

**ПЕРМСКИЙ
ГОСУДАРСТВЕННЫЙ
НАЦИОНАЛЬНЫЙ
ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ
УНИВЕРСИТЕТ**

Фундаментальные и прикладные исследования в биологии и экологии

**Сборник статей по материалам
региональной научной конференции**

(г. Пермь, ПГНИУ, 15–19 апреля 2024 г.)



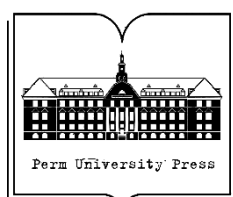
МИНИСТЕРСТВО НАУКИ И ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ
РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

Федеральное государственное автономное
образовательное учреждение высшего образования
«ПЕРМСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ
НАЦИОНАЛЬНЫЙ ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ»

«Институт экологии и генетики микроорганизмов УрО РАН» – филиал ПФИЦ УрО РАН
ПО Всероссийские общества генетиков и селекционеров
МОО «Микробиологическое общество»

ФУНДАМЕНТАЛЬНЫЕ И ПРИКЛАДНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ В БИОЛОГИИ И ЭКОЛОГИИ

*сборник статей по материалам региональной научной конференции
(г. Пермь, ПГНИУ, 15–19 апреля 2024 г.)*



Пермь 2024

УДК 57: 502/504
ББК 28
Ф947

Ф497

Фундаментальные и прикладные исследования в биологии и экологии [Электронный ресурс] : сборник статей по материалам региональной научной конференции (г. Пермь, ПГНИУ, 15–19 апреля 2024 г.) / гл. ред. А. А. Елькин; отв. ред. М. Я. Лямин; Пермский государственный национальный исследовательский университет. – Электронные данные. – Пермь, 2024. – 30,3 Мб ; 372 с. – Режим доступа: <http://www.psu.ru/files/docs/science/books/sborniki/fundamentalnye-i-prikladnye-issledovaniya-v-biologii-i-ekologii-2024.pdf>. – Заглавие с экрана.

ISBN 978-5-7944-4179-6

Материалы конференции отражают результаты исследований по биологии и экологии. Работы посвящены различным проблемам в области биологических наук: микробиологии и биотехнологии, ботаники и генетики, зоологии позвоночных и беспозвоночных, экофизиологии растений и экологии почв, фундаментальной и прикладной медицине, экологии и природопользованию. Статьи сборника охватывают широкий спектр научных проблем и представляют интерес для научных работников, преподавателей вузов, аспирантов и студентов.

УДК 57: 502/504
ББК 28

*Издается по решению ученого совета биологического факультета
Пермского государственного национального исследовательского университета*

Главный редактор **А. А. Елькин**

Ответственный редактор **М. Я. Лямин**

**М. А. Бакланов, С. В. Боронникова, А. А. Елькин, В. Е. Ефимик, М. Я. Лямин,
Е. В. Сайдакова, О. Ю. Устинова О. А. Четина**

Рецензенты: зав. лабораторией экологической паразитологии Института систематики и экологии животных СО РАН, д-р биол. наук **В. Ю. Крюков**;
научный сотрудник лаборатории экотоксикологии популяций и сообществ
Института экологии растений и животных УрО РАН, канд. биол. наук
М. П. Золотарев

ISBN 978-5-7944-4179-6

© ПГНИУ, 2024

МИКРОБИОЛОГИЯ, ИММУНОЛОГИЯ И ФУНДАМЕНТАЛЬНАЯ МЕДИЦИНА

ОПРЕДЕЛЕНИЕ ТОКСИЧНОСТИ КОММЕРЧЕСКИХ БИОСТИМУЛЯТОРОВ РОСТА РАСТЕНИЙ

Енич К.М.¹, Щелкунова В.Д.¹, Якина Т.А.¹, Елькин А.А.^{1,2}, Нестерова Л.Ю.^{1,2}

¹Пермский государственный национальный исследовательский университет, Пермь, Россия

²Институт экологии и генетики микроорганизмов УрО РАН - филиал ПФИЦ УрО РАН, Пермь, Россия

Аннотация: В статье была определена токсичность коммерческих концентратов – биостимуляторов роста растений Азотовит, Байкал-ЭМ1 и Биокрафт. Показано, что исследуемые препараты теряют эффект токсичности при разведении не менее чем в 100 раз. Дальнейшее кратное разведение исследуемых препаратов приводит к увеличению биостимулирующего эффекта.

Ключевые слова: токсичность, биостимуляторы, биолуминесценция

DETERMINATION OF TOXICITY OF COMMERCIAL PLANT GROWTH BIOSTIMULANTS

Enich K.M.¹, Schelkunova V.D.¹, Yakina T.A.¹, Elkin A.A.^{1,2}, Nesterova L.Y.^{1,2}

¹Perm State National Research University, Perm, Russia

²Institute of Ecology and Genetics of Microorganisms Ural Branch of the Russian Academy of Sciences - branch of the PFRC, Perm, Russia

Abstract: In the article, the toxicity of commercial concentrates, plant growth biostimulants Azotovit, Baikal-EM1 and Biocraft, was determined. It was shown that the studied substances lose their toxicity when diluted by at least 100 times. Further multiple dilution of them leads to an increase in the biostimulating effect.

Key words: toxicity, biostimulants, bioluminescence

В связи с растущим антропогенным вкладом в дисбаланс природных экосистем, таким как беспорядочное использование пестицидов, исследователи ищут альтернативы для гармонизации сельского хозяйства с природными системами с целью снижения воздействия на окружающую среду и ущерба для здоровья человека [1]. Среди практик, используемых в сельскохозяйственном секторе для повышения урожайности, — использование биостимуляторов растений, называемых регуляторами растений [2].

Большинство биостимуляторов растений вносится в ризосферу для облегчения усвоения питательных веществ, однако, многие из них оказывают защитное действие при дефиците воды, засоление почвы и воздействие неоптимальных температур [3,4].

В связи с повышенным коммерческим и научным интересом к использованию в качестве стимуляторов роста растений суспензии, включающие микроорганизмы, необходимо обращать повышенное внимание на ряд аспектов их применения. Многие исследования

сообщают о том, что штаммы, относящиеся к видам *Enterobacter spp*, *Pseudomonas aeruginosa* являются патогенами и могут представлять угрозы растениям, животным и человеку. А длительное хранение заранее обработанных семян пестицидами негативно сказывается на выживаемости бактерий в биопрепаратах [5].

Открытый доступ к информации о преимуществах биодобавок подталкивает фермеров разрабатывать собственные микробные инокулянты. Данная практика может представлять потенциальную опасность для сельского хозяйства в будущем, так как оценка безопасности препаратов на подобных «кустарных» производствах отсутствует [6].

В промышленном производстве биостимуляторов принято выпускать на рынок концентрированные суспензии, что обусловлено экономической рентабельностью. Производитель в инструкции по применению препарата указывает степень его разбавления, однако не уточняет, что концентрированный препарат является токсичным.

В последние десятилетия для определения токсичности различных субстанции получили современные методы биоиндикации, в том числе на основе бактериальной люминесценции. Люминесцентный бактериальный тест позволяет быстро, экономно и количественно точно определить токсичность, как чистых химических соединений, так и различных их смесей.

В ходе эксперимента был использован метод биолюминесцентного тестирования для оценки токсичности биопрепаратов Азотовит, Байкал-ЭМ1, Биокрафт. С этой целью был использована тест-система «Эколюм» (ЗАО «НВО Иммунотех», Россия). Тестирование проводили согласно инструкции производителя [7].

Принцип действия основан на регистрации светового излучения в видимой сине-зеленой области спектра 410-580 нм с максимумом при 495 нм, возникающего в люминесцирующих бактериях *E. coli* модифицированных с помощью бактерий *Vibrio fischeri*, при специфических ферментативных реакциях.

Критерием токсического действия исследуемой пробы служит изменение интенсивности свечения биотестов в анализируемой пробе по сравнению с интенсивностью свечения в контрольной пробе, не содержащей токсических веществ. Количественным параметром токсичности служит индекс токсичности – Т.

Обработка, оценка и оформление результатов

1) оценку токсичности пробы проводят по относительному различию в интенсивности биолюминесценции контрольной и опытной проб и вычислению индекса токсичности Т по формуле:

$T = 100 \times (I_0 - I) / I_0$, где I_0 и I – интенсивность свечения контроля и опыта соответственно при фиксированном времени экспозиции контрольного и опытного образцов.

2) по определению острого токсического действия устанавливают три пороговых уровня индекса токсичности: индекс токсичности Т находится в пределах от 0 % до 20 % – допустимая степень токсичности; Т находится в пределах от 20 % до 50 % – образец токсичен; Т находится в пределах >50 % – образец сильно токсичен.

3) в ряде случаев возможен вариант, когда интенсивность биолюминесценции в анализируемой пробе больше, чем в контроле. В таком случае независимо от величины отрицательного значения Т делается вывод об отсутствии токсичности образца, и индекс токсичности принимает нулевое значение [7].

На основе полученных результатов установлено, что каждый из исследуемых биопрепаратов обладает высокой степенью токсичности в концентрированном виде (Т находится в пределах >50 %). При этом, наибольшей степенью токсичности обладает

препарат «Байкал» (Т=99,97), разведение которого в 10 раз также не снимает токсического эффекта (Т=99,46). Биостимулирующий эффект всех препаратов регистрируется при разведении концентрата в 1000 раз (Таблица). Скорее всего, токсический эффект препаратов обусловлен концентрацией растворенных минеральных и органических компонентов, а бактериальные культуры, содержащиеся в данных препаратах, находятся в состоянии стресса и некой форме консервации.

Таблица – Токсичность коммерческих биостимуляторов, измеренная методом биолюминесцентного тестирования

Препарат-биостимулятор	Показатель	Концентрат	Разведение в 10 раз	Разведение в 100 раз	Разведение в 1000 раз
Азотовит	Люминесценция, ед	15985,33	56555,33	71590,00	76298,00
	Индекс токсичности	77,05	19,74	-2,77	-9,53
Байкал	Люминесценция, ед	15,33	374,66	68575,33	72724,00
	Индекс токсичности	99,97	99,46	1,60	-4,40
Биокрафт	Люминесценция, ед	20274,00	57460,33	65925,00	73627,66
	Индекс токсичности	70,90	17,50	5,40	-5,69
Контроль	Люминесценция, ед	69658,92	69658,92	69658,92	69658,92

Библиографический список

1. Chiaiese P., Corrado G., Colla G., Kyriacou M.C. and Rouphael Y. Renewable Sources of Plant Biostimulation: Microalgae as a Sustainable Means to Improve Crop Performance // Front. Plant Sci. – 2018. – V. 9. – 1782.
2. Silva T.S., Silva A.P.S., de Almeida Santos A. et al. Cytotoxicity, Genotoxicity, and Toxicity of Plant Biostimulants Produced in Brazil: Subsidies for Determining Environmental Risk to Non-Target Species // Water Air Soil Pollut. - 2020. – 231:233.
3. Van Oosten M.J., Pepe O., De Pascale S. et al. The role of biostimulants and bioeffectors as alleviators of abiotic stress in crop plants // Chem. Biol. Technol. Agric. – 2017. – 4:5.
4. Brown P, Saa S. Biostimulants in agriculture // Front Plant Sci. – 2015. - 6:671.

5. Santos M.S., Nogueira M.A. & Hungria M. Microbial inoculants: reviewing the past, discussing the present and previewing an outstanding future for the use of beneficial bacteria in agriculture // *AMB Expr* – 2019. – 9:205.
6. Valicente F.H., Lana U.G.P., Pereira A.C.P., Martins J.L.A., Tavares A.N.D. Riscos à produção de biopesticida à base de *Bacillus thuringiensis* // *Circular Técnica* 239. – 2018. – 20 p.
7. Методика определения токсичности воды и водных вытяжек из почв, осадков сточных вод и отходов по изменению интенсивности бактериальной биолюминесценции тест-системой «Эколюм». ПНД Ф Т 14.1:2:3:4.11-04 16.1:2.3:3.8-04
8. Алешина, Е.С. А 49 Методы биолюминесцентного тестирования: методические указания к лабораторному практикуму / Е.С. Алешина, И.Ф. Каримов, Д.Г. Дерябин; Оренбургский гос. ун-т. – Оренбург: ОГУ, 2011. – 56 с.

ОСОБЕННОСТИ БИОПЛЕНОК РОДОКОККОВ ПРИ ВОЗДЕЙСТВИИ ВЫЗВАННОГО ЭКОТОКСИКАНТАМИ ОКИСЛИТЕЛЬНОГО СТРЕССА

Баяндина Е.А.¹, Поздеева А.В.¹, Куюкина М.С.^{1,2}

¹Пермский государственный национальный исследовательский университет, Пермь, Россия,

²Институт экологии и генетики микроорганизмов Пермского федерального
исследовательского центра РАН, Пермь, Россия

Аннотация. Применение НЧ CuO и этоксилированного нониофенола приводит к их попаданию в окружающую среду. Полученные данные раскрывают морфологические особенности биопленок родококков и внутриклеточное образование АФК под воздействием экотоксикантов.

Ключевые слова: *Rhodococcus*, этоксилированный нонилфенол, наночастицы, биопленки, КЛСМ

FEATURES OF RHODOCOCAL BIOFILMS EXPOSED TO OXIDATIVE STRESS CAUSED BY ECOTOXICANTS

Bayandina E.A.¹, Pozdeeva A.V.¹, Kuyukina M.S.^{1,2}

¹Perm State University, Perm, Russia,

² Institute of Ecology and Genetics of Microorganisms Perm Federal Research Center of the Ural
Branch of the Russian Academy of Sciences, Perm, Russia

Аннотация. The use of CuO NPs and ethoxylated noniophenol leads to their release into the environment. The data obtained reveal morphological features of rhodococcal biofilms and intracellular ROS formation under the influence of ecotoxins.

Key words: *Rhodococcus*, ethoxylated nonylphenol, nanoparticles, biofilms, CLSM

Введение

Этоксилаты нонилфенола и наночастицы оксида меди (НЧ CuO) широко используются в различных отраслях промышленности [1-3]. Попадая в окружающую среду со сточными водами, этоксилированный нонилфенол (ЭНФ) и продукты его разложения оказывают негативное воздействие на представителей флоры и фауны, что связано с их способностью выступать как эстрогены и нарушать гормональный баланс у живых организмов [4]. Нанометаллы в окружающей среде не подвергаются биodeградации, а лишь поглощаются и перемещаются между организмами различного трофического уровня, подавляя их биологическую активность и жизнедеятельность [5]. Антимикробная активность нанометаллов проявляется в адсорбции на клеточной стенке, последующем проникновении внутрь и повреждении компартментов клетки. Основной процесс токсичности основан на повышенном производстве активных форм кислорода (АФК), вызывающих окислительный стресс [6].

Бактерии рода *Rhodococcus* могут разлагать широкий спектр загрязняющих веществ, включая углеводороды, пестициды и фармацевтические препараты [7-8]. Родококки способны к формированию биопленок, состоящих из бактериальных клеток и ассоциированного с ними

экзополимерного матрикса (ЭПМ), образованного полисахаридами, белками и липидами и играющего важную роль в защите клеток от воздействия токсичных факторов [9]. Следует отметить, что большинство микроорганизмов в окружающей среде живут в виде биопленок, что способствует защите клеток от вредных физических, химических и биологических воздействий, позволяя им выживать в стрессовых условиях [10]. В ответ на стрессы в клетках родококков активируются антиоксидантные ферменты и гены, кодирующие защитные белки, которые позволяют обезвреживать токсиканты и восстанавливать поврежденные структуры клеток [11].

Цель работы – изучение влияния окислительного стресса, вызванного НЧ CuO и ЭНФ, на жизнеспособность и морфологические особенности клеток *Rhodococcus ruber* в составе биопленок.

Материалы и методы

Бактериальные культуры и условия культивирования.

В работе использовали штаммы *Rhodococcus ruber* ИЭГМ 231 и *Rhodococcus ruber* ИЭГМ 71 из Региональной профилированной коллекции алканотрофных микроорганизмов (акроним ИЭГМ; WFCC #768; www.iegmr.ru/iegmcollection/index.html). Штаммы выделены из различных источников, способны к биотрансформации гидрофобных субстратов и использованию углеводов в качестве единственного источника углерода и энергии.

Культивирование биопленок на покровных стеклах (24x50x0,15 мм) для микроскопии (Gerhard Menzel, UK) осуществляли в жидкой минеральной среде К [12], содержащей 1.0 об. % *n*-гексадекана, в колбах Эрленмейера объемом 150 мл при постоянном перемешивании (130 об/мин), 28 °C в течение 24–72 ч. В экспериментах использовали ЭНФ марки «Berol 09» (Akso Nobel, Швеция) в концентрации 5, 10 и 15 г/л. НЧ CuO в виде нанопорошка (ООО «Эквилибриум», Саранск, Россия) суспендировали в фосфатном буфере (PBS) и обрабатывали с помощью ультразвукового гомогенизатора Soniprep 150 (MSE, Великобритания) непосредственно перед использованием. Обработанные ультразвуком суспензии НЧ CuO вносили в десятикратных концентрациях (0,001–0,1 г/л) к растущим суточным биопленкам и культивировали в динамических условиях (130 об/мин, 28 °C) в течение 24–72 ч.

Методика КЛСМ-сканирования.

Для изучения продукции АФК в живых клетках использовали флуоресцентный краситель H2DCFDA (2',7'-дихлородигидрофлуоресцеин диацетат) (Thermo, США). H2DCFDA (511/533) растворяли в ДМСО в концентрации 10 мкМ для дальнейшего окрашивания в темном месте в течение 30 мин. Для контроля ингибирования использовали 3% раствор перекиси водорода (ООО «БИОЛАЙН», Россия).

Для дифференцирования мертвых клеток использовали флуоресцентный краситель PI из набора LIVE/DEAD® BacLight™ Bacterial Viability Kit (Invitrogen, США). После окрашивания препарат оставляли в темном месте на 15–20 мин. Далее стекло промывали деионизированной водой для удаления остатков красителя, среды и планктонных клеток. КЛСМ-сканирование проводили на микроскопе FluoView 1000 (Olympus, Япония) с использованием иммерсионного объектива (×100, числовая апертура 1,4). Для возбуждения флуоресценции H2DCFDA и PI, входящих в состав красителя LIVE/DEAD®, применяли аргонный лазер (λ=488 нм) с 505/525-нм барьерным фильтром и гелий-неоновый лазер (λ=543 нм) с 560/660-

нм барьерным фильтром. Анализ изображений проводили с помощью программы FV10-ASW 3.1 (Olympus Corporation, Япония).

Статистический анализ результатов исследований проводили с использованием стандартной программы Excel 2016, вычисляя среднее значение и стандартное отклонение ($m \pm SD$).

Результаты и их обсуждение

Родококки представляют собой значительную часть почвенных бактериальных сообществ, обитающих в местах, загрязненных углеводородами и их производными [11]. Бактерии *Rhodococcus* устойчивы к токсическому воздействию углеводородов. Это связано с их способностью активировать гены, кодирующие защитные белки и ферменты, которые обезвреживают токсичные вещества с помощью ферментов и разнообразных метаболических путей [13].

На основе измерения интенсивности флуоресценции красителя H2DCFDA произведен анализ динамики АФК в живых клетках *Rhodococcus ruber* ИЭГМ 231 и *Rhodococcus ruber* ИЭГМ 71. В контрольных образцах биопленок (при отсутствии НЧ CuO и ЭНФ) содержание АФК было невысоким (234-250 у.е.) и оставалось неизменным при культивировании в течении 24 ч (рис. 1-2), что, по-видимому, обуславливается олиготрофными условиями культивирования клеток в присутствии углеводорода как единственного источника углерода. В контроле ингибирования с добавлением перекиси водорода содержание АФК в биопленках родококков принимало максимальные значения (2900-3260 у.е.) (рис. 1-3).

В биопленках *R. ruber* ИЭГМ 231 после 6 ч роста в присутствии 0.001 г/л НЧ CuO наблюдалось сравнительно высокое (2134 у.е.) содержание АФК, которое снижалось по мере культивирования на 30%, что свидетельствует о выработке адаптационных механизмов защиты клеток от окислительного стресса (рис. 1).

При более высокой (0,01 г/л) концентрации НЧ CuO биопленки родококков были не способны справиться с окислительным стрессом, что выражалось в стабильно высоком содержании АФК на протяжении 24 ч культивирования (рис. 1, 3). Стоит отметить, что для обоих штаммов, содержание АФК в биопленках было ниже в присутствии НЧ CuO, чем при воздействии перекиси водорода, сильнейшего окислителя (рис. 1-2).

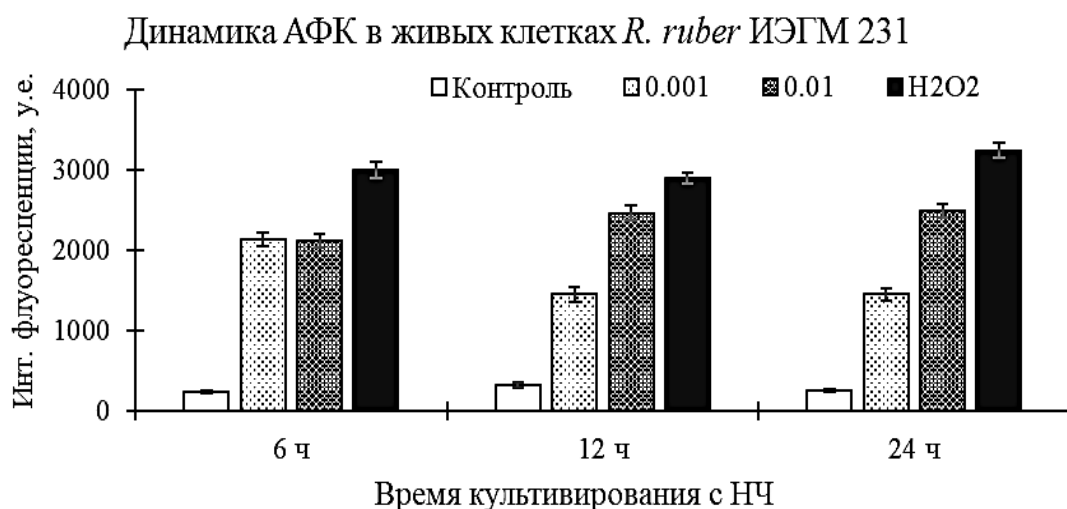


Рисунок 1 – Динамика АФК в живых клетках биопленок *R. ruber* ИЭГМ 231 под влиянием возрастающих концентраций НЧ CuO.

Сравнительная динамика АФК в живых клетках биопленок *R. ruber* ИЭГМ 71 при воздействии высоких (10-15 г/л) концентраций ЭНФ показала повышение уровня окислительного стресса (интенсивность флуоресценции со значением примерно до 2200 у.е.) по сравнению с контролем (рис. 3). Стоит отметить, что после 6 ч культивирования в присутствии 10 г/л ЭНФ в клетках родококков также было зарегистрировано сравнительно высокое содержание АФК (1876 у.е), но через 12 ч наблюдалось значительное снижение продукции АФК (до 1250 у.е.), что может быть связано с увеличением выработки ферментов, отвечающих за антиоксидантный ответ или с индукцией ферментов окисления ЭНФ.

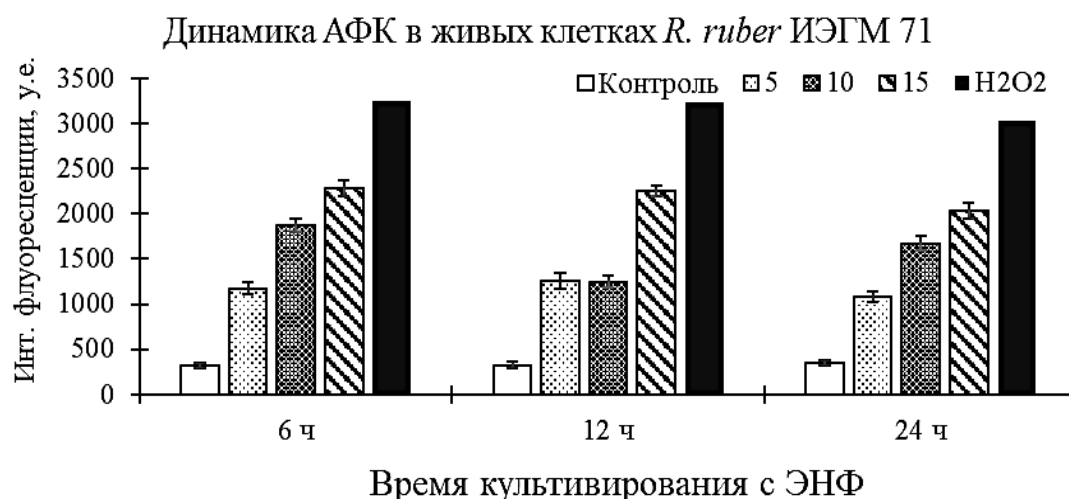


Рисунок 2 – Динамика АФК в живых клетках биопленок *R. ruber* ИЭГМ 71 под влиянием возрастающих концентраций ЭНФ.

Обнаружено, что при высокой (15 г/л) концентрации ЭНФ родококки не способны были справиться с окислительным стрессом, который выражался в увеличении содержания АФК в течение 24 ч культивирования и снижении жизнеспособности клеток обоих штаммов (рис. 3). При этом внутриклеточное содержание АФК в присутствии даже максимальной концентрации ЭНФ было ниже, чем при воздействии H₂O₂.

Интересно отметить, что при выращивании биопленок в присутствии ЭНФ наблюдалось более заметное формирование клеточных агрегатов по сравнению с биопленками, растущими с НЧ CuO, что, по-видимому, связано с гидрофобной природой ЭНФ, способствующей клеточной агрегации родококков как защитному механизму к воздействию гидрофобных токсикантов [11].

Как видно на полученных с помощью КЛСМ сканах (рис. 3), при воздействии ЭНФ на биопленки *R. ruber* наблюдалась локализация АФК по периферии клеток и распределение в ЭПМ, чего не обнаруживалось при воздействии НЧ CuO, где АФК равномерно локализовались внутри клеток. Возможно это связано с разными формами АФК, образуемыми при воздействии минеральных и органических стрессоров.

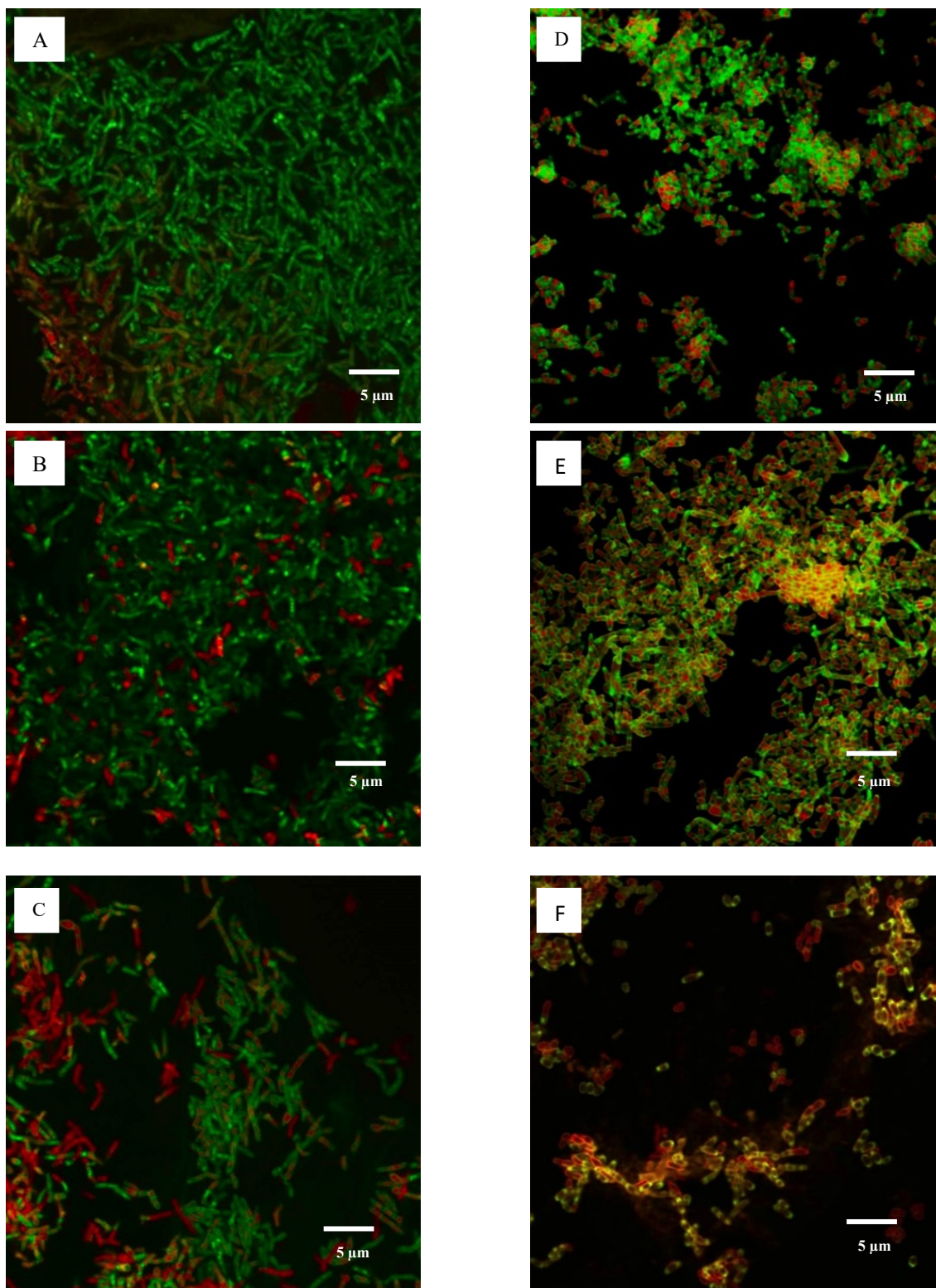


Рисунок 3 – КЛСМ-изображения биопленок *R. ruber* ИЭГМ 231 и *R. ruber* ИЭГМ 71, выращенных в минеральной среде К с 1.0 % *n*-гексадекана в присутствии различных концентраций, выращенных при различных концентрациях НЧ CuO: (А) контроль, (В) 0,001 г/л, (С) 0,01 г/л и при различных концентрациях ЭНФ: (D) контроль, (Е) 5 г/л, (F) 15 г/л. Биопленки окрашены флуоресцентными красителями: *зеленый* H2DCFDA (АФК), *красный* PI (мертвые клетки).

Заключение

Установлено, что биопленки родококков характеризуются различными морфологическими и физиологическими особенностями при воздействии нанометалла и широко распространенного ксеноэстрогена – этоксилированного нонилфенола. С увеличением концентрации НЧ CuO и ЭНФ происходит усиление выработки АФК клетками вследствие окислительного стресса. В биопленках, выращенных в среде с низкой концентрацией НЧ CuO (0,001 г/л) и ЭНФ (5 г/л), в первые часы культивирования регистрировалось повышение продукции АФК, которая затем достоверно снижалась, что указывает на индукцию антиоксидантных механизмов, требующих дальнейшего исследования.

Работа выполнена в рамках госзаданий 124020500028–4 и FSNF–2023–0004.

Библиографический список

1. Negin C., Ali S., Xie Q. Most common surfactants employed in chemical enhanced oil recovery // *Petroleum*. –2017.–Vol.3.–P.197–211.
2. Priac A., Morin-Crini N., Druart C., Gavaille S., Bradu C., Lagarrigue C., Torri G., Winterton P., Crini G. Alkylphenol and alkylphenol polyethoxylates in water and wastewater // *Arab. J. Chem.*–2017. –Vol.10.–P.S3749–S3773.
3. Busiswa N. Biosynthesized metallic nanoparticles as fertilizers: An emerging precision agriculture strategy. / N. Busiswa, A. Roopn, R. HariPriy, R. Malik // *J. Integr. Agric.*– 2022.– V.21, №5.–P.1225–1242.
4. Ferguson P.L., Bopp R.F., Chillrud S.N., Aller R.C., Brownawell B.J. Biogeochemistry of nonylphenol ethoxylates in urban estuarine sediments // *Environ. Sci. Technol.* –2003.–Vol.37.– P.3499–3506.
5. Navratilova J. Detection of engineered copper nanoparticles in soil using single particle ICP-MS / J. Navratilova [et al.] // *IJERPH*.–2015.–V.12.–P.15756–15768.
6. Ruiz P. Short-term effects on antioxidant enzymes and long-term genotoxic and carcinogenic potential of CuO nanoparticles compared to bulk CuO and ionic copper in mussels *Mytilus galloprovincialis* // *Mar. Environ. Res.*–2015.–V.11.–P.107–120.
7. Ivshina I.B., Richkova M.I. Mukhutdinova A.N., Karpenko Ju.N. Biodegradation of drotaverine hydrochloride by free and immobilized cells of *Rhodococcus rhodochrous* IEGM 608 // *World J. Microbiol. Biotechnol.*–2012.–Vol. 28.–No.10.–P.2997–3006.
8. Krivoruchko A.V., Kuyukina M.S., Ivshina I.B. Advanced *Rhodococcus* biocatalysts for environmental biotechnologies // *Catalysts*.–2019.–Vol.9.–P.1–19.
9. Dong R., Hao J. Complex fluids of poly(oxyethylene) monoalkyl ether nonionic surfactants // *Chem. Rev.*–2010.–Vol.110. –P. 4978–5022.
10. Flemming H.C, Wuertz S. Bacteria and archaea on Earth and their abundance in biofilms. // *Nat. Rev. Microbiol.*–2019.–Vol.17. –P.247–260.
11. Ившина И.Б., Куюкина М.С., Каменских Т.Н., Криворучко А.В., Тюмина Е.А., Елькин А.А. Угледородоокисляющие родококки: особенности биологической организации под воздействием экополлютантов. Атлас-монография // Под ред. И.Б. Ившиной. – УрО РАН, 2021.– 140с. ISBN: 978-5-7691-2546-1.

12. Ившина И.Б., Каменских Т.Н., Ляпунов Я.Э. Каталог штаммов Региональной профилированной коллекции алканотрофных микроорганизмов // Под ред. И.Б. Ившиной. Институт экологии и генетики микроорганизмов УрО РАН. М.: Наука, 1994. – 163 с.
13. Ившина И.Б., Тюмина Е.А., Бажутин Г. А. Механизмы защиты и адаптации стресс-толерантных родококков при повреждающих воздействиях экополлютантов // Микробные биотехнологии: фундаментальные и прикладные аспекты: Сборник научных трудов. Том 13. – Минск: Республиканское унитарное предприятие "Издательский дом "Белорусская наука", 2021. – С. 329-347.

РАЗНООБРАЗИЕ ДНК-ГИРАЗ У АКТИНОМИЦЕТОВ РОДА *RHODOCOCCLUS*

Горват Е.В.¹, Криворучко А.В.^{1,2}

¹Пермский государственный национальный исследовательский университет, Пермь, Россия

²Институт экологии и генетики микроорганизмов УрО РАН – филиал ПФИЦ УрО РАН,
Пермь, Россия

Аннотация. С помощью биоинформатического анализа исследованы ДНК-гиразы *Rhodococcus* spp. и подтверждена возможность использования кодирующих их генов в качестве референсных при определении уровней экспрессии функциональных генов родококков.

Ключевые слова: актиномицеты рода *Rhodococcus*, референсные гены, гиразы, *gyrA*, *gyrB*

DIVERSITY OF DNA GYRASES IN *RHODOCOCCLUS* ACTINOMYCETES

Gorvat E.V.¹, Krivoruchko A.V.^{1,2}

¹Perm State National Research University, Perm, Russia

²Institute of Ecology and Genetics of Microorganisms, Ural Branch of the Russian Academy of Sciences – branch of the PERC, Ural Branch of the Russian Academy of Sciences, Perm, Russia

Abstract. Using bioinformatics, DNA gyrases of *Rhodococcus* actinomycetes were studied. It was shown that genes coded for DNA gyrases were appropriate as candidates for reference genes in *Rhodococcus* spp.

Key words. Actinomycetes of the genus *Rhodococcus*, reference genes, gyrases, *gyrA*, *gyrB*

Актиномицеты рода *Rhodococcus* широко применяются в биотехнологии как биодеструкторы гидрофобных органических соединений [1]. Исследование биохимических механизмов и восстановление метаболических путей биodeградации сложных органических субстратов связано с определением уровня экспрессии функциональных генов. Точное определение этих показателей требует сравнения значений экспрессии 2–4 референсных генов, то есть генов, экспрессия которых не зависит от условий культивирования. Обычно это консервативные, не участвующие в горизонтальном переносе гены “домашнего хозяйства”, представленные в геноме в одной копии. Традиционно к таким генам относят гены рРНК [2]. Известно, что в присутствии гидрофобных соединений у родококков усиливаются биосинтетические процессы, что связано с разрастанием клеточной стенки, продукцией биосурфактантов, формированием цитоплазматической мембранной сети, необходимостью синтезировать большое количество окислительных ферментов [1]. Эти процессы требуют усиления синтеза белка и, скорее всего, сопровождаются увеличением числа рибосом в клетках, что затрудняет использование генов, кодирующих компоненты рибосом, как референсных.

В качестве альтернативных референсных генов у родококков нами выбраны ДНК-гиразы – белки, обладающие способностью вводить отрицательные супервитки в замкнутую кольцевую молекулу ДНК. Релаксирование суперспиралей необходимо для продвижения и

прогрессии репликационной вилки и общего разъединения двух дуплексных цепей ДНК для продолжения транскрипции [3]. Ожидается, что из-за связанности гираз с ДНК, количество которой в клетке не изменяется, уровень экспрессии этих белков не будет существенно зависеть от условий культивирования. В отношении *Rhodococcus* внимание исследователей обычно привлекают периферийные катаболические гены, тогда как гены “домашнего хозяйства” анализируются в меньшей степени. У родококков субъединицы ДНК-гиразы кодируются генами *gyrA* и *gyrB*. GyrA и GyrB совместно с другими субъединицами формируют комплекс, который катализирует процесс изменения топологии ДНК. Субъединица А отвечает за расщепление и воссоединение цепи ДНК, а субъединица В – гидролиз АТФ, предоставляя энергию для реакции. Каждая субъединица гиразы состоит из нескольких доменов, каждый из которых имеет свою специфическую функцию: N-концевой домен связывает АТФ, центральный домен отвечает за расщепление и воссоединение ДНК, С-концевой домен участвует в димеризации субъединиц и взаимодействии с ДНК [4]. В некоторых штаммах родококков обнаружена уникальная ДНК-гираза, которая имеет специфические особенности, отличающие ее от гираз, найденных в других организмах [5].

Цель настоящей работы – с помощью биоинформатического анализа оценить потенциал использования генов *gyrA* и *gyrB* в качестве референсных при исследовании экспрессии функциональных генов родококков.

Для поиска и анализа гираз использовали штаммы *R. oxybenzonivorans* ИЭГМ 68, *R. qingshengii* ИЭГМ 267, *R. rhodochrous* ИЭГМ 1362, *R. ruber* ИЭГМ 231, ИЭГМ 333 и *Rhodococcus* sp. ИЭГМ 1354 из Региональной профилированной коллекции алканотрофных микроорганизмов (акроним ИЭГМ, WFCC # 285, ЦКП 480868, УНУ 73559, <http://www.iegmc.ru>) с доступными полногеномными последовательностями (таблица 1). Для аннотации геномов использовали программу NCBI Pipeline (PGAP). Аминокислотные и нуклеотидные последовательности выравнивали в программах BLAST® (NCBI, США) и Clustal Omega 1.2.4 (EMBL-EBI, Великобритания). Построение филограмм осуществляли в программе Evolview v3, NHX (NKRDPC, Китай).

Установлено, что гены *gyrA* и *gyrB* представлены в геномах родококков в основном в одной копии. Исключение составляют штаммы *R. ruber* ИЭГМ 333 и *Rhodococcus* sp. ИЭГМ 1354, у которых найдено 3 *gyrA* и 2 *gyrB* соответственно (таблицы 2, 3). Гены *gyrA1* *R. ruber* ИЭГМ 333 и *gyrB2* *Rhodococcus* sp. ИЭГМ 1354, по-видимому, не функциональны. Они короткие по длине – 74 и 605 пар нуклеотидов соответственно (таблицы 2, 3), в связи с чем эти копии не могут быть использованы в качестве референсных генов. У остальных гираз в геномах найдены промоторные области, присутствие которых свидетельствует о высокой вероятности транскрипции этих генов и обнаружения транскриптов гираз в общем препарате РНК. У родококков промоторные области, а именно последовательности -35 и -10 (Прибноу-бокс) значительно отличаются от таковых *Escherichia coli*. Консервативные участки -10 (5'-ТАТААТ-3') встречаются редко, в геномах выбранных штаммов насчитывается всего от 3 до 13 таких последовательностей. Тогда как последовательность -35 (5'-ТТГАЦА-3') у родококков либо отсутствует полностью, либо сильно отдалена от начала гена более, чем на 1000 п.н. Далее из списка референсных генов исключена гираза *gyrA2* *R. ruber* ИЭГМ 333. Она обладает наименьшим сходством с гиразой А *R. ruber* ИЭГМ 231 и гиразой А3 *R. ruber* ИЭГМ 333, в то время как последние две гиразы не отличаются между собой и на их основе наиболее целесообразен подбор праймеров (рисунок).

Таблица 1 – Характеристика геномов использованных штаммов *Rhodococcus spp.*

Штамм	Асс. no DDB/ ENA/GenBank	Длина генома, млн. п.н.	Кол-во контигов	Покрывтие	N50, тыс. п.н.	ГЦ- состав, %
<i>Rhodococcus oxybenzonivorans</i> ИЭГМ 68	JAWLUP010000001- JAWLUP010000452	6,7	452	200,0х	36,3	66,0
<i>Rhodococcus qingshengii</i> ИЭГМ 267	MRBQ01000001- MRBQ01000231	7,2	231	84,4х	173,7	62,5
<i>Rhodococcus rhodochrous</i> ИЭГМ 1362	JANFQM010000001- JANFQM010000140	5,7	140	53,0х	126,4	68,0
<i>Rhodococcus ruber</i> ИЭГМ 231	CCSD01000001- CCSD01000115	6,0	115	100,0х	134,9	70,0
<i>Rhodococcus ruber</i> ИЭГМ 333	JASHLC010000001- JASHLC010000147	5,6	147	650,0х	104,0	70,5
<i>Rhodococcus sp.</i> ИЭГМ 1354	JASHKT010000001- JASHKT010000118	5,5	118	393,0х	383,3	64,5

Таблица 2 – Характеристика генов *gyrA* у *Rhodococcus spp.*

Штамм	Ген	Начало, п.н.	Конец, п.н.	(+) (-) Цепь	Длина, п.н.
<i>R. oxybenzonivorans</i> ИЭГМ 68	<i>gyrA</i>	6092	3570	-	2522
<i>R. qingshengii</i> ИЭГМ 267	<i>gyrA</i>	99385	96854	-	2531
<i>R. rhodochrous</i> ИЭГМ 1362	<i>gyrA</i>	124524	122020	-	2504
<i>R. ruber</i> ИЭГМ 231	<i>gyrA</i>	20241	24026	+	3785
<i>R. ruber</i> ИЭГМ 333	<i>gyrA1</i>	76	2	-	74
	<i>gyrA2</i>	66195	64192	-	2003
	<i>gyrA3</i>	1814	3	-	1811
<i>Rhodococcus sp.</i> ИЭГМ 1354	<i>gyrA</i>	162272	159729	-	2543

Таблица 3 – Характеристика генов *gyrB* у *Rhodococcus spp.*

Штамм	Ген	Начало, п.н.	Конец, п.н.	(+) (-) Цепь	Размер, п.н.
<i>R. oxybenzonivorans</i> ИЭГМ 68	<i>gyrB</i>	2487	445	-	2042
<i>R. qingshengii</i> ИЭГМ 267	<i>gyrB</i>	101508	99472	-	2036
<i>R. rhodochrous</i> ИЭГМ 1362	<i>gyrB</i>	134881	132794	-	2087
<i>R. ruber</i> ИЭГМ 231	<i>gyrB</i>	11481	13514	+	2033
<i>R. ruber</i> ИЭГМ 333	<i>gyrB</i>	8836	6803	-	2033
<i>Rhodococcus sp.</i> ИЭГМ 1354	<i>gyrB1</i>	164380	162338	-	2042
	<i>gyrB2</i>	330909	331514	+	605



Рисунок – Филограммы, построенные на основе нуклеотидных последовательностей генов гираз А и В исследованных штаммов родококков. Цифры показывают относительную длину ветвей.

При детальном анализе нуклеотидных последовательностей гираз *Rhodococcus spp.* найдены участки, специфичные для каждого вида, к которым на дальнейших этапах работы будут подобраны видоспецифичные праймеры. Эти участки не являются высококонсервативными, но в то же время и не относятся к гипервариабельным участкам. Последние всегда присутствуют в генах, кодирующих ДНК-гиразы, в них часто происходят мутации, которые приводят к образованию вариантов белков, устойчивых к фторхинолонам [6]. Исключение таких участков из биоинформатического анализа позволит подобрать стабильно работающие праймеры.

Работа выполнена в рамках госзаданий 124020500028-4 и 122031400671-1.

Библиографический список

1. Ившина И.Б., Куюкина М.С., Каменских Т.Н., Криворучко А.В., Тюмина Е.А., Елькин А.А. Углеводородокисляющие родококки: особенности биологической организации под воздействием экополлютантов. Атлас-монография / Под ред. И.Б. Ившиной. – УрО РАН, 2021. – 140 с.
2. Ребриков Д.В., Саматов Г.А., Трофимов Д.Ю., Семенов П.А., Савилова А.М., Кофиади И.А., Абрамов Д.Д. ПЦР “в реальном времени” / Под ред. Д.В. Ребрикова. – М.: БИНОМ. Лаборатория знаний, 2009. – 215 с.
3. Stracy M., Wollman A.J.M., Kaja E., Gapinski J., Lee J.-E., Leek V.A., McKie S.J., Mitchenall L.A., Maxwell A., Sherratt D.J., Leake M.C., Zawadzki P. Single-molecule imaging of DNA gyrase activity in living *Escherichia coli* // Nucleic Acids Res. – 2019. – V. 47. – No. 1. – P. 210–220.
4. Niwa H., Hobo S., Anzai T. A nucleotide mutation associated with fluoroquinolone resistance observed in *gyrA* of *in vitro* obtained *Rhodococcus equi* mutants // Vet. Microbiol. – 2006. – V. 15. – No. 1–3. – P. 264–268.
5. Maia A.S., Tiritan M.E., Castro P.M.L. Enantioselective degradation of ofloxacin and levofloxacin by the bacterial strains *Labrys portucalensis* F11 and *Rhodococcus* sp. FP1 // Ecotoxicol. Environ. Saf. – 2018. – V. 155. – P. 144–151.
6. Collin F., Karkare S., Maxwell A. Exploiting bacterial DNA gyrase as a drug target: current state and perspectives // Appl. Microbiol. Biotechnol. – 2011. – V. 92. – No. 3. – P. 479–497.

МЕХАНИЗМЫ БАКТЕРИАЛЬНОЙ ДЕГРАДАЦИИ ФАРМПОЛЛЮТАНТА МЕЛОКСИКАМА

Тян С.М., Тюмина Е.А., Ившина И.Б.

*Пермский государственный национальный исследовательский университет, Пермь, Россия
Институт экологии и генетики микроорганизмов УрО РАН – филиал ПФИЦ УрО РАН,
Пермь, Россия*

Аннотация. Штамм *Gordonia alkanivorans* ИЭГМ 1277, иммобилизованный в криогеле ПВС, эффективно (93,75%) разлагал мелоксикам (10 мг/л) в стоках Пермского фармацевтического предприятия. Процесс биodeградации мелоксикама сопровождался образованием таких первичных метаболитов, как гидроксиметилмелоксикам и карбоксимелоксикам, классифицированных как умеренно опасные (класс III, ЛД₅₀ для мышей – более 200 мг/кг). Мелоксикам и продукты его биodeградации оказывали выраженный фитотоксический эффект на универсальный сидерат *Avena sativa* L. (овес посевной), вызывая замедление роста корневой системы растения, но не обладали антимикробной активностью в отношении микробных тест-культур.

