницы мягонькой и накоплением активно действующих веществ // Вестник КрасГАУ. Сер. Биол. наук. 2006. № 11. С. 110–113.
- Черняева Е.В., Викторо В.П., Овчинникова Е.А. Формирование коллекции почвопокровных видов на учебно-опытном участке кафедры ботаники МПГУ // Труды IX межд. конф. по экол. морф. р-ий. М.: МПГУ. 2014. Т. 2. С. 454–455.
- Barto E., Chipollini D. Density-dependent phytotoxicity of *Impatiens pallida* plants exposed to extracts of *Alliaria petiolate* // J. Chem. Ecol. 2009. V. 35. P. 495–504.
- Belz R.G., Hurle K., Duke S.O. Dose-response – a challenge for allelopathy? // Nonlin. in biol., tox., med. 2005. V. 3(2). P. 173–211.
- Blossey B., NoEtzold R. Evolution of increased competitive ability in invasive on-indigenous plants: a hypothesis // J. Ecol. 1995. V. 85. P. 887–889.
- Blum U., Shafer S.R., Lehman M.E. Evidence for inhibitory allelopathic interactions involving phenolic acids in field soils: concepts vs. an experimental model // Crit. Rev. Plant. Sci. 1999. V. 18. P. 673–693.
- Blum U., Gerig T.M. Relationships between phenolic acid concentrations, transpiration, water utilization, leaf area expansion, and uptake of phenolic acids: nutrient culture studies // J. Chem. Ecol. 2005. V. 31(8). P. 1907–1932.