Ключевые слова: актиномицеты, *Gordonia*, биodeградация, мелоксикам, фармпollутанты

MELOXICAM AS A PHARMACEUTICAL POLLUTANT: ITS BACTERIAL DEGRADATION MECHANISMS

Tyan S.M., Tyumina E.A., Ivshina I.B.

*Perm State National Research University, Perm, Russia
Institute of Ecology and Genetics of Microorganisms, Ural Branch of the Russian Academy of
Sciences, Perm, Russia*

Abstract. In the wastewater of a pharmaceutical company, the strain *Gordonia alkanivorans* IEGM 1277, immobilized in PVA, efficiently removed (at least 93.75%) of meloxicam (10 mg/L). It was discovered that two by-products, hydroxymethylmeloxicam and carboxymeloxicam, which were classified as moderately hazardous (class III) and had LD₅₀ values of more than 200 mg/kg in mice, were formed during the bacterial degradation meloxicam. Meloxicam and its biodegradation products exhibited phytotoxic effects on oats, impeding root system growth, but did not exhibit antimicrobial activity against test bacteria.

Key words: actinomycetes, *Gordonia*, biodegradation, meloxicam, pharmpollutants

Загрязнение открытых экосистем различными ксенобиотиками – одна из значимых глобальных проблем [1], что является серьезным препятствием к достижению целей в области устойчивого развития (концепция Sustainable development goals, ООН, 2015). Большую угрозу для окружающей среды представляют лекарственные препараты, обнаруживаемые в водных и почвенных экосистемах. Существенный прогресс в области фармацевтического производства и непрерывный вывод на рынок всё новых лекарственных препаратов, неконтролируемое применение медикаментозных средств, а также недостатки в сфере технологии очистки сточных вод фармпредприятий способствуют непрерывному попаданию

активных и стабильных фармацевтических компонентов в наземные и водные экосистемы, даже в питьевую воду [2,3,4]. Наиболее опасными фармполлютантами являются нестероидные противовоспалительные средства (НПВС), в том числе часто обнаруживаемый в природной среде мелоксикам. Мелоксикам относится к семейству оксикамов, обладает противовоспалительным, жаропонижающим и болеутоляющим действием и находит широкое применение в медицинской практике для лечения разнообразных патологических состояний (остеоартрит, ревматоидный артрит и пр.). Мелоксикам назначается в различных формах – от таблеток и мазей до растворов для внутреннего введения [5,6,7]. В связи с задокументированным обнаружением мелоксикама в природных экосистемах и даже в живых организмах, мелоксикам относят к классу новых эмерджентных загрязнителей [8,9]. Важной задачей является минимизация негативного влияния фармполлютантов на биоту и в первую очередь на микроорганизмы, поскольку именно они первыми решают проблему разложения и детоксикации ксенобиотиков в открытых экосистемах. Работы по бактериальной деградации мелоксикама немногочисленны. Ранее мы исследовали отдельные аспекты деградации мелоксикама с использованием актиномицета *Gordonia alkanivorans* (former *G. amicalis*) ИЭГМ 1277, однако для глубокого понимания этого процесса требуется проведение исследований в условиях, максимально приближенных к реальным сценариям (real world scenario). Целью настоящей работы явилось изучение процесса биodeградации мелоксикама клетками *Gordonia alkanivorans* ИЭГМ 1277 в сточных водах фармацевтического предприятия и оценка потенциальной экологической нагрузки образующихся метаболитов.

Материалы и методы. В работе использовали штамм *G. alkanivorans* ИЭГМ 1277 из Региональной профилированной коллекции алканотрофных микроорганизмов (акроним коллекции ИЭГМ, УНУ 73559, ЦКП 480868, WFCC 285, <http://www.iegmcol.ru>). Эксперименты по биodeградации мелоксикама проводили в колоночном биореакторе с иммобилизованными в поливиниловом спирте (ПВС) гордониями и мелоксикам-содержащей сточной водой (фармацевтическая компания АО “Медисорб”, Пермь). Стоки, представляющие собой смывы с оборудования цеха по производству таблеток мелоксикама, предварительно разбавляли фосфатно-щелочным буфером (рН 7,0) до получения концентрации целевого соединения 10 мг/л. Оптимальная скорость потока в биореакторе, равная 1,6 мл/мин, поддерживалась с помощью перистальтического насоса. Для получения иммобилизованных в матрицу ПВС-геля клеток, гордонии предварительно выращивали в минерально-солевой среде RS в присутствии 3 об. % *n*-гексадекана в течение 72 ч при температуре 28°C. Бактериальную суспензию (ОП₆₀₀ 1,6) смешивали со стерильным раствором ПВС (12%) в соотношении 1:2 v/v и проводили гранулирование через цикл замораживания и оттаивания [10]. Идентификацию бактериальных метаболитов проводили с использованием жидкостной хроматографии с тандемной масс-спектрометрией [11]. Исследование эффективности применения иммобилизованных в криогеле ПВС бактериальных клеток для очистки стоков проводили методом тонкослойной хроматографии (ТСХ) на пластинках ALUGRAM® XtraSILG/UV254 (Macherey-Nagel GmbH&Co, Германия). Для этого экспериментальным путем была подобрана оптимальная подвижная фаза, включающая *n*-гексан, этилацетат и ледяную уксусную кислоту в соотношении 65:30:5 (v/v/v) [12]. Визуализацию хроматографических пластинок проводили с помощью ультрафиолетового облучателя при $\lambda = 365$ нм. Оценка биологического потенциала производных мелоксикама проводили методом двукратных серийных разведений [13,14]. В качестве тест-культур использовали *Bacillus subtilis* ATCC 6633, *Micrococcus luteus* NCIMB 196, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Pseudomonas plecoglossicida* ИЭГМ 2044.

Жизнеспособность бактериальных клеток оценивали путем окрашивания INT через 1 сут. Острую токсичность метаболитов определяли в соответствии с ГОСТ 32419-2022 в опытах на белых нелинейных мышах обоего пола. Соединение вводили перорально в четырех дозах по методу [15]. Фитотоксичность в отношении овса посевного *Avena sativa* L. проводили согласно Методическим рекомендациям МР 2.1.7.2297-07 (2007). Степень фитотоксичности определяли по величине эффекта торможения роста корневой системы на 7 сут по формуле (1):

$$E_T = \frac{L_K - L_{OP}}{L_K} * 100 \% \quad (1),$$

где E_T – эффект торможения, %; L_{OP} – средняя длина корней в опыте, см; L_K – средняя длина корней в контроле, см. Фитотоксическое действие считается доказанным, если фитозффект (E_T) составляет 20% и более.

Результаты. По нашим данным, использование клеток *G. alkanivorans* ИЭГМ 1277, закрепленных в ПВС-геле, обеспечивало трансформацию не менее 93,75% исходного количества мелоксикама, присутствующего в производственных стоках фармацевтического завода. При этом разрешающая способность подобранной системы ТСХ позволяла идентифицировать мелоксикам, концентрация которого составляла не менее 0,625 мг/л. По результатам ВЭЖХ/МС, в масс-спектрах соединений, соответствующих данным хроматографических пиков, наблюдались интенсивные линии молекулярных ионов с массами 368 и 382, принадлежащие протонированным метаболитам мелоксикама – гидроксиметилмелоксикаму и карбоксимелоксикаму. Экспериментально обосновано, что данные производные мелоксикама не являются токсичными в отношении бактериальных культур – минимальная ингибирующая концентрация составляла более 1 г/л. В соответствии с ГОСТ 32419-2022 «Межгосударственный стандарт. Классификация опасности химической продукции. Общие требования» продукты биодegradации мелоксикама относятся к III классу опасности, т.е. являются умеренно токсичными (LD_{50} составляет более 200 мг/кг). При измерении длины корней семян овса посевного после обработки мелоксикамом и продуктами его биодеструкции установлено, что гидроксиметилмелоксикам и карбоксимелоксикам являются фитотоксичными (фитозффект составляет 53,21%) (таблица).

Таблица – Фитозффект в отношении овса посевного *Avena sativa* L. под воздействием мелоксикама и продуктов его биодеструкции

Вариант	Продукты биодеструкции	Биотический контроль	Контроль среды	Контроль НПВС, мг/л			
				10	25	50	100
Фитозффект, %	53,21	46,24	50,82	2,42	12,25	21,09	29,81

Заключение. В результате проведенных исследований показано, что использование иммобилизованных в ПВС-геле клеток *Gordonia alkanivorans* ИЭГМ 1277 обеспечивает биоразложение не менее 93,75% исходного (10 мг/л) количества мелоксикама в сточных водах фармацевтического предприятия. По результатам ВЭЖХ/МС установлено, что первичными метаболитами бактериальной деградации мелоксикама являются гидроксиметилмелоксикам и карбоксимелоксикам. Установлено, что производные мелоксикама не являются токсичными ($МПК > 1$ г/л) в отношении бактериальных культур. Экспериментально обосновано, что в соответствии с ГОСТ 32419-2022 “Межгосударственный стандарт. Классификация

опасности химической продукции. Общие требования” продукты биodeградации мелоксикама относятся к **III классу опасности**, т.е. являются **умеренно токсичными** (ЛД₅₀ составляет более 200 мг/кг). Установлено, что продукты метаболизма мелоксикама в концентрации 10 мг/л подавляют рост универсального сидерата *A. sativa* L.

Исследование выполнено в рамках госзадания 124020500028-4.

Библиографический список

1. Department of Economic and Social Affairs. Sustainable Development [Электронный ресурс]. – URL: <https://sdgs.un.org/goals> (дата обращения: 04.04.2024).
2. Boxall A.B., Rudd M.A., Brooks B.W., Caldwell D J., Choi K., Hickmann S., Innes E., Ostapuk K., Staveley J.P., Verslycke T., Ankley, G.T. Pharmaceuticals and personal care products in the environment: What are the big questions? // *Environmental Health Perspectives*. 2012. V. 120(9). P. 1221–1229.
3. aus der Beek T., Weber F.A., Bergmann A., Hickmann S., Ebert I., Küster A.H.A. Pharmaceuticals in the environment. Global occurrences and perspectives // *Environmental Toxicology and Chemistry*. 2016. V. 35. P. 823–835.
4. Wilkinson J.L. et al. Pharmaceutical pollution of the world’s rivers // *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 2022. V. 119. Article e2113947119.
5. Zhang Y., Mills G.L., Nair M.G. Cyclooxygenase inhibitory and antioxidant compounds from the mycelia of the edible mushroom *Grifola frondosa* // *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2002. V. 26. P. 7581–7585.
6. Mahaprabhu R., Bhandarkar A.G., Babu L.J., Rahangadale S.P., Kurkure N.V. Ameliorative effect of *Ocimum sanctum* on meloxicam induced toxicity in Wistar rats // *Toxicology International*. 2011. V. 18. P. 130–136.
7. Lin Y., Webber L.W., Tung H., Lin A.Y. Occurrence of pharmaceuticals, hormones, and perfluorinated compounds in groundwater in Taiwan // *Environmental Monitoring and Assessment*. 2015. V. 187. P. 1–19.
8. Zorrilla I., Martinez R., Taggart M.A., Richards N., 2015. Suspected flunixin poisoning of a wild Eurasian Griffon Vulture from Spain // *Science of The Total Environment*. 2015. V. 29. P. 587–592.
9. Herrero-Villar M., Velarde R., Camarero P.R., Taggart M.A., Bandeira V., Fonseca C., Marco I., Mateo R. NSAIDs detected in Iberian avian scavengers and carrion after diclofenac registration for veterinary use in Spain // *Environmental Pollution*. 2020. V. 266. P. 269–278.
10. Kuyukina M.S., Ivshina I.B., Gavrin A.Yu., Podorozhko E.A., Lozinsky V.I., Jeffree C.E., Philp J.C. Immobilization of hydrocarbon-oxidizing bacteria in poly (vinyl alcohol) cryogels hydrophobized using a biosurfactant // *Journal of Microbiological Methods*. 2006. V. 65. P. 596–603.
11. Вихарева Е.В., Карпенко Ю.Н., Селянинов А.А., Бажутин Г.А., Тюмина Е.А. Хроматографический анализ мелоксикама и его метаболитов в процессе бактериальной деструкции // *Известия Академии наук. Серия химическая*. 2022. Т. 11. С. 2358–2364.
12. Ivanova S., Todorova V., Dyankov S., Ivanov K. High-Performance Thin-Layer chromatography (HPTLC) method for identification of meloxicam and piroxicam // *Processes*. 2022. V. 10 P. 394–402.

13. Wiegand I., Hilpert K., Hancock R.E.W. Agar and broth dilution methods to determine the minimal inhibitory concentration (MIC) of antimicrobial substances // *Nature Protocols*. 2008. V. 3. P. 163–175.
14. She P., Wang Y., Luo Z., Chen L., Tan R., Wang Y., Wu Y. Meloxicam inhibits biofilm formation and enhances antimicrobial agents efficacy by *Pseudomonas aeruginosa* // *MicrobiologyOpen*. 2017. V. 7. P. 1–9.
15. Прозоровский В.Б., Прозоровская М.П. Табличный метод определения ЕД₅₀ (ЛД₅₀) веществ с низкой биологической активностью // *Фармакология и токсикология*. 1980. Т. 43, № 10. С. 66–68.

ПРОПАНОКИСЛЯЮЩАЯ АКТИВНОСТЬ КОЛЛЕКЦИОННЫХ ШТАММОВ РОДОКОККОВ

Бутолин Д.Н.¹, Комарова Л.П.^{1,2}, Криворучко А.В.^{1,2}

¹Пермский государственный национальный исследовательский университет, Пермь, Россия

²Институт экологии и генетики микроорганизмов УрО РАН – филиал ПФИЦ УрО РАН, Пермь, Россия

Аннотация. У 11 штаммов *Rhodococcus*, относящихся к видам *R. opacus*, *R. ruber* и *Rhodococcus* sp., подтверждена способность использовать пропан в качестве единственного источника углерода и энергии. Показано участие в окислении пропана монооксигеназ MmoAa и AlkB.

Ключевые слова: актиномицеты рода *Rhodococcus*, пропанотрофы, Коллекция ИЭГМ, монооксигеназы MmoAa и AlkB

PROPANE OXIDIZING ACTIVITIES OF *RHODOCOCCLUS* COLLECTION STRAINS

Butolin D.N.¹, Komarova L.P.^{1,2}, Krivoruchko A.V.^{1,2}

¹Perm State National Research University, Perm, Russia

²Institute of Ecology and Genetics of Microorganisms, Ural Branch of the Russian Academy of Sciences – branch of the PERC, Ural Branch of the Russian Academy of Sciences, Perm, Russia

Abstract. The total 11 strains of the genus *Rhodococcus*, belonging to species *R. opacus*, *R. ruber* and *Rhodococcus* sp., were proved to be able to use propane as a growth substrate. Involvement of monooxygenases MmoAa and AlkB in oxidation of propane was shown.

Key words: actinomycetes of the genus *Rhodococcus*, propanotrophs, the IEGM Collection, monooxygenases MmoAa and AlkB

Актиномицеты рода *Rhodococcus* способны использовать газообразные углеводороды пропан и *n*-бутан в качестве ростовых субстратов [1, 2]. Пропанотрофия – относительно редкий и недостаточно исследованный тип метаболизма. Пропаноокисляющие родококки перспективны как биоиндикаторы природного газа при геологоразведочных мероприятиях [2]. Благодаря особенностям ферментных систем и биосинтеза в условиях пропанотрофии они также являются ценным источником аминокислот и белка [2] и могут использоваться для кометаболического окисления некоторых высокотоксичных и устойчивых к разложению соединений, в частности хлорированных алканов [3]. В Региональной профилированной коллекции алканотрофных микроорганизмов (акроним ИЭГМ, WDCM #768, УНУ 73559, ЦКП 480868, <http://www.iegmcsl.ru>) поддерживается более 3000 штаммов *Rhodococcus* spp.

Цель настоящей работы – исследовать пропаноокисляющую активность коллекционных штаммов родококков.

В работе использовали 19 штаммов, принадлежащих к разным видам *Rhodococcus* с подтвержденной пропаноокисляющей активностью [1, 2, 4], таким как *R. opacus* (2 штамма), *R. rhodochrous* (1 штамм) и *R. ruber* (16 штаммов), а также 8 неидентифицированных до вида

изолятов *Rhodococcus* sp. Бактерии выращивали во флаконах с 10 мл минерально-солевой среды “К” и на чашках Петри с агаризованной средой “К” стационарно при температуре 28°C в течение 14 сут. Состав среды “К”, г/л (<http://www.iegmccl.ru/medium/med05.html>): KH_2PO_4 – 1,0, K_2HPO_4 – 1,0, NaCl – 1,0, KNO_3 – 1,0, $\text{MgSO}_4 \times 7\text{H}_2\text{O}$ – 0,2, $\text{FeCl}_3 \times 7\text{H}_2\text{O}$ – 0,001, CaCl_2 – 0,02 (все соли х.ч., ООО “АО Реахим”, Россия), агар (NeoFroxx, Германия) – 15,0. Раствор микроэлементов и дрожжевой экстракт в среду не вносили. В качестве единственного источника углерода и энергии использовали деэтанализованный пропан без присадок чистотой 98–99% (ЛУКОЙЛ-Пермнефтеоргсинтез, Пермь). Для культивирования родококков в присутствии пропана инокулированные флаконы и чашки Петри помещали в эксикаторы с газовой смесью пропан : воздух 1 : 4. Исходное количество клеток перед началом культивирования составляло $1,0 \times 10^7$ КОЕ/мл. Родококки относятся к олиготрофным бактериям и способны использовать следовые количества органического вещества, присутствующего в воде или агаре [1, 2]. В связи с этим для контроля олиготрофного роста часть инокулированных флаконов и чашек Петри со средой “К” не помещали в эксикатор с пропаном. Для получения биотических контролей родококки вносили в 10 мл бульона LB (Диаэм, Россия) или среды “К” с 1 вес. % D-глюкозы (х.ч., ООО “АО Реахим”, Россия) либо 2 вес. % ацетата аммония (х.ч., ООО “АО Реахим”, Россия), а также высевали на чашки Петри с ГРМ-агаром (ФБУН ГНЦ ПМБ, Россия). Неинокулированные стерильные среды использовали в качестве абиотических контролей.

Чистоту культур оценивали с помощью светового микроскопа Axiostar Plus (Carl Zeiss, Германия). Рост родококков во флаконах оценивали по изменению оптической плотности при 600 нм с помощью спектрофотометра Lambda EZ201 (Perkin-Elmer, США) в сравнении с абиотическим контролем. Экспрессию генов алкан-1-монооксигеназ *alkB* и α -субъединицы пропанмонооксигеназы *mmoAa* определяли следующим образом: клетки ($\text{OP}_{600 \text{ нм}} = 0,5\text{--}0,7$) разрушали с помощью гомогенизатора FastPrep-24 5G (MP Biomedicals, США) в присутствии металлических шариков диаметром 1 мм (Китай) в количестве 10 шт/мл в течение 2 мин, затем с помощью набора RNA Solo (Евроген, Россия) выделяли РНК, проводили обратную транскрипцию и полимеразную цепную реакцию в реальном времени (ПЦР-РВ) с праймерами к целевым генам. Для обратной транскрипции использовали набор реактивов с ревертазой MMLV (Евроген, Россия) согласно инструкции производителя, РНК в реакционную смесь вносили в концентрации 30–50 нг/мкл. ПЦР-РВ проводили с помощью амплификатора Real-time CFX Connect (Bio-Rad, США) в условиях градиентного изменения температур: 95°C – 3 мин, 35 циклов с чередованием температур 95°C – 30 с, 60°C/70°C – 30 с, 72°C – 30 с, в последнем цикле 72°C – 10 мин. Состав реакционной смеси, мкл: раствор кДНК в концентрации ~2000 нг/мкл – 5, прямой и обратный праймеры – 2 (каждый), ПЦР-микс с *Taq* ДНК-полимеразой (Евроген, Россия) и энхансером синтеза ДНК с ГЦ-богатой матрицы – 5, деионизированная вода – 13. Состав энхансера: 0,54 М бетаина, 1,34 мМ дитиотреитола, 1,34 % диметилсульфоксида, 11 мг/мл бычьего сывороточного альбумина (все реактивы производства Sigma-Aldrich, США). Содержание нуклеиновых кислот определяли с помощью нанофотометра NanoPhotometer® N50 (Implen, Германия). Последовательности праймеров к консервативным участкам генов *alkB*, генам *mmoAa* *R. ruber* и 16S рРНК составляли: *alkB* Forward – 5'-ТАСТАССGGТАСТGCАССТАС-3' [5], *alkB* Reverse – 5'-СТGGAAGTGАТАСAGGAAGAT-3' [5], *mmoA1-F* – 5'-ТТСАТGGAGATCATGAAGCC-3', *mmoA1-R* – 5'-GACGACCTGCAAATTCAATG-3', 27F – 5'-AGAGTTTGATCMTGGCTCAG-3' [6], 1492R – 5'-CGGTTACSTTGTTACGACTT-3' [6]. Все эксперименты проводили в 3-х

кратной повторности. Статистическую обработку полученных результатов осуществляли с помощью программы Microsoft® Excel® 2019.

По нашим данным, все использованные в работе штаммы *Rhodococcus spp.* растут на агаризованной минеральной среде. При этом во флаконах с жидкой минеральной средой олиготрофный рост не фиксируется (рисунок 1). В связи с этим способность родококков использовать пропан в качестве единственного источника углерода и энергии оценивали по увеличению оптической плотности бактериальных клеток.

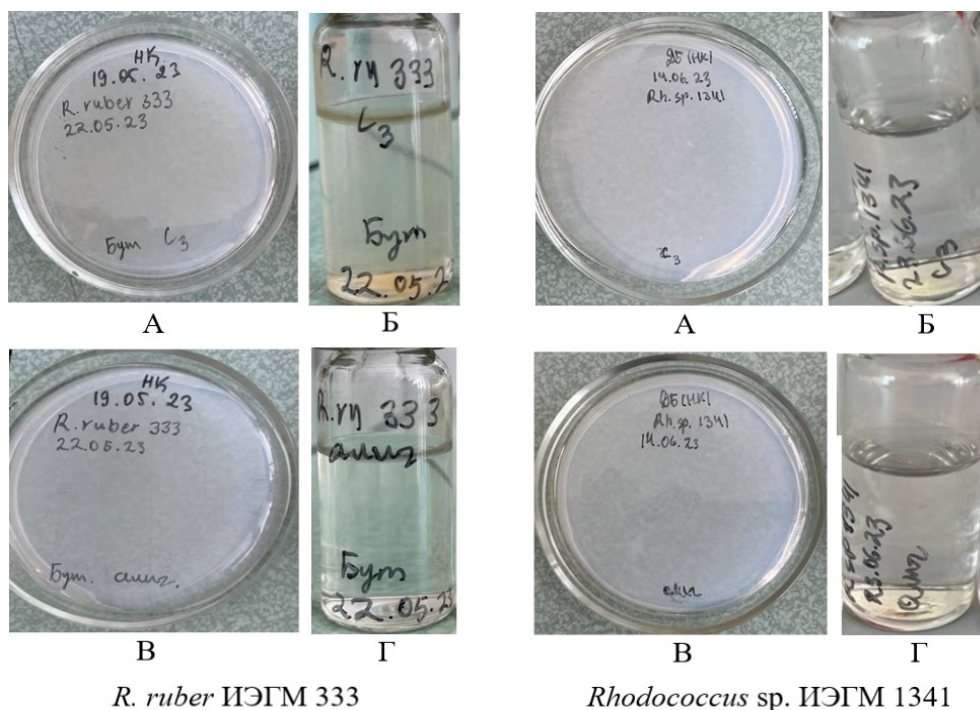


Рисунок 1 – Рост клеток *R. ruber* ИЭГМ 333 и *Rhodococcus* sp. ИЭГМ 1341 на агаризованной (А, В) и в жидкой (Б, Г) минеральной среде “К” в присутствии пропана (А, Б) и без него (В, Г).

По данным спектрофотометрии, у 11 штаммов родококков обнаружено статистически достоверное увеличение оптической плотности клеточной суспензии в присутствии пропана. Среди них 2 штамма *R. opacus*, 8 штаммов *R. ruber* и штамм *Rhodococcus* sp. ИЭГМ 1237. Наиболее интенсивный рост с увеличением ОП_{600 нм} до 0,410, 0,531 и 0,713 наблюдается у штаммов *R. opacus* ИЭГМ 249, *R. ruber* ИЭГМ 439 и ИЭГМ 327 соответственно (таблица). Следует отметить, что у 50% исследованных штаммов *R. ruber* и штамма *R. rhodochrous* ИЭГМ 63 не обнаружена способность расти в присутствии пропана. Окисление пропана и его вовлечение в центральный метаболизм кодируются большим количеством генов, среди которых ключевыми являются гены компонентов пропанмонооксигеназ, алкоголь- и альдегиддегидрогеназы [3]. Кроме того, в условиях пропанотрофии усиливается биосинтез, связанный с разрастанием клеточной стенки, образованием цитоплазматической мембранной сети, формированием множественных внутриклеточных включений [1, 2, 4]. Ожидается, что индукция большого количества генов и сложный переход с одного типа метаболизма на другой – видовой признак, который будет проявляться у всех представителей. Известно, что гены, кодирующие ферменты окисления пропана, могут располагаться на плаزمиде [3]. Потеря или отсутствие плазмид с генами ключевых ферментов могут обуславливать

неспособность штаммов метаболизировать пропан. Возможны мутации и потеря функциональной активности у отдельных ферментов метаболического пути усвоения пропана, что также может быть причиной неспособности штаммов использовать пропан как ростовой субстрат [3].

Таблица – Рост *Rhodococcus* spp. в присутствии пропана

Штамм	ОП (600 нм)	Штамм	ОП (600 нм)
<i>R. opacus</i> ИЭГМ 249	0,531±0,244*	<i>R. ruber</i> ИЭГМ 1135	0,040 ± 0,013
<i>R. opacus</i> ИЭГМ 262	0,305 ± 0,140*	<i>R. ruber</i> ИЭГМ 1141	0,014 ± 0,009
<i>R. rhodochrous</i> ИЭГМ 63	0,049 ± 0,015	<i>R. ruber</i> ИЭГМ 1156	0,339 ± 0,078*
<i>R. ruber</i> ИЭГМ 231	0,133 ± 0,020*	<i>R. ruber</i> ИЭГМ 1211	0,041 ± 0,062
<i>R. ruber</i> ИЭГМ 235	0,307 ± 0,034*	<i>R. ruber</i> ИЭГМ 1391	0,027 ± 0,020
<i>R. ruber</i> ИЭГМ 327	0,713 ± 0,262*	<i>Rhodococcus</i> sp. ИЭГМ 1237	0,142 ± 0,021*
<i>R. ruber</i> ИЭГМ 333	0,149 ± 0,003*	<i>Rhodococcus</i> sp. ИЭГМ 1251	0,020 ± 0,007
<i>R. ruber</i> ИЭГМ 346	0,057 ± 0,013	<i>Rhodococcus</i> sp. ИЭГМ 1302	0,025 ± 0,010
<i>R. ruber</i> ИЭГМ 439	0,410 ± 0,137*	<i>Rhodococcus</i> sp. ИЭГМ 1305	0,015 ± 0,005
<i>R. ruber</i> ИЭГМ 442	0,224 ± 0,030*	<i>Rhodococcus</i> sp. ИЭГМ 1307	0,024 ± 0,018
<i>R. ruber</i> ИЭГМ 476	0,046 ± 0,015	<i>Rhodococcus</i> sp. ИЭГМ 1341	0,018 ± 0,008
<i>R. ruber</i> ИЭГМ 560	0,138 ± 0,040*	<i>Rhodococcus</i> sp. ИЭГМ 1351	0,034 ± 0,009
<i>R. ruber</i> ИЭГМ 1121	0,040 ± 0,019	<i>Rhodococcus</i> sp. ИЭГМ 1401	0,026 ± 0,014
<i>R. ruber</i> ИЭГМ 1122	0,016 ± 0,012	Исходные значения (0 сут)	0,042 ± 0,013

Примечание. Значения ОП_{600 нм} представлены как среднее ± стандартное отклонение.

*Статистически достоверно от исходных значений (0 сут) при $p < 0,05$.

На рисунке 2 приведены значения уровней экспрессии генов монооксигеназ у штаммов родококков, растущих в атмосфере пропана. По сравнению с биотическим контролем (среда LB) у пропаноокисляющих штаммов *R. ruber* отмечено увеличение в 99 раз уровня экспрессии гена α -субъединицы пропанмонооксигеназы *mmoAa* (рисунок 2), что подтверждает участие данного фермента в окислении пропана и согласуется с данными литературы [3]. У единственного пропаноокисляющего штамма *Rhodococcus* sp. показано участие в окислении пропана другого фермента – алкан-1-монооксигеназы AlkB. При этом выявлено увеличение (в 45000 раз) уровня экспрессии кодирующего данный фермент гена (рисунок 2). AlkB, по-видимому, менее эффективные ферменты, так как при более высоком уровне экспрессии они не обеспечивают такого же интенсивного роста, как MmoAa (см. таблицу).

Данная работа представляет собой начальный этап исследования по подтверждению пропаноокисляющей активности штаммов родококков из Коллекции ИЭГМ. В дальнейшем планируется полный скрининг Коллекции по данному признаку, проведение ростовых экспериментов при более высоких концентрациях пропана и углубленное исследование экспрессии генов, вовлеченных в окисление пропана.

Работа выполнена в рамках госзаданий 124020500028-4 и 122031400671-1.

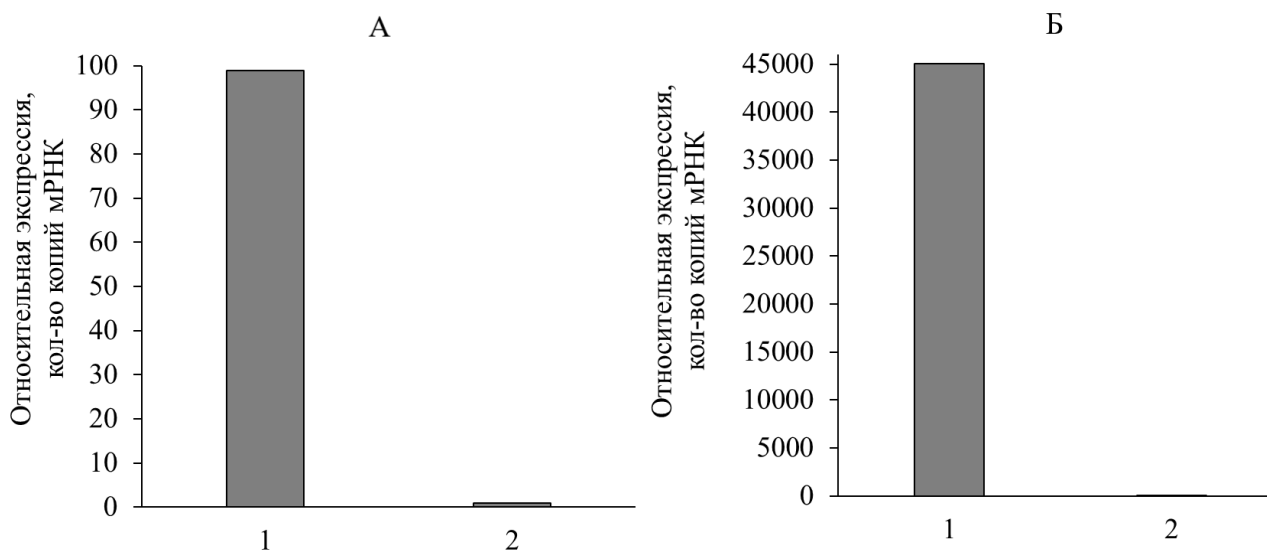


Рисунок 2 – Уровни экспрессии генов α -субъединицы пропанмонооксигеназы *mmoAa* (А) у *R. ruber* и алкан-1-монооксигеназы *alkB* (Б) у *Rhodococcus* sp. ИЭГМ 1237 в присутствии пропана (1) и в условиях олиготрофного роста (2). Представлены медианы относительных уровней экспрессии, измеренных по отношению к уровням экспрессии в среде LB (биотический контроль).

Библиографический список

1. Ившина И.Б., Куюкина М.С., Каменских Т.Н., Криворучко А.В., Тюмина Е.А., Елькин А.А. Угледородородокисляющие родококки: особенности биологической организации под воздействием экополлютантов. Атлас-монография / Под ред. И.Б. Ившиной. – УрО РАН, 2021. – 140 с.
2. Ившина И.Б., Пшеничнов Р.А., Оборин А.А. Пропанокисляющие родококки / УНЦ АН СССР. – Свердловск, 1987. – 123 с.
3. Ferrari E., Di Benedetto G., Firrincieli A., Presentato A., Frascari D., Cappelletti M. Unravelling the role of the group 6 soluble di-iron monooxygenase (SDIMO) SmoABCD in alkane metabolism and chlorinated alkane degradation // Microb. Biotechnol. – 2024. – V. 17. – e14453.
4. Ivshina I., Kuyukina M., Krivoruchko A. Draft genome sequence of propane- and butane-oxidizing *Rhodococcus ruber* IEGM 333 able to accumulate cesium // Microbiol. Resour. Announc. – 2024. – 0:e00101-24.
5. Tancsics A., Benedek T., Szoboszlay S., Veres P.G., Farkas M., Máthé I., Márialigeti K., Kukolya J., Lányi S., Kriszt B. The detection and phylogenetic analysis of the alkane 1-monooxygenase gene of members of the genus *Rhodococcus* // Syst. Appl. Microbiol. – 2015. – V. 38. – No. 1. – P. 1–7.
6. Heuer H., Krsek M., Baker P., Smalla K., Wellington E.M.H. Analysis of actinomycete communities by specific amplification of genes encoding 16S rRNA and gel-electrophoretic separation in denaturing gradients // Appl. Environ. Microbiol. – 1997. – V. 63. – No. 8. – P. 3233–3241.

РОЛЬ ЭНДОМОРФИНОВ В РЕГУЛЯЦИИ ФУНКЦИЙ КЛЕТОК ИММУННОЙ СИСТЕМЫ ПРИ СТРЕССЕ

Колпаков К.И.¹, Гейн С.В.^{1,2}

¹ *Пермский государственный национальный исследовательский университет, Пермь, Россия*

² *Институт экологии и генетики микроорганизмов УрО РАН – филиал ПФИЦ УрО РАН, Пермь, Россия*

Аннотация. Установлено, что эндоморфины оказывали заметное влияние на антителообразование до введения антигена в организм. Кроме того, эндоморфины-1,2 подавляли стимулированное образование активных форм кислорода. При холодном стрессе эндоморфин-1 устранял стресс-индуцированное угнетение микробицидной активности. Также пептиды усиливали фагоцитоз перитонеальных макрофагов, но в условиях холодного стресса не наблюдалось изменения их поглотительной активности.

Ключевые слова: эндоморфины, стресс, фагоцитоз, ЛЗХЛ, АФК

THE ROLE OF ENDORPHINS IN REGULATING THE FUNCTIONS OF IMMUNE SYSTEM CELLS UNDER STRESS

Kolpakov K.I.¹, Gein S.V.^{1,2}

¹ *Perm State National Research University, Perm, Russia*

² *Institute of Ecology and Genetics of Microorganisms, Ural Branch of the Russian Academy of Sciences, Perm, Russia*

Abstract. Endomorphins had a noticeable effect on antibody formation before the introduction of the antigen into the body. In addition, endomorphins-1,2 suppressed the stimulated formation of reactive oxygen species. Under cold stress, endomorphin-1 eliminated stress-induced inhibition of microbicidal activity. Peptides also enhanced phagocytosis of peritoneal macrophages, but no change in their absorption activity was observed under conditions of cold stress.

Key words: endomorphins, stress, phagocytosis, LDC, ROS

Открытие опиоидных рецепторов (μ , δ , κ) и идентификация эндогенных опиоидных пептидов в 1970-х годах существенно расширили медицинские знания о нейрохимических механизмах боли. В организме, опиоидные рецепторы, а также их лиганды образуют эндогенную опиоидную систему. В покое она находится в неактивном состоянии, но активируется под влиянием различных стимулов, таких как стресс, физическая активность, психоэмоциональные состояния и инфекции [3].

В конце 20 века были идентифицированы эндоморфины - эндогенные тетрапептиды, обладающие высокой аффинностью к μ -опиатным рецепторам [5]. Они обладают антиноцицептивным действием, избегая некоторых нежелательных побочных эффектов, таких как толерантность и зависимость, которые свойственны низкомолекулярным опиатам, в первую очередь производным морфина [2, 3]. Помимо подавления боли, эндоморфины принимают участие в регуляции процессов репродукции, пищеварения, патогенеза общего адаптационного синдрома, а также модуляции функциональной активности клеток иммунной

системы. Цель работы — изучить роль эндоморфинов-1,2 в регуляции функций клеток иммунной системы при стрессе.

Материалы и методы. Исследование проводилось на белых мышах породы Swiss, весом 18–23 г. Эксперимент был осуществлен согласно этическим стандартам и рекомендациям, изложенным в "Европейской конвенции по защите позвоночных животных, используемых в экспериментальных и других научных целях" (Страсбург, 1986) [6]. Животные были выведены из эксперимента путем декапитации под эфирным наркозом.

Все мыши были разделены на экспериментальные группы. В качестве модели стресса использовали 60 минутный холодовой стресс. Эндоморфины вводили в дозах от 1 до 100 мкг/кг. Количество АОК определяли методом локального гемолиза в геле агарозы по Ерне, продукцию АФК оценивали методом люминолзависимой хемилюминесценции (ЛЗХЛ), оценку фагоцитоза проводили по интенсивности поглощения *St.cohnii* [4]. Статистический анализ проведен с помощью непарного t-критерия Стьюдента [1].

Результаты. В ходе исследования влияния эндоморфинов-1,2 на количество антителообразующих клеток (АОК) в зависимости от времени введения было установлено (рис. 1, 2), что эндоморфины усиливали антителогенез при их введении мышам за 1 час до введения антигена (АГ). Похожие результаты были получены при оценке относительного количества АОК, также наблюдается усиление антителогенеза при введении АГ через 6 часов после эндоморфина-1.

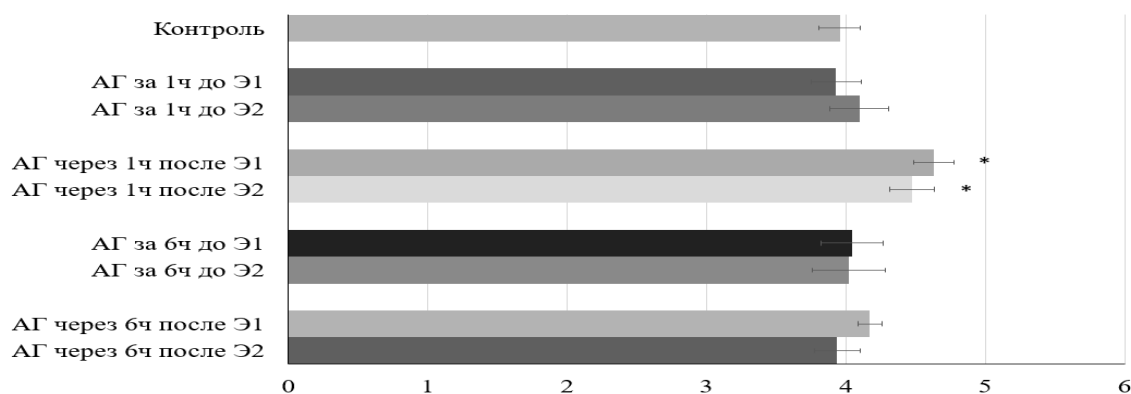


Рисунок 1 – Влияние эндоморфинов-1,2 на абсолютное количество АОК в селезенке.

* – $p < 0,05$ по отношению к контролю.

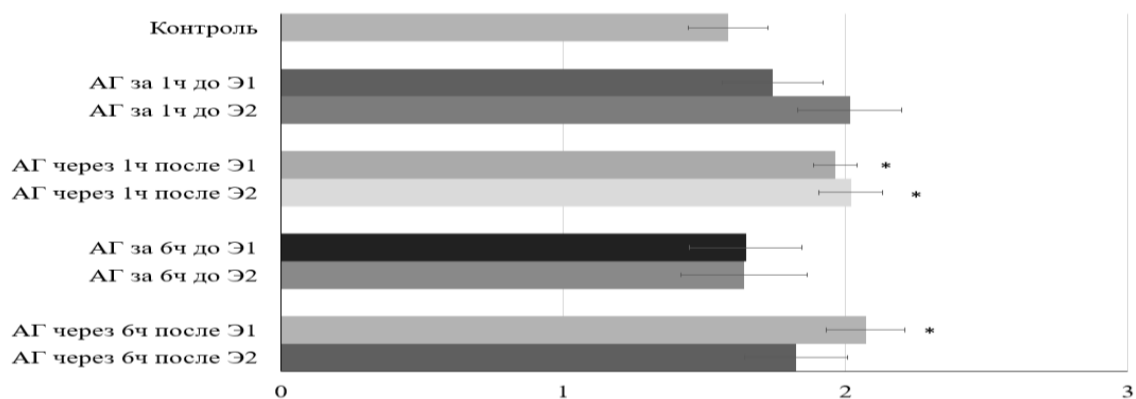


Рисунок 2 – Влияние эндоморфинов-1,2 на относительное количество АОК в селезенке.

* – $p < 0,05$ по отношению к контролю.

В ходе исследования влияния эндоморфина-1 на продукцию активных форм кислорода (рис. 3, 4) *in vivo* клетками перитонейной полости мышей было обнаружено, что пептид снижал спонтанную продукцию АФК в дозировке 10 мкг/кг. А при оценке зимозанстимулированной продукции данный пептид угнетал стимулированную продукцию АФК во всём диапазоне исследуемых дозировок.

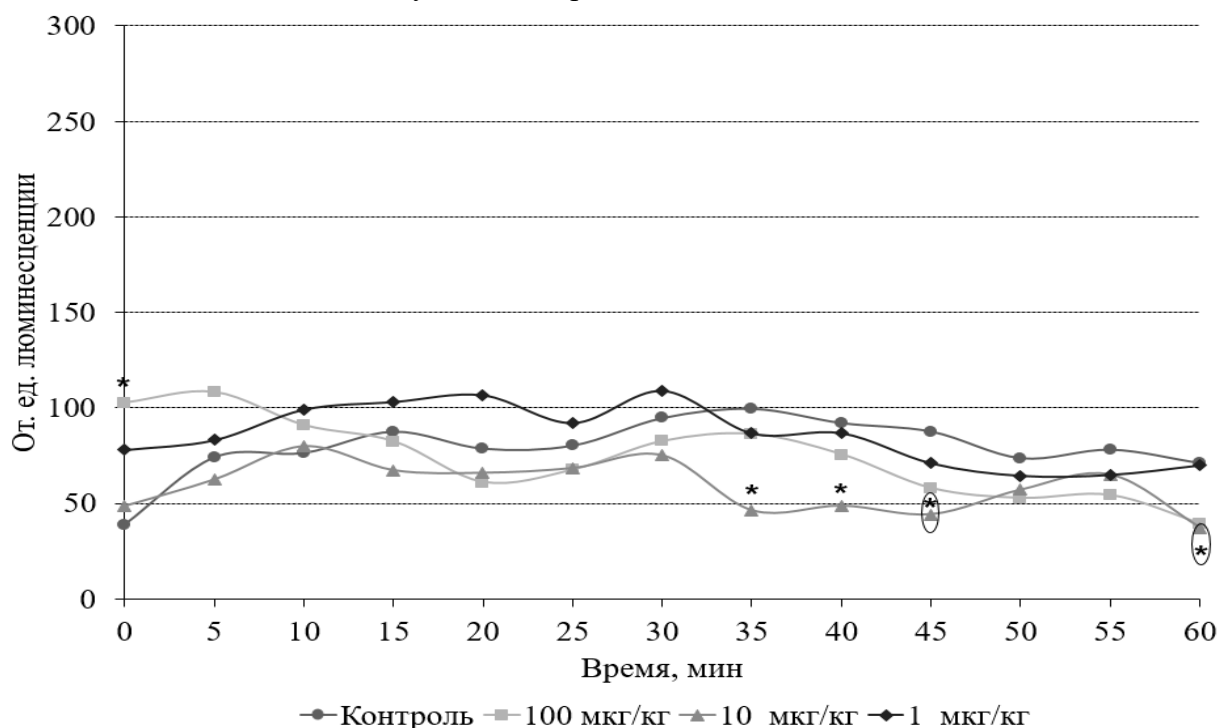


Рисунок 3 – Влияние эндоморфина-1 на спонтанную продукцию АФК.

* – $p < 0,05$ по отношению к контролю.

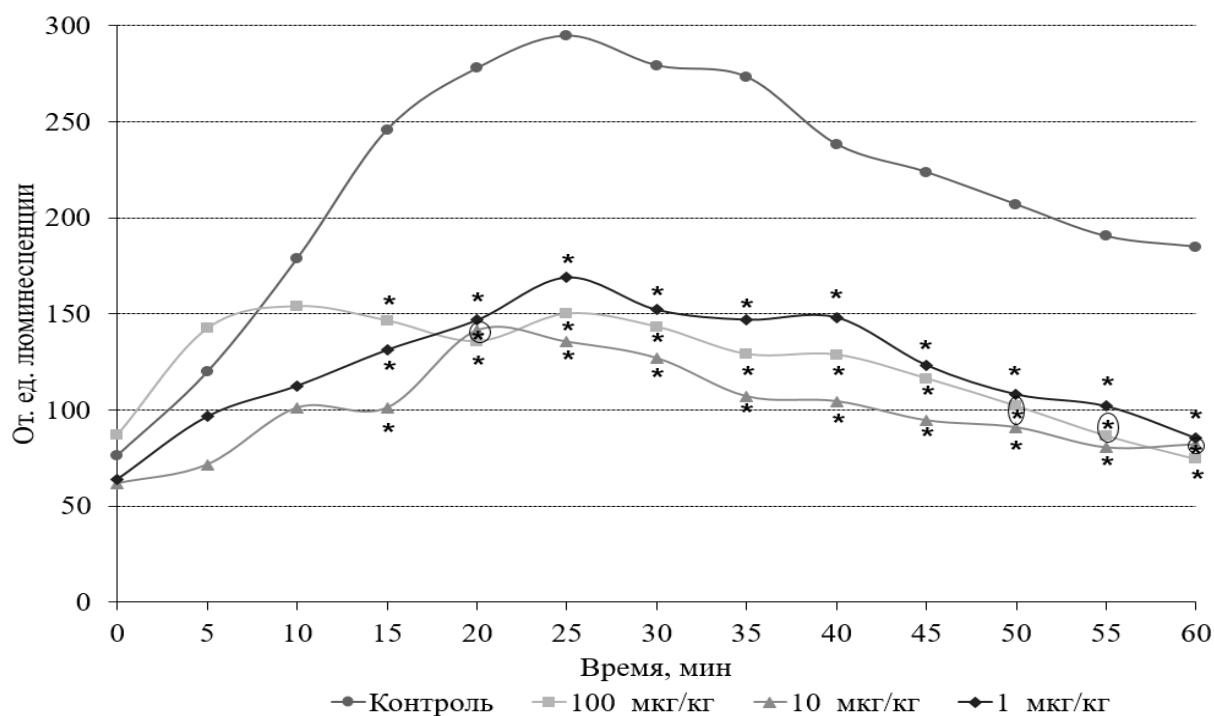


Рисунок 4 – Влияние эндоморфина-1 на стимулированную продукцию АФК.

* – $p < 0,05$ по отношению к контролю.

Эндоморфин-2 не оказывал влияния на спонтанную продукцию АФК, но при оценке зимозан стимулированной продукции наблюдался аналогичный эффект с эндоморфином-1, за исключением дозировки 10 мкг/кг (рис. 5, 6).

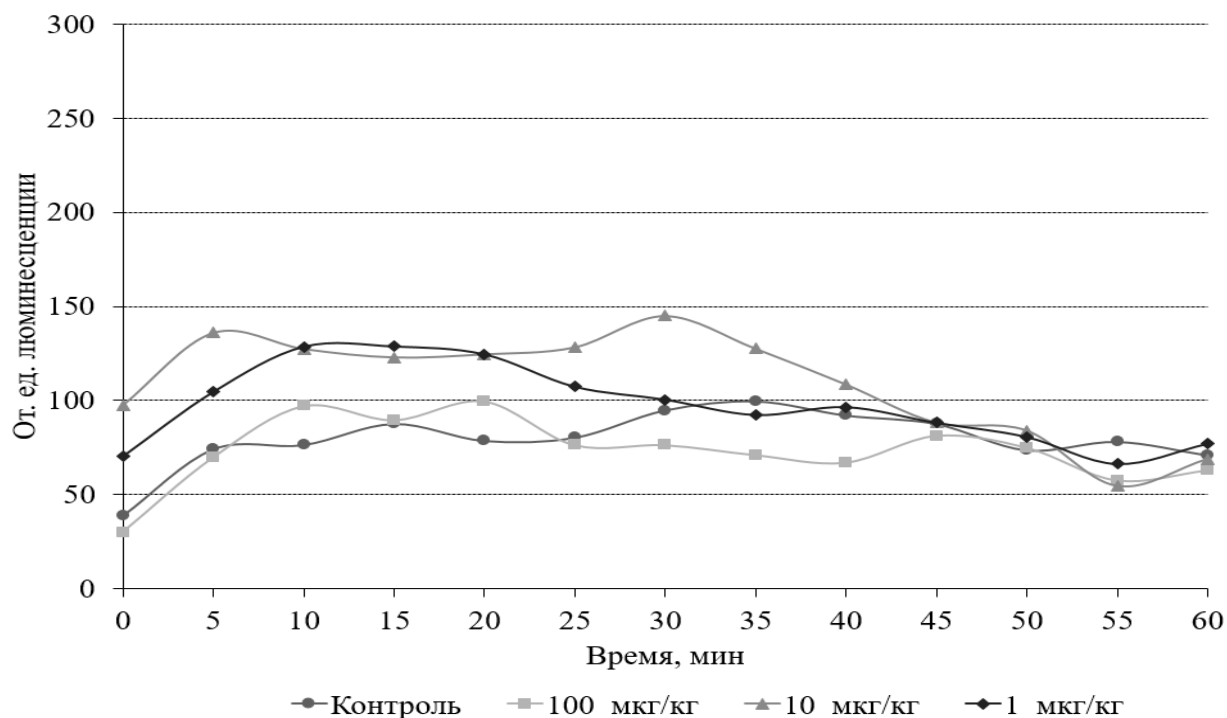


Рисунок 5 – Влияние эндоморфина-2 на спонтанную продукцию АФК.

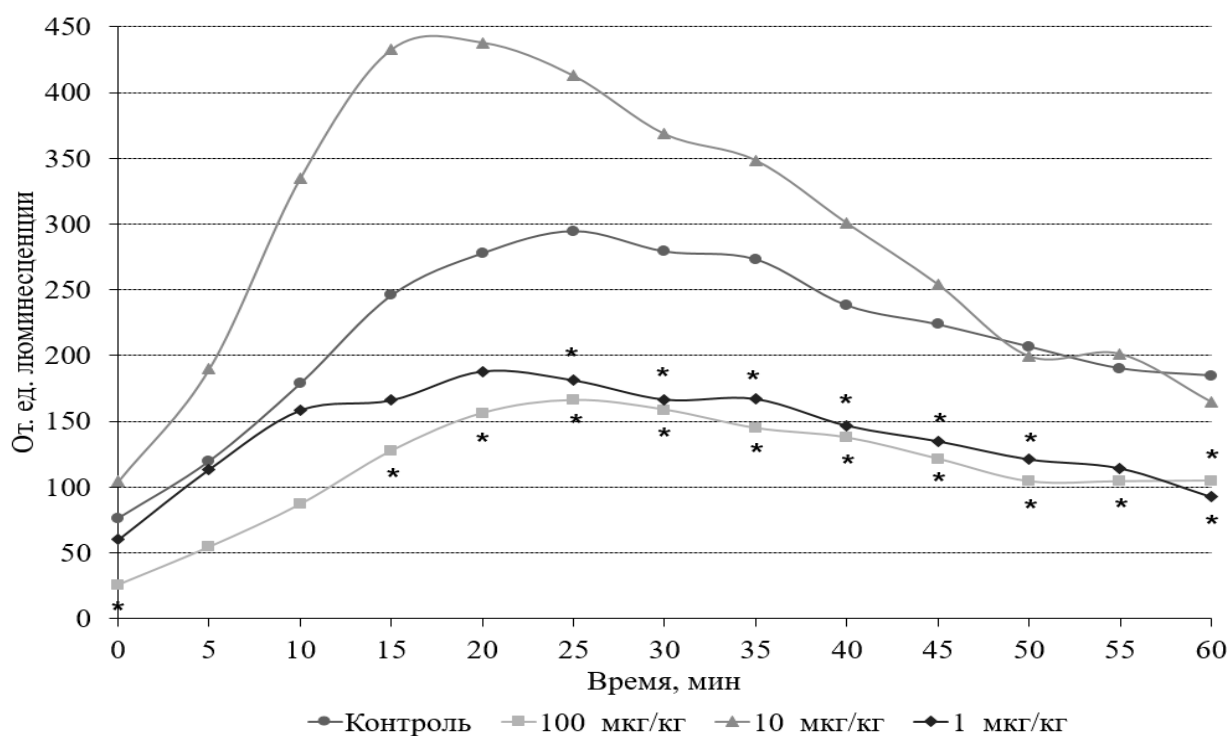


Рисунок 6 – Влияние эндоморфина-2 на стимулированную продукцию АФК.

* – $p < 0,05$ по отношению к контролю.

При оценке влияния эндоморфинов на продукцию АФК при стрессе (рис. 7) было установлено, что эндоморфин-1 нивелировал стрессиндуцированное угнетение микробицидного потенциала.



Рисунок 7 – Влияние эндоморфинов-1,2 на стимулированную продукцию АФК при стрессе. * – $p < 0,05$ по отношению к контролю.

При исследовании влияния различных доз эндоморфинов-1,2 на фагоцитарную активность перитонеальных макрофагов было выяснено, что оба пептида во всем исследуемом диапазоне доз оказывали стимулирующий эффект на поглотительную активность клеток перитонеальной полости. Но в условиях модели холодового стресса введение эндоморфинов-1,2 в дозировке 100 мкг/кг не оказывает влияния на показатель фагоцитарной активности. Холодовой стресс также не является фактором изменения фагоцитарной активности (рис. 8, 9).

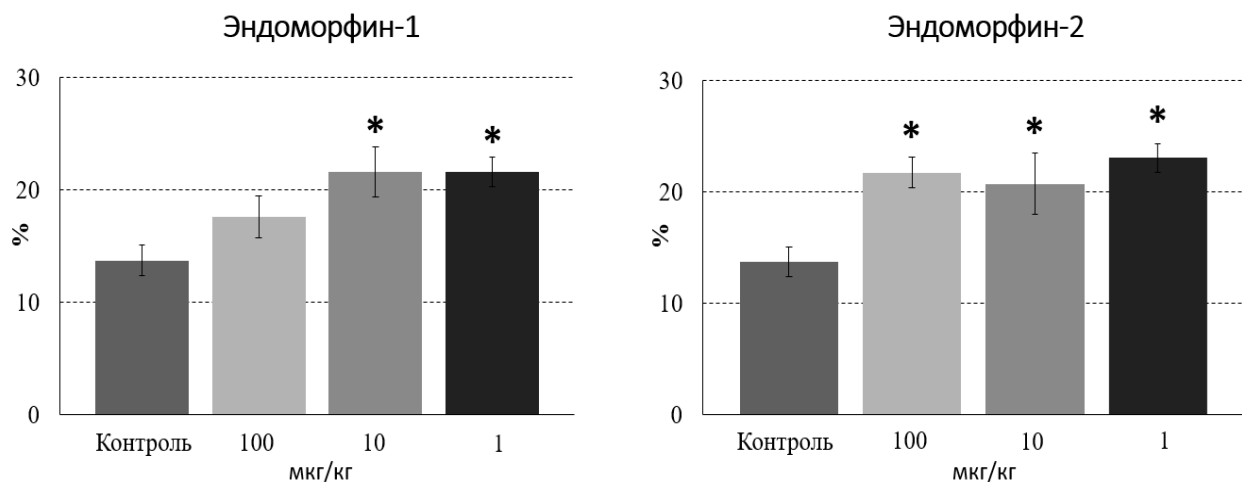


Рисунок 8 – Влияние эндоморфинов-1,2 на поглотительную активность перитонеальных макрофагов. * – $p < 0,05$ по отношению к контролю.

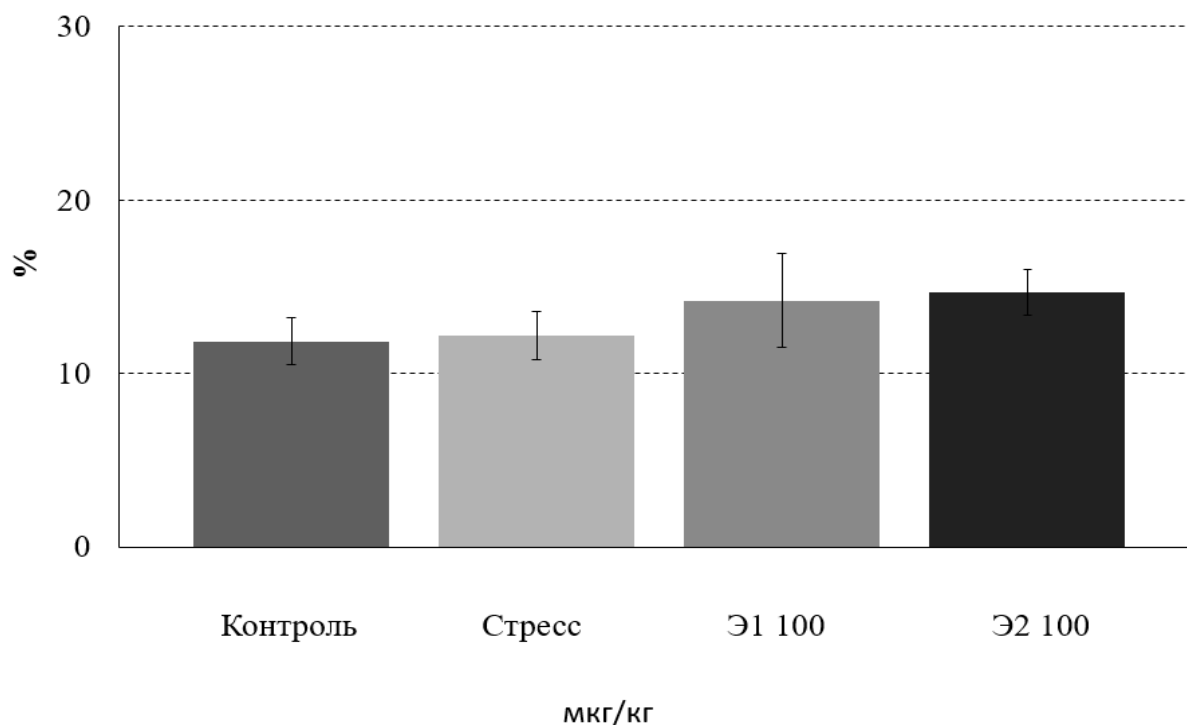


Рисунок 9 – Влияние эндоморфинов-1,2 на поглотительную активность перитонеальных макрофагов + стресс.

Заключение. Таким образом, наиболее выраженное действие на антителогенез эндоморфины-1,2 оказывают до введения антигена в организм. Это является наиболее оптимальным условием для достижения эффекта. Помимо этого эндоморфины-1,2 угнетают стимулированную продукцию АФК, а на фоне холодового стресса эндоморфин-1 нивелировал стрессиндуцированное угнетение микробицидного потенциала. Также пептиды усиливали фагоцитоз перитонеальных макрофагов, но в условиях модели холодового стресса не было зафиксировано влияния на изменение поглотительной активности.

Библиографический список

1. Гланц С. Медико-биологическая статистика. Пер. с англ. — М., Практика, 1998. — 459 с.
2. Gomes, I. Biased signaling by endogenous opioid peptides / I. Gomes, S. Sierra, L. Lueptow, A. Gupta, S. Gouty, E. B. Margolis, L.A. Devi // *Proceedings of the National Academy of Sciences*. – 2020. – doi:10.1073/pnas.2000712117.
3. Janecka, A. Endomorphin Analogs / A. Janecka, R. Staniszewska, J. Fichna // *Current Medicinal Chemistry*. – 2007. – Vol.14 – №30 – P.3201–3208 – doi:10.2174/092986707782793880.
4. Jerne N.K., Nordin A.A. // *Science*. 1963. V. 140, N. 3365. P. 405-405.
5. Zadina, J.E. A potent and selective endogenous agonist for the m-opiate receptor / J.E. Zadina, L. Hackler, L.J. Ge, A.J. Kastin // *Nature*. – 1997. – Vol.386 – P.499-502.
6. Электронный фонд правовых и нормативно-технических документов [Электронный ресурс]. URL:<https://docs.cntd.ru/document/901909691> (дата обращения: 28.04.2024).

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ПЛАЗМЫ ЖЕЛТКА КУРИНОГО ЯЙЦА В КАЧЕСТВЕ СТИМУЛЯТОРА ПРОЛИФЕРАЦИИ ГИБРИДОМНЫХ КЛЕТОК

Лазарев С.С., Раев М.Б.

*Пермский государственный национальный исследовательский университет, Пермь, Россия
ФГБУН Институт экологии и генетики микроорганизмов Уральского отделения РАН —
филиал ФГБУН Пермского федерального исследовательского центра Уральского отделения
Российской академии наук, Пермь, РФ;*

Аннотация. В представленной работе обоснована возможность использования плазмы желтка куриного яйца для стимулирования пролиферации мышиных гибридом BAP3 и G3D3 при их культивировании в бессывороточной среде DMEM + ITS (инсулин, трансферрин, селенит натрия).

Ключевые слова: гибридома, пролиферация, бессывороточная среда, плазма желтка

THE USE OF CHICKEN EGG YOLK PLASMA AS AN ENHANCER OF HYBRIDOMA CELL PROLIFERATION

Lazarev S.S., Rayev M.B.

*Perm State National Research University, Perm, Russia
Institute of Ecology and Genetics of Microorganisms, Ural Branch of the Russian Academy of
Sciences - branch of Perm Federal Research Center, Perm, Russian Federation*

Abstract. This study demonstrates the effectiveness of using chicken egg yolk plasma to stimulate the proliferation of mouse hybridomas BAP3 and G3D3 during their cultivation in a DMEM medium containing insulin, transferrin and sodium selenite (ITS).

Key words: hybridoma, proliferation, serum-free medium, yolk plasma

Гибридомы представляют собой постоянные клеточные линии, способные продуцировать моноклональные антитела заданной специфичности. Они широко используются в биотехнологии и иммунологии для производства антител, которые применяются в диагностике, терапии и научных исследованиях.

Культивирование гибридомных клеток *in vitro* требует особых условий, обеспечивающих рост и выживание клеток. Традиционно гибридомные клетки культивируют в среде, содержащей сыворотку, однако для многих исследований и биотехнологических производств предпочтительна бессывороточная среда. DMEM (Dulbecco's Modified Eagle Medium) в сочетании с добавкой ITS (инсулин, трансферрин, селенит натрия) является одной из часто применяемых базовых бессывороточных сред для гибридомных клеток [1]. Эта комбинация обеспечивает основные питательные вещества и факторы роста, необходимые для поддержания нормального функционального состояния. При этом, экспериментально подтверждено, что для некоторых клеточных линий гибридом эта среда является недостаточной и требует модификации.

В литературе описаны вещества, стимулирующие пролиферацию гибридных клеток при бессывороточном культивировании. Такая активность была показана в том числе для коровьего молозива [2] и некоторых фракций молочной сыворотки [3]. Также, известно, что желток куриного яйца и некоторые его компоненты могут способствовать пролиферации клеток животных. Fujii *et al* обнаружили способность желтка ускорять рост нормальных клеток млекопитающих (эндотелиальные клетки сосудов крупного рогатого скота) [4]. В то же время в других работах было продемонстрировано положительное влияние фракций желтка на пролиферацию клеток сухожилий куриного эмбриона [5], IgM-продуцирующих человеческих гибридом [6] и IgA-продуцирующей мышинной гибридомы [7].

В приведенных выше исследованиях, где в качестве стимулятора пролиферации клеток использовали фракции желтка куриного яйца, для выделения этих фракций требовалось проведение многостадийного процесса очистки, часто включающего в себя трудоемкие и экономически затратные стадии хроматографии, диализа и стерилизации. Целью данной работы было показать возможность упрощения процесса подготовки желтка куриного яйца к использованию в качестве компонента культуральной среды.

В качестве стимулятора роста клеток использовали плазму желтка куриного яйца (YP), которая представляет собой жидкую составляющую желтка, остающуюся после удаления из него нерастворимых гранул [8]. Для ее получения куриное яйцо обрабатывали этиловым спиртом и переносили в ламинарный шкаф. Яйцо разбивали, белок сливали, а желток помещали в пробирку, разбавляли в 2 раза средой DMEM и тщательно перемешивали. Полученный раствор центрифугировали 30 мин при 10,000g и собирали супернатант для дальнейшего использования.

Для оценки влияния YP на пролиферацию использовали гибридомы ВАРЗ и G3D3. Обе клеточные линии представляют собой мышинные гибридомы, производящие IgG против трофобластического бета-1 гликопротеина человека и IgG человека соответственно. Клетки культивировали в среде DMEM + ITS в 48-ми луночных планшетах в присутствии различных концентраций YP в атмосфере, содержащей 5% CO². Для определения концентрации живых клеток из лунок отбирали пробы, после чего проводили их окрашивание трипановым синим и подсчет в камере Нейбауэра (неокрашенные клетки считали живыми, окрашенные – мертвыми).

На рисунке 1 представлены концентрации живых клеток в среде при культивировании гибридомы ВАРЗ при высоких концентрациях плазмы желтка. Полученные данные показывают, что в концентрациях до 7.5% (по объему) YP остается нетоксичной для клеток ВАРЗ и способствует их пролиферации. В то же время, не наблюдается положительной корреляции между концентрацией YP и максимальной концентрацией живых клеток в диапазоне концентраций от 2.5% до 7.5%, что не соответствует результатам, полученным Fujii *et al* при использовании цельного желтка для эндотелиальных клеток сосудов крупного рогатого скота [4]. Мы предполагаем, что это связано с наличием при культивировании гибридных клеток в выбранных нами условиях иных лимитирующих факторов, ограничивающих рост клеток.

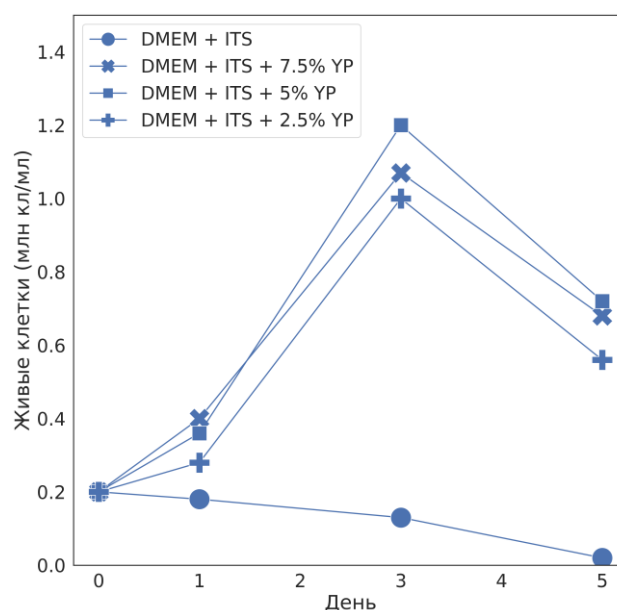


Рисунок 1 – Динамика изменения концентрации живых клеток при культивировании гибридомы BAP3 в среде DMEM + ITS + YP в концентрациях 2,5 – 7,5 %

На рисунке 2 показана концентрация живых клеток при культивировании гибридом BAP3 и G3D3 при более низких концентрациях YP. Добавление YP в среду DMEM + ITS обеспечивало пролиферацию клеток при использовании в концентрациях от 0.01% до 0.5%. При этом для BAP3 в данном диапазоне концентраций зависимости максимальной концентрации живых клеток от содержания YP в среде не наблюдали, в то время как для G3D3 видна положительная корреляция между этими параметрами. Тем не менее, статистически значимых различий для концентраций живых клеток на третий день культивирования между группами, для которых в среду добавляли YP, по U-критерию Манна — Уитни не обнаружено.

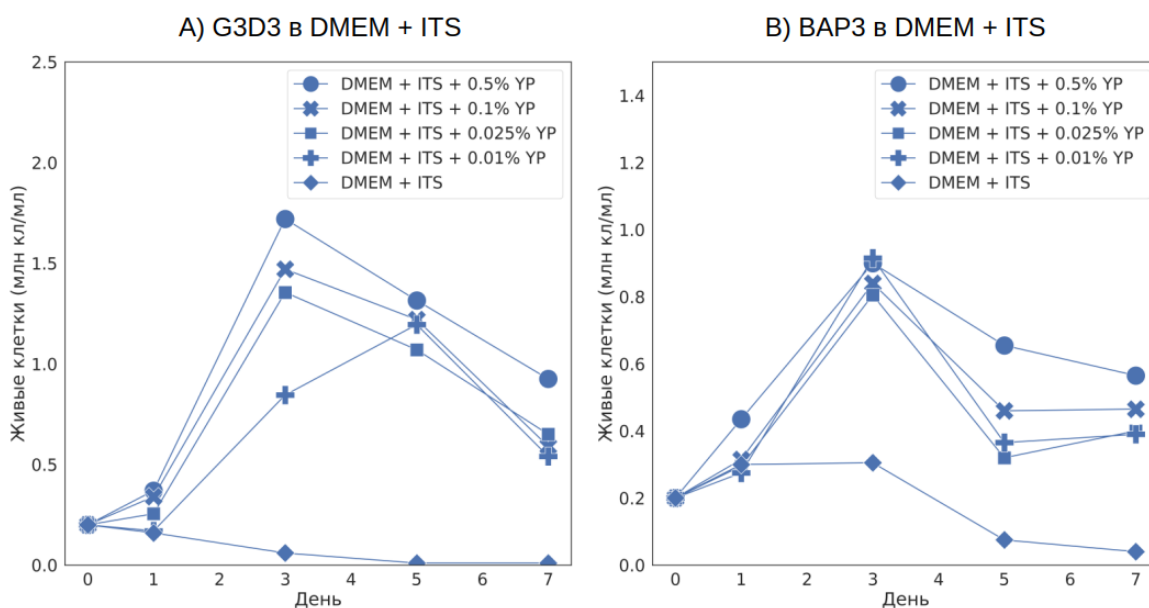


Рисунок 2 – Динамика изменения концентрации живых клеток при культивировании гибридом G3D3 (A) и BAP3 (B) в среде DMEM + ITS + YP в концентрациях 0,01 – 0,5 %

Нами также была проведена оценка содержания белка в YP по методу Бредфорда [9], адаптированному для 96-ти луночных планшетов. Для этого в лунки планшета вносили по 10 мкл образца (среда DMEM + YP) и 190 мкл реактива Бредфорда. Планшет инкубировали на шейкере в течение 30 минут, затем измеряли поглощение при длине волны 595 нм. Для построения калибровочной кривой использовали серию двухкратных разведений БСА в дистиллированной воде в концентрациях от 0.03125 до 1 мг/мл. Концентрация белка в 0.01% растворе YP составила 4.51 мкг/мл.

Takazawa et al [7] в своей работе для стимулирования пролиферации гибридомных клеток использовали липопротеин низкой плотности (VLDL), выделенный из желтка куриного яйца в концентрациях от 2.5 до 25 мкг белка на 1 мл среды. При этом, использованный ими метод получения VLDL включал в себя несколько стадий хроматографической очистки и диализа [10]. Хорошо известно, что содержание в среде белков является одним из основных факторов, затрудняющих очистку продуктов культивирования [11]. YP, полученная по предлагаемому нами методу, позволила стимулировать пролиферацию клеток при сопоставимой с VLDL концентрацией животного белка в среде. С нашей точки зрения, это позволяет задуматься о возможности использования YP (получение которой не требует многоэтапной очистки желтка куриного яйца) в качестве добавки в культуральные среды, особенно, когда полученные в результате культивирования продукты будут применяться только *in vitro* или предназначены исключительно для исследовательских целей.

Таким образом, мы экспериментально подтвердили возможность применения YP, полученной по предлагаемой нами методике, для повышения пролиферации гибридомных клеток BAP3 и G3D3 во всех использованных концентрациях при культивировании в среде DMEM + ITS.

Библиографический список

1. Murakami H., Yamada K., Shirahata S., Enomoto A., Kaminogawa S. Physiological enhancement of immunoglobulin production of hybridomas in serum-free media // *Cytotechnology*. – 1991. – V.5. – №1. – P. 83-94.
2. Pakkanen R., Kanttinen A., Satama L., Aalto J. Bovine colostrum fraction as a serum substitute for the cultivation of mouse hybridomas // *Applied Microbiology and Biotechnology*. – 1992. – V.37. – №4. – P. 451-456.
3. Guimont C., Marchall E., Girardet J. M., Linden G., Otani H. Biologically active factors in bovine milk and dairy byproducts: Influence on cell culture // *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*. – 1997. – V.37. – №4. – P. 393-410.
4. Fujii D. K., Gospodarowicz D. Chicken egg yolk-supplemented medium and the serum-free growth of normal mammalian cells // *In Vitro*. – 1983. – V.19. – №11. – P. 811-817.
5. Martis M. J., Schwarz R. I. A simple fractionation of chicken egg yolk yields a protein component that stimulates cell proliferation and differentiation in primary avian tendon cells // *In Vitro Cellular & Developmental Biology*. – 1986. – V.22. – №5. – P. 241-246.
6. Shinohara K., Fukushima T., Suzuki M., Tsutsumi M., Kobori M., Kong Z-L. Effect of some constituents of chicken egg yolk lipoprotein on the growth and IgM production of human-human hybridoma cells and other human-derived cells // *Cytotechnology*. – 1993. – V.11. – №2. – P. 149-154.

7. Takazawa Y., Tokashiki M., Murakami H., Yamada K., Omura H. High-Density culture of mouse-human hybridoma in serum-free defined medium // *Biotechnology and Bioengineering*. – 1988. – V.31. – №2. – P. 168-172.
8. Composition and Structure of Hen Egg Yolk // *Bioactive Egg Compounds* / R. Huopalahti, R. López-Fandiño, M. Anton, R. Schade. – Heidelberg, 2007. – Ch. 1. – P. 1-6.
9. Bradford M. M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding // *Analytical Biochemistry*. – 1976. – V.72. – №1-2. – P. 248-254.
10. Murakami H., Okazaki Y., Yamada K., Omura H. Egg yolk lipoprotein, a new supplement for the growth of mammalian cells in serum-free medium // *Cytotechnology*. – 1988. – V.1. – №2. – P. 159-169.
11. Darfler, Frederick J. A Protein-Free Medium for the Growth of Hybridomas and Other Cells of the Immune System // *In Vitro Cellular & Developmental Biology* – 1990 – V.26 – №8 – P. 769–78

ВЛИЯНИЕ ГРЕЛИНА НА СУБПОПУЛЯЦИОННЫЙ СОСТАВ И ЭКСПРЕССИЮ TIM-3 МОЛЕКУЛ НА НАТУРАЛЬНЫХ КИЛЛЕРАХ *IN VITRO*

Орлова Е.Г.^{1,2}, Логинова О.А.¹, Горбунова О.Л.¹, Баянгулова А.Р.², Ширшев С.В.¹

¹Институт экологии и генетики микроорганизмов УрО РАН
- филиал ПФИЦ УрО РАН, г. Пермь, Россия

²Пермский государственный национальный исследовательский университет, Пермь, Россия

Аннотация. Изучена роль гормона грелина в регуляции субпопуляционного состава и экспрессии Tim-3 молекул на НК-клетках в системе *in vitro*. Установлено, что в концентрации, характерной для беременности, грелин уменьшал количество цитотоксических CD56^{dim}CD16⁺ НК-клеток, но не влиял на процентное содержание регуляторных CD56^{bright}CD16⁻ и цитотоксических минорных CD56⁻CD16⁺ НК-клеток при 72ч инкубации в культуре *in vitro*. Грелин не влиял на экспрессию Tim-3 на исследованных субпопуляциях НК-клеток. Блокада Tim-3-рецепторов отменяла угнетающий эффект грелина на процентное содержание цитотоксических CD16⁺CD56^{dim} НК-клеток в культуре. Таким образом, показана вовлеченность Tim-3-зависимых механизмов регуляции грелином количества цитотоксических CD16⁺CD56^{dim} НК-клеток в культуре *in vitro*.

Ключевые слова: грелин, натуральные киллеры, Tim-3, беременность

THE INFLUENCE OF GHRELIN ON THE SUBPOPULATION COMPOSITION AND TIM-3 EXPRESSION ON NATURAL KILLERS *IN VITRO*

Orlova E.G.^{1,2}, Loginova O.A.¹, Gorbunova O.L.¹, Bayangulova A.R.², Shirshev S.V.¹

¹ Institute of Ecology and Genetic of microorganisms, Ural Branch of the Russian Academy of Sciences - branch of the PFRC, Ural Branch of the Russian Academy of Sciences, Perm, Russia

²Perm State National Research University, Perm, Russia

Abstract. The role of the ghrelin in the regulation of the subpopulation composition and Tim-3 expression on NK cells *in vitro* has been studied. It was found that ghrelin in concentration at pregnancy reduced the percentage of cytotoxic CD16⁺CD56^{dim} NK cells, but did not affect the percentage of regulatory CD16⁻CD56^{bright} and cytotoxic minor CD16⁺CD56⁻ NK cells and Tim-3 expression on NK cells at 72h incubation *in vitro*. Blockade of Tim-3 receptors cancelled the depressing effect of ghrelin on the percentage of cytotoxic CD16⁺CD56^{dim} NK cells in culture. Thus, the involvement of Tim3-dependent mechanisms of ghrelin regulation of the number of cytotoxic CD16⁺CD56^{dim} NK cells *in vitro* has been shown.

Key words: ghrelin, natural killers, Tim-3, pregnancy

Натуральные киллеры (НК-клетки) - это лимфоциты, которые способны к контактному цитолизу вирус-инфицированных и опухолевых клеток, а также продуцируют цитокины [6,8]. Популяция НК-клеток периферической крови представлена цитотоксическими CD56^{dim}CD16⁺, регуляторными CD56^{bright}CD16⁻, а также незначительным количеством цитотоксических минорных CD56⁻CD16⁺ [6,8]. При беременности функциональная активность НК-клеток периферической крови изменяется, что связано с ограничением их цитотоксической активности и участием в формировании иммунной толерантности [9].

Известно, что регуляторные NK-клетки периферической крови мигрируют в матку и превращаются в децидуальные NK-клетки (dNK), которые характеризуются высокой экспрессией молекулы Tim-3, которая подавляет цитотоксическую активность NK-клеток и участвует в регуляции их функций [4]. Однако механизмы, регулирующие данный процесс, до конца не изучены.

Грелин является пептидным гормоном, который продуцируется эпителиальными клетками желудка и регулирует аппетит, метаболические процессы, репродуктивную функцию [1]. При беременности концентрация грелина в периферической крови повышается, поскольку он продуцируется еще и плацентой [5]. Грелин регулирует развитие плода, влияет на рост спиральных артерий, а также участвует в контроле цитотоксического потенциала NK-клеток [1,2]. Однако, его роль в трансформации фенотипа NK-клеток при беременности не изучена.

Поэтому целью данной работы является изучение роли грелина в концентрации, характерной для беременности, в Tim-3-зависимой регуляции субпопуляционного состава NK-клеток в системе *in vitro*.

Материалы и методы исследования

Объектом исследования являлись NK-клетки периферической крови здоровых небеременных фертильных женщин-нормостеников (индекс массы тела от 18-25) в фолликулярной фазе менструального цикла в возрасте 21-29 лет (n=12). Критериями включения являлось: отсутствие острых и хронических соматических, эндокринных, аутоиммунных, генетических заболеваний; отрицание диет, употребления контрацептивных, гормональных, противовоспалительных, антибактериальных препаратов; наличие добровольного информированного согласия на использование биологического материала.

Кровь забирали утром натощак из локтевой вены в пробирку с гепарином. Мононуклеарные клетки периферической крови (МПК) получали методом седиментации в градиенте плотности фиколл-урографина по стандартной методике. NK-клетки выделяли методом негативной иммуномагнитной сепарации (ИМС) коммерческим набором (Miltenyi Biotec, США).

Выделенные NK-клетки (1×10^6) культивировали в 0,3 мл полной питательной среде (RPMI 1640, 10% эмбриональная телячья сыворотка ("Sigma-Aldrich", США), 10 mM Hepes ("ICN Pharmaceuticals, Inc.", США), 2 mM L-глутамин ("ICN Pharmaceuticals, Inc."), 100 мкг/мл гентамицин ("KRKA", Словения)) в 96-луночных планшетах в течение 72 часов при 37°C во влажной атмосфере и 5% CO₂. Для поддержания жизнеспособности NK-клеток во все культуры вносили IL-15 (10 нг/мл) и IL-2 (500 нг/мл) (Cloud-CloneCorp, США) [7]. Эти пробы использовались как контрольные. Грелин в культуры вносили в концентрации 1,25 нг/мл, соответствующей его содержанию в периферической крови в I триместре беременности [5]. Для изучения Tim-3-зависимых механизмов в ряд проб добавляли анти-Tim-3 блокирующие антитела (10 мг/мл) [7]. После 72ч инкубации производили окрашивание клеток моноклональными антителами, меченными разными флюорохромами (таблица 1).

Таблица – Характеристика использованных моноклональных антител

Антитело	Флюорохром	Клон	Изотип	Компания-производитель
CD3	PE	OKT3	Mouse/IgG2a, k	eBioscience, США
CD16	Pacific blue™	3G8	Mouse/IgG1, k	BioLegend, США
CD56 (NCAM)	Brilliant Violet 605™	HCD56	Mouse/IgG1, k	BioLegend, США
Tim-3(CD366)	Ultra-LEAF™	F38-2E2	Mouse/IgG1, κ	BioLegend, США
ZombieUV™	-	-	-	BioLegend, США

Оценка фенотипа NK-клеток производилась методом проточной цитометрии (проточный цитометр «CytoFlex S», Beckman Coulter, США) при помощи программного обеспечения «CytExpert 2.0» и Kaluza 1.5. Анализировали не менее 100 000 событий в каждой пробе. NK-клетки определяли как CD3-негативные, экспрессирующие CD16 и CD56. Выделили 3 субпопуляции NK-клеток: цитотоксические $CD56^{\dim} CD16^+$, регуляторные $CD56^{\text{bright}} CD16^-$, цитотоксические минорные $CD56^- CD16^+$. После ИМС частота выделения NK-клеток составила 95% и более. После 72ч инкубации соотношение субпопуляций NK-клеток не изменялось (рисунок 1).

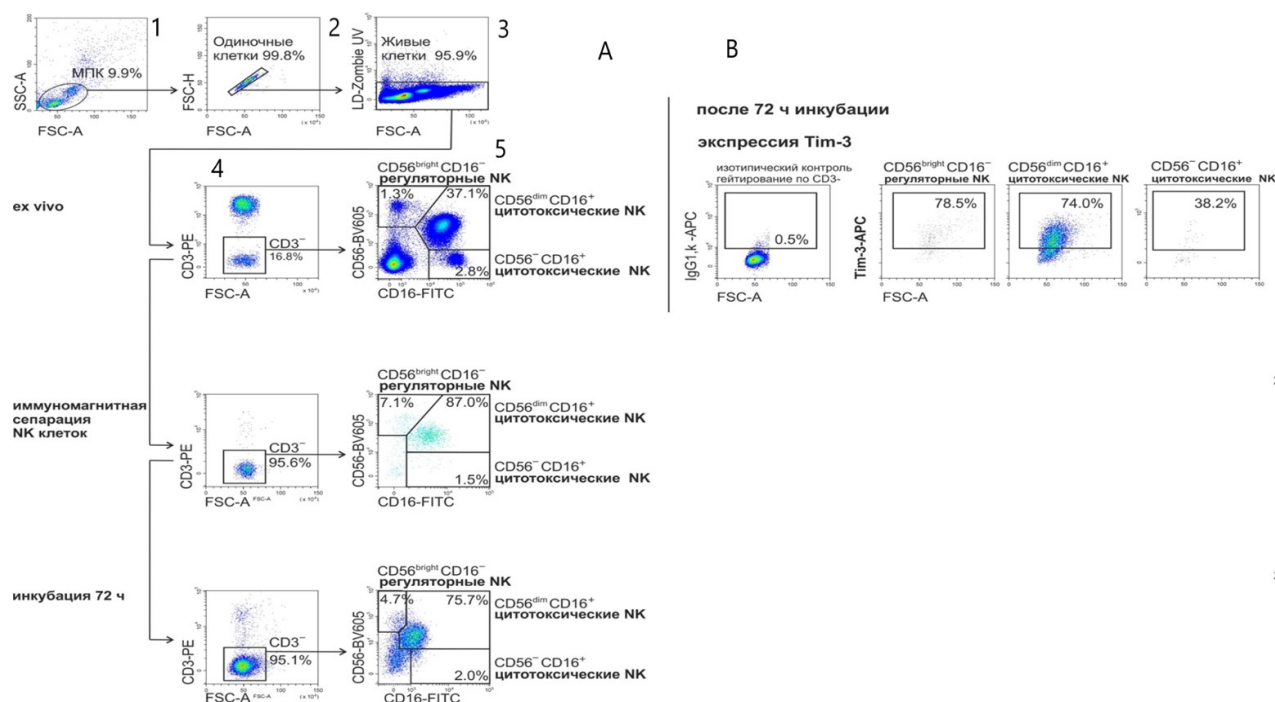


Рисунок 1 – Стратегия гейтирования, используемая для анализа разных субпопуляций NK-клеток периферической крови и экспрессии молекулы Tim-3. (А) 1 - выделение лимфоцитарного гейта по параметрам площади прямого (FSC-A) и высоты бокового (SSC-H) светорассеивания; 2 - дискриминация слипшихся клеток (дуплетов) по параметрам площади и высоты прямого светорассеивания (FSC-A/FSC-H); 3 – определение живых клеток, негативных по окрашиванию Zombie UV™ (BioLegend); 4 - выделение негативной популяций по маркеру CD3 в гейте живых МПК; 5 - определение регуляторной субпопуляции NK-клеток как процента $CD56^{\text{bright}}CD16^-$ и цитотоксических субпопуляций NK-клеток как процента $CD56^{\dim}CD16^+$ и $CD56^-CD16^+$ в гейте CD3-негативных МПК. (В) оценка экспрессии молекулы Tim-3 в исследуемых субпопуляциях NK-клеток. На рисунке 1 представлены гистограммы одного репрезентативного эксперимента.

Для проверки нормальности распределения использовался критерий Шапиро-Уилка. Значимость различий между группами определяли с помощью парного критерия Вилкоксона, а при множественных сравнениях использовали дисперсионный анализ (критерий Фридмана ANOVA для зависимых выборок).

Результаты исследования

Установлено, что после 72ч инкубации в присутствии цитокинов определялись три субпопуляции NK-клеток (рисунок 2). Как и в периферической крови преобладающими были цитотоксические $CD56^{dim}CD16^{+}$ NK-клетки (более 80%), менее 10% выявлялось регуляторных $CD56^{bright}CD16^{-}$ и минорных цитотоксических $CD56^{-}CD16^{+}$ NK-клеток. Грелин влиял на распределение NK-клеток в культуре, уменьшая количество цитотоксических $CD56^{dim}CD16^{+}$ NK-клеток по сравнению с контрольной пробой, но достоверно не влиял на процентное содержание регуляторных $CD56^{bright}CD16^{-}$ и цитотоксических минорных $CD56^{-}CD16^{+}$ NK-клеток (рисунок 2). Можно полагать, что грелин влияет на трансформацию фенотипа цитотоксических $CD56^{dim}CD16^{+}$ NK-клеток, способствуя увеличению процента регуляторных $CD56^{bright}CD16^{-}$ NK-клеток, что согласуется с результатами наших ранее проведенных исследований [2,3].

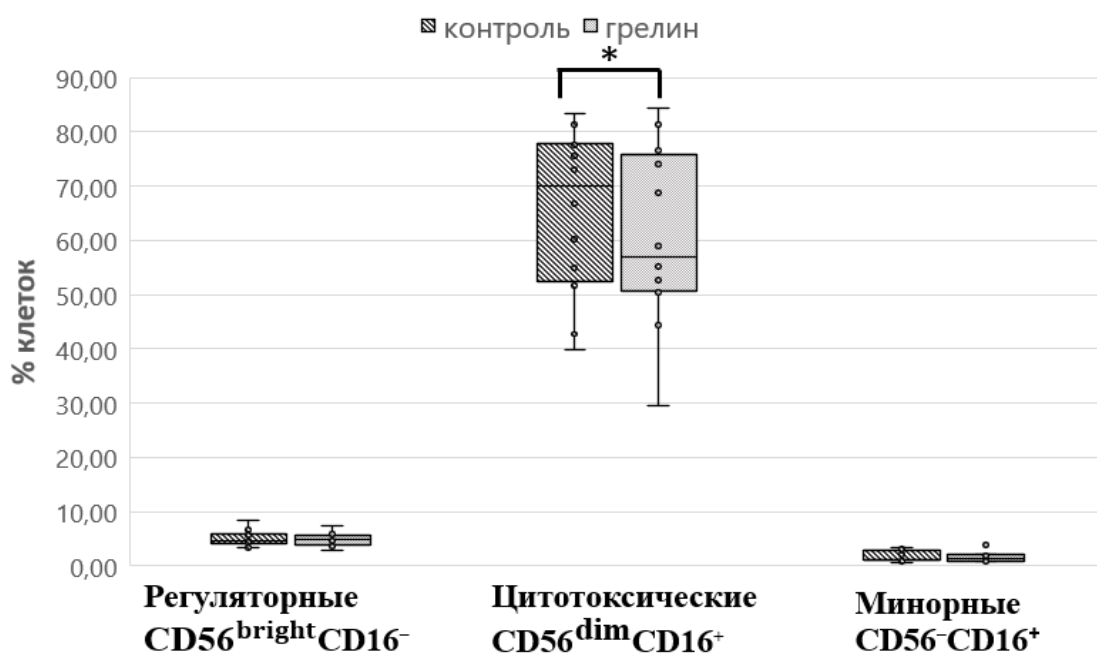


Рисунок 2 – Соотношение субпопуляций NK-клеток в культуре *in vitro* после 72 ч инкубации с грелином (* – достоверные различия по критерию Вилкоксона; данные в рисунках 2-4 представлены в виде медианы, нижнего и верхнего квартилей).

Для изучения Tim-3-зависимых механизмов использовали специфические антитела, которые связываются с молекулами Tim-3, препятствуя трансдукции сигнала и реализации Tim-3-зависимых эффектов. Установлено, что блокада Tim-3-рецепторов не влияет на соотношение субпопуляций NK-клеток в культуре *in vitro* (рисунок 3). При этом, блокада Tim-3-рецепторов отменяла угнетающий эффект грелина на процентное содержание цитотоксических $CD56^{dim}CD16^{+}$ NK-клеток в культуре (рисунок 3).

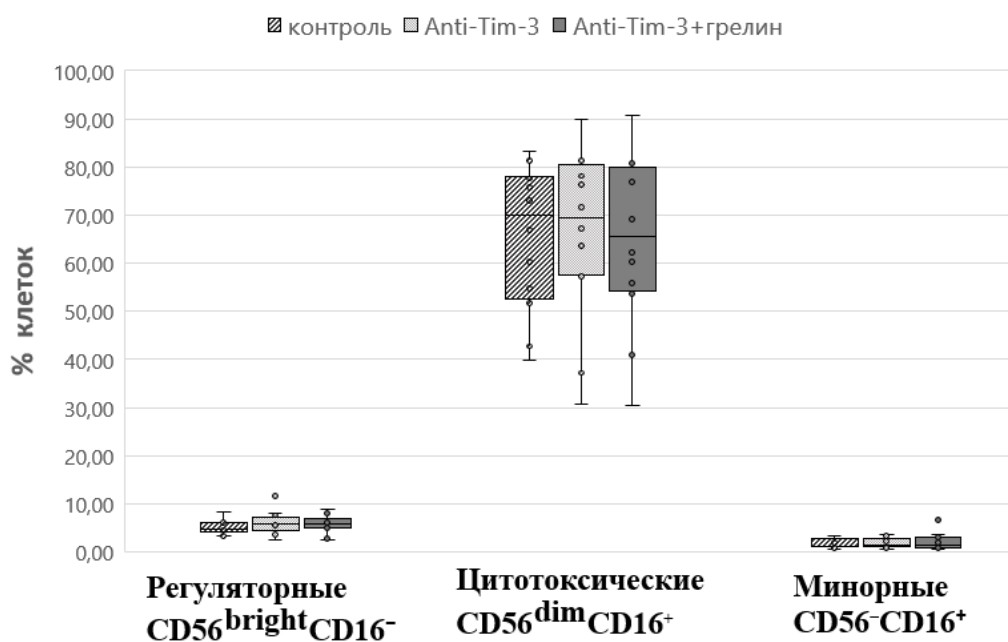


Рисунок 3 – Влияние грелина на фоне блокады Tim-3 на соотношение субпопуляций НК-клеток в культуре *in vitro*.

Добавление анти-Tim-3 антител снижало процент Tim-3-экспрессирующих НК-клеток во всех субпопуляциях (рисунок 4). Грелин на фоне блокады Tim-3-рецепторов не влиял на процент Tim-3-экспрессирующих НК-клеток во всех субпопуляциях (рисунок 4).

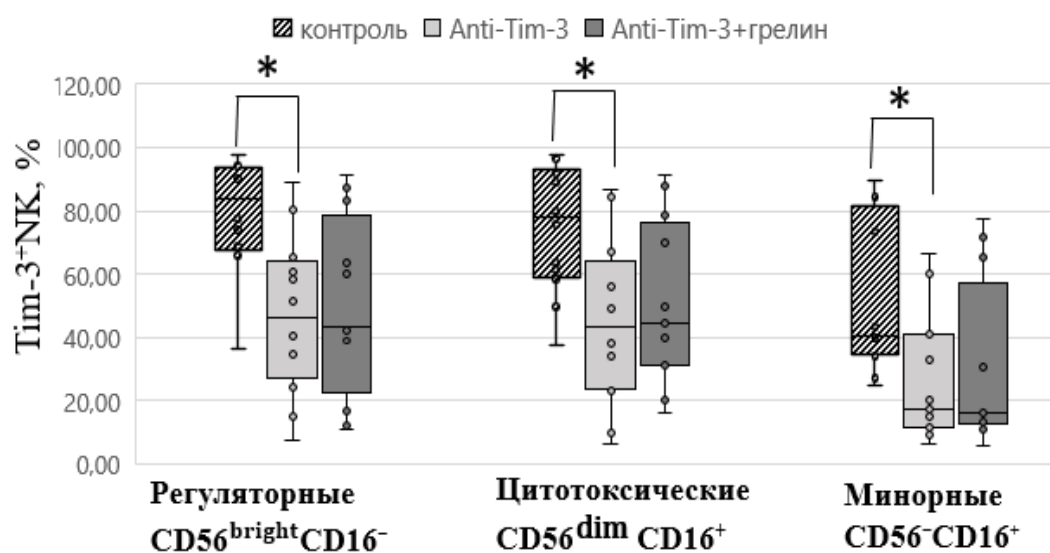


Рисунок 4 – Влияние грелина на фоне блокады Tim-3-рецепторов на экспрессию Tim-3 в культуре *in vitro*. (* – достоверные различия по критерию Фридмана).