- Callaway R.M., Ridenour W.M. Nowel weapon: invasive success and the evolution of increased competitive ability // *Front. Ecol. Environ.* 2004. V. 2. P. 436–443.
- Callaway R.M., Chipollini D., Barto K., Thelen G., Hallett S., Prati D., Stinson K., Klironomos J. Nowel weapons: invasive plants suppresses fungal mutualists in America but not in native Europe // *Ecology*. 2008. V. 89. P. 1043–1055.
- Chernyaeva E.V., Viktorov V.P. New bioassay method to study allelopathic activity of sugar lungwort *Pulmonaria saccharata* Mill. // *A. J.* 2020. V. 51(1). P. 93–112.
- Dalton B.R., Blum U., Weed S.B. Plant phenolic acids in soils: sorption of ferulic acid by soil and soil components sterilized by different techniques // *Soil Biol. and Biochem.* 1989. V. 21. P. 1011–1018.
- Ehlers B.K. Soil microorganisms alleviate the allelochemical effects of a thyme monoterpene on the performance of an associated grass species // *PLoS ONE*. 2011. V. 6. P. e26321.
- Fujii Y. Toxic chemicals from invasive alien plants // *Plant Toxins*. 2017. V. 17. P. 25–36.
- Fernandez C., Monnier Y., Santonja M., Gallet C., Weston L.A., Prevosto B., Souier A., Bady V., Bousquet-Melou A. The impact of competition and allelopathy on the trade-off between plant defense and growth in two contrasting plant species // *Front Plant Sci*. 2016. V. 7. P. 594.
- Gioria M., Jarosi K.V., Pysek P. Impact of invasions by alien plants on soil seed bank communities: emerging patterns // *Persp. Plant Ecol.* 2014. V. 16(3). P. 132–142.
- Goldenstein L.J., Suding K.N. Intra-annual rainfall regime shifts competitive interactions between coastal sage shrub and invasive grasses // *Ecology*. 2014. V. 95. P. 425–435.
- Gooden B., French K. Impact of alien grass invasion in coastal seed banks vary amongst native growth forms and dispersal strategies // *Biol. Cons.* 2014. V. 171. P. 114–126.
- He H.B., Wang H.B., Fang C.X., Lin Z.H., Yu Z.M., Lin W.X. Separation of allelopathy from resource competition using rice/barnyardgrass mixed-cultures // *PLoS ONE*. 2012. V. 7(5). e37201.
- Inderjit., del Moral R. Is separating resource competition from allelopathy realistic? // *Bot. Rev.* 1997. V. 63. P. 221–230.
- Kalisz S., Kilvin S., Bialic-Murphy L. Allelopathy is pervasive in invasive plants // *Biol. Invas.* 2021. V. 23. P. 367–371.
- Klironomos J. Feedback with soil biota contributes to plant rarity and invasiveness in communities // *Nature*. 2002. V. 417. P. 67–70.
- Li Z.U., Wang Q., Ruan Y., Pan C.D., Jiang D.A. (2010) Phenolics and plants allelopathy // *Molecules*. 2010. V. 15. P. 8933–8952.
- Liu C., Bu Z.-J., Mallik A.U., Rochefort L., Hu X., Yu Z. Resource competition and allelopathy in two peat mosses: implication for niche differentiation // *Plant and Soil*. 2020. V. 446. P. 229–242.
- Lyytinen A., Lindstrom L. Responses of a native plant species from invaded and uninvaded areas to allelopathic effects of an invader // *Ecol. Evol.* 2019. V. 9. P. 6116–6123.
- Nilsson M. Separation of allelopathy and resource competition by the boreal dwarf shrub *Empetrum hermaphroditum* (Hagerup) // *Oecol.* 2004. V. 98. P. 1–7.
- Puppi G., Cristofolini G. Systematics of the complex *Pulmonaria saccharata*, *P. vallarsae* and related species (Boraginaceae) // *Webbia*. 1996. V. 51. P. 1–20.
- Quasem J.R. A new technology separating allelopathy from competition in pot experiments // *Int. J. Agr. Sci. and Food Tec.* 2017. V. 3(1). P. 19–25.
- Reigosa M.J., Carballeira A. Phenological phase influences allelopathic potential of water leachates of *Acacia dealbata* obtained using simulated rain // *JAI*. 2016. V. 2(2). P. 9–15.
- Singleton V.L., Orthofer R., Lamuela-Raventos R.M. Analysis of total phenols and other oxidations substrates and antioxidants by means of Folin-Ciocalteu reagent // *Met. in Enzym.* 1999. V. 299. P. 152–178.
- Thijs H., Shann J.R., Weidenhammer J.D. The effect of phytotoxins on competitive outcome in a model system // *Ecol.* 1994. V. 75. P. 1959–1964.
- Trinder C.J., Brooker R.W., Robinson D. Plant ecology's guilty little secret: understanding the dynamics of plants competition // *Func. Ecol.* 2013. V. 27. P. 918–929.
- Tseng M.-H., Kuo Y.-H., Chen Y.-M., Chou C.-H. Allelopathic potential of *Macaranga tanarius* (L.) (Muell) // *Arg. J. Chem. Ecol.* 2003. V. 29. P. 1269–1286.
- Uddin M.N., Robinson R.W. Allelopathy and resource competition: the effect of *Phragmites australis* // *Bot. Stud.* 2017. V. 8(1). P. 29.
- Weidenhammer J.D. Distinguishing resource competition and allelopathic interference in plants // *J. Ap. Ecol.* 1989. V. 26 (2). P. 613–624.
- Weidenhammer Y.D., Hartnett D.C., Romeo J.T. Density-dependent phytotoxicity distinguishing resource competition and allelopathic interference in plants // *J. Ap. Ecol.* 1989. V. 26. P. 613–624.
- Yuan Y., Bing W., Shanshan Z., Tang J., Tu C., Hu S., Yong J.W.H., Chen X. Enhanced allelopathy and competitive ability of invasive plant *Solidago canadensis* in its introduced range // *J. Plant Ecol.* 2012. V. 6(3). P. 253–263.
- Zhu Y., Zhang J., Ma K. Soil biota reduce allelopathic effects of the invasive *Eupatorium adenophorum* // *PLoS One*. 2011. V. 6(9). P. e25393.
- Zhang Z., Liu Y., Weber E., Lin Y., van Kleunen M. Effect of allelopathy on plant performance: a meta-analysis // *Ecol. Lett.* 2020. V. 24(2). P. 348–362.

## Interference of Factors in the Competitive Interaction of the Alien Species *Pulmonaria saccharata* (Mill) with a Seed Bank in the Conditions of Introduction

E. V. Chernyaeva<sup>1, #</sup> and V. P. Viktorov<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Moscow State Pedagogical University, 6/3 Kibalchicha str., Moscow, 129164 Russia

<sup>#</sup>e-mail: ev.chernyaeva@mpgu.su

In experimental plantings of an alien species sugar lungwort *Pulmonaria saccharata*, the transport of phytotoxic phenols with leaf leachates into the soil of the subcrown area was detected. At a concentration in leachates from 0 to 15.7 mcg/ml, the phenol content in the soil reached 13.9 mcg/g. The biomass of vegetation growing from the seed bank significantly depended on the accumulation of phenolic substances by the soil, the intensity of vegetative reproduction of *P. saccharata* and solar illumination. The effect of density-dependent allelopathy caused a lag-phase in the accumulation of phenols by the soil. A model of phenologically ordered interaction of competitive traits of a species, including an allelopathic factor, is proposed. It is noted that the proposed approach can help clarify the specificity of the influence of alien species on native species and communities.

*Keywords:* seed bank, vegetative reproduction, competition, leaf leachates, density-dependent allelopathy, phenolic substances, alien species, *Pulmonaria saccharata*