Таким образом, грелин в концентрации, характерной для беременности влияет на снижение количества цитотоксических НК-клеток, по-видимому, используя Tim-3-зависимые механизмы. Полученные результаты расширяют имеющиеся представления о механизмах регуляции функциональной активности НК-клеток при беременности.

Библиографический список

1. Логинова О.А., Орлова Е.Г., Ширшев С.В. Физиологические эффекты грелина // Вестник Пермского университета. Сер.: Биология. 2018. Вып. 4. С. 443-453. DOI: 10.17072/1994-9952-2018-4-443-453.
2. Ширшев С. В. и др. Гормональная регуляция цитотоксической активности НК-клеток // Доклады академии наук. – Федеральное государственное бюджетное учреждение "Российская академия наук", 2017. Т. 472. №. 1. С. 106-108.
3. Ширшев С.В. и др. Роль гормонов, ассоциированных с гестацией, в регуляции экспрессии молекул, отвечающих за функциональную активность НК-клеток // Доклады Академии наук. 2014. Т. 457, № 5. С. 618–621.
4. Carlino, C. et al. Recruitment of circulating NK cells through decidual tissues: a possible mechanism controlling NK cells accumulation in the uterus during early pregnancy // Blood. 2008. Vol. 111, №6. P. 3108-15
5. Fuglsang J. et al. Ghrelin and its relationship to growth hormones during normal pregnancy // Clinical endocrinology. 2005. Т. 62, №. 5. С. 554-559.
6. Krzewski K., Strominger J. L. The killer's kiss: The many functions of NK cell immunological synapses // Curr. Opin. Cell Biol. 2008. Vol. 20, № 5. P. 597–605.
7. Orlova E. G., Loginova O.A., Gorbunova O.L., Shirshev S.V. Galectin-9 influences the Tim-3 molecule expression in natural killer different subpopulations // Medical Immunology (Russia). 2023. Т. 25, №. 3. С. 469-476.
8. Saito S., Nakashima A., Myojo-Higuma S., Shiozaki A. The balance between cytotoxic NK cells and regulatory NK cells in human pregnancy // J. of Reprod. Immunol. 2008. –Vol. 77(1). –P. 14–22.
9. Shojaei Z., Jafarpour R., Mehdizadeh S., Bayatipoor H., Pashangzadeh S., Motalebnezhad M. Functional prominence of natural killer cells and natural killer T cells in pregnancy and infertility: A comprehensive review and update // Pathol. Res. Pract. 2022. Vol. 238. P. 154062.

ВЛИЯНИЕ АНТРОПОГЕННОГО ЗАГРЯЗНЕНИЯ ОБЪЕКТОВ ОКРУЖАЮЩЕЙ СРЕДЫ ТЯЖЕЛЫМИ МЕТАЛЛАМИ НА НЕЙРОПСИХИЧЕСКОЕ РАЗВИТИЕ ДЕТЕЙ

Елькина Е.Б.¹, Устинова О.Ю.^{1,2}

¹ФГАОУ ВО «Пермский государственный национальный исследовательский университет»,
614990, Пермь;

²ФБУН «Федеральный научный центр медико-профилактических технологий управления
рисками здоровью населения»

Аннотация. Чувствительность детей к загрязнению окружающей среды, в том числе тяжелыми металлами, выше, чем у взрослых по причине большей уязвимости к воздействию химических факторов. Цель работы – исследовать уровень нейропсихического развития детей в условиях хронического аэрогенного воздействия тяжелых металлов с нейротропным механизмом воздействия. Материалы и методы. Исследованы уровень содержания тяжелых металлов в биосредах и нейропсихологическое развитие у детей, проживающих в загрязненном городе Ачинск Красноярского края и на условно чистой территории (г. Дивногорск). Результаты. Выявлено, что содержание марганца, алюминия, никеля, ванадия в группе наблюдения достоверно в 1,2-2,1 раза превышало аналогичные показатели группы сравнения. Кроме того, содержание ванадия в группе наблюдения достоверно более чем в 11 раз превышало референсное значение. Интегральный индекс нейропсихологического развития детей группы наблюдения в 1,4 раза ниже показателя группы сравнения, а уровень тревожности и частота формирования стресс-индуцированных состояний – в 2,7 и 4,2 раза выше. Заключение. Содержание большинства тяжелых металлов в биосредах группы наблюдения превышает таковое для группы сравнения. При этом у группы наблюдения отмечается снижение уровня нейропсихологического развития и повышение уровня тревожности.

Ключевые слова: загрязнение, тяжелые металлы, дети, нейропсихологическое развитие, тревожность

INFLUENCE OF ANTHROPOGENIC POLLUTION OF ENVIRONMENTAL OBJECTS WITH HEAVY METALS ON THE NEUROPSYCHICAL DEVELOPMENT OF CHILDREN

Elkina E.B.¹, Ustinova O.Yu.^{1,2}

¹Perm State University, Perm,

²Federal Scientific Center for Medical and Preventive Health Risk Management Technologies,
Perm,

Abstract. The sensitivity of children to environmental pollution, including heavy metals, is higher than that of adults due to their greater vulnerability to chemical factors. The purpose of the work is to study the level of neuropsychic development of children under conditions of chronic aerogenic exposure to heavy metals with a neurotropic mechanism of action. Materials and methods. The level of heavy metals in bioenvironments and neuropsychological development in children living in the polluted city of Achinsk, Krasnoyarsk Territory and in a conditionally clean area (Divnogorsk) were studied. Results. It was revealed that the content of manganese, aluminum, nickel, vanadium in the

observation group was significantly 1.2-2.1 times higher than the same indicators in the comparison group. In addition, the vanadium content in the observation group was significantly more than 11 times higher than the reference value. The integral index of neuropsychological development of children in the observation group is 1.4 times lower than that of the comparison group, and the level of anxiety and the frequency of stress-induced states are 2.7 and 4.2 times higher. Conclusion. The content of most heavy metals in the biological media of the observation group exceeds that of the comparison group. At the same time, the observation group showed a decrease in the level of neuropsychological development and an increase in the level of anxiety.

Key words: pollution, heavy metals, children, neuropsychological development, anxiety.

Введение

Загрязнение окружающей среды тяжелыми металлами превратилось в серьезную глобальную экологическую проблему, угрожающую природным экосистемам и здоровью человека [1]. Дети более чувствительны к воздействию неблагоприятных экологических факторов загрязнения окружающей среды [2]. Обменные процессы характеризуются анаболической направленностью, а системы детоксикации – незрелостью ферментативных систем, в связи с чем, последствия неблагоприятного воздействия химических факторов загрязнения окружающей среды проявляются в более короткие сроки [3]. Экзогенные воздействия экотоксикантов приводят к различным неврологическим нарушениям, особенно если они возникают в критические периоды структурного развития мозга, однако способы коррекции таких нарушений остаются невыясненными [4, 5]. Данные по воздействию тяжелых металлов на когнитивные функции детей ограничены. Известно, что воздействие избыточного уровня Pb, Hg, хроническое воздействие As, Cd и интоксикация Mn связаны со снижением IQ у детей; развитием синдрома дефицита внимания с гиперактивностью, аутизма и агрессивного поведения; нарушением языковых способностей, памяти, внимания и моторных навыков [6].

Цель работы – исследовать уровень нейropsychического развития детей в условиях хронического аэрогенного воздействия тяжелых металлов с нейротропным механизмом воздействия.

Задачами работы являются оценка результатов химико-аналитического исследования содержания тяжелых металлов в биосредах детей, проживающих в условно чистом городе и промышленном центре с загрязнением объектов среды обитания (атмосферный воздух, вода, почва) тяжелыми металлами, изучении особенностей нейropsychического развития детей с различным уровнем содержания тяжелых металлов в биосредах и проведении сравнительного анализа полученных данных у обследованных детей.

Материалы и методы

Исследования нейropsychического состояния детей и уровня ТМ в их биологических жидкостях проводилось в двух городах. Неблагополучная обстановка по уровню ТМ присутствует в г. Ачинск. За контрольный город (условно чистый) по уровню ТМ был принят Дивногорск. В результате было сформировано две группы детей: группа 1 (группа наблюдения) из г. Ачинск Красноярского края и группа 2 (группа сравнения) из г. Дивногорск.

Неблагополучная обстановка по загрязнению объектов окружающей среды ТМ характерна для г. Ачинск Красноярского края, что обусловлено размещением на его территории одного из самых крупных в РФ предприятий цветной металлургии. В группу наблюдения были отобраны дети проживающие или посещающие ДОО в непосредственной близости от предприятия. г. Дивногорск Красноярского края в качестве территории сравнения

был выбран потому, что он располагается в рекреационной зоне и характеризующийся удовлетворительными гигиеническими показателями состояния объектов окружающей среды (группа сравнения) (табл. 1, 2).

Согласно данным натурных исследований, выполненных специалистами Федерального центра медико-профилактических технологий, содержание в атмосферном воздухе тяжелых металлов в городе Ачинск значительно превышает ПДК по алюминию, ванадию, марганцу, меди, никелю, свинцу и хрому. В то время как, в городе Дивногорск хром, никель и медь не обнаружены, то есть их концентрации ниже предела определения. По остальным металлам ситуация также значительно лучше.

Таблица 1

Содержание металлов в воздухе в г. Ачинск

Металл	ПДК среднегодовая, мг/ м ³	Концентрация, доли ПДК		
		Минимальная	Средняя	Максимальная
диАлюминий триоксид	0,005	0,21	0,47	0,73
диВанадий пентоксид	0,00007	1,31	1,94	2,56
Марганец и его соединения	0,00005	1,98	2,43	2,87
Медь оксид	0,00002	1,47	2,10	2,74
Никель и его соединения	0,00005	0,29	0,52	0,74
Свинец и его неорганические соединения	0,00015	0,13	0,13	0,13
Хром	0,000008	8,24	29,4	50,6

Содержание металлов в воздухе г. Дивногорск

Металл	ПДК среднегодовая, мг/ м ³	Концентрация, доли ПДК		
		Минимальная	Средняя	Максимальная
диАлюминий триоксид	0,005	0,02	0,03	0,03
диВанадий пентоксид	0,00007	нпо	0,01	0,02
Марганец и его соединения	0,00005	0,08	0,18	0,27
Медь оксид	0,00002	нпо	нпо	нпо
Никель и его соединения	0,00005	нпо	нпо	нпо
Свинец и его неорганические соединения	0,00015	0,00	0,02	0,13
Хром	0,000008	нпо	нпо	нпо

нпо – ниже предела обнаружения; выделены концентрации металлов, значительно превышающие ПДК.

Диагностика уровня ТМ

Возраст детей составил 4-7 лет, всего участвовало в исследовании 54 ребенка: 27 из г. Дивногорск и 27 г. Ачинск. Обе группы сопоставимы по социально-экономическим критериям (уровень образования родителей, доход на члена семьи, жилищные условия, посещение организаций дополнительного образования детей и т. д.), уровню здоровья (I и II группа здоровья) и гендерному признаку: в группе сравнения - 14 мальчиков (51,9%) и 13 (48,1%) девочек, в группе наблюдения – 16 мальчиков (59,3%) и 11 девочек (40,7%) ($p > 0,05$).

Диагностика уровня ТМ проводилась в пробах крови и мочи. Анализ содержания различных представителей ТМ проводили с помощью масс-спектрометрии с индуктивно связанной плазмой и высокоэффективно жидкостной хроматографии (ВЭЖХ). Полученные результаты сравнения содержания ТМ сравнивали с нормами фоновой концентрацией химических элементов в биологических жидкостях (табл. 2-6).

Таблица 2 – Содержание элементов в крови (мкг/дм³)

Элемент	Референтный уровень в крови по Н. Тицу	Региональный фоновый уровень в крови (дети)
Хром	0,7-28,0	0,7-4,7
Ванадий	0,06-0,87	0,01-0,25
Марганец	4,0-16,5	9,0-17,0
Медь	800,0-1900,0 (для детей)	734,0-978,0
Цинк	3500,0-9100,0 (Скандинавия, Rodyshkin, 2001)	4020,0-5520,0
Мышьяк	2,0-23,0	0-0,4
Стронций	10,0-77,0 (Heitland, 2006) 7,0-25,0 (Скандинавия, Rodyshkin, 2001)	7,0-37,0
Кадмий	0-5,0	0-0,3
Свинец	0-100,0 (для детей)	10,7-18,1
Кобальт	0,5-3,9	–
Таллий	0-10,0	–

Результаты исследования сравнивали с референтным уровнем в крови по Н. Тицу и региональным фоновым уровнем содержания ТМ в крови и моче для детей. При выполнении масс-спектрометрии проводили сравнение со значениями в таблицах 4 и 6. Если значение не попадало в тот или иной диапазон, то указывали превышение нормы.

Таблица 3 – Содержание элементов в крови (мкг/дм³) по данным масс-спектрометрии с индуктивно связанной плазмой

Элемент	Референтный уровень в крови по Н. Тицу	Региональный фоновый уровень в крови (дети)
Хром	0,0007-0,028	0,0007-0,0047
Ванадий	0,00006-0,00087	0,00001-0,00025
Марганец	0,004-0,0165	0,009-0,017
Никель	0,001-0,028	0,00023-0,0043
Медь	0,8-1,9 (для детей)	0,734-0,978
Цинк	3,5-9,1 (Скандинавия, Rodyshkin, 2001)	4,02-5,52
Мышьяк	0,002-0,023	0-0,0004
Стронций	0,01-0,077 (Heitland, 2006) 0,007-0,025 (Скандинавия, Rodyshkin, 2001)	0,007-0,037
Кадмий	0-0,005	0-0,0003
Свинец	0-0,099 (для детей)	0,0107-0,0181

Таблица 4 – Содержание элементов к моче (мкг/дм³)

Элемент	Референтный уровень в крови по Н. Тицу	Региональный фоновый уровень в крови (дети)
Хром	0-0,5	0,00075-0,0020
Ванадий	0,08-0,24	0,0003-0,0009
Марганец	0-2,0	0,00028-0,00092
Медь	2,0-80,0	0,0038-0,0162
Цинк	150,0-1200,0	0,076-0,358
Мышьяк	0-35,0	0,0028-0,012
Стронций	18,0-260,0 (Скандинавия, Rodyshkin, 2001)	0,054-0,242
Кадмий	0,0-2,6	0,00005-0,00017
Свинец	0-23,0	0,0005-0,0012
Алюминий	0,0-7,0	—

Таблица 5 – Содержание элементов к моче (мкг/дм³) по данным масс-спектрометрии с индуктивно связанной плазмой

Элемент	Референтный уровень в крови по Н. Тицу	Региональный фоновый уровень в крови (дети)
Хром	0-0,0005	0,00075-0,0020
Ванадий	0,00008-0,00024	0,0003-0,0009
Марганец	0-0,002	0,00028-0,00092
Медь	0,002-0,08	0,0038-0,0162
Цинк	0,15-1,2	0,076-0,358
Мышьяк	0-0,035	0,0028-0,012
Стронций	0,018-0,260 (Скандинавия, Rodyshkin, 2001)	0,054-0,242
Кадмий	0,0005-0,026	0,00005-0,00017
Свинец	0-0,023	0,0005-0,0012
Алюминий	0,0-0,07	—

Оценка нейропсихического развития детей выполнялась по стандартной методике Е.А. Стребелевой “Психолого-педагогическая диагностика развития детей раннего и дошкольного возраста”, а также тесту тревожности (“Выбери нужное лицо”) и определению позитивного и негативного психического состояния (методика “Паровозик”).

Статистическая обработка полученных результатов выполнена с помощью компьютерной программы Microsoft Excel 2019, достоверность отличий проводилась с помощью непарного Т-критерия Стьюдента при уровне значимости $p \leq 0,05$.

Результаты

На основании полученных данных была установлена связь антропогенного загрязнения объектов окружающей среды комплексом тяжелых металлов с нарушениями нейропсихического развития детей 4-7 лет.

Результаты оценки нейропсихологического статуса детей по методике Е.А. Стеблева показало, что интегральный индекс нейропсихологического развития детей группы

наблюдения в 1,4 раза ниже показателя группы сравнения, а уровень тревожности и частота формирования стресс-индуцированных состояний - в 2,7 и 4,2 раза выше. (рисунок)

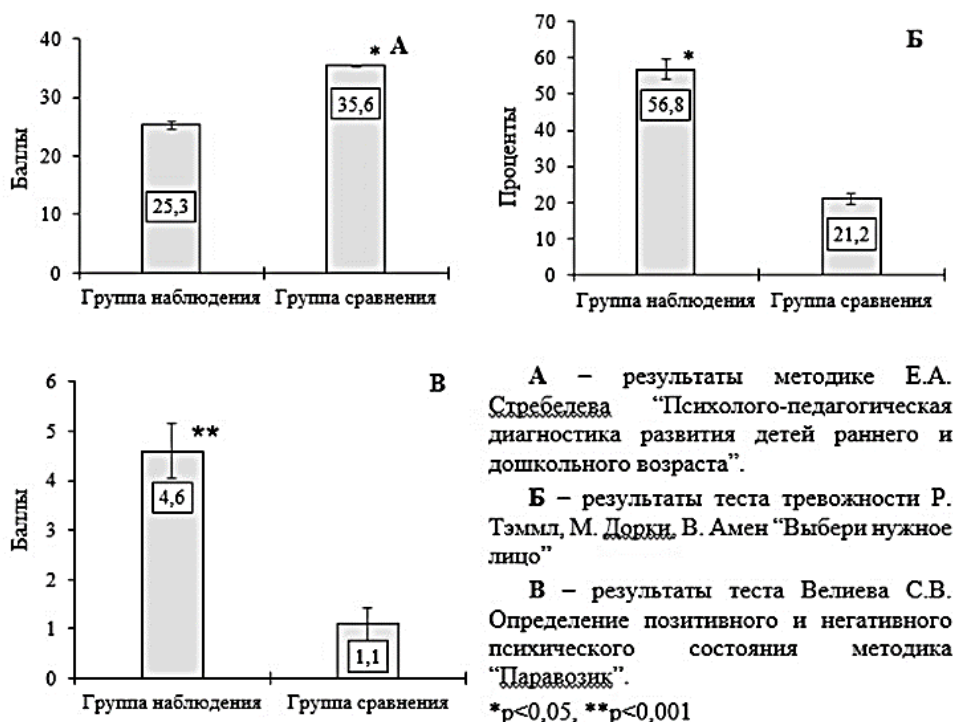


Рисунок – Результаты психологического тестирования обследованных детей.

Анализ содержания нейротоксичных металлов (марганца, алюминия, никеля, ванадия) показал, что в биологических средах детей группы наблюдения достоверно в 1,2-2,1 раза превышало показатели группы сравнения, а содержание хрома и никеля в крови в группе наблюдения достоверно в 1,8-2,6 раза, а ванадия - в 11,5 раз превышали референсные значения.

Заключение

Таким образом, функционирование предприятий металлургического профиля создает на территориях в зоне влияния предприятия повышенный уровень загрязнения объектов окружающей среды обитания комплексом тяжелых металлов (алюминий, марганец, ванадий, медь, хром, никель, свинец), что формирует у детей контаминацию крови марганцем, алюминием, ванадием, хромом, никелем в 1,2-11,5 раза превышающую референтный предел.

У детей с содержанием в крови тяжелых металлов, в 1,2-11,5 раза выше референтного предела, установлено нарушение нейропсихологического развития и повышенный уровень тревожности.

Библиографический список

1. Позднякова О.В. Загрязнение окружающей среды тяжелыми металлами. Охрана труда и техника безопасности на промышленных предприятиях. 2019; 8. <https://panor.ru/articles/zagryaznenie-okruzhayushchey-sredy-tyazhelyimi-metallami/6280.html#>
Pozdnyakova O.V. Environmental pollution with heavy metals. Occupational health and safety

in industrial enterprises. 2019; 8. <https://panor.ru/articles/zagryaznenie-okruzhayushchey-sredy-tyazhelymi-metallami/6280.html#>

2. Разварина И.Н. Влияние экологии городов на здоровье детей дошкольного возраста (по результатам мониторингового исследования). *Социальные аспекты здоровья населения* [сетевое издание] 2021; 67(6):10. URL: <http://vestnik.mednet.ru/content/view/1324/30/lang,ru/>. DOI: 10.21045/2071-5021-2021-67-6-10.

Razvarina I.N. Impact of urban ecology on the health of preschool children (based on the monitoring study results). *Social'nye aspekty zdorov'a naselenia / Social aspects of population health* [serial online] 2021; 67(6):10. Available from: <http://vestnik.mednet.ru/content/view/1324/30/lang,ru/>. (In Rus). DOI: 10.21045/2071-5021-2021-67-6-10.

3. Балева Л.С., Сипягина А.Е. Экологическая педиатрия – актуальная проблема современности. *Рос вестн перинатол и педиатр* 2020; 65:(6): 6–11. DOI: 10.21508/1027–4065–2020–65–6–6–11

Baleva L.S., Sipyagina A.E. Ecologic Pediatrics is a Pressing Challenge of Our Time. *Ros Vestn Perinatol i Pediatr* 2020; 65:(6): 6–11 (in Russ). DOI: 10.21508/1027–4065–2020–65–6–6–11

4. Кабдрахманова Г.Б., Утепкалиева А.П. О роли экотоксикантов в развитии нейротоксикозов // *West Kazakhstan Medical Journal*. 2018. №1 (57). 29-36. Kabdrakhmanova G.B., Utepkaliev A.P. On the role of ecotoxins in the development of neurotoxicosis // *West Kazakhstan Medical Journal*. 2018. No. 1 (57). 29-36.

5. Анатолий В.С., Астраханцева Е.Ю., Скальная М.Г., Мазалецкая А.Л., Тиньков А.А. (2017). Социально-экономические эффекты влияния токсичных металлов на психо-интеллектуальное здоровье детей и подростков. *Микроэлементы в медицине*, 18(3), 3-12. DOI: 10.19112/2413-6174-2017-18-3-3-12

СТРУКТУРНО-ДИНАМИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ ОНКОЛОГИЧЕСКОЙ ЗАБОЛЕВАЕМОСТИ ВЗРОСЛОГО НАСЕЛЕНИЯ ГОРОДА ЧУСОВОЙ В УСЛОВИЯХ ВОЗДЕЙСТВИЯ ХИМИЧЕСКИХ ТЕХНОГЕННЫХ ФАКТОРОВ

Макарова В.А.¹, Устинова О.Ю.²

¹ Пермский государственный национальный исследовательский университет, Пермь, Россия

² ФБУН «Федерального научного центра медико-профилактических технологий управления рисками здоровью населения»

Аннотация. Проведён анализ структурно-динамических особенностей онкологических заболеваний в период 2017-2022 гг. у взрослого населения г. Чусовой, в условиях воздействия химических техногенных факторов. Выявлен рост заболеваемости злокачественными новообразованиями в период 2017—2022 гг.; установлено превышение заболеваемости по сравнению с аналогичными показателями в Пермском крае, Российской Федерации; установлено превышение содержания в крови взрослого населения металлов: ванадия, меди и никеля.

Ключевые слова: злокачественные новообразования, канцерогенный риск, химические техногенные факторы

STRUCTURAL-DYNAMIC ANALYSIS OF CANCER INCIDENCE IN THE ADULT POPULATION CITY OF CHUSOVOY UNDER CONDITIONS OF INFLUENCE OF CHEMICAL TECHNOGENIC FACTORS

Makarova V.A.¹, Ustinova O.Yu.²

¹ Perm State National Research University, Perm, Russia

² FBUN "Federal Scientific Center for Medical and Preventive Technologies for Managing Population Health Risks"

Annotation. An analysis of the structural and dynamic features of cancer diseases in the period 2017-2022 was carried out. among the adult population of Chusovoy, under the influence of chemical man-made factors. An increase in the incidence of malignant neoplasms was revealed in the period 2017–2022; an excess of morbidity was established compared to similar indicators in the Perm region, the Russian Federation; an excess of metals in the blood of the adult population was established: vanadium, copper and nickel.

Key words: malignant neoplasms, carcinogenic risk, chemical technogenic factors

Введение

Злокачественные новообразования относятся к социально-значимым заболеваниям и занимают одно из первых мест причины смертности населения. На их развитие и прогрессирование влияют многочисленные факторы, среди которых существенное место принадлежит воздействию химических веществ техногенного происхождения, обладающих канцерогенными свойствами [8]. Химические канцерогены могут поступать в среду обитания человека из самых разных источников, включая выбросы в атмосферу и сбросы в водоемы

промышленных предприятий, автотранспорт, табачный дым, средства бытовой химии, пестициды, потребительские товары, а также пищевые добавки [10].

Существует множество классов химических веществ и соединений, которые обладают канцерогенными свойствами в том числе тяжелые металлы, такие как ванадий, никель, медь, кадмий, свинец и хром, уникальные свойства и механизмы действия которых, могут приводить к развитию рака. Цель исследования - установить структурно-динамические особенности и рассчитать величину риска развития онкологической заболеваемости, обусловленной воздействием комплекса тяжелых металлов, у взрослого населения проживающего на территории размещения предприятия металлургического профиля (г. Чусовой).

При исследовании обработаны данные учетно-отчетных форм по первично выявленной заболеваемости ЗНО взрослого населения г. Чусовой, Пермского края и Российской Федерации с 2017 по 2022 гг. [1.2.3] (рисунок 1). Использовались данные мониторинга качества среды обитания на территории г. Чусовой (2017-2022 гг.). Исследована кровь методом масс-спектрометрии с индуктивно связанной плазмой и высокоэффективно жидкостная хроматография (ВЭЖХ) у 174 взрослых здоровых жителей г. Чусового в возрасте 19-60 лет, в которых определялись уровни содержания химических соединений (меди, хрома, никеля, кадмия, ванадия и свинца) (таблица).

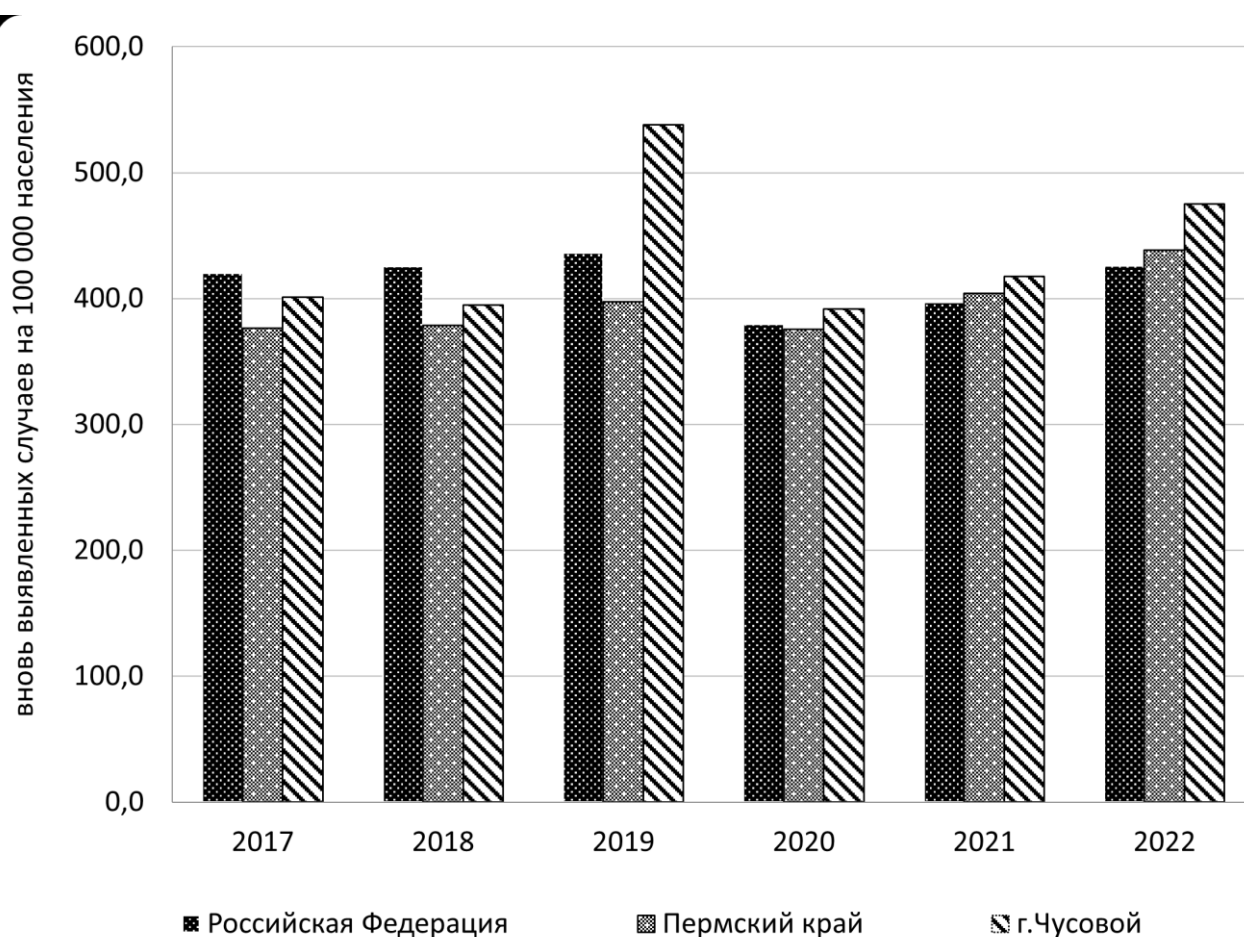


Рисунок 1 – Сравнительный анализ динамики численности впервые выявленных случаев злокачественных новообразований в Российской Федерации, Пермском крае и г. Чусовой (на 100 000 населения).

Темп прироста заболеваемости ЗНО в РФ 2017-2022 гг. составляет 1,3%, в Пермском крае 16,5%, в г. Чусовом 18,5%. В среднем за последние 6 лет показатель заболеваемости ЗНО в РФ, ПК, г. Чусовом имеет тенденцию к росту с незначительными отклонениями в отдельные годы (2020-2021 г.).

Таблица – Содержание металлов в биосредах (кровь) взрослого населения г. Чусового

Показатели	Ванадий	Кадмий	Медь	Никель	Свинец	Хром
Референтные уровни содержания металлов в биосредах (кровь), мг/дм ³	0,00013	0,00014	0,8559	0,00225	0,0144	0,0027
Содержание металлов в крови взрослого населения до 40 лет	0,000836	0	0,974	0,002292	0,010261	0,002217
Содержание металлов в крови взрослого населения старше 40 лет	0,001065	0,00099	1,052	0,003167	0,01015	0,0051

Концентрация металлов в крови у взрослого населения после 40 лет **возрастает** по сравнению с взрослым населением до 40 лет: ванадий на 27,4 %, медь 8%, никель 38,2%, хром 130 %, а концентрация свинца снижается на 1,1 %.

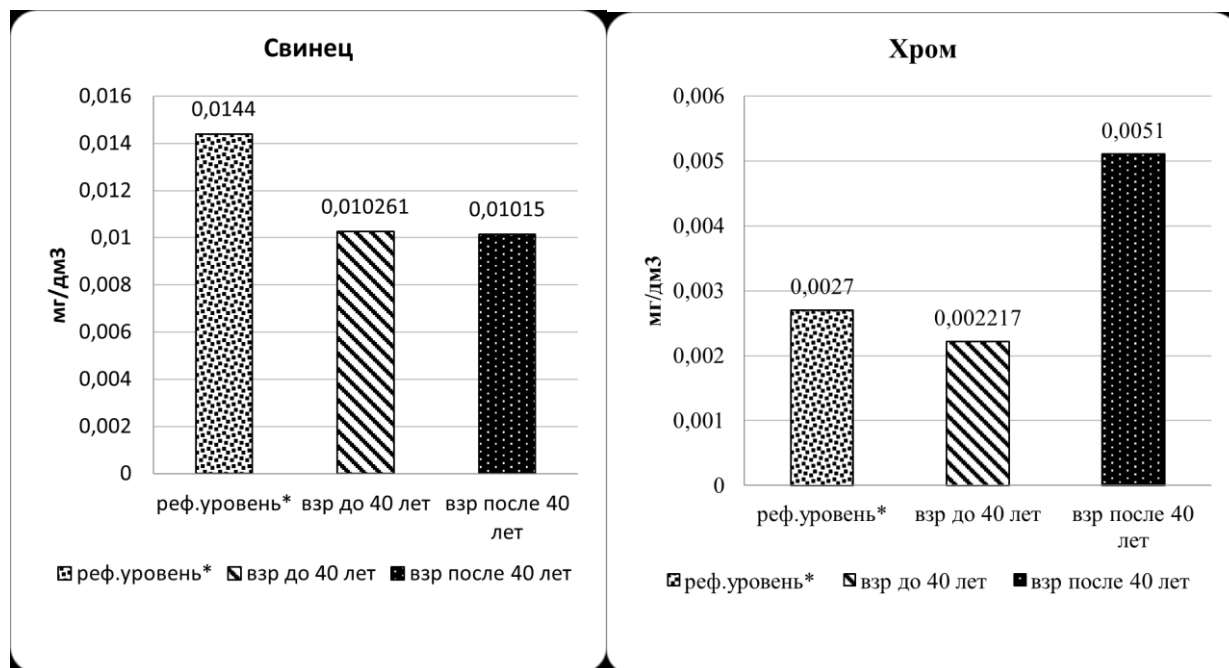


Рисунок 2 – Содержание хрома, свинца (кровь) взрослого населения г. Чусового.

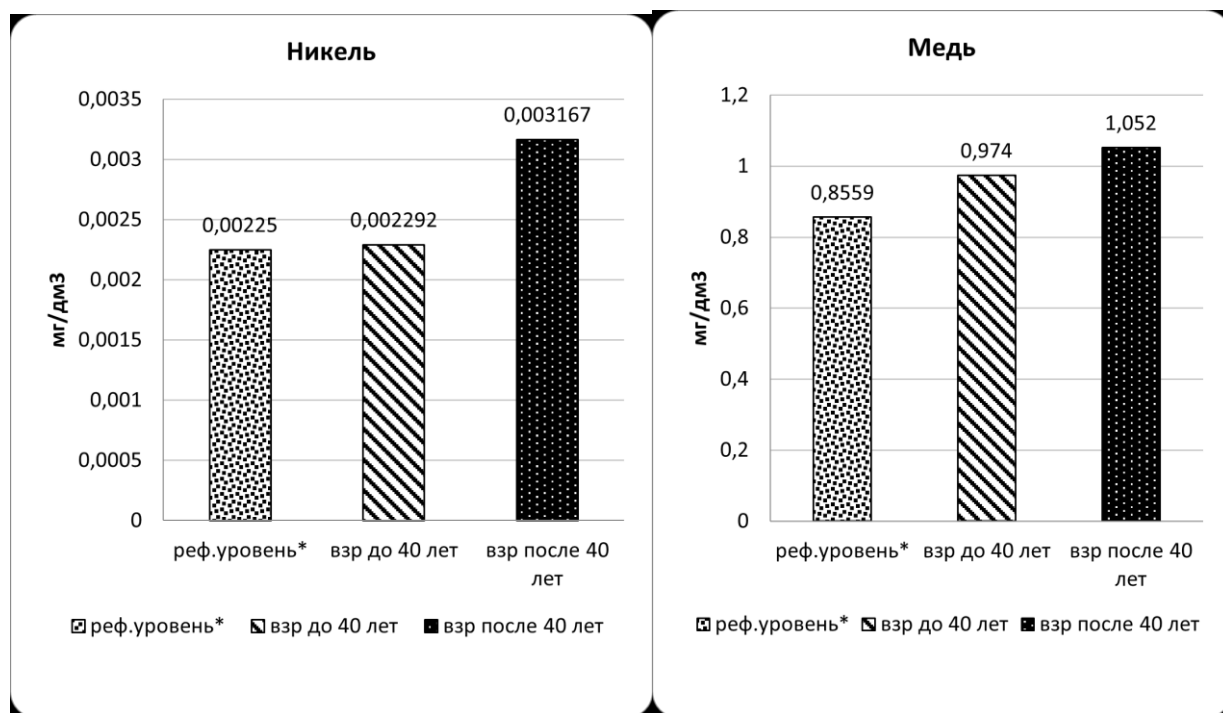


Рисунок 3 – Содержание никеля, меди (кровь) взрослого населения г. Чусового.

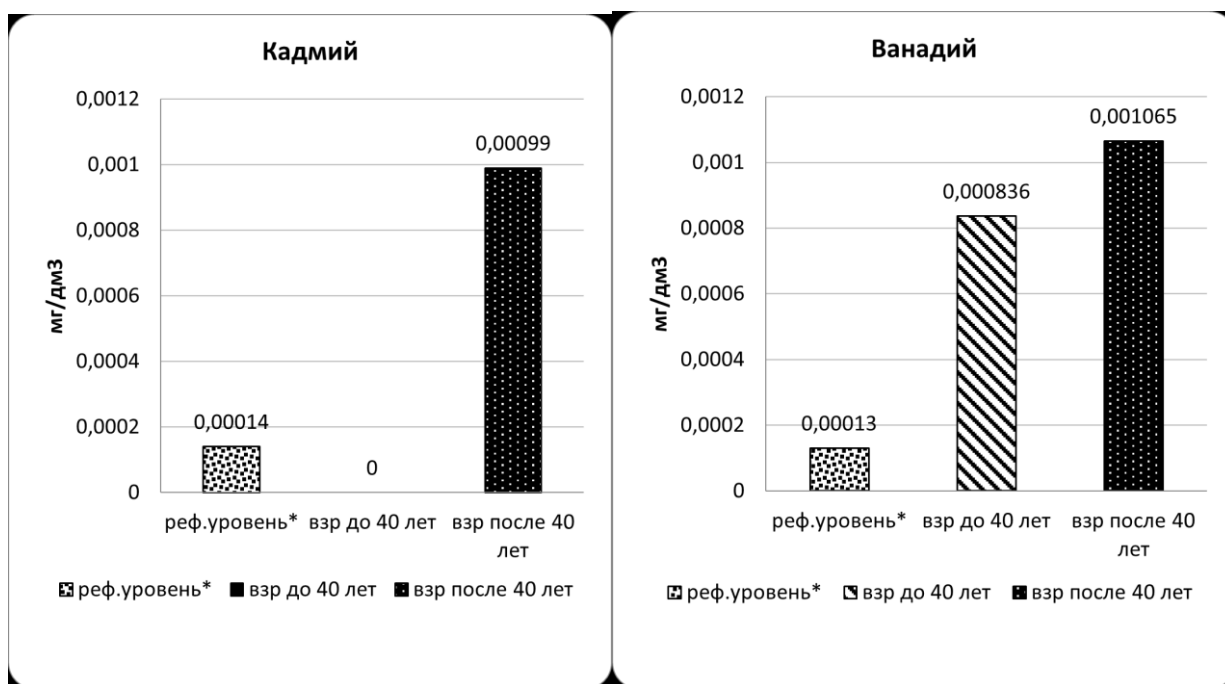


Рисунок 4 – Содержание кадмия, ванадия (кровь) взрослого населения г. Чусового.

Содержание ванадия в крови взрослого населения до 40 лет в 6,4 раза превышает референтный уровень; медь в 1,1; никель в 1,02 раза. Содержания свинца меньше референтного уровня в 1,4; хрома в 1,2 раза.

Содержание ванадия в крови взрослого населения после 40 лет в 8,1 раза превышает референтный уровень; кадмий в 7,1, медь в 1,2; никель в 1,4; хром в 1,8 раза. Содержание свинца меньше референтного уровня в 1,4 раза.

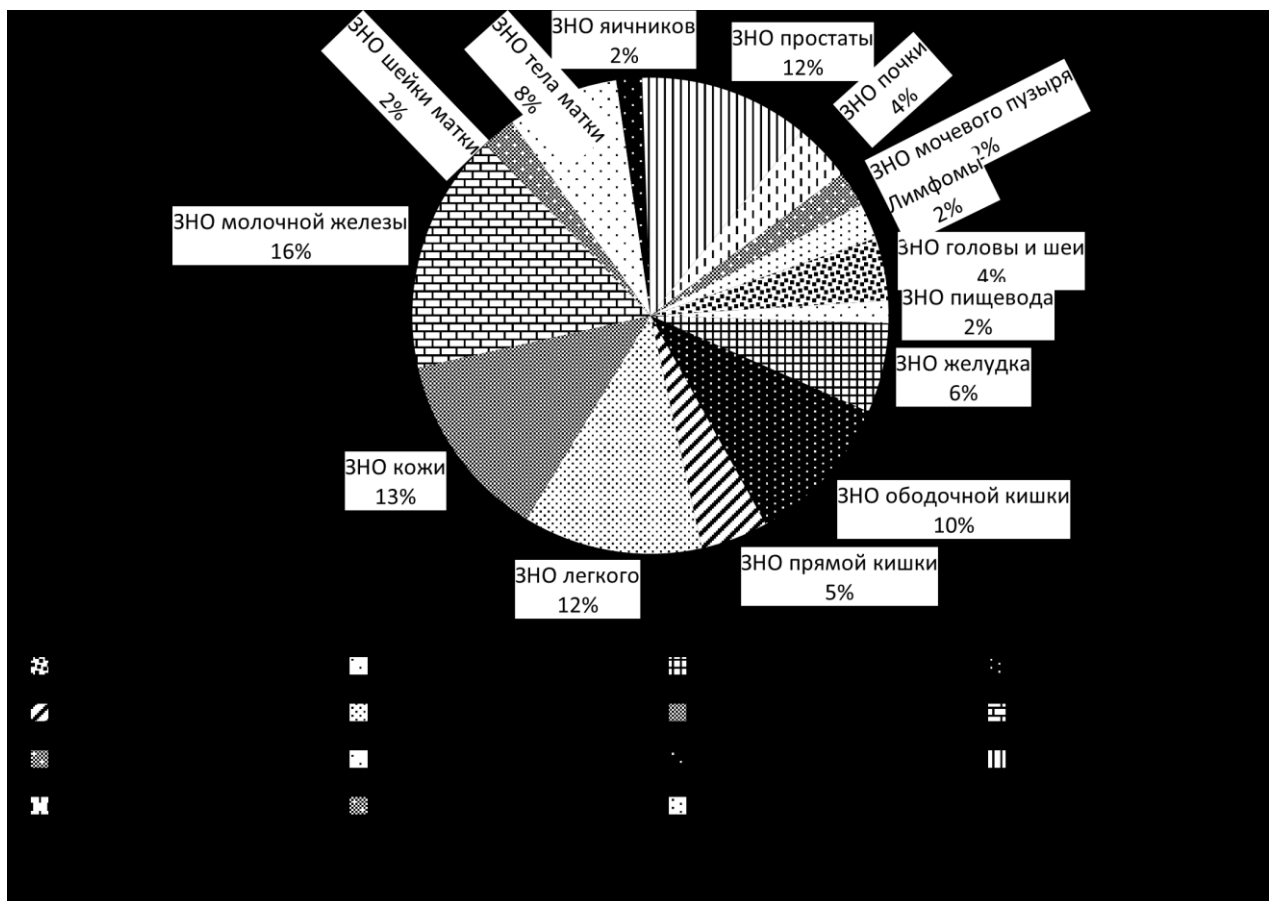


Рисунок 5 – Доля отдельных локализаций в общей структуре заболеваемости ЗНО взрослого населения г. Чусовой, %, 2022 год.

В структуре заболеваемости ЗНО в 2022 году на I месте ЗНО молочной железы, на II - кожи, на III - ЗНО легкого.

На основании данных прирост ЗНО легкого 2017-2022 гг. составляет 40,8%, наблюдается тенденция роста ЗНО кожи 30,6 %, с скачком в 2019 году и снижением заболеваемости в 2020 году. Высокие показатели заболеваемости ЗНО молочной железы 2017г., 2019г., 2022г.

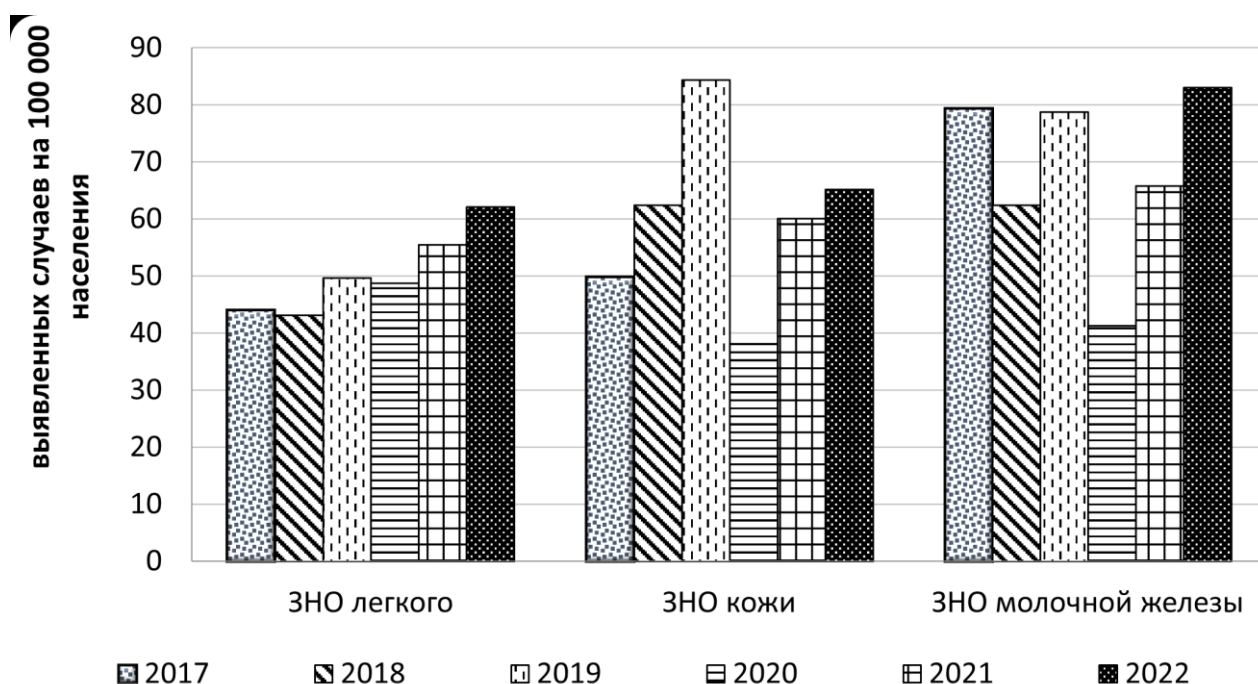


Рисунок 6 - Динамика отдельных ЗНО взрослого населения г. Чусового 2017-2022 гг.

Заключение

Анализ динамики и темпа роста ЗНО в г. Чусовом показал превышение в 14,2 раза темпа роста в РФ и в 1,12 раза в Пермском крае. При оценке динамики отдельных ЗНО, выявленных случаев опухоли легких в г. Чусовом с 2017 - 2022 год выросло в 1,4 раза; кожи в 1,3 раза; молочной железы в 1,04 раза. Содержание ванадия в крови взрослого населения до 40 лет превышает референтный уровень в 6,4 раза; меди в 1,1; никеля в 1,02 раза. Содержание ванадия в крови взрослого населения **старше** 40 лет превышает референтный уровень в 8,1 раза; кадмия в 7,1; никеля в 1,4; меди в 1,2 раза. Содержание хрома имеет тенденцию к превышению референтного уровня. Содержание свинца меньше референтного уровня в 1,4 раза.

Библиографический список

1. Данные по первично выявленной заболеваемости ЗНО взрослого населения г.Чусового (учетно-отчетная форма № 7 «Сведения о заболеваниях злокачественными новообразованиями», г. Чусовой) 2017-2022гг.
2. Годовые отчёты Пермского онкодиспансера “Состояние онкологической помощи в Пермском крае”2017-2022гг.
3. Статистические материалы МЗ РФ Департамента мониторинга, анализа и стратегического развития здравоохранения ФГБУ «Центральный научно-исследовательский институт организации и информатизации здравоохранения» МЗ России“ О социально-значимых заболеваниях населения России”.
4. Данные мониторинга качества среды обитания на территории г. Чусовой (2017-2022 гг).
5. Государственный доклад «О состоянии санитарно-эпидемиологического благополучия населения в Пермском крае в 2022 году»: Государственный доклад. — П.: Управление

Роспотребнадзора по Пермскому краю, ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии в Пермском крае», 2023. — 255 с.

6. Государственный доклад «О состоянии санитарно-эпидемиологического благополучия населения в Российской Федерации в 2022 году»: Государственный доклад. М.: Федеральная служба по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, 2023. 368 с.
7. Анализ канцерогенного риска здоровью населения от загрязнения атмосферного воздуха и заболеваемость злокачественными новообразованиями / Д.А. Кряжев, В.В. Кожевникова, А.В. Кочергин, Л.В. Зеленина // Альманах молодой науки. — 2015 — №4. — С.3-6.
8. Заболеваемость злокачественными новообразованиями населения России / Г.В. Петрова, А.Д. Каприн, В.В. Старинский, О.П. Грецова // Онкология. — 2014. — № 5. — С. 5-10.
9. Заридзе, Д.Г. Динамика заболеваемости злокачественными новообразованиями и смертности от них в России / Д.Г. Заридзе, А.Д. Каприн, И.С. Стилиди // Вопросы онкологии. — 2018. — Т. 64. — № 5. — С. 578-591.
10. Лещук, С.И. Взаимосвязь загрязнения окружающей среды и экологически обусловленной заболеваемости населения на территории техногенного загрязнения / С.И. Лещук, И.В. Суркова, Н.В. Сенкевич // Естественные и технические науки. — 2017. — № 1 (103). — С. 23-33.

АНАЛЬГЕТИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ ЗАМЕЩЕННЫХ ЭФИРОВ ПРОИЗВОДНЫХ ПИРРОЛ-3-КАРБОНОВЫХ КИСЛОТ, СОДЕРЖАЩИХ В СВОЕЙ СТРУКТУРЕ ФАРМАКОФОРНЫЙ ФРАГМЕНТ 2-АМИНОТИОФЕНА ГЕВАЛЬДА

Бекк С.А.², Бойко А. А.², Махмудов Р.Р.¹

¹Пермский государственный национальный исследовательский университет, г. Пермь

²Пермский государственный национальный исследовательский университет, Лицей с углубленным изучением отдельных учебных предметов, г. Пермь

Аннотация. Проведен скрининг антиноцицептивной активности кислот на белых мышах обоих полов. Эффект оценивался через 2 часа после введения. У ряда синтезированных соединений обнаружена антиноцицептивная активность.

Ключевые слова: антиноцицептивная активность, мыши, горячая пластинка, эффективная доза

ANALGESIC ACTIVITY OF SUBSTITUTED ESTERS OF PYRROLE-3-CARBOXYLIC ACID DERIVATIVES CONTAINING IN THEIR STRUCTURE THE PHARMACOPHORE FRAGMENT OF 2-AMINOTHIOPHENE GEWALD

Bekk S.A., Boyko A. A. Makhmudov R.R.

Federal State Autonomous Educational Institution of Higher Education "Perm State National Research University", Lyceum with in-depth study of individual academic subjects, Perm, Russia

Abstract. Screening of the antinociceptive activity of acids in white mice of both sexes was carried out. The effect was evaluated 2 hours after administration. Antinociceptive activity was found in a number of synthesized compounds.

Key words: antinociceptive activity, mice, hot plate, effective dose

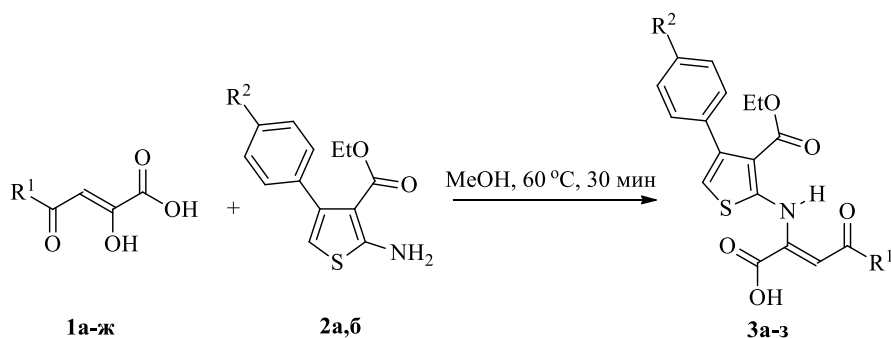
Разработки, направленные на создание новых биологически активных субстанций, входят в список наиболее активно развивающихся областей рационального применения лекарств [1]. В связи с этим, безусловно, важной задачей синтетической органической химии является поиск новых биологически активных соединений с низкой токсичностью, которые в перспективе могут найти применение в качестве лекарственных препаратов. Одними из таких препаратов является анальгетики. По данным аудита фармацевтического рынка России DSM Group, анальгетики занимают около 3% рынка лекарств в стоимостном выражении, в упаковках доля существенно выше, около 9%. За последние 5 лет группа анальгетиков в среднем выросла на 5% в денежном эквиваленте, что показывает высокую востребованность рынка в разработке новых современных антиноцицептивных препаратов. Главной проблемой в данном направлении является поиск универсальной базовой структуры для создания на ее основе новых биологически активных соединений.

В ранее проведенных исследованиях нашим научным руководителем Махмудовым Р.Р. было установлено, что некоторые из апробированных соединений, содержащие в своей

структуре фрагменты 2-аминотиофена Гевальда или 2-гидрокси-4-оксобут-2-еновых кислот, при биологических испытаниях на животных обладают противовоспалительной или анальгетической активностью. [2,3].

Целью нашего исследования является поиск новых биологически активных соединений среди замещенных 2-аминопроизводных ароилпириновиноградных кислот

Характеристика исследуемых соединений: В нашей работе было исследовано на антиноцицептивную активность 8 новых соединений замещенных 4-(гет)арил-4-оксо-2-{[4-(4-R-фенил)-3-(этоксикарбонил)тиофен-2-ил]амино}бут-2-еновые кислоты.



1: R¹ = 4-ClC₆H₄ (**а**), 4-FC₆H₄ (**б**), 3,4-ClC₆H₄ (**в**), 4-OHC₆H₄ (**г**), 4-O₂NC₆H₄ (**д**), 5-метилфуран-2-ил (**е**), стирил (**ж**); **2:** R² = H (**а**), Cl (**б**); **3:** R² = H, R¹ = 4-FC₆H₄ (**а**), 3,4-ClC₆H₄ (**б**), 4-OHC₆H₄ (**в**), 4-O₂NC₆H₄ (**г**), 5-метилфуран-2-ил (**д**); R² = Cl, R¹ = 4-ClC₆H₄ (**е**), 5-метилфуран-2-ил (**ж**), стирил (**з**).

Оценку биологической активности в экспериментах на животных осуществляли в соответствии с требованиями Фармакологического комитета, изложенных в «Руководстве по проведению доклинических исследований лекарственных средств» [4].

Содержание животных соответствовало Правилам лабораторной практики при проведении доклинических исследований в РФ (ГОСТ33044-2014 «Принципы надлежащей лабораторной практики») и Приказу МЗ РФ от 1 апреля 2016 года № 199н «Об утверждении правил лабораторной практики» (GLP), с соблюдением Международных рекомендаций Европейской конвенции по защите позвоночных животных, используемых для экспериментов или в иных научных целях (Страсбург, 18 марта 1986 г.) Лабораторных животных содержали в стандартных условиях центра экспериментальной фармакологии. Все проводимые манипуляции с лабораторными животными были рассмотрены и одобрены на заседании биоэтической комиссии ФГАОУ ВО ПГНИУ.

Экспериментальная биологическая часть: Исследование антиноцицептивной (анальгетической) активности синтезированных соединений проводили на белых нелинейных мышах (самках) массой 18–22 г методом термического раздражения «горячая пластина» [5]. Для оценки болевой чувствительности использовали прибор (анальгезиметр) EH-01 Orchid Scientific (Индия).

Исследуемые вещества вводили внутривенно в концентрации 50 мг/кг в виде взвеси в 2%-ном крахмальном растворе за 30 мин до помещения животных на нагретую до 53.5°C металлическую пластину. В опытах использовали животных с исходным латентным действием оборонительного рефлекса не более 40 с. Показателем ноцицепции служила длительность пребывания животного на горячей пластине до появления поведенческого ответа на ноцицептивную стимуляцию (облизывания задних лап, прыжков, отдергивания

задних лап), измеряемая в секундах. Каждое соединение испытывали на 6 животных. Результаты оценивали по увеличению времени наступления оборонительного рефлекса по сравнению с исходными данными. Эффект оценивали через 0,5, 1 и 2 ч после введения соединений. Контрольной группе животных вводили 2%-ный крахмальный раствор, в качестве препарата сравнения использовали коммерчески доступную субстанцию метамизол натрия (ООО «Фармхимкомплект») в дозе 93 мг/кг, соответствующей ЕД₅₀ по тесту «горячая пластина». Статистическую обработку экспериментального материала проводили с использованием критериев достоверности Фишера–Стьюдента. Эффект считали достоверным при $p < 0.05$ [6].

Результаты и их обсуждение: Согласно полученным результатам, протестированные соединения обладают выраженной антиноцицептивной активностью и превосходят по активности эталон сравнения – метамизол натрия (табл.1). Таким образом, представленные результаты свидетельствуют, что рассмотренные 4-(гет)арил-4-оксо-2-[[4-(4-*R*-фенил)-3-(этоксикарбонил)тиофен-2-ил]амино}бут-2-еновые кислоты высоко перспективным классом для дальнейшего изучения с целью поиска и разработки новых биологически активных соединений с обезболивающим эффектом.

Таблица 1 – Антиноцицептивная активность исследованных соединений 3а-3^а, изученная по методу «горячая пластина»

Номер соединения	Доза мг/кг, в/б	Латентный период оборонительного рефлекса, с
		2 часа
Контроль	-	10.30±0.60
Метамизол натрия	93(ЕД ₅₀)	16,33 ± 3,02
3а	50	22,92±1,01
3б	50	21,00±1,25
3в	50	20,90±0,64
3г	50	19,80±0,78
3д	50	21,08±0,68
3е	50	19,58±0,51
3ж	50	20,25±0,54
3з	50	20,83±0,38

а) $p < 0.05$ по сравнению с контролем.

Библиографический список

1. Ivashchenko A.A., Mitkin O.D., Jones J.C., Nikitin A.V., Koryakova A.G., Ryakhovskiy A., Karapetian R.N., Kravchenko D.V., Aladinskiy V., Leneva I.A., Falynsko-va I.N., Glubokova E.A. // J. Med. Chem. 2020. Vol. 63. P. 9403. doi 10.1021/acs.jmedchem.0c00565
2. Р. Р. Махмудов, А. Е. Рубцов, С. А. Шипиловских. 4-(4-бромфенил)-4-оксо-2-[[3-(этоксикарбонил)-4,5-диметилтиен-2-ил]амино}-2-бутеновая кислота, обладающая противовоспалительной и анальгетической активностью. Пат. 2485112 РФ. 2013
3. Ю. О. Шаравьёва, А. И. Сюткина, С. В. Чащина и др. Синтез, анальгетическая и противомикробная активность замещенных 2-(3-циано-4,5,6,7-тетрагидробензо[*b*]тиофен-2-иламино)-4-оксо-4-фенилбут-2-еноатов. Изв. АН. Сер. Хим. 2022. №. 71, С. 538-542.

4. Миронов А.Н. (ред.) Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств. М.: Гриф и К, 2012; с. 944.
5. N. B. Eddy, D. J. Leimbach. Synthetic analgesics. II. Dithienylbutenyl-and dithienylbutylamines. J. Pharmacol. Exp. Ther.. 1953. V. 107. N. 3. P. 385.
6. 6. М. Л. Беленький. Элементы количественной оценки фармакологического эффекта. 1963. С. 152

ВЛИЯНИЕ ЛЕПТИНА НА СУБПОПУЛЯЦИОННЫЙ СОСТАВ И ЭКСПРЕССИЮ МОЛЕКУЛЫ TIM-3 НАТУРАЛЬНЫМИ КИЛЛЕРАМИ *IN VITRO*

Орлова Е.Г.^{1,2}, Логинова О.А.¹, Горбунова О.Л.¹, Кирьянова В.Ю.², Ширшев С.В.¹

¹Институт экологии и генетики микроорганизмов УрО РАН

- филиал ПФИЦ УрО РАН, г. Пермь, Россия

²Пермский государственный национальный исследовательский университет, Пермь, Россия

Аннотация. Изучены эффекты лептина в концентрации, соответствующей его содержанию в периферической крови в период беременности, на экспрессию молекулы Tim-3 и субпопуляционный состав NK-клеток периферической крови в модели *in vitro*. Установлено, что лептин в исследованной концентрации не влияет на соотношение субпопуляций и экспрессию молекулы Tim-3 на разных субпопуляциях NK-клеток периферической крови. На фоне блокады Tim-3 лептин увеличивает процент Tim-3-позитивных NK-клеток во всех исследованных субпопуляциях NK-клеток, но не влияет на их соотношение в культуре *in vitro*. Лептин, действуя совместно с галектином-9 - агонистом Tim-3-рецепторов, также не влияет на соотношение субпопуляций и экспрессию молекулы Tim-3 NK-клетками.

Ключевые слова: лептин, натуральные киллеры, Tim-3, галектин-9, беременность

THE EFFECT OF LEPTIN ON THE SUBPOPULATION DISTRIBUTION AND EXPRESSION OF THE TIM-3 MOLECULE BY NATURAL KILLERS *IN VITRO*

Orlova E.G.^{1,2}, Loginova O.A.¹, Gorbunova O.L.¹, Kiryanova V.Yu.², Shirshev S.V.¹

¹ Institute of Ecology and Genetic of microorganisms, Ural Branch of the Russian Academy of Sciences - branch of the PFRC, Ural Branch of the Russian Academy of Sciences, Perm, Russia

² Perm State National Research University, Perm, Russia

Abstract. The effects of leptin at a concentration corresponding to its level in peripheral blood during pregnancy on the expression of the Tim-3 molecules and the subpopulation distribution of NK cells in peripheral blood *in vitro* were studied. It was found that leptin does not affect the subpopulation distribution and expression of the Tim-3 molecule on different subpopulations of NK cells *in vitro*. Under influence of anti-Tim-3 antibodies, leptin increases the percentage of Tim-3-positive NK cells in all NK cell subpopulations, but does not affect the NK cells subpopulation distribution *in vitro*. Leptin together with galectin-9, an agonist of Tim-3 receptors, also does not affect the ratio of subpopulations and expression of the Tim-3 molecule by NK cells.

Key words: leptin, natural killers, Tim-3, galectin-9, pregnancy

Натуральные киллеры (NK) играют важную роль в защите от онкологических заболеваний и вирусных инфекций [1]. Во время беременности цитотоксичность NK-клеток значительно снижается, а часть из них мигрируют в матку и трансформируются в децидуальные NK, которые участвуют в формировании иммунной толерантности в зоне фетоплацентарного контакта [2]. Важной молекулой для характеристики функциональной активности децидуальных NK-клеток является молекула Tim-3, экспрессия которой повышена на децидуальных NK [3]. NK-клетки обладают наибольшей экспрессией Tim-3 среди всех лимфоидных клеток, при беременности она увеличивается на всех субпопуляциях

периферических и децидуальных NK-клетках [3, 4, 5]. Tim-3 является ингибирующим рецептором, который подавляет цитотоксичность и ограничивает активацию NK-клеток [3]. Лигандом Tim-3 является галектин-9 (Gal-9), уровень которого в периферической крови возрастает при беременности [4]. Однако механизмы, регулирующие экспрессию Tim-3 при беременности на NK-клетках, до конца не изучены.

Гормон лептин продуцируется жировой тканью и играет важную роль в регуляции функций NK-клеток, которые экспрессируют специфические рецепторы к нему [6]. Его продукция во время беременности увеличивается, т.к. он вырабатывается еще и плацентой [7]. Однако его роль в трансформации фенотипа NK-клеток периферической крови в аспекте беременности не изучена. Цель работы: изучить влияние лептина в концентрации, соответствующей его содержанию в периферической крови в период беременности, на экспрессию молекулы Tim-3 и субпопуляционный состав NK-клеток периферической крови в модели *in vitro*.

Материалы и методы.

Объектом исследования являлись NK-клетки периферической крови здоровых небеременных фертильных женщин-нормостеников (ИМТ от 18-25) в фолликулярной фазе менструального цикла в возрасте 21-29 лет (n=12). Критериями включения в группу исследования являлись: отсутствие острых и хронических соматических, эндокринных, аутоиммунных, генетических заболеваний; соблюдения диеты, лечения контрацептивными и гормональными, противовоспалительными, антибактериальными препаратами. Все участники были проинформированы и подписывали добровольное согласие на использование биологического материала.

Венозную кровь забирали из локтевой вены утром натощак объемом 2 мл в вакуумные пробирки с гепарином. Мононуклеарные клетки периферической крови (МПК) получали из периферической крови методом центрифугирования в градиенте плотности фиколлаурографина (1.077 г/см³) по стандартной методике [8]. Далее CD56⁺NK-клетки выделяли из суспензии МПК методом негативной иммуномагнитной сепарации с использованием коммерческого набора Miltenyi Biotec согласно инструкции производителя. Чистота выделенных CD56⁺CD3-NK составила 95% и более, что оценивалось по количеству CD56-позитивных клеток в гейте CD3-негативных лимфоцитов методом проточной цитометрии. Выделенные NK (1×10⁵) культивировали в полной питательной среде (среда RPMI-1640 10 мл (Gibco, Великобритания); HEPES 100 мкл (Biolot, Россия); L-глутамин 100 мкл (ServiceBio, Китай), антибиотик – пенициллина G (100 ед/мл) - стрептомицина (0,1 мг/мл) (Biolot, Россия), ЭТС (10% эмбриональная телячья сыворотка) 1 мл (Biolot, Россия)) в 96-луночных планшетах с добавлением IL-15 (10 нг/мл) и IL-2 (500 нг/мл) в течении 72 ч при 37°C и 5% CO₂ [9]. Лептин добавляли в концентрации 35 нг/мл, соответствующей его содержанию в периферической крови во II-III триместрах беременности соответственно [7]. В ряд проб вносили Gal-9 (5 нг/мл) и анти-Tim-3-антитела (CD366) (10 мг/мл), а также в их комбинациях [9]. После культивирования клетки отмывали в ФСБ и оценивали фенотип методом проточной цитометрии. Жизнеспособность NK-клеток после культивирования составила 95% и более, что оценивалось методом проточной цитометрии с помощью красителя ZombieUV™. Поверхностное окрашивание проводили с использованием следующих моноклональных антител согласно инструкции производителя (таблица). Для контроля неспецифического связывания и выделения негативного по флюоресценции окна использовали соответствующие изотипические и негативные контроли.

Таблица – Характеристика использованных моноклональных антител

Антитело	Флюорохром	Клон	Изотип	Компания-производитель
CD3	PE	OKT3	Mouse/IgG2a, k	eBioscience, США
CD16	Pacific blue™	3G8	Mouse/IgG1, k	BioLegend, США
CD56 (NCAM)	Brilliant Violet 605™	HCD56	Mouse/IgG1, k	BioLegend, США
Tim-3 (CD366)	Ultra-LEAF™	F38-2E2	Mouse/IgG1, κ	BioLegend, США
ZombieUV™	-	-	-	BioLegend, США

Оценка фенотипа NK-клеток производилась методом проточной цитометрии (проточный цитометр «CytoFlex S», Beckman Coulter, США) при помощи программного обеспечения «CytExpert 2.0» и Kaluza 1.5. Анализировали не менее 100 000 событий в каждой пробе.

Стратегия гейтирования представлена на рисунке 1. В гейте живых МПК оценивали количество NK-клеток по маркерам CD16 и CD56 среди CD3-негативных клеток. В периферической крови присутствовали 3 субпопуляции NK-клеток - регуляторные CD16⁻CD56^{bright}, цитотоксические CD16⁺CD56^{dim} и цитотоксические минорные CD16^{hi}CD56⁻. После иммуномагнитной сепарации чистота выделения NK составляла 95% и более. После 72 ч инкубации соотношение субпопуляций не менялось.

На каждой субпопуляции NK оценивали экспрессию молекулы Tim-3, при этом использовали соответствующие изотипические контроли.

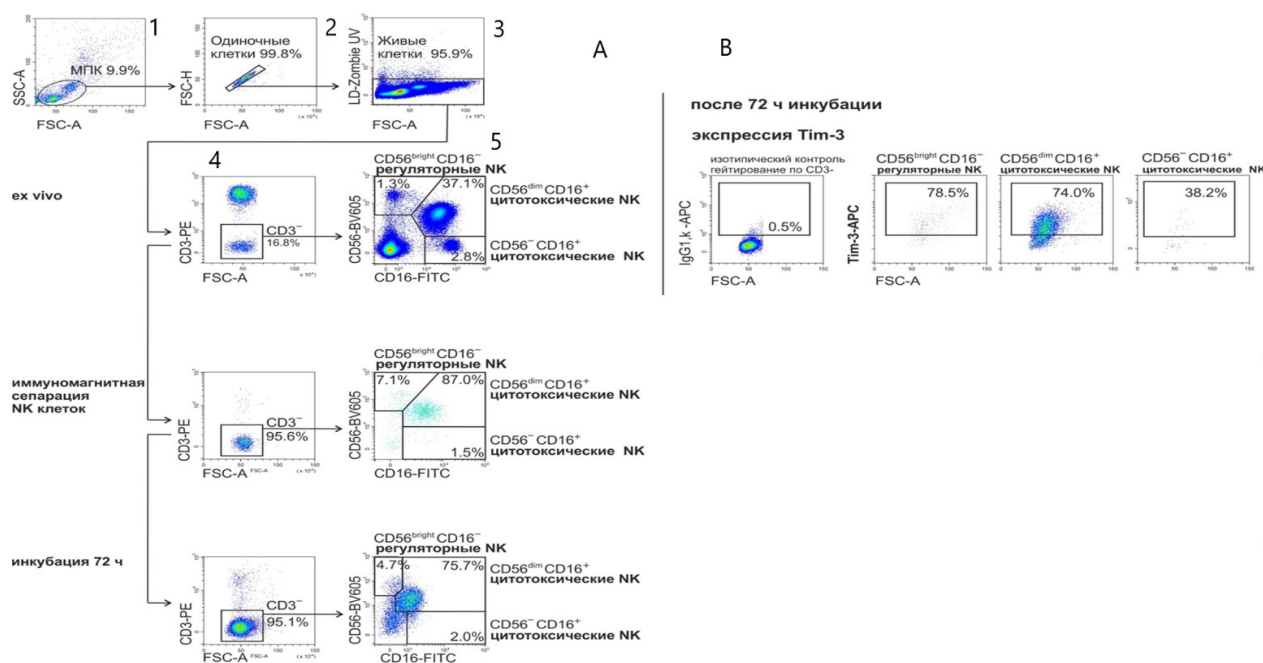


Рисунок 1 – Стратегия гейтирования, используемая для анализа разных субпопуляций NK-клеток периферической крови и экспрессии молекулы Tim-3. (А) 1 - выделение лимфоцитарного гейта по параметрам площади прямого (FSC-A) и высоты бокового (SSC-

Н) светорассеивания; 2 - дискриминация слипшихся клеток (дуплетов) по параметрам площади и высоты прямого светорассеивания (FSC-A/FSC-H); 3 – определение живых клеток, негативных по окрашиванию Zombie UV™ (BioLegend); 4 - выделение негативной популяций по маркеру CD3 в гейте живых МПК; 5 - определение регуляторной субпопуляции NK-клеток как процента $CD56^{bright}CD16^{-}$ и цитотоксических субпопуляций NK-клеток как процента $CD56^{dim}CD16^{+}$ и $CD56^{-}CD16^{+}$ в гейте CD3-негативных МПК. (В) оценка экспрессии молекулы Tim-3 в исследуемых субпопуляциях NK-клеток. На рисунке 1 представлены гистограммы одного репрезентативного эксперимента.

Статистический анализ проводился с использованием "GraphPadPrism версии 8.01" (StatSoft, США). Данные представлены в виде медианы, нижнего и верхнего квартилей, т.к. они не подчинялись закону нормального распределения. Значимость различий между двумя и более зависимыми выборками определяли с помощью парного критерия Фридмана, между двумя и более независимыми выборками при помощи критерия Крускала-Уоллиса. Различия считались значимыми при $p < 0,05$.

Результаты.

После 72 ч инкубации с IL-15 и IL-2 соотношение субпопуляций NK-клеток было следующим: преобладали цитотоксические $CD16^{+}CD56^{dim}$, менее 10% было регуляторных $CD16^{-}CD56^{bright}$ и незначительное количество цитотоксических минорных $CD16^{hi}CD56^{-}$ (рисунок 2А). Все три субпопуляции NK-клеток экспрессировали молекулу Tim-3 (рисунок 2Б). Достоверно большее количество Tim-3 присутствовало на регуляторных $CD16^{-}CD56^{bright}$ и цитотоксических $CD16^{+}CD56^{dim}$ NK, по сравнению с цитотоксическими минорными $CD16^{hi}CD56^{-}$ NK.

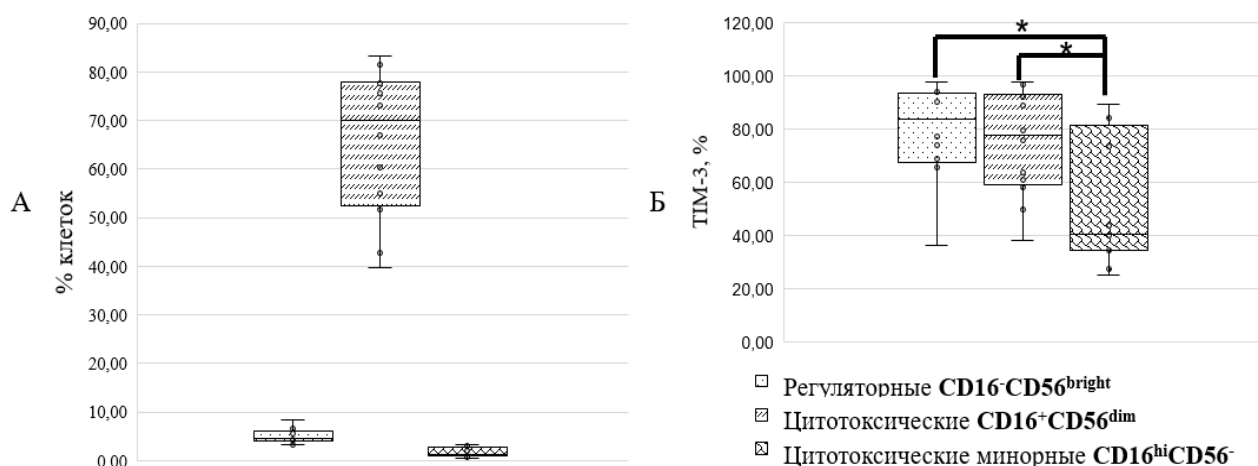


Рисунок 2 – (А) Процент регуляторных $CD16^{-}CD56^{bright}$, цитотоксических $CD16^{+}CD56^{dim}$; минорных цитотоксических $CD16^{hi}CD56^{-}$ NK после 72ч инкубации в культуре *in vitro* с добавлением цитокинов (IL-15, IL-2); (Б) процент экспрессии ими молекулы Tim-3.

*- значимые различия по критерию Крускала-Уоллиса ($p < 0,05$).

Лептин не влиял на соотношение субпопуляций NK-клеток, а также не влиял на экспрессию Tim-3 на всех изученных субпопуляциях (рисунок 3).

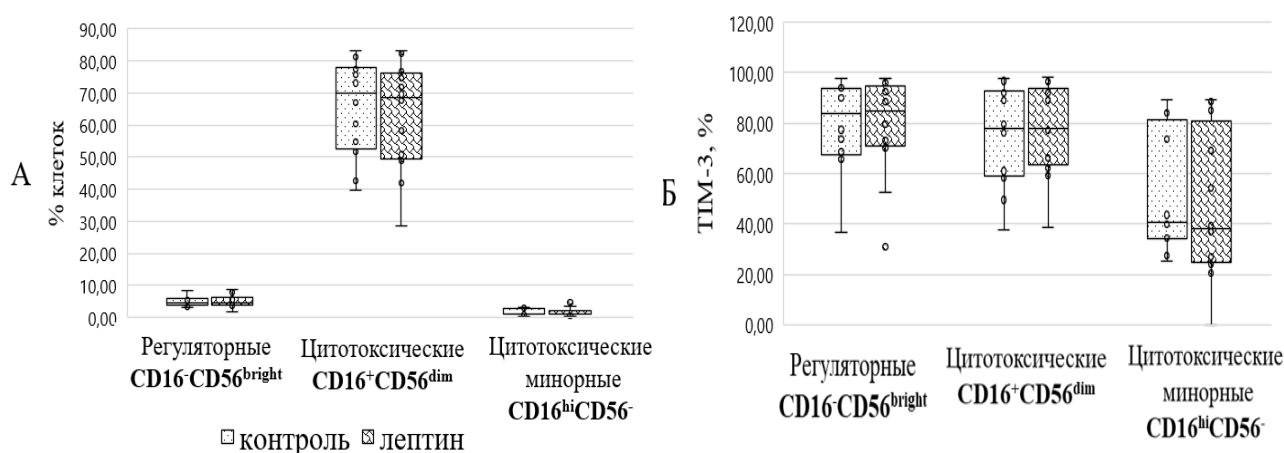


Рисунок 3 – Влияние лептина на соотношение регуляторных CD16⁻CD56^{bright}; цитотоксических CD16⁺CD56^{dim}; минорных цитотоксических CD16^{hi}CD56⁻ NK-клеток (А) и экспрессию ими молекул Tim-3 (Б) после 72ч инкубации в культуре *in vitro* с добавлением цитокинов (IL-15, IL-2).

Внесение анти-Tim-3-антител, как и лептин на фоне блокады Tim-3, не оказывали влияния на соотношение субпопуляций NK-клеток в культуре *in vitro* (рисунок 4А). Однако добавление анти-Tim-3-антител снижало процент Tim-3-экспрессирующих клеток во всех исследованных субпопуляциях NK-клеток, тогда же как лептин на фоне блокады Tim-3 достоверно увеличивал процент Tim-3-экспрессирующих клеток, что наблюдалось во всех субпопуляциях (рисунок 4Б).

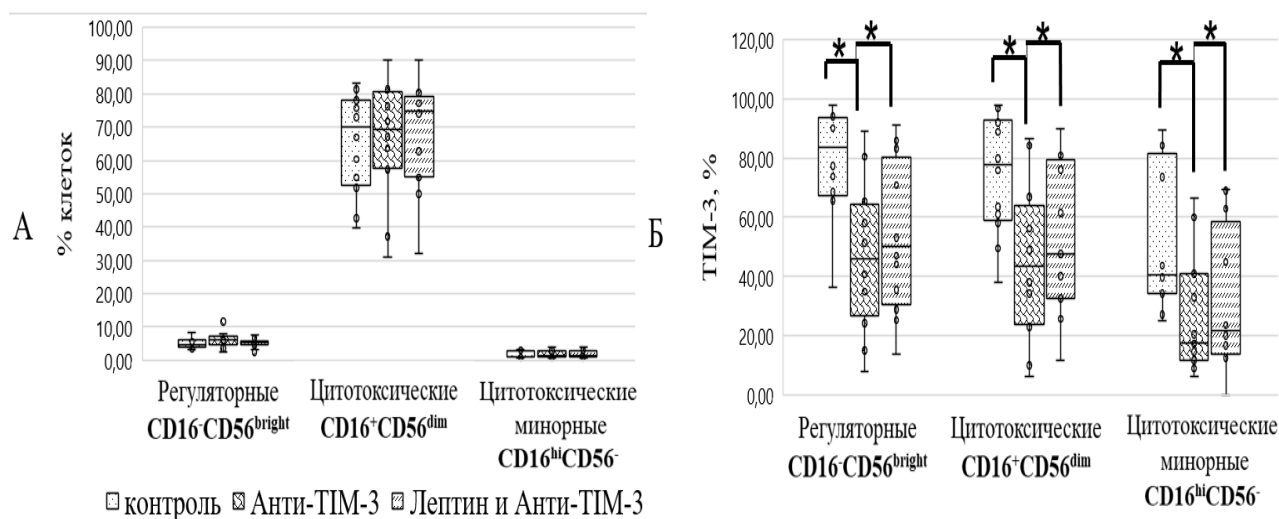


Рисунок 4 – Влияние блокады Tim-3 рецепторов внесением анти-Tim-3 антител на эффекты лептина на соотношение регуляторных CD16⁻CD56^{bright}; цитотоксических CD16⁺CD56^{dim}; минорных цитотоксических CD16^{hi}CD56⁻ NK-клеток (А) и экспрессию ими молекул Tim-3 (Б) после 72ч инкубации в культуре *in vitro* с добавлением цитокинов (IL-15, IL-2). *- значимое различие по парному критерию Фридмана ($p < 0,05$).

Культирование с Gal-9 - агонистом Tim-3 рецепторов не оказывало влияния на соотношение субпопуляций и экспрессию молекул Tim-3 NK-клеток в культуре *in vitro*. Такая же картина наблюдалась и при совместном влиянии лептина с Gal-9 (рисунок 5).

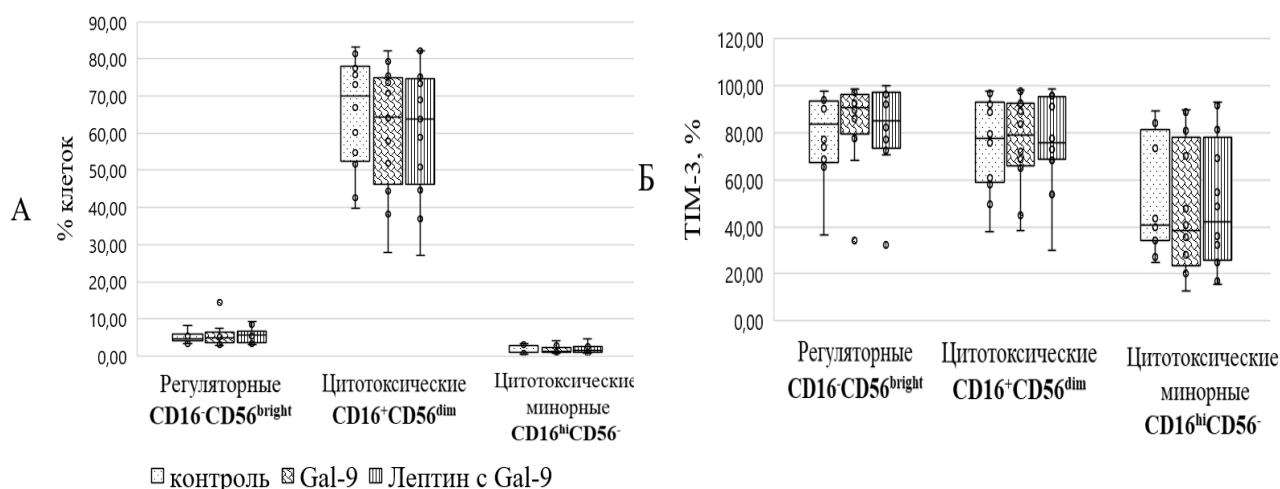


Рисунок 5 – Влияние Gal-9 на Tim-3-зависимые механизмы действия эффектов лептина на соотношение регуляторных CD16⁻CD56^{bright}; цитотоксических CD16⁺CD56^{dim}; минорных цитотоксических CD16^{hi}CD56⁻ NK-клеток (А) и экспрессию ими молекул Tim-3 (Б) после 72ч инкубации в культуре *in vitro* с добавлением цитокинов (IL-15, IL-2).

Таким образом, лептин, в концентрации характерной при беременности, влияет на экспрессию Tim-3 на разных субпопуляциях NK-клеток.

Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ 22-25-00694.

Библиографический список

1. Акпербекова И.С., Аюпова Ф.М., Саиджалилова Д.Д., Саттарова К.А., Миродилова Ф.Б. Роль и значение маточных естественных киллеров в течении здоровой беременности// Проблемы репродукции. – 2020. – Т. 26. – №6. – С. 15–25.
2. Saito S., Nakashima A., Myojo-Higuma S., Shiozaki A. The balance between cytotoxic NK cells and regulatory NK cells in human pregnancy // J. of Reprod. Immunol. –2008. –V. 77. – №1. – P. 14–22.
3. Gleason MK, Lenvik TR, McCullar V, Felices M, O'Brien MS, Cooley SA, et al. Tim-3 is an inducible human natural killer cell receptor that enhances interferon gamma production in response to galectin-9// Blood. – 2012. – V.119. – №13. – P. 3064–3072.
4. Sun J, Yang M, Ban Y, Gao W, Song B, Wang Y, Zhang Y, Shao Q, Kong B, Qu X. Tim-3 Is upregulated in NK cells during early pregnancy and inhibits NK cytotoxicity toward trophoblast in galectin-9 dependent pathway// PloS One. – 2016. – V. 11. – №1. – P. 0147186.
5. Orlova, E.G., Loginova, O.A., Gorbunova, O.L. Expression of TIM-3 and CD9 Molecules on Natural Killer Cells (NK) and T-Lymphocytes with NK Functions (NKT) in the Peripheral Blood at Different Trimesters of Physiological Pregnancy//J Evol Biochem Phys – 2023. – V.59. – P. 809–821.
6. Tena-Sempere M. Interaction between energy homeostasis and reproduction: effects of leptin and ghrelin on the reproductive axis, Horm. Metab. Res. – 2013. – №45. – P. 919-927.

7. Hardie I., Trayhurn P., Abramovich D., Fowler P. II Clin// Endocrinol. – 1997. – V.47. – № 1. – P. 101–106.
8. Gutierrez C. Purification of human T and B cells by a discontinuous density gradient of percoll// J Immunol Methods. – 1979. – V.29. – №1. – P. 57–63.
9. Orlova E.G., Loginova O.A., Gorbunova O.L., Shirshev S.V. Galectin-9 influences the Tim-3 molecule expression in Natural Killer different subpopulations// Medical Immunology. – 2023. – T. 25. – № 3. – C.469-476.

ВЛИЯНИЕ СУПЕРНАТАНТОВ ПОТЕНЦИАЛЬНЫХ ПРОБИОТИЧЕСКИХ ШТАММОВ *ESCHERICHIA COLI* ЛЭГМ-18 И ZP НА ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТЬ К АНТИБИОТИКАМ И АДГЕЗИЮ И БАКТЕРИЙ

Коноплева М.А.³, Нестерова Л.Ю.^{1,2}, Кузнецова М.В.²

¹Пермский государственный национальный исследовательский университет, Пермь, Россия

²Институт экологии и генетики микроорганизмов УрО РАН – филиал ПФИЦ УрО РАН, Пермь, Россия

³Ульяновский государственный педагогический университет имени И.Н. Ульянова, Ульяновск, Россия

Аннотация. В данной работе представлены результаты оценки влияния супернатантов потенциальных пробиотических штаммов *Escherichia coli* ЛЭГМ-18 и ZP на чувствительность к антибиотикам и способность к адгезии к эпителиальным клеткам штаммов-мишеней *Escherichia coli* и *Staphylococcus aureus*. Установлено, что в присутствии супернатантов антибиотикочувствительность тест-культур не снижалась, а в ряде случаев значительно увеличивалась. Под действием супернатантов потенциальных пробиотических штаммов наблюдалась тенденция к снижению способности бактерий к адгезии к эпителиальным клеткам.

Ключевые слова: *Escherichia coli*, пробиотические штаммы, антибиотикочувствительность, адгезия

THE INFLUENCE OF SUPERNATANTS OF POTENTIAL PROBIOTIC STRAINS *ESCHERICHIA COLI* LEGM-18 AND ZP ON ANTIBIOTIC SUSCEPTIBILITY AND ADHESION OF BACTERIA

Konopleva M.A.³, Nesterova L.Y.^{1,2}, Kuznetsova M.V.²

¹Perm State National Research University, Perm, Russia

²Institute of Ecology and Genetics of Microorganisms, Ural Branch of the Russian Academy of Sciences - branch of the PFRC, Ural Branch of the Russian Academy of Sciences, Perm, Russia

³Ulyanovsk State Pedagogical University named after I.N. Ulyanov, Ulyanovsk, Russia

Annotation. This work presents the results of assessing the effect of supernatants of potential probiotic strains *Escherichia coli* LEGM-18 and ZP on antibiotic susceptibility and adhesion to epithelial cells of target strains *E. coli* and *Staphylococcus aureus*. It was found that in the presence of supernatants, the antibiotic susceptibility of test cultures did not decrease, and in some cases increased. Under the influence of supernatants of potential probiotic strains, a tendency to reduce the ability of bacteria to adhere to epithelial cells was observed.

Key words: *Escherichia coli*, probiotic strains, antibiotic susceptibility, adhesion

В последние годы проблема профилактики и лечения кишечных инфекций стоит очень остро как в медицине, так и в ветеринарии. В связи со значительными ограничениями использования антибиотиков в животноводстве актуальным в настоящее время является применение пробиотических препаратов как для профилактики, так и для лечения кишечных бактериальных инфекций [1, 2]. Основой для разработки новых пробиотических препаратов

являются бактерии – представители естественной кишечной микробиоты, поскольку они, зачастую, обладают природной антагонистической активностью по отношению к патогенным микроорганизмам. Антагонистическая активность связана в первую очередь с продукцией бактериоцинов, которые представляют собой антибиотические вещества белковой или пептидной природы, воздействующие на бактерии близкородственных таксонов или с более широким спектром антибактериального действия [3]. Помимо этого, бактериальные клетки способны вырабатывать и выделять в среду различные метаболиты, которые могут оказывать влияние на развитие и рост других бактерий. У *Escherichia coli*, помимо бактериоцинов, в качестве таких веществ могут выступать аутоиндукторы, регулирующие жизнедеятельность своей же популяции или обеспечивающие межклеточную коммуникацию, а также другие вещества, которые изменяют в ту или иную сторону ответ бактерий на различные стрессовые воздействия. Поскольку для лечения кишечных инфекций пробиотические препараты применяют одновременно с антибиотиками [4], важно установить, как влияют продукты жизнедеятельности пробиотических штаммов на антибиотикочувствительность микроорганизмов.

Адгезия к эпителиальным клеткам является одним из факторов, которые обеспечивают патогенность для многих болезнетворных бактерий. В то же время, симбионтные штаммы также обладают способностью адгезироваться к клеткам кишечного эпителия. В связи с этим интерес представляет определение влияния супернатантов потенциальных пробиотических штаммов на способность природных штаммов микроорганизмов к адгезии.

Цель работы: исследование влияния супернатантов потенциальных пробиотических штаммов *E. coli* ЛЭГМ-18 и Zp на адгезию и чувствительность к антибиотикам модельных и природных штаммов *E. coli* и *Staphylococcus aureus*.

Материалы и методы. В качестве потенциальных пробиотических штаммов использовали *E. coli* ЛЭГМ-18 и ZP. Один из штаммов *E. coli* ЛЭГМ-18 был выделен от здорового пациента при плановом осмотре в 1993 г. на базе Института экологии и генетики микроорганизмов Уральского отделения Российской академии наук профессором Р.А. Пшеничным и соавт. Второй штамм *E. coli* ZP (N4i pOX38a Cmr, Gmr) создан в университете Любляны (Словения) профессором М. Старич-Эрьяец, путем введения конъюгативной плазмиды, несущей ген колицина, в клетки известного пробиотического штамма *E. coli* Nissle 1917. Он обладает особым механизмом киллинга близкородственных бактерий за счет конъюгационно-опосредованной передачи гена колицина ColE7. Бактерия-донор принимает плазмиду, и начинает синтезировать колицин, который убивает ее изнутри, что позволяет бороться и с патогенами устойчивыми к колицинам [5]. Известный пробиотический штамм *E. coli* M-17 использовали как контрольный.

В качестве штаммов-мишеней использовали модельные коллекционные *E. coli* ATCC 25922, *S. aureus* ATCC 25923 и природные изоляты: *E. coli* K33, цип1, K38, K40. Все штаммы хранятся в коллекции лаборатории молекулярной биотехнологии ИЭГМ УрО РАН.

Для получения бесклеточных супернатантов штаммы *E. coli* M-17, ЛЭГМ-18 и ZP, выращивали в пробирках с 5 мл LB-бульона (Amresco, США) и культивировали 24 часа при 37° С. Затем культуру помещали в микропробирки и центрифугировали при 12000g 5 минут, после чего супернатант стерилизовали с использованием бактериальных шприцевых фильтров с размером пор 0,2 мкм (Millex, Франция).

Влияние супернатантов исследуемых штаммов на эффективность действия антибиотиков исследовали диско-диффузионным методом на плотной питательной среде

Мюллер-Хинтон. Тест-культуры, высевали на пробирки с LB-бульоном (5 мл) и инкубировали 6 часов, полученную культуру разводили стерильным физиологическим раствором в 100 раз, наносили 1 мл суспензии микроорганизмов на агар и равномерно распределяли по поверхности. На поверхность агара помещали диски с антибиотиками (тетрациклин, амикацин, ципрофлоксацин, цефтриаксон/цефоперазон) (НИЦФ, Россия). Затем на диски с антибиотиками наносили супернатанты исследуемых штаммов (10 мкл). Чашки инкубировали в термостате при 37° С 20 часов, после чего измеряли диаметр зон подавления роста.

В экспериментах по изучению влияния супернатантов на адгезию бактерий использовали клетки буккального эпителия человека. Ночную культуру бактерий-мишеней, выращенную в пробирках, содержащих 5 мл среды LB, центрифугировали при 10000 об/мин в течении 10 минут, удаляли питательную среду и промывали фосфатным буфером (PBS). Полученную суспензию с помощью PBS доводили до оптической плотности 0,1 при длине волны 570 нм. Клетки буккального эпителия собирали у доноров стерильным шпателем в щечной области ротовой полости, помещали в 15 мл PBS и промывали до очищения от аборигенных бактерий центрифугированием при 600 g в течение 10 минут. Осадок (500 мкл) разводили буфером PBS в соотношении 1:4. 80 мкл суспензии эпителиальных клеток и 80 мкл бактериальной суспензии смешивали в микропробирках и добавляли 40 мкл супернатанта. В контрольные пробирки вместо супернатанта вносили питательную среду. Пробирки инкубировали 60 минут при комнатной температуре на шейкере в режиме покачивания. По истечении времени, необходимого для адгезии микроорганизмов к эпителиальным клеткам, 30 мкл суспензии наносили на предметное стекло, подсушивали на воздухе, закрепляли карбинолом в течение 10 минут и окрашивали 2 % метиленовым синим в течении 2 минут. Высушенные препараты микроскопировали на микроскопе Микмед-6 (ЛОМО, Россия) и делали фотографии при помощи камеры МС 6,3 (ЛОМО, Россия). На фото считали количество бактерий, адгезированных на эпителиальных клетках (не менее 20 клеток).

Статистическую обработку результатов проводили с использованием программы Microsoft Excel 2010. Различия с контрольной группой считали значимыми при значениях $P \leq 0,05$.

Результаты и выводы. При исследовании влияния супернатантов потенциальных пробиотических штаммов на чувствительность бактерий-мишеней к антибактериальным препаратам использовали антибиотики различных классов с разным механизмом действия. Мишенью бета-лактамовых антибиотиков (цефтриаксон и цефоперазон) являются ферменты, отвечающие за синтез клеточной стенки бактерий, тетрациклин и аминогликозидный антибиотик амикацин взаимодействуют с рибосомами, останавливая синтез белка, а фторхиноловый антибиотик ципрофлоксацин нарушает процесс репликации ДНК.

Штаммы-мишени использованные в работе различались по степени чувствительности к антибиотикам. *E. coli* K33, K38 и Цып1 были устойчивы к тетрациклину, а K38 устойчив к цефоперазону. При сравнении зон подавления роста вокруг дисков с антибиотиками разных классов ни в одном из случаев не было зафиксировано уменьшения диаметра, т.е. не наблюдалось снижения чувствительности штаммов-мишеней к антибиотикам. В нескольких вариантах, напротив, отмечалось небольшое, но статистически достоверное увеличение диаметра зон подавления роста вокруг дисков с цефтриаксоном, цефоперазоном и ципрофлоксацином (таблица 1). Примечательно то, что подобный эффект не был зафиксирован ни в одном из случаев с антибиотиками, которые подавляют синтез белков у бактерий (тетрациклин, амикацин). Вероятно, увеличение этого показателя вызвано

диффузией в агар бактериоцинов, содержащихся в супернатанте или других низкомолекулярных соединений, оказывающих регуляторное действие, например, аутоиндукторов системы Quorum sensing.

Таблица 1 – Влияние супернатантов потенциальных пробиотических штаммов на антибиотикочувствительность тест-штаммов *E. coli* и *S. aureus*

Супернатант	Диаметр зоны ингибирования роста тест-штамма, мм					
	<i>S. aureus</i> ATCC 25923	<i>E. coli</i> ATCC 25922	<i>E. coli</i> K33	<i>E. coli</i> K38	<i>E. coli</i> K40	<i>E. coli</i> Цып1
<i>тетрациклин</i>						
Контроль	33	27	12	0	22	8
М-17	31	27	13	0	23	9
ЛЭГМ-18	32	26	12	0	23	9
ZP	32	27	13	0	23	11
<i>ципрофлоксацин</i>						
Контроль	32	37	37	25	38	39
М-17	31	35	37	25	40*	39
ЛЭГМ-18	32	35	35	24	38	40
ZP	32	43*	36	24	38	40
<i>амикацин</i>						
Контроль	23	23	23	21	21	22
М-17	23	24	24	21	21	23
ЛЭГМ-18	22	24	24	22	20	22
ZP	23	23	23	23	20	23
<i>цефтриаксон</i>				<i>цефоперазон</i>		
Контроль	27	30	34	10	29	28
М-17	28	31	37*	9	32*	28
ЛЭГМ-18	27	31	33	10	31	28
ZP	26	31	34	10	29	31*

В таблице приведены значения Моды из 3-5 независимых экспериментов.

*- статистически значимое отличие от контроля.

Следующим этапом исследования стало определение влияния супернатантов потенциальных пробиотических штаммов на способность штаммов-мишеней к адгезии к эпителиальным клеткам. Показано, что при использовании супернатантов всех исследуемых штаммов наблюдалось снижение способности бактерий разных видов к адгезии к клеткам буккального эпителия. Однако практически во всех случаях снижение не было статистически

достоверным, за исключением варианта с супернатантом штамма ЛЭГМ-18, который ингибировал адгезию *S. aureus* (Таблица 2).

Таблица 2 – Влияние супернатантов потенциальных пробиотических штаммов на адгезию штаммов-мишеней к клеткам буккального эпителия

Супернатант	Количество бактерий адгезированных на одной эпителиальной клетке			
	<i>E. coli</i> ATCC 25922	<i>E. coli</i> K40	<i>E. coli</i> Цып1	<i>S. aureus</i> ATCC 25923
Контроль	106,9 (5,0)	137,0 (6,6)	119,2 (6,8)	245,2 (10,6)
М-17	98,5 (4,4)	133,3 (7,1)	109,1 (5,3)	230,2 (10,5)
ЛЭГМ-18	93,2 (5,9)	122,2 (5,6)	112,2 (5,7)	222,8 (6,6)*
ZP	95,1 (6,4)	124,0 (5,7)	113,3 (7,0)	246,3 (13,5)

В таблице представлены средние значения из трёх независимых экспериментов (SE).

*- статистически значимое отличие от контроля.

Таким образом, супернатанты потенциальных пробиотических штаммов *E. coli* ЛЭГМ-18 и ZP, не снижают антибиотикочувствительность культур-мишеней, что является благоприятным показателем, поскольку использование бакпрепаратов на основе этих штаммов не будет препятствовать действию антибиотиков при лечении инфекционных заболеваний. Кроме того, супернатанты исследуемых штаммов не оказывают значительного влияния на адгезию штаммов-мишеней к эпителиальным клеткам. В этом случае не будет происходить усиления адгезии патогенных микроорганизмов. Поскольку адгезия бактерий-симбионтов к клеткам кишечного эпителия является ключевым фактором выполнения ими своих функций в организме-хозяине, этот результат является благоприятным и в контексте влияния на нормобиоту кишечника, так как при использовании культур в составе пробиотика не будет нарушаться адгезия бактерий к стенкам кишечника.

Библиографический список

1. Бондаренко В. М., Чуприна Р. П., Аладышева Ж. И. и др. Пробиотики и механизмы их лечебного действия // Эксперим. клин, гастроэнтерол. - 2004. - № 3. - С. 83—87.
2. Markowiak P, Śliżewska K. The role of probiotics, prebiotics and synbiotics in animal nutrition // Gut Pathog. – 2018. – V. 10. – N 21.
3. Блинкова Л. П. Машенцева Н. Г., Хорольский В. В., Горобец О. Б., Дорофеева Е. С. Биотехнологические условия синтеза бактериоцинов // Журн. микробиол. - 2006. – № 2. - С. 83-89.
4. Несчислаев В.А., Мокин П.А., Белова Е.В., Маслов Ю.Н., Орлова Е.В. Антибиотикотерапия и пробиотики // Медико-фармацевтический журнал «Пульс». – 2020. – V. 22. – N 11. – P. 127-134.
5. Starčič Erjavec M., Petkovšek Ž., Kuznetsova M.V., Maslennikova I.L., Žgur-Bertok D. Strain ŽP - the first bacterial conjugation-based "kill"- "anti-kill" antimicrobial system // Plasmid. – 2015. – V. 82. – N 3. – P. 28-34.

БОТАНИКА, ГЕНЕТИКА И ЭКОЛОГИЯ РАСТЕНИЙ

МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ АЛЛЕЛЬНЫХ ВАРИАНТОВ ГЕНОВ *ADRB2*, *NOS3*, *PPARGC1A*, АССОЦИИРОВАННЫХ С ФОРМИРОВАНИЕМ ВЫНОСЛИВОСТИ У ДЗЮДОИСТОВ ИЗ СПОРТИВНОЙ ШКОЛЫ ПО САМБО И ДЗЮДО «ВИТЯЗЬ» Г. ПЕРМИ

Корякова А.С.¹, Сорокина А.В.^{1,2}, Левина Д.Р.¹, Боронникова С.В.¹

¹ФГАОУ ВО «Пермский государственный национальный исследовательский университет»,
Пермь, Россия

²ФГБОУ ВО «Пермская государственная фармацевтическая академия» Минздрава России,
Пермь, Россия

Аннотация. Молекулярно-генетический анализ проб ДНК дзюдоистов города Перми показал, что генотип G/G гена *NOS3*, ассоциирован с формированием выносливости, что подтверждено статистически по критерию χ^2 ($\chi^2 = 15,624$ при $p < 0,01$) и при помощи корреляционного анализа Спирмена ($r_s = 0,832$).

Ключевые слова: полиморфизм генов *ADRB2*, *NOS3*, *PPARGC1A*, дзюдоисты

MOLECULAR GENETIC ANALYSIS OF ALLELIC VARIANTS OF THE *ADRB2*, *NOS3*, *PPARGC1A* GENES ASSOCIATED WITH THE FORMATION OF ENDURANCE IN JUDOISTS FROM THE SPORTS SCHOOL OF SAMBO AND JUDO "VITYAZ" IN PERM

Koryakova A.S.¹, Sorokina A.V.^{1,2}, Levina D.R.¹, Boronnikova S.V.¹

¹ Perm State University, Perm, Russia

² Perm State Pharmaceutical Academy, Perm, Russia

Abstract. Molecular genetic analysis of DNA samples from judoists in Perm showed that the genotype G/G of the *NOS3* gene is associated with the formation of endurance, which was confirmed statistically by the criterion of χ^2 ($\chi^2 = 15,624$ at $p < 0,01$) and using Spearman correlation analysis ($r_s = 0,832$).

Key words: gene polymorphisms *ADRB2*, *NOS3*, *PPARGC1A*, judoists

Изучение генетической предрасположенности у спортсменов является важным компонентом для прогноза развития их физических качеств. Спортивных высот достигают те спортсмены, которые наиболее генетически предрасположены к специфике конкретного вида спорта, что важно для корректировки тренировочного процесса [1].

Дзюдо, как и все единоборства, относится к ациклическим видам спорта. Большее значение имеет развитие у спортсменов такого физического качества, как «выносливость». К генам, ассоциированным с формированием физического качества «выносливость», относятся гены *ADRB2* (*Beta-2 Adrenergic Receptor*), *NOS3* (*Nitric Oxide Synthase 3*), *PPARGC1A* (*Peroxisome Proliferator-Activated Receptor Gamma Coactivator 1-Alpha*).

Ген *ADRB2* кодирует адренорецептор β_2 , обеспечивающий повышение или понижение активности иннервируемой ткани или органа, который связывается с катехоламинами и

обеспечивает релаксацию гладкой мускулатуры, а также увеличивает частоту и силу сердечных сокращений [2]. Полиморфный локус rs1042713 гена *ADRB2* (аллель A) ассоциируется с проявлением выносливости у спортсменов [3, 4]. Носительство аллели Gly (аллель G) является неблагоприятным фактором для спортивных результатов и коррелирует со значительным увеличением индекса массы тела, по сравнению с аллелью Arg (A). Генотип A/G ассоциирован с развитием артериальной гипертензии. Генотип A/G гена *ADRB2* также являлся маркером повышенного риска гипертензии у лиц с ожирением [5].

Ген *NOS3* кодирует фермент эндотелиальную NO-синтазу, который катализирует образование окиси азота (NO) из L-аргинина [6]. Полиморфный локус Glu298Asp (rs1799983) гена *NOS3* (аллель G) является маркером предрасположенности к развитию выносливости, связан с функциями сосудистой, дыхательной систем и чувствительностью к инсулину в клетках печени и скелетных мышц. Носительство аллели T является неблагоприятным фактором для спортивных результатов. У людей с генотипом T/T более высок риск ишемической болезни сердца, инфаркта миокарда и ишемического инсульта [7].

Ген *PPARGC1A* экспрессируется преимущественно в скелетных мышцах медленных мышечных волокон, миокарде, в почках [8]. У гена *PPARGC1A* отмечен полиморфный локус Gly482Ser (rs8192678), аллель Gly (G), ассоциирован с выносливостью [9].

Цель исследования – анализ полиморфных вариантов трех генов *ADRB2*, *NOS3* и *PPARGC1A*, ассоциированных с формированием выносливости у дзюдоистов из спортивной школы по самбо и дзюдо «Витязь» г. Перми.

Молекулярно-генетический анализ проведен у 77 спортсменов, занимающихся дзюдо в спортивной школе олимпийского резерва по самбо и дзюдо «Витязь» им. И.И. Пономарева города Перми в России. Возраст испытуемых варьировал от 10 до 16 лет. В соответствии со спортивной квалификацией (спортивным разрядом) сформированы две группы дзюдоистов: Группа I с высокой квалификацией состояла из 39 дзюдоистов, среди которых 6 спортсменов кандидаты в мастера спорта, 19 спортсменов с первым юношеским разрядом и 14 спортсменов со вторым юношеским разрядом. Выборка включала 34 дзюдоиста мужского пола и 5 женского пола. Группа II с низкой квалификацией состояла из 38 дзюдоистов с третьим юношеским разрядом, где 34 спортсмена мужского пола и 4 женского пола. Единоборства являются преимущественно мужскими видами спорта, а потому в выборках преобладают лица мужского пола.

Забор биологического материала (буккального эпителия) для генетического анализа проводили методом соскоба эпителиальных клеток ротовой полости. Все испытуемые были предупреждены об условиях эксперимента. Родители спортсменов и школьников дали письменное согласие на добровольное участие в исследовании. Выделение ДНК проводилось сорбентным методом с помощью коммерческого набора реагентов «Проба ГС», изготовленного компанией ООО «ДНК-Технология» (Российская Федерация) в соответствии с инструкцией, а также методом тотального осаждения и лизиса SDS (Sodium Dodecyl Sulfate, додецил сульфат натрия) с помощью коммерческого набора реагентов «EX-511 ДНК-Экстран-2» (Синтол, Россия) в соответствии с инструкцией. Для проведения молекулярно-генетического анализа было выделено 100 проб ДНК испытуемых. Концентрацию проб ДНК определяли с помощью спектрофотометра Spectrophotometr™ NanoDrop 2000 «Thermo scientific» (USA).

В ПЦР в реальном времени (ПЦР-РВ) при использовании подхода распознавания аллелей (Allelic Discrimination) выявлялись аллельные варианты генов *ADRB2*, *NOS3*,

PPARGC1A, а также генотипы дзюдоистов, ассоциированные с физическим качеством «выносливость». Наборы для выявления полиморфных локусов Arg16Gly (rs1042713) гена *ADRB2*, Glu298Asp (rs1799983) гена *NOS3* и Gly482Ser (rs8192678) гена *PPARGC1A*, синтезированы в ООО «Синтол» (г. Москва, Россия). Реактивы для амплификации ДНК смешивали в нужном объеме непосредственно перед проведением исследования. К реакционной смеси добавляли 5 мкл пробы ДНК индивидуально каждого испытуемого. Определение аллелей и генотипов проводилось при помощи программы Bio-Rad (USA) на амплификаторе CFX96 (CFX96 Touch Real-Time PCR Detection System). ПЦР в реальном времени проведена при условиях, предусмотренных в инструкции производителя набора реактивов ООО «Синтол». Каждая проба была проанализирована индивидуально. Эксперимент повторялся дважды. Интерпретация результатов ПЦР-РВ была проведена в программе Bio-Rad CFX Manager по инструкции компании ООО «Синтол».

Анализ полученных данных проводился с использованием программы STATISTICA 6.0 с определением нормальности распределения. Для хранения и обработки результатов исследований была создана матрица данных в виде электронных таблиц MS Excel 2010. Сравнение частот генотипов между Группой I испытуемых с высокой квалификацией и Группой II с низкой квалификацией выполняли с помощью критерия χ^2 – хи-квадрат (при $p < 0.01$). Оценка взаимосвязи между двух групп осуществлялась с помощью корреляционного анализа Спирмена (r_s).

В результате исследования полиморфных локусов трех генов (*ADRB2*, *NOS3*, *PPARGC1A*), ассоциированных с физическим качеством «выносливость», при сравнении генотипов дзюдоистов выявлено распределение частот аллелей и аллельных вариантов трех генов (Таблица).

Таблица – Полиморфизм трех генов *ADRB2*, *NOS3* и *PPARGC1A* у дзюдоистов школы «Витязь» г. Перми (n=77)

Ген	Генотипы	Группы с разной квалификацией (77 человек)		Частоты генотипа на общую выборку (77 человек)	χ^2	r_s
		Группа I с высокой квалификацией (39 человек)	Группа II с низкой квалификацией (38 человек)			
<i>ADRB2</i>	A/A	0,15 (6)	0,18 (7)	0,17 (13)	4,571	0,608
	A/G	0,74 (29)	0,50 (19)	0,62 (48)		
	G/G	0,11 (4)	0,32 (12)	0,21 (16)		
<i>NOS3</i>	G/G	0,62 (24)	0,55 (21)	0,59 (45)	15,624*	0,832*
	G/T	0,36 (14)	0,37 (14)	0,36 (28)		
	T/T	0,02 (1)	0,08 (3)	0,05 (4)		
<i>PPARGC1A</i>	G/G	0,44 (17)	0,61 (23)	0,52 (40)	0,916	0,320
	G/A	0,36 (14)	0,21 (8)	0,29 (22)		
	A/A	0,20 (8)	0,18 (7)	0,19 (15)		

Примечание: сравнение частот генотипов между двумя группами выполняли с помощью критерия хи-квадрат (χ^2); оценка взаимосвязи между двумя группами с помощью корреляционного анализа Спирмена (r_s); * значимые отличия

Анализ распределения частот полиморфных позиций Arg16Gly гена *ADRB2* показал, что благоприятный генотип A/A установлен с частотой 0,15 в Группе I и с частотой 0,18 в Группе

II. Для этого генотипа характерно большое число медленных мышечных волокон [3, 4]. Генотип, связанный с увеличением сократимости гладкой мускулатуры, отмечен у 6 (0,15) испытуемых из группы с высокой квалификацией и у 7 (0,18) дзюдоистов из группы с низкой квалификацией. Генотип A/G, характеризующийся средним количеством медленных мышечных волокон, а также связанный с повышением артериального давления, был обнаружен у 29 человек из Группы I (0,74) и у 19 человек из Группы II (0,50). Самый неблагоприятный для формирования выносливости генотип G/G, при котором отмечается небольшое число медленных мышечных волокон, что ассоциируется с уменьшением сократимости гладкой мускулатуры, был выявлен у 4 испытуемых из группы с высокой квалификацией и у 12 спортсменов из группы с низкой квалификацией (0,11 – единоборца, против 0,32).

Анализ полиморфной позиции Gly482Ser гена *PPARGC1A* выявил, что благоприятный для формирования выносливости генотип G/G, при котором большое число быстрых мышечных волокон, и повышенная способность к анаэробным возможностям, чаще встречается среди испытуемых в группе с низкой квалификацией (0,61) 23 человека, и, напротив, неблагоприятный для формирования выносливости генотип A/A, отмечается среди спортсменов группы с высокой квалификацией (0,20) 8 человек. Генотип G/A был выявлен у 22 испытуемых, 14 из которых относятся к спортсменам с высокой квалификацией, частота 0,36, а 8 – к группе с низкой, частота 0,21. У носителя генотипа G/A формируется среднее число митохондрий в клетках и, в соответствии с этим, ему присуща средняя степень окисления жирных кислот.

Таким образом, при анализе распределения генотипов 3 генов (*ADRB2*, *NOS3*, *PPARGC1A*) в группах с высокой (Группа I) и низкой (Группа II) квалификацией достоверно значимые различия выявлены только для аллельных вариантов полиморфизма Glu298Asp гена *NOS3* ($\chi^2_{\text{эмп}} = 15,624$ при $p < 0,01$). При оценке взаимосвязи между двумя группами с разной квалификацией установлено с использованием корреляционного анализа Спирмена ($r_s = 0,832$), что только один генотип G/G гена *NOS3* ассоциирован с формированием выносливости у изученной выборки дзюдоистов. Он может быть использован в качестве маркерного генотипа при выявлении предрасположенности к развитию выносливости.

Библиографический список

1. Скорина А.А. Прогнозирование наследственной предрасположенности к скоростно-силовой работе в каратэ на основе генетических маркеров / Здоровье для всех: материалы V Международной научно-практической конференции, Пинск, 25-26 апреля 2013 г.: в 2 ч. Ч. I / Национальный банк Республики Беларусь, Полесский государственный университет ; редкол. К. К. Шебеко [и др.]. Пинск: ПолесГУ, 2013. С. 239–243.
2. Kachkovska V.V. et al. Arg16Gly polymorphism in the $\beta 2$ -adrenoceptor gene in patients with bronchial asthma / V.V. Kachkovska, A.V. Kovchun, I.O. Moyseyenko, I.O. Dudchenko // Wiadomosci Lekarskie, 2021. N. 74. P. 1200–1203.
3. Sarpeshkar V., Bentley D.J. Adrenergic- $\beta 2$ receptor polymorphism and athletic performance // Journal of Human Genetics, 2010. Vol. 55. P. 479–485.
4. Сорокина Е.Ю., Денисова Н.Н., Кешабянц Э.Э. Частота встречаемости генетических полиморфизмов, ассоциированных со спортивной успешностью, у спортсменов игровых видов спорта высших достижений // Спортивная медицина: наука и практика, 2021. № 1.

С. 5–10.

5. Иманбекова М.К. Спорт и генетика / М.К. Иманбекова, Е.В. Жолдыбаева, Т.К. Есентаев, К.Т. Момыналиев // Eurasian Journal of Applied Biotechnology, 2013. No2. С. 2–12.
6. Ruiz J. R. et al. Is there an optimum endurance polygenic profile? / J. R. Ruiz [et al.] // J Physiol, 2009. Vol. 587, Pt. 7. P. 1527–1534.
7. Баранов В.С. Генетический паспорт –основа индивидуальной и предиктивной медицины. СПб.: Изд-во Н-Л, 2009. 528 с.
8. Finck B.N. PGC–1 coactivators: inducible regulators of energy metabolism in health and disease / B.N. Finck, D.P. Kelly // J. Clin. Invest, 2006. Vol. 116. P. 615–622.
9. Ахметов И.И. Молекулярная генетика спорта. М.: Советский спорт, 2009. 268 с.

ПОДБОР ЭФФЕКТИВНЫХ ПРАЙМЕРОВ ДЛЯ ВИДА *SORBUS AUCUPARIA* L.

Журавлева М. М., Данилова М.А.

Пермский государственный национальный исследовательский университет, Пермь, Россия

Аннотация. Для вида *Sorbus aucuparia* L. выявлены эффективные ISSR-праймеры. Отбор ISSR-праймеров осуществлялся по эффективности выявления полиморфизма ДНК и по воспроизводимости результатов. Из 16 проанализированных ISSR-праймеров для дальнейшего проведения молекулярно-генетического анализа полиморфизма ДНК *S. aucuparia* были отобраны следующие 5 ISSR-праймеров, из которых четыре динуклеотидных (M1 - (AC)8CG, M3 - (AC)8CT, ISSR-5 - (AG)8CA, CR-212 - (CT)8TG) и один тринуклеотидный ISSR-праймер (X11 - (AGC)6G).

Ключевые слова: *Sorbus aucuparia* L., эффективные праймеры, ISSR-праймеры

SELECTION OF EFFECTIVE PRIMERS FOR THE SPECIES *SORBUS AUCUPARIA* L.

Zhuravleva M. M. , Danilova M.A.

Perm State National Research University, Perm, Russia

Annotation. For the species *Sorbus aucuparia* L., the authority ISCP primers have been determined. The selection of ISSR primers was carried out based on the efficiency of detecting DNA polymorphism results and reproducibility. Of the 16 analyzed ISSR primers, the following 5 ISSR primers were shown for further molecular genetic analysis of *S. aucuparia* DNA polymorphism, of which four are dinucleotide (M1 - (AC)8CG, M3 - (AC)8CT, ISSR-5 - (AG)8CA, CR-212-(CT)8TG) and one trinucleotide ISSR primer (X11-(AGC)6G).

Key words: *Sorbus aucuparia* L., effective primers, ISSR primers

Рябина является довольно неприхотливой культурой и может произрастать практически повсеместно. Также она обладает большим количеством полезных качеств и используется во многих сферах, например, в медицине, пищевой промышленности, как декоративное растение, как источник древесины и др. Поэтому важно заниматься селекцией рябины, получать новые сорта чтобы ещё улучшить её ценные качества. Основным способом получения новых сортов до сих пор остаются – искусственная гибридизация (межсортовая, отдалённая) и свободное опыление [1].

Поскольку от момента получения гибридных семян до плодоношения проходят годы и затрачиваются значительные ресурсы, то необходимо иметь экспресс-методы, позволяющие диагностировать гибридность полученных семян и проводить раннюю селекцию сеянцев. Это дало бы возможность существенно сократить затраты, связанные со сложной и длительной предпосевной подготовкой семян и многолетним выращиванием бесполезных для дальнейшей работы сеянцев [2].

Геном *S. aucuparia* не секвенирован, поэтому для выявления полиморфизма ДНК популяций исследуемого вида, прежде всего, могут применяться методы, основанные на ПЦР, для одновременного выявления мультилокусного полиморфизма ДНК, не требующие

изначального знания нуклеотидных последовательностей всего генома или его частей. Одним из таких наиболее распространенных методов выявления генетического полиморфизма у растений является ISSR (InterSimpleSequenceRepeats, или межмикросателлитный анализ)-метод выявления полиморфизма ДНК.

Первым этапом молекулярно-генетического анализа является подбор эффективных для изучения генетического разнообразия праймеров.

Для создания ISSR-маркеров используют праймеры, комплементарные микросателлитным повторам (4–12 единицам повтора) и несущие на одном из концов последовательность из двух-четырех произвольных нуклеотидов (так называемый «якорь»). Такие праймеры позволяют амплифицировать фрагменты уникальной ДНК, которые находятся между двумя достаточно близко расположенными микросателлитными последовательностями. В результате амплифицируется большое число фрагментов, представленных на электрофореграмме дискретными полосами (ISSR-фингерпринтинг). Полученные ПЦР-продукты относятся к маркерам доминантного типа наследования, полиморфизм которых тестируется по наличию/отсутствию фрагмента ДНК. Метод обладает хорошей воспроизводимостью и может быть с успехом использован для выявления межвидовой и внутривидовой генетической изменчивости, идентификации групп растений различного таксономического ранга, а в ряде случаев и для индивидуального генотипирования [3,4].

Цель исследования – выявление эффективных ISSR-праймеров для вида *Sorbus aucuparia* L.

Исследования проводились на материале, собранном на территории Балатовского парка города Пермь, в 2023 году. Были собраны образцы 31 растения генеративного возрастного периода.

ДНК была выделена из 20 мг высушенных листьев по модифицированной методике J.H. Cota-Sanchez – с использованием CTAB (Cetrimoniumbromide) и PVPP (polyvinylpyrrolidone) [5]. Концентрация ДНК и спектральные характеристики были определены с помощью спектрофотометра NanoDrop 2000 («ThermoScientific», USA) и выравнены в пределах 10 нг/мкл.

Отбор эффективных ISSR-праймеров осуществлялся по выявлению наибольшего числа фрагментов, включая и полиморфные, на ISSR-спектре и воспроизводимости результатов при повторных ПЦР.

Для полимеразной цепной реакции реакционная смесь объемом 25 мкл содержала: 0,4 мкл 1 единицы Tag-полимеразы («Силекс М», Россия); 2,5 мкл стандартного 10x буфера для ПЦР («Силекс М», Россия); 0,25 мкл праймера («Евроген», Россия); 2,5 мкл MgCl₂ («Силекс М», Россия); 0,25 мкл dNTP («Fermentas», Литва); 14,1 мкл MQ; 5 мкл тотальной ДНК.

Амплификация проводилась в термоциклере MJ Mini-Cycler («BioRad», USA) по стандартной для ISSR-метода программе. Температура отжига в зависимости от G/C состава праймеров варьировала от 54 до 64°C для ISSR-праймеров. Продукты амплификации разделяли электрофоретически в 1,7% агарозных гелях в 1x TBE буфере, окрашивали бромистым этидием и фотографировали в проходящем ультрафиолетовом свете в системе гельдокументации GelDoc XR (Bio-Rad, USA), определение длин фрагментов проводилось с использованием программы QuantityOne («Bio-Rad», USA). Для определения длины фрагментов ДНК использовали маркер молекулярной массы (100 bp + 1.2 + 1.5 + 2 + 3 Kb DNA Ladder); «ООО-СибЭнзим-М», Москва). В качестве отрицательного контроля (К-) в

реакционную смесь для проверки чистоты реактивов добавляли вместо ДНК 5 мкл деионизированной воды. Для выявления эффективности были избраны 16 ISSR-праймеров с ди- и тринуклеотидным коровым мотивом с одним или двумя нуклеотидами в качестве якорей на конце праймеров, список всех праймеров приведен в таблице.

Таблица – Эффективность ISSR-праймеров для дикорастущей рябины

Обозначение праймера	Нуклеотидная последовательность праймера (5'→3')	Температура отжига, С ⁰	Эффективность праймера
M1	(AC)8CG	56	5
M2	(AC)8CC	56	2
M3	(AC)8CT	54	5
X10	(AGC)6C	64	3
X11	(AGC)6G	64	5
ISSR-3	(TG)8AA	56	1
ISSR-4	(TG)8GC	56	1
ISSR-5	(AG)8CA	56	5
ISSR-7	(CTC)6C	56	1
ISSR-9	(ACG)7G	56	2
ISSR-10	(ATG)7C	56	1
CR-212	(CT)8TG	56	5
CR-215	(CA)6GT	56	4
CR-216	(GA)6GG	56	2
CR-217	(TG)6GG	56	2

Примечание: полужирным выделены эффективные праймеры.

Из 16 проанализированных 5 ISSR-праймеров с тотальной ДНК *S. aucuparia* продемонстрировали высокую эффективность (5), так как выявили наибольшее число четко амплифицирующихся ISSR-PCR маркеров, 1 праймер обнаружил среднюю эффективность (4), а 10 ISSR-праймеров показали невысокую (3 и ниже) эффективность. Для дальнейшего проведения молекулярно-генетического анализа полиморфизма ДНК *S. aucuparia* были отобраны следующие 5 ISSR-праймеров, из которых четыре динуклеотидных (M1 - (AC)8CG, M3 - (AC)8CT, ISSR-5 - (AG)8CA, CR-212 - (CT)8TG) и один тринуклеотидный ISSR-праймер (X11 - (AGC)6G).

Таким образом, для молекулярно-генетического анализа популяций *S. aucuparia* с использованием ISSR-PCR маркеров был произведен подбор ISSR-праймеров по эффективности выявления полиморфизма ДНК.

Библиографический список

1. Асбаганов С. В. Генофонд и селекция рябины (*Sorbus L.*) в Западной Сибири // Генофонд и селекция растений: тезисы докладов II международной конференции, посвященной 80-летию СИБНИИРС. – Новосибирск, 2016. – 11 с.
2. Асбаганов, С. В., Кобозева Е. В., Агафонов А. В. Применение электрофореза запасных белков семядолей и ISSR-маркеров для идентификации гибридов между *Sorbussibirica*Hedl. и *Sorbocotoneasterpozdnjakovii*Pojark // Вавиловский журнал генетики и селекции, 2014 – Т. 18, № 3. – 486–496 с.
3. Сухарева А. С., Кулуев Б. Р. ДНК-маркеры для генетического анализа сортов культурных растений // Биомика, 2018. – Т. 10, № 1. – 069-084 с.
4. Huseyin Uysal, Yong - Bi Fu, Orhan Kurt, Peterson G. W., Diederichsen A., Kusters P. Genetic diversity of cultivated fl ax (*Linum usitatissimum L.*) and its wild progenitor pale fl ax (*Linum bienne Mill.*) as revealed by ISSR markers // Genet. Resour. Crop Evol, 2010. – Vol. 57. – 1109–1119 p.
5. Cota-Sánchez J. H., Remarchuk K., Ubayasena K. Ready-to-use DNA extracted with a CTAB method adapted for herbarium specimens and mucilaginous plant tissue // Plant Molecular Biology Reporter. 2006. – Vol. 24. – 161–167 p.

МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ FRAGARIA VIRIDIS DUCH. В ПЕРМСКОМ КРАЕ

Кокшарова А. Н., Данилова М. А.

Пермский государственный национальный исследовательский университет, Пермь, Россия

Аннотация. Изучено генетическое разнообразие земляники зеленой (*Fragaria viridis*). Для анализа полиморфизма ДНК использовался ISSR-метод. Исследованные популяции характеризуются высоким уровнем генетического разнообразия, что подтверждается данными о числе полиморфных локусов и уровне гетерозиготности.

Ключевые слова: *Fragaria viridis*, полиморфизм ДНК, генетический анализ, ISSR-метод

MOLECULAR GENETIC ANALYSIS OF FRAGARIA VIRIDIS DUCH. IN THE PERM REGION

Koksharova A. N., Danilova M. A.

Perm State University, Perm, Russia

Annotation. The genetic diversity of green strawberries (*Fragaria viridis*) has been studied. The ISSR method was used to analyze DNA polymorphism. The studied populations are characterized by a high level of genetic diversity, which is confirmed by data on the number of polymorphic loci and levels of heterozygosity.

Key words: *Fragaria viridis*, DNA polymorphism, genetic analysis, ISSR method

Введение. *Fragaria viridis* Dush. (семейства Rosaceae) – это многолетнее травянистое растение. Произрастает на сухих солнечных склонах и на приречных лугах [1, 2]. Период цветения – с мая по июнь, а плодоношения – с июня по июль. Съедобное. В период плодоношения ведутся нерегулируемые сборы ягод [1, 3]. Для разработки эффективных способов рационального использования необходимым условием является изучение репродуктивной биологии и генетического разнообразия популяций вида. От генетического разнообразия популяции зависит ее способность адаптироваться к непосредственному окружению в процессе естественного отбора [4].

Целью нашего исследования является молекулярно-генетический анализ *F. viridis* в Пермском крае.

Материалы и методы. Объектам для исследования полиморфизма фрагментов ДНК была выбрана популяция *Fragaria viridis*. Первая располагается на территории Кунгурского района, на склоне Ледяной горы. Вторая в Перми в Кировском районе на правом береговом склоне реки Кама. Сбор материала для исследования осуществлялся на 10 пробных площадках 1х1 м., расположенных на расстоянии друг от друга в 5 метрах, на каждой площадке были взяты листья с трех кустов. Сбор материала и выделение ДНК осуществлялись в 2023 году. Дальнейшие лабораторные исследования и компьютерный анализ – в 2024.

Для генетического анализа использовались зеленые листья растения. ДНК выделялась по методике С. Роджерса и А. Бендиха [5], которая была модифицирована с использованием в качестве сорбента PVPP (polyvinylpolypyrrolidone). Навеска одного образца составляла 40 грамм. Качественные характеристики и концентрацию ДНК определяли на спектрофотометре «NanoDrop 2000» (ThermoFisher Scientific, США). Для ПЦР концентрацию выравнивали до 10 нг/мкл. Молекулярно-генетическое исследование было проведено с применением ISSR (Inter Simple Sequence Repeats)-метода анализа полиморфизма ДНК [6]. Реакционная смесь для ПЦР, объемом 25 мкл, содержала: 2 единицы Taq-полимеразы; 2,5 мкл 10х буфера и MgCl₂ «Силекс М»; 25 пМ праймера «Синтол»; 0,25 мМ dNTP «Fermentas»; 5 мкл тотальной ДНК. Амплификацию проводили в термоциклере «My Cycler» (Bio-Rad, USA).

В качестве отрицательного контроля (К-) в реакционную смесь добавляли 5 мкл деионизированной воды вместо ДНК. Ампликоны разделяли электрофорезом в 1,5 % агарозном геле в 1х TBE буфере, окрашивали бромистым этидием. Условия электрофореза были следующие: 110 А 90 минут. Определение длин ампликонов осуществляли маркером молекулярной массы (100 bp +1.5 + 3 Kb DNA Ladder, ООО «СибЭнзим-М», г. Москва). Фотографирование электрофореграмм проводили с помощью системы гель-документации GelDoc XR (Bio-Rad, USA), а анализ молекулярного веса ампликонов в программе Quantity One («Bio-Rad», USA).

Статистическая обработка полученных данных проведена с поддержкой общепризнанных генетических компьютерных программ: POPGENE 1.31 [7] и специального макроса GenAlEx6 для MS-Excel; [8] с определением доли (P95) полиморфных локусов [9], а также ожидаемой (HE) гетерозиготности [10], абсолютного (na) и эффективного числа аллелей (ne) на локус [11].

Результаты и их обсуждение.

Было проверено 18 праймеров: ISSR-1, ISSR-3, ISSR-4, ISSR-5, ISSR-8, ISSR-9, ISSR-10, CR-212, CR-215, CR-216, CR-217, CR-218, M1, M3, X1, X9, X10, X11.

В результате было выявлено, что 7 праймеров эффективны для генома земляники зеленой, 6 проявились, но не эффективно и 5 не эффективны (табл. 1). Эффективность оценивалась от 1 до 5 (1 – очень низкая, 2 – низкая, 3 – средняя, 4 – высокая, 5 – очень высокая) [12].

Таблица 1 – Эффективность праймеров для *F. viridis*

№	Праймер	Нуклеотидная последовательность (5'→3')	Эффективность праймера
1	ISSR-1	(AC) ₈ T	5
2	ISSR-3	(TG) ₈ AA	3
3	ISSR-4	(TG) ₈ GC	3
4	ISSR-5	(AG) ₈ CA	3
5	ISSR-8	(GAG) ₆ C	2
6	ISSR-9	(ACG) ₇ G	1
7	ISSR-10	(ATG) ₇ C	5
8	CR-212	(CT) ₈ TG	1
9	CR-215	(CA) ₆ GT	1

Продолжение таблицы 1

№	Праймер	Нуклеотидная последовательность (5'→3')	Эффективность праймера
10	CR-216	(GA) ₆ GG	1
11	CR-217	(GT) ₆ GG	2
12	CR-218	(GA) ₆ CC	5
13	M1	(AC) ₈ CG	5
14	M3	(AC) ₈ CT	5
15	X1	(CA) ₆ G	1
16	X9	(ACC) ₆ G	4
17	X10	(AGC) ₆ C	3
18	X11	(AGC) ₆ G	4

Для изучения генетического полиморфизма в данной работе были выбраны пять ISSR праймеров с самыми высокими показателями эффективности: ISSR-1, ISSR-10, CR-218, M-1 и M-3. Ранее нами были изучены с использованием таких же методов популяции *Fragaria vesca* L. Для нее эффективными оказались следующие праймеры ISSR-3, ISSR-8, X-11 и CR-218. С земляникой зеленой совпадение произошло только по одному праймеру – CR-218.

При определении генетического полиморфизма у всех особей было выявлено 69 ISSR-PCR маркера, из них 58 оказались полиморфными. Изученная выборка характеризуется высоким показателем генетического разнообразия (табл. 2).

Таблица 2 – Характеристика амплифицированных ISSR-методом фрагментов ДНК *F. viridis*

ISSR- праймер	Нуклеотидная последовательность (5'→ 3')	Число ISSR-фрагментов в популяциях			
		Популяция 1		Популяция 2	
		всего	полиморфных	всего	полиморфных
ISSR-1	(AC) ₈ T	13	10	14	12
ISSR-10	(ATG) ₇ C	11	9	12	10
M-3	(AC) ₈ CT	9	5	9	7
M-1	(AC) ₈ CG	7	3	9	3
CR-218	(GA) ₆ CC	13	10	15	13
Всего ISSR-PCR маркеров		53	37	59	45

Примечание: ISSR-1, ISSR-10, M-1, M-3, CR-218 – обозначения праймеров.

Ожидаемая гетерозиготность (H_e) для популяции из Кунгура оказалась немного ниже, чем для Пермской ($0,222 \pm 0,024$ и $0,273 \pm 0,022$ соответственно). Абсолютное число аллелей на локус (n_a) было выше у популяции из Перми ($1,8305 \pm 0,3784$). Эффективное число

установленных аллелей на локус (n_e) оказалось выше также в популяции из Перми популяции, и составило $1,4491 \pm 0,416$. Данные приведены в таблица 3.

Таблица 3 – Генетическое разнообразие популяции *F. viridis*

Показатель	Популяция 1	Популяция 2	На общую популяцию
H_e	0,222 (0,024)	0,273 (0,022)	0,202 (0,015)
n_a	1,7170 (0,461)	1,8305 (0,3784)	1,8548 (0,3551)
n_e	1,3562 (0,3223)	1,4491 (0,3262)	1,3797 (0,2892)
R	2	1	-

Примечание: H_e – ожидаемая гетерозиготность; n_a – абсолютное число аллелей на локус; n_e – эффективное число аллелей на локус; в скобках даны стандартные отклонения. R – число редких локусов.

Анализ параметров генетического разнообразия *F. viridis* показал, что ожидаемая доля гетерозиготных генотипов на общую выборку (H_t) составила 0.2277 (0,0237); а ожидаемая доля гетерозиготных генотипов на отдельную выборку (H_s) – 0.2018 (0,0190). Коэффициент подразделенности ($G_{st} = 0,1101$) показал, что на межпопуляционную компоненту приходится 11,0% всего генетического разнообразия изученных выборок, что свидетельствует о малой степени дифференцирования.

Ранее нами был исследован другой дикорастущий вид земляники – *F. vesca*, в том числе и популяция из Пермского края. Если сравнить генетическое разнообразие популяций обоих видов по праймеру CR-218. Для вида *F. vesca* было определено 14 ISSR-фрагментов, а для *F. viridis* – 13. Также было выявлено три мономорфные полосы, которые совпадают по молекулярному весу для обоих видов. На основе этого можно полагать что данные фрагменты можно отнести к родовым. Также есть 6 полиморфных фрагментов, совпадающих по молекулярному весу, которые присутствуют у обоих видов.

Заключение. В результате проведенного исследования было установлено, что популяция *Fragaria viridis* в Пермском крае обладает высоким уровнем генетического разнообразия. В ходе молекулярно-генетического анализа выборки *Fragaria viridis* было выявлено 69 ISSR-PCR маркеров, из которых 58 оказались полиморфными. Ожидаемая гетерозиготность, абсолютное и эффективное число аллелей оказались выше в Пермской популяции, чем в Кунгурской. Изученные популяции характеризуются высокими показателями генетического разнообразия. Выявленные уровни полиморфизма и гетерозиготности указывают на высокий генетический потенциал адаптации к изменяющимся условиям окружающей среды. Но межпопуляционное разнообразие между двумя популяциями оказался небольшим ($G_{st} = 0.110$).

Библиографический список

1. Овеснов С. А. Местная флора. Флора Пермского края и её анализ : учебное пособие по спецкурсу / Федер. агентство по образованию, Перм. гос. ун-т. Пермь : Изд-во Перм. ун-та, 2009. 215 с.

2. Губанов И. А. 736. *Fragaria viridis* Duch. — Земляника зелёная, или Клубника зелёная, или Полуница // Иллюстрированный определитель растений Средней России : в 3 т. / И. А. Губанов, К. В. Киселёва, В. С. Новиков, В. Н. Тихомиров. — М. : Товарищество науч. изд. КМК : Ин-т технол. исслед., 2003. — Т. 2 : Покрытосеменные (двудольные: раздельнолепестные). — С. 372. — 666 с. — 3000 экз. — ISBN 5-87317-128-9.
3. Биохимические особенности и антибактериальное действие препаратов *Fragaria viridis* / Н. Ф. Гусев [и др.] // Известия ОГАУ. — 2016. — № 4 (60). — С. 206–209.
4. Грушецкая З. Е., Никитинская Т. В., Кубрак С. В. и др. Использование issr-анализа для изучения внутри- и межвидового генетического полиморфизма различных таксонов высших растений // Вестник БГУ. Сер. 2. 2013. № 3 С. 50-56.
5. Rogers S.O., Bendich A.J. Extraction of DNA from milligram amounts of fresh, herbarium and mummified plant tissues // Plant Molecular Biology. 1985. Vol. 5, № 19. P. 69-76.
6. Zietkiewicz E., Rafalski A., Labuda D. Genome fingerprinting by simple sequence repeat (SSR)-anchored polymerase chain reaction amplification // Genomics. 1994. Vol. 20. P. 176-183.
7. Yeh F.C., Young R.C., Mao J. POPGENE, the Microsoft Windows-based user-friendly software for population genetic analysis of co-dominant and dominant markers and quantitative traits // Department of Renewable Resources, Univ. of Alberta, Edmonton. Alta, 1999. 238 p.
8. Peakall R., Smouse P. E. GenAlEx6: Genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research // Mol. Ecol. Not. 2006. Vol. 6. P. 288-295
9. Williams Raymakers C. CITES, the Convention on International trade in Endangered Species of wild fauna and flora: its role in the conservation of Acipenceriformes // J. Appl. Ichthyol. 2006. Vol. 22. P. 53-65.
10. Nei M. Molecular evolutionary genetics. N.Y.: Columbia Univ. Press., 1987.
11. Kimura M., Crow J. F. The number of alleles that can be maintained in a finite population // Genetics (US). 1964. Vol. 49. P. 725-738.
12. Календарь Р.Н., Боронникова С.В. Анализ молекулярно-генетического полиморфизма природных популяций редких видов растений Урала с помощью ретротранспозонов // Биотехнология: состояние и перспективы развития : материалы IV Московского междунар. конгр. Ч. 2. — М. : ЗАО «Экспобиохимтехнологии», РХТУ им. Д.И. Менделеева, 2007. — 121 с

МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ ЕСТЕСТВЕННЫХ ПОПУЛЯЦИЙ СТЕРЛЯДИ (*ACIPENSER RUTHENUS*) РЕКИ ВЯТКА

Колесникова Е.А.¹, Валеева А.О.¹, Комарова Л.В.^{1,2}

¹ФГАОУ ВО «Пермский государственный национальный исследовательский университет», Пермь, Россия

²Пермский филиал ФГБНУ «ВНИРО» («ПермНИРО»), Пермь, Россия

Аннотация. В работе исследованы параметры генетического разнообразия и генетической структуры естественных популяций стерляди реки Вятка. Оценен вклад межпопуляционных и внутривидовых различий в генетическую подразделенность популяций.

Ключевые слова: генетическое разнообразие, генофонд, генетическая структура, ISSR-PCR маркеры, молекулярно-генетическая идентификация, *Acipenser ruthenus* L., осетровые.

MOLECULAR GENETIC ANALYSIS OF WILD STOCKS OF STERLET STURGEON (*ACIPENSER RUTHENUS*) IN THE VYATKA RIVER

Kolesnikova E.A.¹, Valeeva A.O.¹, Komarova L.V.^{1,2}

¹ Perm State University, Perm, Russia

² Perm branch of “VNIRO” (“PERMNIRO”), Perm, Russia

Abstract. The study examines the parameters of genetic diversity and genetic structure of wild stocks of sterlet in the Vyatka River. The contribution of inter-population and intra-population differences to the genetic subdivision of populations is estimated.

Keywords: genetic diversity, gene pool, genetic structure, ISSR-PCR markers, molecular genetic identification, *Acipenser ruthenus* L., sturgeon.

Стерлядь (*Acipenser ruthenus*) – один из представителей семейства Осетровые (*Acipenseridae*) – реликтовой группы рыб, существующих ещё с мелового периода.

До недавнего времени вид был широко распространен в Северном полушарии. В настоящее время популяции стерляди в водоемах России находятся в кризисном состоянии. Стерлядь принадлежит к числу видов, имеющих категорию редкости I в Красной книге Российской Федерации (находящиеся под угрозой исчезновения) и попадает под ограничения СИТЕС (Convention on International Trade in Endangered Species of Wild Fauna and Flora – Конвенция о международной торговле видами дикой фауны и флоры, находящимися под угрозой исчезновения). Подписавшие данную конвенцию государства обязаны вести импорт, экспорт, реэкспорт и интродукцию видов растений и животных на основании разрешений и сертификатов [1].

Основными причинами уменьшения естественных популяций являются браконьерство, хозяйственное развитие бассейнов нерестовых рек, строительство гидротехнических сооружений, а также загрязнение водоемов. Во всем мире значительные усилия и исследования фокусируются на возобновлении численности осетровых рыб, разрабатываются методы их искусственного воспроизводства, товарного выращивания, выполняются

исследования и разрабатываются программы по сохранению и увеличению численности природных популяций, а также проводятся мероприятия по реинтродукции исчезающих популяций в бывшие ареалы их обитания [2].

На данный момент наиболее продуктивным методом, используемым для сохранения численности стерляди, является молекулярно-генетический анализ. Он позволяет определить степень генетической чистоты и дает возможность выявить материал рыбы, пригодный для выпуска в естественную среду и восстановления исчезающей популяции.

В исследовании мы использовали межмикросателлитный анализ полиморфизма ДНК — один из методов изучения генетического разнообразия, используемый для выявления межвидовой и внутривидовой генетической изменчивости, идентификации видов и популяций, а также для генотипирования [3].

Регионом исследования была выбрана река Вятка Кировской области, так как в верхних участках реки не производятся выпуски молоди, нет зарыбления искусственно выращенными особями *A. ruthenus*. Выпуски молоди производятся только в южных районах, поэтому исследования данного региона являются важными в сохранении естественного генофонда природных популяций стерляди, а также дают возможность сравнить и наглядно продемонстрировать различия в генетической структуре популяций рыбы, частично реинтродуцированной посредством аквакультуры, с дикими сородичами.

Отлов стерляди в естественных популяциях реки Вятка с последующим выпуском рыб после взятия проб плавников производился согласно разрешению от ФГБНУ «ВНИРО».

Таким образом, целью работы являлось изучение генетического разнообразия естественных популяций стерляди реки Вятка на основании полиморфизма ISSR-маркеров.

Методика. Молекулярно-генетический анализ стерляди (*Acipenser ruthenus* Linnaeus, *Acipenseridae*), был проведен с 2022 по 2024 годы. Объектами для изучения генетического разнообразия являлись три естественные популяции стерляди реки Вятка, взятые на разных участках: *A.r_Vp* – н.п. Вятские поляны, *A.r_Vi* – н.п. Вишкиль, *A.r_Sh* – н.п. Шурма.

В каждой из изученных естественных популяций было исследовано по 24-46 особей *A. ruthenus*. Для генетического анализа отбирались фрагменты грудных плавников с последующим выпуском рыбы в водоем. Фиксация материала была проведена сразу же после взятия проб в 96% спирте. Хранение материала до выделения ДНК проводилось при температуре +4°C.

Выделение ДНК проводили по методике С. Роджерса и А. Бендиха [4]. Для проведения молекулярно-генетического анализа была выделена ДНК из тканей грудных плавников 105 особей стерляди из естественных популяций. Навеска составляла 100 мг. Качество проб и концентрацию ДНК в них определяли на спектрофотометре «NanoDrop 2000» (Thermo Fisher Scientific, США) и выравнивали до 10 нг/мкл. Анализ полиморфизма ДНК проведен у 105 проб с пятью эффективными ISSR-праймерами, установленными ранее [5] посредством полимеразной цепной реакции (ПЦР).

Молекулярно-генетический анализ был проведен с использованием метода межмикросателлитного анализа (ISSR – Inter Simple Sequence Repeats) полиморфизма ДНК с 5 эффективными праймерами: ISSR-9(ACG)₇G, X9 ((ACC)₆G), X11 (AGC)₆G, CR-212 ((CT)₈TG), CR-215 ((CA)₆GT). Среди отобранных четыре тринуклеотидных и один динуклеотидный праймеры.

Состав реакционной смеси для ПЦР включал 2 единицы Tag-полимеразы, 2,5 мкл стандартного 10x буфера для ПЦР, 25 мМ праймера, 2,5 мМ Mg²⁺, 0,25 мМ dNTP, а также 5

мкл матричной ДНК. ПЦР проведена с использованием термоциклера «My Cycler» (Bio-Rad, USA) по типичной для ISSR-метода анализа полиморфизма ДНК программе: предварительная денатурация 94°C, 2 мин.; первые пять циклов 94°C, 20 сек.; t° отжига, 10 сек.; 72°C, 10 сек.; в последующих тридцати пяти циклах 94°C, 5 сек.; t отж., 5 сек.; 72°C, 5 сек. Последний цикл элонгации длился 2 мин при 72°C. Температура отжига в зависимости от G/C-состава праймеров варьировала от 56 до 64°C. В качестве отрицательного (К-) контроля в реакционную смесь для проверки чистоты реактивов добавляли вместо ДНК 5 мкл деионизированной воды. Для подтверждения достоверности результатов ПЦР повторяли не менее двух раз.

Продукты амплификации разделяли путем электрофореза в 2% агарозном геле в 1x TBE буфере. Гели окрашивали интеркалирующим красителем (бромистым этидием) и фотографировали в проходящем ультрафиолетовом свете в системе Gel-Doc XR («Bio-Rad», USA). Для определения длины фрагментов ДНК использовали маркер молекулярной массы (100 bp +1.5 + 3 Kb DNA Ladder; «ООО-СибЭнзим-М», Москва). Определение длин фрагментов проводилось с использованием программы Quantity One в системе геле-документации GelDoc XR («Bio-Rad», USA).

Для дальнейшей компьютерной обработки данные были представлены в виде матрицы бинарных данных, в которой наличие или отсутствие в спектре одинаковых по размеру фрагментов ДНК рассматривалось как состояние 1 или 0. Полиморфизм по интенсивности не брали в расчет. Компьютерный анализ полученных данных проведен с помощью программы POPGENE 1.3.1 [6] и с помощью специализированного макроса GenAlEx6 для MS-Excel [7]. С помощью данных программ определяли доли (P_{95}) полиморфных локусов [8], абсолютное число аллелей (n_a), эффективное число аллелей (n_e) [9], ожидаемую гетерозиготность (H_e) [10].

Анализ генетической структуры популяций и стад был проведен с использованием следующих параметров [10]: ожидаемая доля гетерозиготных генотипов (H_T) во всей популяции, как мера общего генного разнообразия; ожидаемая доля гетерозиготных генотипов (H_S) в отдельной популяции, как мера ее внутривидового разнообразия; доля межвидового генетического разнообразия в общем разнообразии или показатель подразделенности популяций (G_{ST}).

Результаты.

Из трех естественных популяций были изучены 105 особей *A. ruthenus* с использованием 5 эффективных праймеров, определенных для стерляди ранее [5], выявлено 127 фрагментов ДНК, из которых 116 являлись полиморфными. Длина установленных фрагментов ДНК варьировала от 130 п.н. до 2000 п.н.

На общую выборку доля полиморфных локусов (P_{95}) равна 0,913. Данный показатель наибольший ($P_{95} = 1$) на общую выборку с использованием праймера CR-212[(CT)₈TG], а наименьший ($P_{95} = 0,833$) на общую выборку с использованием праймера X9[(ACC)₆G]. Среди трех изученных популяций доля полиморфных локусов максимальна ($P_{95} = 0,966$) у популяции *Ar_Vi* при использовании праймера X9[(ACC)₆G], а минимальна ($P_{95} = 0,700$) у популяции *Ar_Vp* при использовании праймера CR-215[(CA)₆GT] (Таблица 1).

Таблица 1 – Полиморфизм фрагментов ДНК стерляди трёх естественных популяций реки Вятка

ISSR-праймеры	Нуклеотидная последовательность (5'→3')	Длина Фрагментов ДНК, п.н.	Число полиморфных фрагментов ДНК (их частота)			На общую выборку	
			<i>Ar_Vp</i>	<i>Ar_Vi</i>	<i>Ar_Sh</i>	Всего	Полиморфных
CR-212	(CT) ₈ TG	200-980	15 (0,938)	11 (0,733)	13 (0,929)	17	17 (1,000)
X9	(ACC) ₆ G	160-1600	19 (0,864)	28 (0,966)	16 (0,842)	36	30 (0,833)
X11	(AGC) ₆ G	200-1560	18 (0,900)	16 (0,800)	12 (0,706)	26	24 (0,923)
CR-215	(CA) ₆ GT	200-1300	7 (0,700)	11 (0,786)	13 (0,765)	21	19 (0,905)
ISSR-9	(ACG) ₇ G	130-2000	20 (0,909)	16 (0,941)	16 (0,889)	27	26 (0,963)
Всего ISSR-PCR маркеров			79 (0,878)	82 (0,863)	70 (0,824)	127	116 (0,913)

Примечание: *Ar_Vp* – н.п. Вятские поляны, *Ar_Vi* – н.п. Вишкиль, *Ar_Sh* – н.п. Шурма ; ISSR-9, CR-212, CR-215, X9, X11 – обозначения праймеров; жирным выделены максимальные и минимальные значения параметров и значения параметров на общую выборку.

Ожидаемая гетерозиготность (H_E) для трех естественных популяций *A. ruthenus* на общую выборку составила 0,228. Данный показатель оказался максимальным в популяции *Ar_Vp* ($H_E = 0,245$), а минимальным – в выборке *Ar_Sh* ($H_E = 0,205$).

Абсолютное число аллелей на локус (n_a) для трех естественных популяций *A. ruthenus* на общую выборку составило 1,325. Данный показатель оказался максимальным в выборке *Ar_Vi* ($n_a = 1,409$) и минимальным в выборке *Ar_Sh* ($n_a = 1,220$). Эффективное число аллелей на локус (n_e) на общую выборку составило 1,400. Характеризуется низкими показателями в выборке *Ar_Sh* ($n_e = 1,360$). Наибольшее значение имеет в выборке *Ar_Vp* ($n_e = 1,431$) (Таблица 2).

Анализ параметров генетической структуры на общую выборку *A. ruthenus* показал, что ожидаемая доля гетерозиготных генотипов (H_T) на общую популяцию составила 0,295, а ожидаемая доля гетерозиготных генотипов на отдельную популяцию (H_s) – 0,204. Данные показатели оказались максимальными ($H_T = 0,350$; $H_s = 0,285$) с применением праймера CR-212[(CT)₈TG] (Таблица 3).

Таблица 2 – Параметры генетического разнообразия стерляди реки Вятка

Популяции	H_e	n_a	n_e
<i>A.r_Vp</i>	0,245 (0,018)	1,346 (0,080)	1,431 (0,035)
<i>A.r_Vi</i>	0,236 (0,018)	1,409 (0,077)	1,408 (0,034)
<i>A.r_Sh</i>	0,205 (0,019)	1,220 (0,081)	1,360 (0,035)
На общую выборку	0,228 (0,011)	1,325 (0,046)	1,400 (0,020)

Примечание: H_E – ожидаемая гетерозиготность, в скобках дана стандартная ошибка (SE); n_a – абсолютное число аллелей на локус, n_e – эффективное число аллелей на локус; в скобках даны среднеквадратичные отклонения (SD); *A.r_Vp* – н.п. Вятские поляны, *A.r_Vi* – н.п. Вишкиль, *A.r_Sh* – н.п. Шурма; жирным выделены максимальные и минимальные значения параметров.

Коэффициент подразделенности популяций показал, что на межпопуляционную компоненту приходится 30,8% всего генетического разнообразия. Наибольшая дифференциация *A. ruthenus* ($G_{ST}=0,429$) установлена с использованием праймера CR-215[(CA)₆GT)], наименьший показатель равен 0,186 и установлен с применением праймера CR-212[(CT)₈TG] (Таблица 3).

Таблица 3 – Параметры генетической структуры стерляди реки Вятка

ISSR-праймер	Нуклеотидная последовательность (5'→ 3')	H_T	H_S	G_{ST}
CR-212	(CT) ₈ TG	0,350 (0,023)	0,285 (0,016)	0,186
X9	(ACC) ₆ G	0,276 (0,028)	0,171 (0,015)	0,382
X11	(AGC) ₆ G	0,299 (0,024)	0,206 (0,017)	0,309
CR-215	(CA) ₆ GT)	0,295 (0,027)	0,168 (0,014)	0,429
ISSR-9	(ACG) ₇ G	0,281 (0,018)	0,224 (0,016)	0,206
На общую выборку		0,295 (0,024)	0,204 (0,017)	0,308

Примечание: H_T – доля гетерозиготных генотипов; H_S – доля гетерозиготных генотипов внутри выборки; G_{ST} – показатель подразделенности популяций; в скобках даны среднеквадратичные отклонения (SD); ISSR-9, CR-212, CR-215, X9, X11 – обозначения праймеров; жирным выделены максимальные значения параметров и значения параметров на общую выборку

Матрица попарных генетических расстояний отражает степень генетического сходства особей исследуемых популяций стерляди между собой. Чем ниже генетическое расстояние, тем выше генетическое сходство среди выборок. Наибольшее генетическое расстояние (табл.

9) наблюдается между естественными популяциями *Ar_Vp* и *Ar_Sh* ($D = 0,295$). Наименьшее генетическое расстояние наблюдается между естественными популяциями *Ar_Vi* и *Ar_Sh* ($D = 0,148$) (Таблица 4).

Таблица 4 – Матрица попарных генетических расстояний

<i>A.r_Vp</i>	<i>A.r_Vi</i>	<i>A.r_Sh</i>	
–	–	–	<i>A.r_Vp</i>
0,290	–	–	<i>A.r_Vi</i>
0,295	0,148	–	<i>A.r_Sh</i>

Примечание: *A.r_Vp* – н.п. Вятские поляны, *A.r_Vi* – н.п. Вишкиль, *A.r_Sh* – н.п. Шурма

Таким образом, популяции стерляди реки Вятка характеризуются высоким уровнем ДНК полиморфизма (доля полиморфных локусов $P_{95} = 0,913$). Изучение подразделенности популяций показало, что на межпопуляционную компоненту приходится 30,8% всего генетического разнообразия, 69,2% – внутривидовые различия. Матрица попарных генетических расстояний доказывает гипотезу о том, что северные популяции (*A.r_Vi*, *A.r_Sh*), в которых не происходит активная реинтродукция, более схожи между собой, нежели с южной популяцией стерляди *A.r_Vp*, в которую периодически происходят выпуски молоди. Полученные нами данные позволяют говорить о важности сохранения естественного генофонда и разнообразия популяций *Acipenser ruthenus* реки Вятка.

Библиографический список

1. Лемеш В. ДНК-маркеры для идентификации рыбы и морепродуктов / В. Лемеш, М. Богданова, А. Носова // Наука и инновации. – 2020. – №10. – С. 36-39.
2. Лесюк М.И. Молекулярно-генетические исследования производителей стерляди (*Acipenser ruthenus* L.) / М.И. Лесюк, О.Ю. Конева, Е.А. Ровба, А.М. Слуквин // Молекулярная и прикладная генетика. – 2012. – Т. 13. – С. 110-117.
3. Генетическая структура естественных популяций стерляди (*Acipenser ruthenus* L.) в бассейнах рек Кама и Обь на основании полиморфизма ISSR маркеров / Л.В. Комарова, Н.В. Костицына, С.В. Боронникова, А.Г. Мельникова // Сельскохозяйственная биология. – 2018. – Т. 52, № 2. – С. 348-354.
4. Rogers S. O., Bendich A. J. Extraction of DNA from milligram amounts of fresh, herbarium and mummified plant tissues // Plant Molecular Biology. 1985. Vol. 5, № 19. P. 69-76.
5. Комарова Л. В., Костицына Н. В., Боронникова С. В. Подбор ISSR-праймеров для молекулярно-генетического анализа стерляди (*Acipenser ruthenus* Linnaeus) / Сборник статей международной научно-практической конференции «Тенденции инновационных процессов в науке». Москва. 2014. С. 6-8.
6. Yeh F. C. et. all. POPGENE, the Microsoft Windows-based user-friendly software for population genetic analysis of co-dominant and dominant markers and quantitative traits // Department of Renewable Resources, Univ. of Alberta, Edmonton. Alta, 1999. P. 238.
7. Peakall R., Smouse P. E. GenAlEx6: Genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research // Mol. Ecol. Not. 2006. Vol. 6. P. 288-295.

8. Williams J.G.K. et. all. DNA polymorphisms amplified by arbitrary primers are useful as genetic markers // Nucl. Acids Res. 1990. Vol.18. P. 6531- 6535.
9. Kimura M., Crow J. F. The number of alleles that can be maintained in a finite population // Genetics (US). 1964. Vol. 49. P. 725-738.
10. Nei M. Molecular evolutionary genetics. N.Y.: Columbia Univ. Press., 1987. P. 512.

БАКТЕРИИ-ДЕСТРУКТОРЫ ФТАЛАТОВ ИЗ РИЗОСФЕРЫ РАСТЕНИЙ, ПРОИЗРАСТАЮЩИХ В РАЙОНЕ СОЛЕРАЗБОТОВ (ПЕРМСКИЙ КРАЙ)

Краева А.В.¹, Нечаева Ю.И.^{1,2}, Пьянкова А.А.², Плотникова Е.Г.^{1,2}

¹Пермский государственный национальный исследовательский университет, Пермь, Россия

²«Институт экологии и генетики микроорганизмов УрО РАН»
- филиал ПФИЦ УрО РАН, Пермь, Россия

Аннотация. Из ризосферы растений бескильницы расставленной (*Puccinellia distans* (Jacq.) Parl.), произрастающих на засоленных почвах (Пермский край), выделены бактерии-деструкторы фталатов: представители классов *Gammaproteobacteria*, *Actinomycetes* и *Bacilli*.

Ключевые слова: бескильница расставленная, ризосфера, деструкция, дибутилфталат, фталевая кислота, Верхнекамское месторождение солей

PHTHALATE-DEGRADING BACTERIA ISOLATED FROM THE RHIZOSPHERE OF THE PLANTS GROWING IN SALT MINING AREA (PERM KRAI)

Kraeva A.V.¹, Nechaeva Yu.I.^{1,2}, Pyankova A.A.², Plotnikova E.G.^{1,2}

¹Perm State National Research University, Perm, Russia

²Institute of Ecology and Genetics of Microorganisms UB RAS, 614081, Perm, Russia

Abstract. From the rhizosphere of *Puccinellia distans* growing on saline soils (Perm Krai) have been isolated phthalate-degrading bacteria of the classes *Gammaproteobacteria*, *Actinomycetes* and *Bacilli*.

Key words: *Puccinellia distans*, rhizosphere, degradation, dibutyl phthalate, phthalic acid, Verkhnekamsk salt mining region

Введение

Вследствие интенсивного использования полимеров проблема накопления стойких органических соединений в окружающей среде становится все более актуальной. К таким соединениям относятся фталаты, используемые в качестве пластификаторов для производства полимерных материалов. При этом, они химически не связаны с полимером и обладают заметной склонностью к миграции [1]. Благодаря экономической доступности и свойствам, одним из наиболее часто используемых эфиров фталевой кислоты является дибутилфталат (ДБФ). Важно отметить, что он обладает канцерогенными свойствами, способностью влиять на репродуктивную и эндокринную системы [2, 3, 4]. Фталаты в большом количестве (до 634 мг/кг) встречаются в отходах калийных предприятий, расположенных в Верхнекамском промышленном районе: глинисто-солевых шламах, избыточных рассолах и отходах калийного производства. Такой уровень загрязнения обусловлен использованием в технологическом цикле обогащения калийных руд разнообразных реагентов (оксиэтилированные жирные кислоты, нефтепродукты, диоксановые спирты и др.), при трансформации которых образуются фталаты [5]. Период полураспада ДБФ в окружающей среде может занимать до 20 лет. Доказано, что основную роль в процессе разложения играют

бактерии-деструкторы [2]. Метаболический путь разложения эфиров фталевой кислоты состоит из 2 этапов – первичной биodeградации диэфиров фталата до моноэфиров и деструкции моноэфиров до *орто*-фталевой кислоты (ФК). Затем ФК трансформируется до протокатеховой кислоты, которая далее разлагается до основных метаболитов микробной клетки [2, 6]. Одним из движущих факторов фиторемедиации являются ризосферные бактерии [7], поэтому для эффективной очистки почв от стойких органических загрязнений логично использовать растительно-бактериальные сообщества. Однако, к настоящему времени влияние ризосферных микроорганизмов на разложение фталатов в почве остается малоизученным [8]. Также недостаточно исследованы ризосферные бактерии, способные осуществлять деструкцию фталатов в присутствии высокой солености среды.

Цель работы – изучение бактерий-деструкторов фталатов, выделенных из ризосферы растений бескильницы расставленной, произрастающих в районе промышленных разработок Верхнекамского месторождения калийно-магниевых солей.

Материалы и методы исследования

Объекты исследования. Для исследований использованы образцы ризосферы растений бескильницы расставленной (*Puccinellia distans* (Jacq.) Parl.), собранные на расстоянии 1-1,5 м и 8 м от солеотвала (г. Соликамск, Пермский край, Россия).

Для получения накопительных культур (НК) использовали минеральную среду Раймонда (МСР) [9] (30 г/л и 70 г/л NaCl) с ростовым субстратом (*орто*-фталевая кислота или дибутилфталат) в количестве 1 г/л. Культивирование 1 г ризосферной почвы в 100 мл МСР осуществлялось 1 месяц при 28°C.

Чистые культуры микроорганизмов получали путем посева суспензии из НК на агаризованную богатую среду Раймонда (БСР) [10] с соответствующей концентрацией соли.

Морфологические характеристики бактерий оценивали при выращивании на агаризованной БСР. Культивирование проводили при 28°C. Морфологию колоний описывали на седьмой день культивирования [11].

Способность к росту на углеводородах оценивали при культивировании в жидкой МСР. Фталаты (ДБФ, диэтилфталат – ДЭФ, диметилфталат – ДМФ), ФК, протокатеховую кислоту (ПКК), бензойную кислоту, нафталин и бифенил вносили в концентрации 1 г/л, а салицилат и гентизат – 0,5 г/л. В качестве инокулята использовались чистые культуры, выращенные на агаризованной БСР. Культивирование проводили в пенициллиновых флаконах с 3 мл среды на термостатируемом шейкере Environmental Shaker Incubator ES-20/60 («BioSan», Латвия) при температуре 28°C и скорости вращения 140 об/мин. Рост оценивали путем измерения оптической плотности (ОП₆₀₀) культуральной жидкости на спектрофотометре UV-Visible BioSpec-mini («Shimadzu», Япония) при длине волны 600 нм в кювете с длиной оптического пути 1 см.

Секвенирование и анализ генов 16S рРНК. Филогенетический анализ полученных изолятов был основан на амплификации фрагмента гена 16S рРНК с использованием бактериальных праймеров 27F и 1492R согласно методике [12]. Определение нуклеотидных последовательностей проводили с применением набора реактивов «GenSeq-100» («Синтол», Россия) на автоматическом секвенаторе Нанофор 05 («Синтол», Россия) согласно рекомендациям производителя. Анализ полученных нуклеотидных последовательностей длиной 735-817 п.н. проводили с помощью программ Sequence Scanner v. 2.0., MEGA v.11 (<http://www.megasoftware.net>). Поиск гомологов генов 16S рРНК осуществляли с

использованием баз данных EzBioCloud (<http://www.ezbiocloud.net>) и GenBank (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov>).

Результаты и обсуждение

Методом накопительного культивирования из образцов ризосферы растений бескильницы расставленной, произрастающих на почвах, загрязненных отходами калийного производства, отобрано 11 штаммов бактерий, отличающихся морфологий колоний (табл. 1).

Таблица 1 – Место отбора проб и получение накопительных культур

Штамм	Место отбора, координаты	Накопительные культуры на минеральной среде Раймонда
1А-К1	г. Соликамск, солеотвал СКРУ1 (1-1,5 м от солеотвала), N59.633676°, E56.758410°	7% NaCl, ФК
2А-К22	г. Соликамск, солеотвал СКРУ1 (1-1,5 м от солеотвала), N59.633647°, E56.759587°	7% NaCl, ФК
2А-К31		7% NaCl, ФК
2А-К32		7% NaCl, ФК
2А-К41		3% NaCl, ДБФ
2А-К42		3% NaCl, ДБФ
3А-К1	г. Соликамск, солеотвал СКРУ1 (1-1,5 м от солеотвала), N59.633555°, E56.760037°	3% NaCl, ДБФ
3А-К6		3% NaCl, ДБФ
5А-К1	г. Соликамск, солеотвал СКРУ1 (8 м от солеотвала), N59.633686°, E56.760206°	3% NaCl, ФК
5А-К4		3% NaCl, ДБФ
5А-К5		3% NaCl, ДБФ

У изолированных штаммов определены нуклеотидные последовательности фрагмента гена 16S рРНК (табл. 2). Установлено, что штаммы были филогенетически близки бактериям родов *Halomonas*, *Idiomarina* (класс *Gammaproteobacteria*, филум *Pseudomonadota*), *Rhodococcus*, *Microbacterium* (класс *Actinomycetes*, филум *Actinomycetota*) и *Bacillus* (класс *Bacilli*, филум *Bacillota*).

Исследуемые бактериальные культуры проверены на способность к росту на дибутилфталате и *орто*-фталате в МСР с 30 г/л и 70 г/л NaCl (табл. 3). Показано, что штаммы *Halomonas* spp. 1А-К1 и 2А-К22 способны к эффективному росту на *орто*-фталевой кислоте как единственном источнике углерода и энергии при 30 г/л и 70 г/л NaCl. Штаммы *Bacillus* sp. 3А-К1 (при 30 г/л и 70 г/л NaCl), *Rhodococcus* spp. 3А-К6 и 5А-К4, *Microbacterium* sp. 5А-К1 (при 30 г/л NaCl) – на ДБФ.

Таблица 2 – Анализ нуклеотидных последовательностей генов 16S рРНК бактерий-деструкторов

Штамм	Типовой штамм	№ GenBank	Сходство, %
1А-К1	<i>Halomonas alkaliantarctica</i> CRSS ^T	AJ564880	99,87
2А-К22	<i>Halomonas titanicae</i> BHI ^T	AOPO01000038	100,00
2А-К31	<i>Halomonas olivaria</i> C17 ^T	DQ645593	99,87
2А-К32	<i>Idiomarina loihiensis</i> L2TR ^T	AE017340	100,00
2А-К41	<i>Halomonas olivaria</i> C17 ^T	DQ645593	99,87
2А-К42	<i>Rhodococcus qingshengii</i> JCM 15477 ^T	LRRJ01000016	99,74
3А-К1	<i>Bacillus zhangzhouensis</i> DW5-4 ^T	JOTP01000061	99,88
3А-К6	<i>Rhodococcus erythropolis</i> NBRC 15567 ^T	BCRM01000055	99,87
5А-К1	<i>Microbacterium maritropicum</i> DSM 12512 ^T	AJ853910	99,88
5А-К4	<i>Rhodococcus erythropolis</i> NBRC 15567 ^T	BCRM01000055	99,86
5А-К5	<i>Halomonas glaciei</i> DD 39 ^T	AJ431369	99,26

Таблица 3 – Рост бактерий-деструкторов на ДБФ и ФК (1 г/л)

Штамм	Среда Раймонда с 3% NaCl		Среда Раймонда с 7% NaCl	
	ФК	ДБФ	ФК	ДБФ
1А-К1	+++	-	+++	-
2А-К22	++	++	+++	-
2А-К31	-	+	-	+
2А-К32	+	+	+	+
2А-К41	+	+	+	+
2А-К42	-	-	-	-
3А-К1	+	+++	++	++
3А-К6	-	+++	-	-
5А-К1	+	+++	-	-
5А-К4	+	+++	-	-
5А-К5	-	+	-	+

Примечание: «+++» – ОП₆₀₀ выше 0,7 ед., «++» – ОП₆₀₀ от 0,4 до 0,7 ед., «+» – ОП₆₀₀ от 0,1 до 0,3 ед., «-» – отсутствие роста бактерий.

Наиболее активные штаммы-деструкторы ДБФ и ФК (*Rhodococcus* sp. 5А-К4, *Bacillus* sp. 3А-К1, *Halomonas* spp. 1А-К1 и 2А-К22) проверены на возможность к деструкции ряда других эфиров фталевой кислоты (диэтилфталат, диметилфталат), нафталина, бифенила и продуктов их метаболизма (табл. 4). Установлено, что штамм *Rhodococcus* sp. 5А-К4 способен к эффективному росту на ДЭФ, ДМФ, ПКК, а также гентизате. Штаммы *Bacillus* sp. 3А-К1, *Halomonas* spp. 1А-К1 и 2А-К22 способны к росту на ДЭФ, гентизате и ПКК.

Таблица 4 – Рост бактерий-деструкторов на ароматических соединениях

Штамм	ДЭФ	ДМФ	Нафталин	Бифенил	Гентизат	ПКК	Салицилат	Бензоат
1А-К1	++	-	-	-	++	++	-	-
2А-К22	++	-	-	-	++	++	-	-
3А-К1	++	-	-	-	+++	+++	-	-
5А-К4	+++	+++	-	-	+++	++	-	-

Примечание: «+++» – ОП₆₀₀ выше 0,7 ед., «++» – ОП₆₀₀ от 0,4 до 0,7 ед., «+» – ОП₆₀₀ от 0,2 до 0,3 ед., «-» – отсутствие роста бактерий.

Закключение

В результате проведенных исследований установлено, что в ризосфере растений бескильницы расставленной (*Puccinellia distans* (Jacq.) Parl.), произрастающих на почвах, загрязненных промышленными отходами калийных предприятий, присутствуют бактерии, способные к использованию фталатов (дибутилфталата) и продуктов его разложения, ФК и ПКК, в качестве единственного источника углерода и энергии. Наиболее активными деструкторами данных соединений являются 4 штамма: *Rhodococcus* sp. 5А-К4, *Bacillus* sp. 3А-К1, *Halomonas* spp. 1А-К1 и 2А-К22. Важно отметить, что ранее бактерии рода *Halomonas*, способные к росту на фталатах и фталевой кислоте, не были выявлены в экотопах района разработок Верхнекамского месторождения солей. Выделенные штаммы-деструкторы представляют интерес для дальнейшего изучения и имеют биотехнологический потенциал, их исследование будет продолжено.

Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда (проект № 23-24-00308).

Библиографический список

1. Schierow L., Lee M.M. Phthalates in plastics and possible human health effects // Congressional research service report. – 2008. – P. 20.
2. Liang D.-W., Zhang T., Fang H., He J. Phthalates biodegradation in the environment // Appl. Microbiol. Biotechnol. – 2008. – V. 80. – P. 183-198.
3. Liu L., Wang H., Li X., Tian M., Huang Q., Zhang J., Pan H., Wen K., Huang Q., Yan J., Tong Z., Zhang Y., Zhang T., Zhang Y., Li B., Wang T., Heqing H. Infantile phthalate metabolism and toxico/pharmacokinetic implications within the first year of life // Environment International. – 2020. – V. 144. – P. 1-12.
4. Ambe K., Sakakibara Y., Sakabe A., Makino H., Ochibe T., Tohkin M. Comparison of the developmental/reproductive toxicity and hepatotoxicity of phthalate esters in rats using an open toxicity data source // The Journal of Toxicological Sciences. – 2019. – V. 44. – № 4. – P. 245–255.
5. Бачурин Б.А., Одинцова Т.А. Стойкие органические загрязнители в отходах горного производства // Современные экологические проблемы Севера. Апатиты: Изд-во Кольского НЦ РАН. – 2006. – Ч. 2. – С. 7-9.
6. Kasai D. et al. 2,3-dihydroxybenzoate meta-cleavage pathway is involved in o-phthalate utilization in *Pseudomonas* sp. strain PTH10 // Scientific Reports. – 2019. – V. 9. – P. 1253.

7. Xiao Y., Chen L., Li C., Ma J., Chen R., Yang B., Liu G., Liu S., Fang J. Role of the rhizosphere bacterial community in assisting phytoremediation in a lead-zinc area // *Frontiers in Plant Science*. – 2023. – V. 13. – P. 1-13.
8. Li Y.W., Cai Q.Y., Mo C.H., Zeng Q.Y., Lü H., Li Q.S., Xu G.S. Plant uptake and enhanced dissipation of di(2-ethylhexyl)phthalate (DEHP) in spiked soils by different plant species // *International Journal of Phytoremediation*. – 2014. – V. 16. – P. 609–620.
9. Raymond R.L. Microbial oxidation of n-paraffinic hydrocarbons // *Developments in Industrial Microbiology*. – 1961. – V. 2 (1). – P. 23-32.
10. Корсакова Е.С., Пьянкова А.А., Плотникова Е.Г. Бактерии-деструкторы дибутилфталата, выделенные из ризосферы мятлика лугового (*Poa pratensis* L.) // *Вестник Пермского университета. Серия Биология*. – 2023. – № 4. – С. 349-355.
11. Методы общей бактериологии / под ред. Ф. Герхардта и др. М.: Мир, 1983. – 3 т.
12. Молекулярная генетика: учеб.-метод. пособие / под ред. С.В. Боронниковой. Пермь: Перм. ун-т., 2007. – 150 С.

МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ АЛЛЕЛЬНЫХ ВАРИАНТОВ ГЕНОВ *PPARG*, *PPARGC1A*, *NOS3*, АССОЦИИРОВАННЫХ С ФОРМИРОВАНИЕМ ВЫНОСЛИВОСТИ И СКОРОСТНО-СИЛОВЫХ КАЧЕСТВ У ЕДИНОБОРЦЕВ ГОРОДА ПЕРМИ

Левина Д.Р.¹, Сорокина А.В.^{1,2}, Корякова А.С.¹, Боронникова С.В.¹

¹ФГАОУ ВО «Пермский государственный национальный исследовательский университет»,
Пермь, Россия

²ФГБОУ ВО «Пермская государственная фармацевтическая академия» Минздрава России,
Пермь, Россия

Аннотация. В исследовании с единоборцами показано, что генотип G/G гена *PPARGC1A*, ассоциирован с формированием выносливости, что также подтверждено статистически по критерию Манна-Уитни ($p = 0,0011$ при $p < 0,05$) и при помощи критерия χ^2 ($\chi^2 = 13,345$ при $p = 0,0013$).

Ключевые слова: полиморфизм генов *PPARG*, *PPARGC1A*, *NOS3*, единоборцы, общий генетический балл

MOLECULAR GENETIC ANALYSIS OF ALLELIC VARIANTS OF *PPARG*, *PPARGC1A*, *NOS3* GENES ASSOCIATED WITH THE FORMATION OF ENDURANCE AND SPEED AND STRENGTH QUALITIES IN MARTIAL ARTISTS OF THE CITY OF PERM

Levina D.R.¹, Sorokina A.V.^{1,2}, Koryakova A.S.¹, Boronnikova S.V.¹

¹ Perm State University, Perm, Russia

² Perm State Pharmaceutical Academy, Perm, Russia

Abstract. In a study with martial artists, the G/G genotype of the *PPARGC1A* gene, was shown to be associated with endurance formation, which was also confirmed statistically by the Mann-Whitney test ($p = 0.0011$ at $p < 0.05$) and using the χ^2 criterion ($\chi^2 = 13.345$ at $p = 0.0013$).

Key words: gene polymorphisms *PPARG*, *PPARGC1A*, *NOS3*, martial artists, total genetic score

Современный спорт высших достижений основан на высокой конкурентной борьбе и спортивном отборе, благодаря которым можно выявить спортсменов, наиболее приспособленных к специфическим нагрузкам конкретного вида спортивной деятельности [1]. В свою очередь, организация тренировочного процесса и соревновательной практики зависит от реакции организма на физическую нагрузку, а быстрый и адекватный ответ на нее обеспечивают установленные наследственные факторы [2]. На данный момент обнаружено более 220 генетических маркеров, ассоциированных с формированием физических качеств спортсменов [3].

Ведущими у единоборцев являются такие физические качества, как «скорость/сила» и «выносливость» [4]. Вольная борьба и джиу-джитсу, как и все единоборства, относятся к ациклическим видам спорта. Такой тип движения представляет собой работу переменной активности [5]. В вольной борьбе неотъемлемыми элементами являются захваты, перевороты, подсечки и активное использование ног [6]. Основой такого спортивного единоборства, как

джиу-джитсу, являются удары руками и ногами, заломы, броски, борьба в партере, а также болевые и удушающие приемы [7]. К генам, ассоциированным с формированием физического качества «скорость/сила», относится ген *PPARG* (Peroxisome Proliferator-Activated Receptor Gamma). Ген *NOS3* (Nitric Oxide Synthase 3) отвечает за формирование физического качества «выносливость». Вместе с этим, ген *PPARGC1A* (Peroxisome Proliferator-Activated Receptor Gamma Coactivator 1-Alpha) отвечает как за формирование скоростно-силовых качеств, так и за формирование выносливости.

Ген *PPARG* (Peroxisome Proliferator Activated Receptor Gamma) кодирует гамма-рецептор, который регулирует запасы жирных кислот и метаболизм глюкозы, повышая чувствительность к инсулину. У гена *PPARG* отмечен полиморфный локус Pro12Ala (rs1801282). Носительство аллели Ala (аллель G) повышает чувствительность к инсулину, а значит усиливает его анаболическое действие на скелетные мышцы, предрасполагает к формированию и проявлению скоростно-силовых качеств [8].

Ген *PPARGC1A* (Peroxisome Proliferator-Activated Receptor Gamma Coactivator 1-Alpha или PGC1A) кодирует белок – коактиватор 1-альфа-рецептора, который участвует в дифференцировке клеток, в метаболизме мышечных тканей и в обмене жиров и углеводов. Аллельные варианты полиморфизма Gly482Ser (rs8192678) у единоборцев ассоциированы с проявлением выносливости и скоростно-силовых качеств, при этом аллель «скорости/силы» – Ser (A), а аллель Gly (G) ассоциирован с выносливостью [9].

Ген *NOS3* (Nitric Oxide Synthase 3) кодирует фермент эндотелиальную NO-синтазу, который катализирует образование окиси азота (NO) из L-аргинина [10]. Полиморфный локус Glu298Asp (rs1799983) гена *NOS3* (аллель G) является маркером предрасположенности к развитию выносливости, связан с функциями сосудистой, дыхательной систем и чувствительностью к инсулину в клетках печени и скелетных мышц. Носительство аллели T является неблагоприятным фактором для спортивных результатов. У людей с генотипом T/T более высок риск ишемической болезни сердца, инфаркта миокарда и ишемического инсульта [11].

Ранее нами было проведено исследование взаимосвязи полиморфных вариантов генов *ADRB2* и *PPARGC1A*, ассоциированных с выносливостью, у единоборцев и группы сравнения [4], но не проводилось сопоставление с группой сравнения влияния полиморфизмов генов на развитие скоростно-силовых качеств у вольных борцов и джитсеров.

Цель исследования – определение влияния полиморфизмов генов *PPARG* и *PPARGC1A* на формирование скоростно-силовых качеств, а также влияние аллельных вариантов генов *PPARGC1A* и *NOS3*, ассоциированных с формированием выносливости у спортсменов, занимающихся вольной борьбой и джиу-джитсу, а также у школьников, не занимающихся спортом.

Молекулярно-генетический анализ проведен у 100 испытуемых, среди которых 28 спортсменов, занимающихся вольной борьбой в спортивно-оздоровительном клубе «Планета» на базе МАУ ДО ЦДТ «Шанс» города Перми, 22 спортсмена, занимающихся джиу-джитсу в международной школе джиу-джитсу «Mata Leao» города Перми, и 50 школьников из МАОУ «СОШ № 32» и МАОУ «СОШ № 37» города Перми. Возраст всех испытуемых варьировал от 9 до 17 лет. Были сформированы две группы: Группа I состояла из 50 единоборцев, среди которых 41 спортсмен со вторым юношеским разрядом и 9 спортсменов с первым юношеским разрядом. Выборка включала 45 спортсменов мужского пола и 5 спортсменов женского пола. Группа сравнения (Группа II) состояла из 50 школьников, не занимающихся спортом, где 45

человек мужского пола и 5 человек женского пола. Единоборства являются преимущественно мужскими видами спорта, а потому в выборках преобладают лица мужского пола.

Забор биологического материала (буккального эпителия) для генетического анализа проводили методом соскоба эпителиальных клеток ротовой полости. Все испытуемые были предупреждены об условиях эксперимента. Родители спортсменов и школьников дали письменное согласие на добровольное участие в исследовании.

Выделение ДНК проводилось сорбентным методом с помощью коммерческого набора реагентов «Проба ГС», изготовленного компанией ООО «ДНК-Технология» (Российская Федерация) в соответствии с инструкцией, а также методом тотального осаждения и лизиса SDS (Sodium Dodecyl Sulfate, додецил сульфат натрия) с помощью коммерческого набора реагентов «EX-511 ДНК-Экстран-2» (Синтол, Россия) в соответствии с инструкцией. Для проведения молекулярно-генетического анализа было выделено 100 проб ДНК испытуемых. Концентрацию проб ДНК определяли с помощью спектрофотометра SpectrofotometrTM NanoDrop 2000 «Thermo scientific» (USA).

В ПЦР в реальном времени (ПЦР-РВ) при использовании подхода распознавания аллелей (Allelic Discrimination) выявлялись аллельные варианты генов *PPARG*, *PPARGC1A*, *NOS3*, а также генотипы единоборцев и группы сравнения, ассоциированные со скоростно-силовыми качествами и выносливостью. Наборы для выявления полиморфных локусов Pro12Ala гена *PPARG* (rs1801282), Gly482Ser гена *PPARGC1A* (rs8192678) и Glu298Asp гена *NOS3* (rs1799983), синтезированы в ООО «Синтол» (г. Москва, Россия). Реактивы для амплификации ДНК смешивали в нужном объеме непосредственно перед проведением исследования. К реакционной смеси добавляли 5 мкл пробы ДНК индивидуально каждого испытуемого. Определение аллелей и генотипов проводилось при помощи программы Bio-Rad (USA) на амплификаторе CFX96 (CFX96 Touch Real-Time PCR Detection System). ПЦР в реальном времени проведена при условиях, предусмотренных в инструкции производителя набора реактивов ООО «Синтол». Каждая проба была проанализирована индивидуально. Эксперимент повторялся дважды. Интерпретация результатов ПЦР-РВ была проведена в программе Bio-Rad CFX Manager по инструкции компании ООО «Синтол».

Анализ полученных данных проводился с использованием программ Past и STATISTICA 6.0. Оценка генетической предрасположенности по физическим качествам «скорость/сила» и «выносливость» на основании полученного генного профиля проводилась с помощью метода расчета «общего генетического балла» или ОГБ [12]. Для хранения и обработки результатов исследований была создана матрица данных в виде электронных таблиц MS Excel 2010. Сравнение несвязанных выборок (генотипы испытуемых) осуществлялось непараметрическим критерием Манна-Уитни (при $p < 0,05$), сравнение частот аллелей и генотипов выполняли с помощью критерия χ^2 (хи-квадрат).

В результате исследования полиморфизма трех генов, ассоциированных со скоростно-силовыми качествами (*PPARG* и *PPARGC1A*), и качеством выносливости (*PPARGC1A* и *NOS3*), при сравнении генотипов спортсменов и школьников выявлено распределение частот аллельных вариантов (Таблица 1).

По результатам распределения частот полиморфных позиций Pro12Ala гена *PPARG* получены следующие данные: благоприятный генотип G/G, при котором в мышцах устанавливается необходимый уровень контроля липидного и углеводного обмена в мышечной ткани, отмечен всего у 2 (0,02) испытуемых, которые относятся к группе сравнения. Генотип C/G, характеризующийся снижением мышечной чувствительности вследствие

пониженной активности рецептора аллели G, был обнаружен у 14 человек в группе спортсменов (0,28) и у 13 человек в группе сравнения (0,26), отличий по встречаемости генотипа в обеих группах нет. Самый неблагоприятный для формирования скоростно-силовых качеств генотип C/C, при котором отмечается пониженная чувствительность к инсулину в мышцах, что ассоциируется с пониженной физической работоспособностью, был выявлен у большинства испытуемых в обеих группах (0,72 – спортсмены, против 0,70 – школьники).

Таблица 1 – Полиморфизм трех генов, ассоциированных с формированием скоростно-силовых качеств и выносливости у единоборцев и у учащихся школ г. Перми (n=100)

Ген	Аллельные варианты	Частоты аллельных вариантов		Частоты аллельных вариантов на общую выборку в 100 человек	$U_{эмп} < U_{крит}$	p
		Группа I – единоборцы (50 человек)	Группа II – группа сравнения (50 человек)			
<i>PPARG</i>	G/G	0,00 (0)	0,04 (2)	0,02 (2)	1225>1010	0,791
	C/G	0,28 (14)	0,26 (13)	0,27 (27)		
	C/C	0,72 (36)	0,70 (35)	0,71 (71)		
<i>PPARGC1A</i>	A/A	0,04 (2)	0,14 (7)	0,09 (9)	783<1010	0,0011
	G/A	0,24 (12)	0,50 (25)	0,37 (37)		
	G/G	0,72 (36)	0,36 (18)	0,54 (54)		
<i>NOS3</i>	G/G	0,70 (35)	0,58 (29)	0,64 (64)	1103>1010	0,314
	G/T	0,28 (14)	0,40 (20)	0,34 (34)		
	T/T	0,02 (1)	0,02 (1)	0,02 (2)		

Примечание: ген *PPARG* (Peroxisome Proliferator Activated Receptor Gamma) полиморфизм C/G; ген *PPARGC1A* (Peroxisome Proliferator-Activated Receptor Gamma Coactivator 1-Alpha) полиморфизм G/A; ген *NOS3* (Nitric Oxide Synthase 3) полиморфизм G/T; Группа I – спортсмены-единоборцы международной школы «Mata Leao» г. Перми и спортивно-оздоровительного клуба «Планета» г. Перми; Группа II – группа сравнения – школьники МАОУ «СОШ № 37» и МАОУ «СОШ № 32»; U – критерий Манна-Уитни; p – уровень значимости (при $p < 0,05$); в скобках указано число испытуемых; жирным шрифтом выделены достоверно значимые значения.

Анализ полиморфной позиции Gly482Ser гена *PPARGC1A* выявил, что благоприятный для формирования скоростно-силовых качеств генотип A/A, при котором отмечается пониженное число митохондрий в клетках и низкая степень окисления жирных кислот, чаще встречается среди испытуемых в группе сравнения (0,14 против 0,04), и, напротив, благоприятный для формирования выносливости генотип G/G, отмечается в два раза чаще среди спортсменов (0,72 против 0,36). При данном генотипе в организме спортсмена наблюдается увеличенное число митохондрий в клетках и усиление окисления жирных кислот. Генотип G/A был выявлен у 37 испытуемых, 12 из которых относятся к спортсменам, частота 0,24, а 25 – к группе сравнения, частота 0,50. У носителя генотипа G/A формируется среднее число митохондрий в клетках и, в соответствии с этим, ему присуща средняя степень окисления жирных кислот. Установлено, что для спортсменов в большей степени характерно наличие генотипа G/G гена *PPARGC1A*. Как видно из таблицы 2, данный генотип был обнаружен с частотой 0,72, против 0,36 в группе сравнения ($p = 0,0013$). Следовательно,

генотип G/G гена *PPARGC1A* является маркерным для формирования физического качества выносливость у спортсменов в возрасте от 9 до 17 лет.

Таблица 2 – Распределение частот генотипов и аллелей гена *PPARGC1A* у спортсменов и в группе сравнения

Группа	Частоты генотипов			χ^2 , df = 2	Частоты аллелей		χ^2 , df = 1
	G/G	G/A	A/A	13,345 p = 0,0013	G	A	13,27 p = 0,0003
Группа I	0,72	0,24	0,04		0,84	0,16	
Группа II	0,36	0,50	0,14		0,61	0,39	

Примечание: Группа I – спортсмены-единоборцы; Группа II – группа сравнения; χ^2 – критерий хи-квадрат; df – степени свободы; жирным выделены достоверно значимые значения.

Распределение генотипов полиморфного локуса G894T гена *NOS3* имеет следующее значение: генотип G/G, при котором наблюдается высокая активность эндотелиальной NO-синтазы и высокий уровень продукции монооксида азота, отмечается чаще среди спортсменов (частота 0,70). Генотип G/T, которому соответствуют средняя активность эндотелиальной NO-синтазы и средний уровень продукции монооксида азота, вследствие чего нарушается баланс продукции эндотелиальных вазоактивных факторов, был детектирован у 20 человек в группе сравнения (частота 0,40) и у 14 спортсменов (0,28). Самый неблагоприятный генотип T/T, при котором отмечается низкая активность эндотелиальной NO-синтазы и снижение продукции монооксида азота, был выявлен в обеих группах с одинаково малой частотой (0,02).

Результаты статистической оценки различий Манна-Уитни между группами по каждому из генов выявили, что характеристики двух экспериментальных групп значимо отличаются друг от друга только при анализе полиморфизма Gly482Ser гена *PPARGC1A* ($U_{\text{эмп}} = 783$, $p = 0,0011$). При анализе полиморфизмов остальных генов различия оказались не существенными.

Полигенные профили диапазона ОГБ, связанного с качеством «скорость/сила», у 100 испытуемых варьировали от 0 до 75 баллов. Наивысший показатель (100 баллов) не был отмечен ни в одной группе. Высокий результат (75 баллов) выявлен у 4 человек, среди которых 1 единоборец (частота 0,02 среди спортсменов) и 3 школьника (частота 0,06). Средний показатель предрасположенности к скоростно-силовым качествам (ОГБ = 50 баллов) определен у 9 спортсменов (0,18) и у 15 человек из группы сравнения (0,30). Низкий ОГБ (25 баллов) с такой же частотой был отмечен у 9 единоборцев (0,18) и у 17 школьников (0,34). Самый низкий ОГБ, равный 0 баллам, в два раза чаще встретился среди единоборцев (0,62) у 31 человека, по сравнению со школьниками, у которых данный генетический показатель был обнаружен у 15 человек с частотой 0,30.

Оценка генетической предрасположенности к формированию выносливости на основании ОГБ выявила, что самый высокий показатель ОГБ (100 баллов) среди обследованных участников исследований встретился у 35 человек, 25 из которых – спортсмены, частота составила 0,50 в группе единоборцев, а 10 человек из группы сравнения (0,20). Высокий показатель (75 баллов), был отмечен с почти одинаковой частотой в обеих группах: у 19 спортсменов (0,38) и у 20 школьников (0,40). Средний показатель (50 баллов) с большей частотой встретился в Группе II – у 19 человек с частотой 0,38, в то время как в Группе I данный ОГБ был выявлен у 5 испытуемых (0,10). Низкий показатель, равный 25 баллам, с одинаковой частотой 0,02 зафиксирован как в группе спортсменов (Группа I), так и

в группе сравнения (Группа II). Самый низкий ОГБ по физическому качеству «выносливость» (0 баллов) не был выявлен ни у одного из спортсменов и школьников в исследуемых выборках.

Таким образом, для спортсменов-единоборцев большое значение имеет формирование выносливости. Было выявлено, что в данной выборке единоборцев испытуемые с высоким ОГБ по качеству «выносливость» встречаются значительно чаще, чем в группе сравнения. Вместе с этим анализ полиморфизма Gly482Ser гена *PPARGC1A* показал значимые различия по критерию Манна-Уитни ($p = 0,0011$ при $p < 0,05$) и по критерию χ^2 ($\chi^2 = 13,345$ при $p = 0,0013$). Это подтверждает, что генотип G/G *PPARGC1A* может быть использован в качестве маркерного для определения физического качества «выносливость» у единоборцев.

Ассоциации полиморфизма Pro12Ala гена *PPARG* со скоростно-силовыми качествами, а также полиморфного локуса G894T гена *NOS3* с выносливостью у единоборцев и детей, не занимающихся спортом, не обнаружено. Можно предположить, что при увеличении размеров выборки и количества исследуемых генов распределения аллелей и аллельных вариантов генов будут отличаться.

Библиографический список

1. Дроздовский А. К., Банаян А. А., Уляева Л. Г. Психофизиологический подход к проблеме одаренности и качественного спортивного отбора // Актуальные вопросы спортивной психологии и педагогики, 2021. Т. 1. № 1–2. С. 100–114.
2. Шайдуллаева З. Ш. Роль спортивной генетики в современном спорте // Scientific Progress, 2021. Vol. 2. P. 1734–1742.
3. Ahmetov I.I. et al. Advances in sports genomics // Advances in Clinical Chemistry, 2022. Vol. 107. P. 215–263.
4. Сорокина А. В., Корякова А. С., Левина Д. Р. Влияние генов *ADRB2* и *PPARGC1A* на развитие физического качества «выносливость» у единоборцев города Перми // Вестник Пермского университета. Сер. Биология, 2024. Вып. 1. С. 83–91.
5. Гурович Л.И., Иванова Г.П. Спортивные и подвижные игры: учебник. М.: Физкультура и спорт, 1977. 382 с.
6. Сихымбаев К.С., Утебеков Е.М., Мусаев А.О. Вольная борьба в Казахстане // Инновации. Наука. Образование, 2022. No 52. С. 896–899.
7. Коваль К.Ю. Влияние принципов джиу-джитсу на эмоциональное состояние спортсменов // Педагогика, психология и мед.-биол. проблемы физ. воспитания и спорта, 2009. No 5. С. 121–124.
8. Jacob S. et al. The *PPARG*gamma2 polymorphism Pro12Ala is associated with better insulin sensitivity in the offspring of type 2 diabetic patients / S. Jacob, M. Stumvoll, R. Becker, M. Koch // Hormone and Metabolic Research, 2000. Vol. 32. P. 413–416.
9. Ахметов И.И. Молекулярная генетика спорта. М.: Советский спорт, 2009. 268 с.
10. Ruiz J. R. et al. Is there an optimum endurance polygenic profile? / J. R. Ruiz [et al.] // J Physiol, 2009. Vol. 587, Pt. 7. P. 1527–1534.
11. Баранов В.С. Генетический паспорт – основа индивидуальной и предиктивной медицины. СПб.: Изд-во Н-Л, 2009. 528 с.
12. Williams A.G., Folland J.P. Similarity of polygenic profiles limits the potential for elite human physical performance // The journal of physiology, 2008. Vol. 586, No 1. P. 113–121.

ГЕНЕТИЧЕСКОЕ РАЗНООБРАЗИЕ ПОПУЛЯЦИЙ *PINUS SYLVESTRIS* L. НА СРЕДНЕМ УРАЛЕ

Носков А.С., Боронникова С.В.

ФГАОУ ВО «Пермский государственный национальный исследовательский университет»,
Пермь, Россия

Аннотация. Молекулярно-генетический анализ популяций *P. sylvestris* на Среднем Урале установил высокий уровень генетического разнообразия ($P_{95}=0,941$; $H_e=0,199$; $n_e=1,375$); высокие показатели отмечены в популяции Гайнского лесничества, низкие – в популяции Каслинского лесничества.

Ключевые слова: генетическое разнообразие, ISSR-метод

GENETIC DIVERSITY OF *PINUS SYLVESTRIS* L. POPULATIONS IN THE MIDDLE URALS

Noskov A.S, Boronnikova S.V.

Perm State University, Perm, Russia

Annotation. Molecular genetic analysis of *P. sylvestris* populations in the Middle Urals has established a high level of their genetic diversity ($P_{95}=0,941$; $H_E=0,199$; $n_e=1,375$); which has high rates in the population from the Gaynsky forestry of the Perm Territory, and low in the population from the Kaslinsky forestry of the Chelyabinsk region.

Key words: genetic diversity, ISSR Markers

Для решения современных проблем сохранения и возобновления лесов необходима оценка биоразнообразия лесных экосистем, важным элементом которой является изучение генофонда основных лесообразующих видов растений [1]. Благодаря популяционно-генетическим исследованиям главных лесообразующих видов можно создать основу для долговременного рационального использования лесных биологических ресурсов. Особого внимания заслуживают исследования генетического разнообразия хвойных, так как они играют важную биосферную роль [2].

На территории России насчитывается две трети общей площади бореальных лесов и до 80% общих запасов хвойной древесины, которые имеют большое экономическое значение. Особенного внимание заслуживает изучение генетической структуры сосны обыкновенной (*Pinus sylvestris* L.), как одного из основных лесообразующих видов хвойных растений.

Сосна обыкновенная (*Pinus sylvestris* L.) – широко распространенный, экономически ценный лесообразующий вид, играющий важную роль в формировании структуры лесных экосистем [3]. Средний Урал находится в бореально-лесной зоне. На Среднем Урале сосна обыкновенная широко распространена и занимает второе место, уступая лишь еловым лесам – в подзоне средней тайги, пихтово-еловым лесам – в подзоне южной тайги [4].

Популяционно-генетические исследования *P. sylvestris* проведены на основании данных изоферментного анализа [5]. Кроме того, активно применяются различные молекулярные

маркеры, такие как ISSR (Inter-Simple Sequence Repeat) [6], SSR (Simple Sequence Repeats), SNP (Single Nucleotide Polymorphism) [7].

На территории Среднего Урала при изучении генетического разнообразия *P. sylvestris* использовался ISSR-метод определения полиморфизма ДНК [8], их идентификации [9], а также для оценки состояния генофондов этого вида [10], но генетическое разнообразие отдельных удаленных друг от друга популяций сосны обыкновенной ранее не изучалось.

Цель исследования – анализ генетического разнообразия трех популяций *P. sylvestris* на Среднем Урале.

Объектами исследования являлись три популяции *P. sylvestris*, расположенные на территории Среднего Урала: Гайнская (Ps_Gn) из Гайнского лесничества и Верецагинская (Ps_Vr) из Сивинского лесничества Пермского края; Аракульская (Ps_Ar) популяция из Каслинского лесничества Челябинской области. Наименьшее географическое расстояние отмечено между Гайнской и Верецагинской популяциями (247 км), наибольшее – между Гайнской и Аракульской (601 км).

Для молекулярно-генетического анализа собрана хвоя с 30-31 дерева в каждой популяции. С каждого дерева генеративного периода примерно одного возраста собрали по 3-4 побега, всего было собрано 240 побегов с 91 дерева сосны обыкновенной. Выделение ДНК растительного материала проводили классическим методом [11] из хвои с использованием СТАВ (cetyltrimethylammonium bromide, гексадецилтриметилбромид аммония) и PVPP (polyvinylpyrrolidone). Концентрацию и качество ДНК определяли на спектрофотометре «NanoDrop 2000». Для проведения ПЦР концентрация ДНК в каждой пробе выравнивалась до 10 нг/мкл.

Для проведения ПЦР были выбраны 5 праймеров, ранее показавшие эффективность в исследованиях *P. sylvestris* [12]. Для полимеразной цепной реакции реакционная смесь объемом 10 мкл содержала: 0,2 мкл 1 единицы *Tag*-полимеразы («Силекс М», Россия); 1 мкл стандартного 10х буфера для ПЦР («Силекс М», Россия); 10 мкл праймера («Евроген», Россия); 1 мкл MgCl₂ («Силекс М», Россия); 0,25 мкл dNTP («Fermentas», Литва); 1 мкл тотальной ДНК.

Аmplification проводили в термоциклере MyCycler («Bio-Rad», USA) по типичной для ISSR-метода программе: предварительная денатурация 94°C, 2 мин.; первые пять циклов 94°C, 20 сек.; t° отжига, 10 сек.; 72°C, 10 сек.; в последующих тридцати пяти циклах 94°C, 5 сек.; t° отжига, 5 сек.; 72°C, 5 сек. Последний цикл элонгации длился 2 мин при 72°C. Температура отжига в зависимости от G/C-состава праймеров варьировала от 52° до 64°C.

Продукты амплификации разделяли путем электрофореза в 1,7 % агарозном геле в 1х TBE буфере, которые окрашивали бромистым этидием и фотографировали в проходящем ультрафиолетовом свете в системе гель-документации Gel Doc XR («Bio-Rad», USA). Для определения длины фрагментов ДНК использовали маркер молекулярной массы (100 bp+1,5+3Kb DNA Ladder; «ООО-СибЭнзим-М», Москва). Определение длин фрагментов проводилось с использованием программы Quantity One в системе гель-документации Gel-Doc XR («Bio-Rad», USA).

Для количественной оценки генетического разнообразия данные были представлены в виде матрицы бинарных признаков, в которой наличие или отсутствие в спектре фрагментов ДНК одного размера рассматривалось как состояние 1 или 0. Компьютерный анализ данных проведен с помощью программы POPGENE 1.31 [13] и с помощью макроса GenAlEx6 [14] для MS-Excel с определением: доли полиморфных локусов (P₉₅) [15], абсолютного числа аллелей

(n_a), эффективного числа аллелей (n_e) [16], ожидаемой гетерозиготности (H_E) [17]. Для описания генетической структуры популяции были использованы следующие параметры [18]: ожидаемая доля гетерозиготных генотипов во всей популяции (H_T); ожидаемая доля гетерозиготных генотипов в субпопуляции (H_S); доля межпопуляционного генетического разнообразия в общем разнообразии - показатель подразделенности популяций (G_{ST}).

Кластерный анализ был проведен с помощью программы STRUCTURE 2.3.4 [19], которая использует методы Монте Карло по схеме марковской цепи, что позволяет минимизировать неравновесие Харди-Вайнберга и неравенство по сцеплению локусов в кластерном анализе индивидов [20]. Для визуализации результатов, их математического подтверждения на основе логарифма правдоподобия LnPD методами Evanno [21] для определения наиболее вероятного числа генетических групп была использована веб-программа Clumpak, которая позволяет провести детекцию подходящего количества кластеров путём их индивидуального перебора.

В результате исследования генетического разнообразия трех популяций *P. sylvestris* на территории Среднего Урала выявлено 86 фрагментов ДНК, из которых 81 ($P_{95}=0,941$) являлись полиморфными (Таблица 1). Длина амплифицированных фрагментов ДНК варьировала от 200 нп до 1500 п.н. Самым полиморфным оказался динуклеотидный праймер (AC)₈T, обозначенный как ISSR 1. Доля полиморфных локусов наибольшая в популяции Ps_Vr ($P_{95}=0,663$), наименьшая – в популяции Ps_Ar ($P_{95}=0,546$).

Таблица 1 - Характеристика фрагментов ДНК трех популяций *P. sylvestris*

ISSR-праймеры	Нуклеотидная последовательность (5'→3')	Длина Фрагментов ДНК, п.н.	Число полиморфных фрагментов ДНК (их частота)			На общую Выборку (из 81 шт)	
			Ps_Gn	Ps_Vr	Ps_Ar	всего	полиморфных
CR-215	(CA) ₆ GT	200-1150	13 (15) (0,867)	11 (15) (0,733)	5 (10) (0,5)	19	17 (0,895)
X10	(AGC) ₆ C	250-1500	16 (17) (0,941)	11 (16) (0,687)	15 (18) (0,833)	18	17 (0,944)
ISSR-1	(AC) ₈ T	240-1200	7 (10) (0,7)	13 (14) (0,928)	8 (10) (0,8)	13	13 (1,000)
M27	(GA) ₈ C	200-940	11 (12) (0,916)	8 (12) (0,667)	9 (13) (0,692)	17	16 (0,941)
CR212	(CT) ₈ TG	230-1150	7 (9) (0,778)	14 (16) (0,875)	10 (11) (0,909)	19	18 (0,947)
Всего ISSR-PCR маркеров			54 (0,628)	57 (0,663)	47 (0,546)	86	81 (0,941)

Примечание: Ps_Gn – популяция из Гайнского лесничества, Ps_Vr – популяция из Сивинского лесничества, Ps_Ar – популяция из Каслинского лесничества; CR-215, X10, ISSR-1 M27, CR-212 – обозначения праймеров.

Средняя ожидаемая гетерозиготность (H_E) на общую выборку *P. sylvestris* составила 0,199. Этот показатель наибольший в Гайнской популяции ($H_E=0,222$), а наименьший ($H_E=0,172$) – в Аракульской популяции из Каслинского лесничества (Таблица 2).

Таблица 2 - Генетическое разнообразие трех популяций *P. sylvestris*

Популяции	H_E	n_a	n_e	R
Ps_Gn	0,222 (0,021)	1,352 (0,096)	1,379 (0,040)	6
Ps_Ar	0,172 (0,021)	1,205 (0,097)	1,292 (0,039)	0
Ps_Vr	0,204 (0,019)	1,568 (0,082)	1,330 (0,036)	14
На общую выборку	0,199 (0,012)	1,375 (0,054)	1,333 (0,022)	20

Примечание: H_E – ожидаемая гетерозиготность; n_a – абсолютное число аллелей на локус; n_e – эффективное число аллелей на локус; у всех вышеуказанных параметров в скобках даны стандартные отклонения; R – число редких фрагментов; обозначения популяций: Ps_Gn – популяция из Гайнского лесничества, Ps_Vr – популяция из Сивинского, Ps_Ar – популяция из Каслинского лесничества.

В популяциях *P. sylvestris* выявлено 20 редких фрагментов ДНК, из которых 14 – в Ps_Vr, а также 6 – в Ps_Gn (Таблица 2). Абсолютное число аллелей (n_a) в общей выборке равно 1,375, эффективное число аллелей (n_e) – 1,333. Максимальный показатель ($n_a = 1,568$) отмечен в Верещагинской популяции (Ps_Vr), минимальный ($n_a = 1,205$) – в Аракульской популяции (Ps_Ar). Наибольшее значение эффективных аллелей (n_e) выявлено в популяции Гайнского лесничества (Ps_Gn) – 1,379, наименьшее – в популяции Каслинского лесничества (Ps_Ar) – 1,292.

Таблица 3 - Генетическая структура и дифференциация трех популяций *P. sylvestris*

ISSR-праймер	Нуклеотидная последовательность (5' → 3')	H_T	H_S	G_{ST}
CR-215	(CA) ₆ GT	0,337 (0,021)	0,204 (0,012)	0,393
X10	(AGC) ₆ C	0,304 (0,024)	0,170 (0,009)	0,441
ISSR-1	(AC) ₈ T	0,372 (0,020)	0,283 (0,018)	0,238
M27	(GA) ₈ C	0,283 (0,020)	0,177 (0,019)	0,374
CR212	(CT) ₈ TG	0,322 (0,014)	0,211 (0,007)	0,344
Среднее		0,323 (0,020)	0,209 (0,013)	0,358

Примечание: H_T – ожидаемая доля гетерозиготных генотипов во всей популяции; H_S – ожидаемая доля гетерозиготных генотипов в отдельной популяции; G_{ST} – доля межпопуляционного генетического разнообразия в общем разнообразии или показатель подразделенности популяций; в скобках даны стандартные отклонения

Ожидаемая доля гетерозиготных генотипов (H_T) на общую выборку составила 0,323; а ожидаемая доля гетерозиготных генотипов (H_S) в отдельной популяции меньше и составляет 0,209; поэтому доля межпопуляционного генетического разнообразия в общем разнообразии или коэффициент подразделенности (G_{ST}) равен 0,358. Наименьшая доля гетерозиготных генотипов отмечена в ПЦР-реакции с праймером X10 и составляет 0,170, а самая высокая доля гетерозиготных генотипов выявлена с использованием в ПЦР-праймера ISSR-1 – 0,283 (Таблица 3).

По результатам обработки данных в программе STRUCTURE 2.3.4 было определено, что К находится в диапазоне от 3 до 6. Для определения оптимального К использовался логарифм правдоподобия LnPD с помощью online-приложения к программе Clumpak. Наибольшие значения отмечены при количестве кластеров, равному 3, что служит причиной деления популяций на три кластера (Рисунок).



Рисунок – Распределение генотипов сосны обыкновенной с помощью программы STRUCTURE 2.3.4; Ps_Gn – популяция из Гайнского лесничества, Ps_Vr – популяция из Сивинского, Ps_Ar – популяция из Каслинского лесничества.

Таким образом, изученные на Среднем Урале три популяции *P. sylvestris* характеризуются высоким уровнем генетического разнообразия ($P_{95}=0,941$; $H_E=0,199$; $n_e=1,333$), при этом наибольшие значения отмечены в популяции Ps_Gn ($P_{95}=0,628$; $H_E=0,222$; $n_e=1,379$), а наименьшие – в Ps_Ar ($P_{95}=0,546$; $H_E=0,172$; $n_e=1,292$). Анализ генетической структуры показал, что ожидаемая доля гетерозиготных генотипов (H_T) на общую выборку составила 0,323, ожидаемая доля гетерозиготных генотипов в отдельной популяции по всем локусам (H_S) равна 0,209, поэтому показатель подразделенности популяций (G_{ST}) высок и составил 0,358. Изученные популяции сильно дифференцированы, так как на долю межпопуляционной компоненты приходится 35,8% генетического разнообразия. Формирование кластеров и распределение генотипов изученных популяций *P. sylvestris* в программе STRUCTURE показало четкое разделение на 3 генетических кластера.

Библиографический список

1. Тараканов В.В. Структура изменчивости, селекция и семеноводство сосны обыкновенной в Сибири. Дисс. д-ра с./х. наук. Новосибирск: Ин-т леса СО РАН., 2003. 454 с.
2. Иллюстрированный определитель растений Пермского края / С.А. Овеснов, Е.Г. Ефимик, Т.В. Козьминых и др. / под ред. д-ра биол. наук С.А. Овеснова; Пермь: Кн. мир, 2007. 743 с.
3. Мамаев С.А. Виды хвойных на Урале и их использование в озеленении. Свердловск: УНЦ АН СССР, 1983. с.112.
4. Шакиров А.В. Физико-географическое районирование Урала. Екатеринбург: УрО РАН, 2011. 617 с.

5. Шигапова А.И., Шигапов З.Х. Генетическое разнообразие популяций сосны обыкновенной (*Pinus sylvestris* L.). // Вестник ОГУ. 2009. №6. С. 445-447.
6. Vasilyeva Y.; Chertov, N.; Nechaeva Y.; et al. Genetic Structure Differentiation and Originality of *Pinus sylvestris* L. Populations in the East of the East European Plain // Forests. 2021. Vol.12. No 8. P. 1-11.
7. Чертов Н.В., Пыстогова Н.А., Малышкина Е.Е. и др. Молекулярногенетическая идентификация популяций *Pinus sylvestris* L. и *Larix sibirica* 34 Ledeb. в Пермском крае с использованием SNP-маркеров // Бюллетень науки и практики. 2020. Том 6, № 12. С.14-22.
8. Пришнинская Я. В., Нассонова Е. С., Чертов Н. В., Жуланов А. А., Васильева Ю. С., Боронникова С.В., Календарь Р. Н. Внутривидовое генетическое разнообразие популяций двух видов древесных растений Пермского края // Бюллетень науки и практики. 2019. Т. 5. №4. С. 58-68
9. Нассонова Е.С., Васильева Ю.С., Пришнинская Я.В., Жуланов А.А. Молекулярно-генетический анализ и идентификация популяций *Pinus sylvestris* L. в Кировской области и Пермском крае // Бюллетень науки и практики. 2019. Том 5, № 4. С. 47-57.
10. Сбоева Я.В., Васильева Ю.С., Чертов Н.В., Пыстогова Н.А., Боронникова С.В., Календарь Р.Н., Мартыненко Н.А. Молекулярно-генетическая идентификация популяций сосны обыкновенной и лиственницы сибирской в пермском крае на основании полиморфизма ISSR-маркеров // Сибирский Лесной Журнал. 2020. №. 4. С. 35–44.
11. Rogers S.O. Extraction of DNA from milligram amounts of fresh, herbarium and mummified plant tissues // S.O. Rogers, A.J. Bendich / Plant Molecular Biology. 1985. Vol. 1. №19. P. 69-76.
12. Бобошина И. В., Нечаева Ю. С., Видякин А. И., Боронникова С. В. Подбор праймеров для проведения ISSR-анализа полиморфизма ДНК *Pinus sylvestris* L. // Молекулярно-генетические подходы в таксономии и экологии: тезисы научной конференции. Ростов-на-Дону, 2013. С. 17.
13. Yeh F. C., Young R. C., Mao J. POPGENE, the Microsoft Windows-based user-friendly software for population genetic analysis of co-dominant and dominant markers and quantitative traits A. University of Alberta. 1999. 238 p.
14. Peakall R., Smouse P.E. GenAlEx6: Genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research // Mol. Ecol. Not. 2006. Vol. 6. P. 288-295.
15. Williams J.G.K., Kubelik A.R., Livak K.J. DNA polymorphisms amplified by arbitrary primers are useful as genetic markers // Nucleic Acids Research. 1990. Vol. 18. P. 6531-6535.
16. Kimura M., Crow J.F. The number of alleles that can be maintained in a finite population // Genetics. 1964. Vol. 49. P. 725-738.
17. Nei M. Molecular Evolutionary Genetics. // New York: Columbia University Press. 1987. P. 512.
18. Nei M. Molecular population genetics and evolution. // Amsterdam. 1975. P. 278.
19. Falush D., Stephens M., Pritchard J.K. Inference of population structure using multilocus genotype data: linked loci and correlated allele frequencies // Genetics. 2003. Vol. 164. P. 1567-1587.
20. Smulders M., Cottrell J., et al. Structure of the genetic diversity in black poplar (*Populus nigra* L.) populations across European river systems: Consequences for conservation and restoration // Forest Ecology and Management. 2008. Vol. 255, No 5. P. 1388-1399.
21. Evanno G., Regnaut S., Goudet J. Detecting the number of clusters of individuals using the software STRUCTURE: a simulation study // Mol. Ecol. 2005. Vol. 14. P. 261-2620.

АЛЛЕЛЬНЫЕ ВАРИАНТЫ ГЕНОВ *ADRB2*, *REN* И *PPARG*, АССОЦИИРОВАННЫЕ С РАЗВИТИЕМ АРТЕРИАЛЬНОЙ ГИПЕРТЕНЗИИ

Сорокина А.В.^{1,2}, Корякова А.С.¹, Левина Д.Р.¹, Боронникова С.В.¹

¹ФГАОУ ВО «Пермский государственный национальный исследовательский университет»,
Пермь, Россия

²ФГБОУ ВО «Пермская государственная фармацевтическая академия» Минздрава России,
Пермь, Россия

Аннотация. В исследовании с дзюдоистами показано, что генотип А/А гена *REN*, ассоциирован с развитием артериальной гипертензии, что также подтверждено статистически по критерию хи-квадрат ($\chi^2_{\text{эмп}} = 16.880$, при $p=0.01$) и при помощи корреляционного анализа Спирмена ($r_s 0.576$).

Ключевые слова: ген *ADRB2*, ген *REN*, ген *PPARG*, дзюдоисты, гипертензия

ALLELIC VARIANTS OF THE *ADRB2*, *REN* AND *PPARG* GENES ASSOCIATED WITH THE DEVELOPMENT OF ARTERIAL HYPERTENSION

Sorokina A.V.^{1,2}, Koryakova A.S.¹, Levina D.R.¹, Boronnikova S.V.¹

¹Perm State University, Perm, Russia

²Perm State Pharmaceutical Academy, Perm, Russia

Abstract. A study with judokas showed that the A/A genotype of the *REN* gene is associated with the development of arterial hypertension, proven statistically using the chi-square test ($\chi^2_{\text{emp}} = 16.880$, at $p=0.01$) and using Spearman correlation analysis ($r_s 0.576$).

Key words: *ADRB2* gene, *REN* gene, *PPARG* gene, judoists, hypertension

Артериальная гипертензия относится к мультифакторным заболеваниям и встречается практически при всех сердечно-сосудистых заболеваниях. Клинической характеристикой является стойкое повышение артериального давления (АД), зарегистрированное не менее чем при двух осмотрах, при каждом из которых артериальное давление измерялось минимум дважды. Давление является повышенным в случае, если систолическое больше 140 мм рт.ст. и/или диастолическое выше 90 мм рт.ст. [1]. Артериальная гипертензия распространена в диапазоне 30-45% общей популяции, с резким возрастанием по мере старения человека [2]. Распространенность гипертензии у детей и подростков составляет около 17% [3]. Повышенное артериальное давление чаще всего регистрируется у мальчиков, чем у девочек. Распространенность артериальной гипертензии у спортсменов такая же, как в общей популяции [4]. Особенности тренировочного процесса и высокие нагрузки могут способствовать повышению артериального давления у спортсменов. Кроме этого, к факторам риска гипертензии у спортсменов можно отнести высокое потребление натрия, кофеина, нестероидных противовоспалительных препаратов, стероидов и стимуляторов, высокий уровень стресса, а также гипертонию в семейном анамнезе [5, 6, 7]. Повышенное артериальное

давление у спортсменов можно рассматривать как одну из форм перенапряжения сердечно-сосудистой системы, что может привести к развитию гипертрофии миокарда [4].

Существуют гены-кандидаты сердечно-сосудистых заболеваний и гены, непосредственно ассоциированные с развитием артериальной гипертензии, например, ген *ADRB2* (Beta-2 Adrenergic Receptor), *REN* (Renin), *PPARG* (Peroxisome Proliferator-Activated Receptor Gamma) и другие [1]. Ген *ADRB2* кодирует адренорецептор β_2 , обеспечивающий повышение или понижение активности иннервируемой ткани или органа, который связывается с катехоламинами и обеспечивает релаксацию гладкой мускулатуры, а также увеличивает частоту и силу сердечных сокращений [8]. Полиморфный локус rs1042713 гена *ADRB2* (аллель A) ассоциируется с проявлением выносливости у спортсменов [9, 10]. Носительство аллели Gly (аллель G) является неблагоприятным фактором для спортивных результатов и коррелирует со значительным увеличением индекса массы тела, по сравнению с аллелью Arg (A). Генотип A/G ассоциирован с развитием артериальной гипертензии, при этом генотип G/G является протективным в отношении развития заболевания. Генотип A/G гена *ADRB2* также являлся маркером повышенного риска гипертензии у лиц с ожирением [11].

Ген *REN* катализирует превращение ангиотензиногена в ангиотензин I. Ренин (ангиотензиногеназа) представляет собой белок аспарагиновой протеазы и фермент, секретируемый почками, который участвует в ренин-ангиотензин-альдостероновой системе организма (РААС). Увеличивает объем внеклеточной жидкости (плазмы крови, лимфы и интерстициальной жидкости) и вызывает артериальную вазоконстрикцию. Таким образом, он увеличивает среднее артериальное давление в организме [1]. Полиморфный локус rs2368564 гена *REN* (аллель G) можно рассматривать как кандидат в маркеры силы, при этом аллель A ассоциирован с развитием артериальной гипертензии [12, 13].

Ген *PPARG* контролирует рецептор, активируемый пролифераторами пероксисом γ , вовлечен в дифференцировку адипоцитов. Полиморфный локус rs1801282 гена *PPARG* (G- или Ala-аллель) связан с повышением риска артериальной гипертензии и инфаркта миокарда [14], при этом у пациентов с генотипом G/G по сравнению с лицами с C/C или C/G генотипами индекс массы тела, уровень свободных жирных кислот и лейкоцитов ниже. Генотип G/G может обеспечивать защиту от раннего атеросклероза у лиц с риском развития диабета [15]. Полиморфизм гена *PPARG* также оказывает влияние на восприимчивость к занятиям спортом. В группе высококвалифицированных спортсменов, занимающихся видами спорта с преимущественно анаэробным характером энергообеспечения (спринтеры), аллель G гена *PPARG* встречается чаще, чем в группах спортсменов, занимающихся видами спорта с преимущественно аэробным характером энергообеспечения (стайеры). Возможно, данные отличия возникли в процессе многолетнего отбора, так как G-аллель способствует высокой спортивной работоспособности в данных видах спорта и ассоциирован с развитием скоростно-силовых качеств [1].

Цель исследования – изучение связи полиморфизмов генов *ADRB2*, *REN* и *PPARG* с развитием артериальной гипертензии у дзюдоистов школы «Витязь» города Перми.

Выборка для исследований включала 100 человек, из которых 50 спортсменов, занимающихся дзюдо в спортивной школе олимпийского резерва по самбо и дзюдо «Витязь» им. И.И. Пономарева» города Перми и 50 школьников из МАОУ «СОШ №37» и МАОУ «СОШ №32» города Перми. Возраст испытуемых варьировал от 10 до 16 лет. Были сформированы две группы: Группа I включала 50 единоборцев с высокой квалификацией: I и II юношеские разряды, КМС, из которых 10 человек женского пола и 40 мужского. Группа II являлась

группой сравнения и включала 10 учеников МАОУ «СОШ №32» и 40 учеников МАОУ «СОШ №37», из которых 40 человек мужского пола и 10 женского пола, которые не занимаются спортом. Единоборства являются преимущественно мужскими видами спорта, а потому в выборках преобладают лица мужского пола.

Забор биологического материала (буккального эпителия) для генетического анализа проводили с помощью соскоба эпителиальных клеток ротовой полости. От каждого испытуемого было получено добровольное согласие на забор биологического материала. Сбор анамнестических данных, включая информацию об особенностях наследственности, осуществлялся непосредственно от пациентов и их родителей с применением формализованного опросника. Рост измеряли с помощью механического напольного ростомера, массу тела — медицинскими напольными весами (погрешность ± 100 г).

Измерение артериального давления проводили по методу Н.С. Короткова с использованием стандартных возрастных манжет при каждом визите пациента. Артериальное давление измеряли трехкратно с интервалом 5 мин на обеих верхних конечностях с подсчетом среднего показателя. Нормальным систолическим и диастолическим артериальным давлением считается значение <90-го перцентиля кривой распределения АД, высокое нормальное АД ≥ 90 и <95-го перцентиля, АД в гипертензивном состоянии ≥ 95 -го перцентиля кривой распределения АД в популяции для соответствующего возраста, пола и роста. У подростков 16 лет используются единые критерии диагностики нормального (<130/85 мм рт. ст.), высокого нормального АД ($\geq 130/85$ мм рт. ст.) и $\geq 140/90$ мм рт. ст. для артериальной гипертензии [16].

ДНК из клеток буккального эпителия выделяли методом тотального осаждения и лизиса SDS (Sodium Dodecyl Sulfate, додецил сульфат натрия) с помощью коммерческого набора реагентов «EX-511 ДНК-Экстран-2» (Синтол, Россия) в соответствии с инструкцией. Концентрацию проб ДНК определяли с помощью спектрофотометра Spectrofotometr™ NanoDrop 2000 «Thermo scientific» (USA). В ПЦР в реальном времени (ПЦР-РВ) при использовании подхода распознавания аллелей (Allelic Discrimination) выявлялись аллели генов *PPARG*, *REN* и *ADRB2*, а также аллельные варианты генов или генотипы, ассоциированные с развитием артериальной гипертензии. Реактивы для выявления полиморфных локусов Pro12Ala гена *PPARG* (rs1801282), I9–83G>A гена *REN* (rs2368564) и Arg16Gly (rs1042713) гена *ADRB2* синтезированы в ООО «Синтол» (г. Москва, Россия). Реактивы для амплификации ДНК смешивали в нужном объеме непосредственно перед проведением исследований. К реакционной смеси добавляли 5 мкл пробы ДНК индивидуально каждого единоборца. В качестве контроля использовали: а) отрицательный контроль (ОКО); б) положительный контрольный образец (ПКО) для гена *PPARG* – ПКО 1 С/С, ПКО 2 С/Г, ПКО 3 Г/Г; для гена *ADRB2* – ПКО 1 А/А, ПКО 2 А/Г, ПКО 3 Г/Г; для гена *REN* – ПКО 1 Г/Г, ПКО 2 Г/А, ПКО 3 А/А. Определение аллелей и генотипов проводилось при помощи программы Bio-Rad (USA) на амплификаторе CFX96 (CFX96 Touch Real-Time PCR Detection System, USA). По каналу флуоресценции FAM (синий, длина волны возбуждения/детекции 470/515 нм) качественно определялось наличие в пробе аллеля С гена *PPARG*, аллеля Г гена *REN* и аллеля А гена *ADRB2*. По каналу флуоресценции HEX (зеленый, длина волны возбуждения/детекции 530/560 нм) можно обнаружить аллель Г гена *PPARG*, аллеля А гена *REN* и аллель Г гена *ADRB2*. Каждая проба была проанализирована индивидуально. Эксперимент повторялся дважды.

Анализ полученных данных проводился с использованием программы STATISTICA 6.0 с определением нормальности распределения. Для хранения и обработки результатов исследований была создана матрица данных в виде электронных таблиц MS Excel 2010. Оценка взаимосвязи между двумя переменными (генотип и артериальное давление) осуществлялась с помощью корреляционного анализа Спирмена (r_s).

По результатам измерения артериального давления было выявлено, что в группе дзюдоистов (Группа I) у 32 человек нормальное давление, 9 спортсменов имеют нормальное высокое давление и у 9 человек зарегистрирована артериальная гипертензия. В группе сравнения (Группа II) у 37 человек отмечено нормальное давление, у 3 – высокое нормальное, и у 10 человек определена артериальная гипертензия. Тем самым, в общей выборке в 100 человек, нормальное давление обнаружено у 69 человек, 12 имеют высокое нормальное давление, и 19 человек зарегистрированы с артериальной гипертензией. Достоверных отличий по наличию артериальной гипертензии между группой дзюдоистов и группой сравнения (Группа I и Группа II) обнаружено не было.

Нами были выделены две новые группы для сравнения между собой, чтобы определить связь между генотипами исследуемых генов и артериальным давлением. Группа А включала испытуемых с нормальным давлением (69 человек) и Группа Б состояла из 19 человек с артериальной гипертензией. Группу людей с высоким нормальным давлением не включали в выборку, так как их отличие от двух других групп невелико. Сравнение частот генотипов между Группой А испытуемых с нормальным давлением и Группой Б с артериальной гипертензией выполняли с помощью критерия χ^2 – хи-квадрат (Таблица).

Таблица – Полиморфизм трех генов у испытуемых с разным артериальным давлением

Ген	Генотипы	Группы с разным давлением (88 человек)		Частоты генотипа на общую выборку (88 человек)	χ^2	r_s
		Группа А – нормальное давление (69 человек)	Группа Б – артериальная гипертензия (19 человек)			
<i>ADRB2</i>	A/A	0.10 (9)	0.05 (5)	0.16 (14)	3.337	0.240
	A/G	0.47 (41)	0.08 (7)	0.55 (48)		
	G/G	0.22 (19)	0.08 (7)	0.29 (26)		
<i>REN</i>	A/A	0.06 (5)	0.08 (7)	0.14 (12)	16.880	0.576
	G/A	0.31 (27)	0.10 (9)	0.41 (36)		
	G/G	0.42 (37)	0.03 (3)	0.45 (40)		
<i>PPARG</i>	C/C	0.48 (42)	0.13 (11)	0.60 (53)	0.934	0.404
	C/G	0.29 (26)	0.08 (7)	0.38 (33)		
	G/G	0.01 (1)	0.01 (1)	0.02 (2)		

Примечание: *ADRB2* (Beta-2 Adrenergic Receptor), *REN* (Renin), *PPARG* (Peroxisome Proliferator-Activated Receptor Gamma), сравнение частот генотипов между двумя группами выполняли с помощью критерия хи-квадрат (χ^2); оценка взаимосвязи между двумя переменными (генотип и наличие артериальной гипертензии) осуществлялась с помощью корреляционного анализа Спирмена (r_s); жирным шрифтом выделены значимые отличия

С помощью критерия хи-квадрат была определена статистическая значимость между двумя выборками (Группой А с нормальным давлением и Группой Б с артериальной гипертензией) и генотипами гена *REN*. Значение критерия $\chi^2_{\text{эмп}}$ составляет 16.880, критическое

значение $\chi^2_{кр}$ при уровне значимости $p=0.01$ составляет 9.21. Таким образом, связь между двумя выборками и генотипами гена *REN* статистически значима при уровне значимости $p<0.01$. Связь между генотипами генов *ADRB2* и *PPARG* и наличием артериальной гипертензии статистически не значима.

С помощью корреляционного анализа Спирмена осуществлялось сравнение между двумя переменными – генотипами и наличием артериальной гипертензии. Анализ полиморфизма I9–83G>A гена *REN* в двух группах у испытуемых с разным давлением выявил, что характеристики экспериментальных групп значимо отличаются друг от друга ($p=0.001$), так как уровень значимости ниже 0.05. Корреляционный анализ (по критерию Спирмена) зависимости исследуемых показателей генотипа испытуемых и наличия артериальной гипертензии, выявил наличие положительной связи ($r_s=0.576$) между этими двумя переменными. Генотип A/A, ассоциированный с артериальной гипертензией, встречается только у пяти человек (частота 0.06) в группе с нормальным давлением (Группа А), при этом генотип G/G, не ассоциированный с гипертензией, встречается в этой же группе достоверно чаще у 37 человек (частота 0.42). В группе испытуемых с артериальной гипертензией генотип G/G встречается всего у трех человек (частота 0.03), при этом генотип A/A и A/G у 7 и 9 человек, соответственно (частота 0.08 и 0.10). Таким образом, можно заключить, что генотип A/A гена *REN* имеет связь с артериальной гипертензией и в изучаемой выборке испытуемых.

Анализ полиморфизма Pro12Ala гена *PPARG* и Arg16Gly гена *ADRB2* в двух группах у испытуемых с разным давлением выявил, что характеристики экспериментальных групп значимо не отличаются друг от друга ($p=0.768$ по гену *PPARG* и $p=0.182$ по гену *ADRB2*), так как уровень значимости выше 0.05 в обоих случаях.

Полученные данные доказывают, что распространенность артериальной гипертензии у единоборцев такая же, как в группе людей, не занимающихся спортом. В данной выборке артериальная гипертензия обнаружена у 19 человек из 100, среди них 10 человек из группы сравнения и 9 дзюдоистов. Обнаружены достоверно значимые различия при анализе полиморфизма I9–83G>A гена *REN* по критерию хи-квадрат ($\chi^2_{эмп}=16.880$ при $p < 0.01$) и при оценке взаимосвязи между генотипом и наличием артериальной гипертензии при помощи корреляционного анализа Спирмена ($r_s=0.576$). Исследование подтверждает, что генотип A/A гена *REN*, ассоциирован с развитием артериальной гипертензии, и может быть использован в качестве маркерного.

Ассоциации между полиморфизмами Pro12Ala гена *PPARG* и Arg16Gly гена *ADRB2* и артериальной гипертензией у дзюдоистов и детей, не занимающихся спортом, не обнаружено. Ассоциацию полиморфизмов Pro12Ala гена *PPARG* (rs1801282), I9–83G>A гена *REN* (rs2368564) и Arg16Gly (rs1042713) гена *ADRB2* с развитием артериальной гипертензии у детей невозможно экстраполировать на всю популяцию российских детей ввиду малочисленности исследуемой выборки. Возможно, что при увеличении размера выборки распределения генотипов и аллелей указанных генов будут отличаться от приведенных в данной статье. Таким образом, полученные результаты требуют дальнейшего подтверждения на выборках большего размера.

Библиографический список

1. Баранов В.С. Генетический паспорт – основа индивидуальной и предиктивной медицины. СПб.: Изд-во Н-Л, 2009. 528 с.

2. Рекомендации по лечению артериальной гипертензии. ESH/ESC 2013 // Российский кардиологический журнал, 2014. № 1(105). С.7-94
3. Результаты суточного мониторирования артериального давления у детей и подростков с повышенным уровнем АД, обнаруженным при казуальных измерениях / Образцова Г. И., Черемных Т. В., Ковалев Ю. Р. [и др.] // Артериальная гипертензия, 2005. Т. 11, № 1. С. 55–58.
4. Смоленский А.В., Михайлова А.В., Татарина А.Ю. Артериальная гипертензия у спортсменов и ремоделирование спортивного сердца // Международный журнал сердца и сосудистых заболеваний, 2017. Т. 5, №14. С. 36–45.
5. Longás Tejero M.A., Casanovas Lenguas J.A. Prevalence of hypertensive response to exercise in a group of healthy young male athletes. Relationship with left ventricular mass and prospective clinical implications. // Rev.Esp.Cardiol, 1996. N. 49. P. 104–10.
6. Izzo J. Hypertension in athletes // Clin Hypertens, 2009. N. 11. P. 226–233.
7. Lehmann M., Keul J. Incidence of hypertension in 810 male sportsmen //Z. Kardiol, 1984. N. 73. P. 137–141.
8. Kachkovska V.V. et al. Arg16Gly polymorphism in the β 2-adrenoceptor gene in patients with bronchial asthma / V.V. Kachkovska, A.V. Kovchun, I.O. Moyseyenko, I.O. Dudchenko // Wiadomosci Lekarskie, 2021. N. 74. P. 1200–1203.
9. Sarpeshkar V., Bentley D.J. Adrenergic- β 2 receptor polymorphism and athletic performance // Journal of Human Genetics, 2010. Vol. 55. P. 479–485.
10. Сорокина Е.Ю., Денисова Н.Н., Кешабянц Э.Э. Частота встречаемости генетических полиморфизмов, ассоциированных со спортивной успешностью, у спортсменов игровых видов спорта высших достижений // Спортивная медицина: наука и практика, 2021. № 1. С. 5–10.
11. Иманбекова М.К. Спорт и генетика / М.К. Иманбекова, Е.В. Жолдыбаева, Т.К. Есентаев, К.Т. Момыналиев // Eurasian Journal of Applied Biotechnology, 2013. No2. С. 2–12.
12. Ahmad U. Strong association of a renin intronic dimorphism with essential hypertension / Ahmad U., Saleheen D., Bokhari A., Frossard P. M. // Hypertens. Res, 2005. Vol. 28, N 4. P. 339–344.
13. Глотов А.С. Разработка и апробация тест-систем на основе гелевых биочипов для изучения генетического полиморфизма человека: Автореф. дис. СПб., 2006. 18 с.
14. Multi-locus candidate gene polymorphisms and risk of myocardial infarction: a population-based, prospective genetic analysis / Zee R. Y., Cook N. R., Cheng S. [et al.] // J. Thromb. Haemost, 2006. Vol. 4, N 2. P. 341–348.
15. Semple R.K. PPAR gamma and human metabolic disease/Semple R. K., Chatterjee V. K., O’Rahilly S. // J. Clin. Invest, 2006.Vol. 116, N 3. P. 581–589.
16. Александров А.А., Кисляк О.А., Леонтьева И.В., Розанов В.Б. Диагностика, лечение и профилактика артериальной гипертензии у детей и подростков. Российские рекомендации (второй пересмотр) // Кардиоваскулярная терапия и профилактика, 2009. Т. 8. № 4 С. 1–32.

ISSR АНАЛИЗ ОЗИМЫХ СОРТОВ ТРИТИКАЛЕ ЦЕКАД 90, СИБАРД, ФОРТЕ

Сырвачева Д.Н., Данилова М.А.

Пермский государственный национальный исследовательский университет, Пермь, Россия

Аннотация. Тритикале является одной из важных сельскохозяйственных культур, используемых в пищевой промышленности. В настоящее время ведется селекционная работа по улучшению ее свойств, созданию новых сортов. Генетическое разнообразие является одной из предпосылок успешной селекции. Доступным методом для определения генетического разнообразия является анализ межмикросателлитных последовательностей ISSR. В данном исследовании для анализа были собраны образцы трех сортов озимой тритикале на полях Пермского ННИСХ. Для каждого сорта были определены гетерозиготность и редкие аллели. Также была построена дендрограмма, которая показала, что сорта Сибард и Форте объединились в одну группу, а сорт Цекад 90 наиболее генетически отдален от остальных.

Ключевые слова: тритикале, генетическое разнообразие, ISSR-маркеры, генетические дистанции, UPGMA

ISSR ANALYSIS OF WINTER TRITICALE VARIETIES TSEKAD 90, SIBARD, FORTE

Syrvacheva D.N., Danilova M.A.

Perm State University, Perm, Russia

Abstract. Triticale is one of the important crops used in the food industry. Currently, breeding work is underway to improve its properties and create new varieties. Genetic diversity is one of the prerequisites for successful breeding. An available method for determining genetic diversity is the analysis of intermicrosatellite ISSR sequences. In this study, samples of three varieties of winter triticale were collected for analysis in the fields of the Perm Research Institute. Heterozygosity and rare alleles were determined for each variety. A dendrogram was also constructed, which showed that the Sibard and Forte varieties were combined into one group, and the Tsekad 90 varieties were the most genetically distant from the rest.

Keywords: triticale, genetic diversity, ISSR markers, genetic distances, UPGMA

Введение. Тритикале (\times *Triticosecale* Wittm.) — это первый злак, который был искусственно создан человеком. Он удачно сочетает в себе признаки пшеницы и ржи [1]. Несмотря на то, что тритикале является сравнительно молодой культурой, она получила широкое распространение благодаря своей способности обеспечивать значительный объем биомассы и давать хорошие урожаи зерна в широком почвенно-климатическом диапазоне [2]. Устойчивость этой культуры к наиболее распространенным грибковым заболеваниям позволяет снизить использование химических средств защиты [3].

В последние годы интерес к выращиванию тритикале значительно возрос из-за ее потенциала как промышленной энергетической культуры. Экономическое значение тритикале подтверждается значительными посевными площадями в Европе, на которые приходится 90% мирового производства. Тритикале, как искусственно созданная культура, характеризуется

низкой генетической изменчивостью [4]. Именно поэтому эта зерновая культура требует изучения, в том числе и на генетически-молекулярном уровне.

В настоящее время для определения локализации генов используется ряд различных молекулярно-генетических маркеров. Наиболее широко в исследованиях генетического полиморфизма применяются микросателлиты, которые распространены в эукариотических геномах и являются универсальной системой генетических маркеров для анализа наследуемых изменений на уровне ядерной ДНК [5].

Целью нашей работы было изучение генетического разнообразия сортов озимой тритикале, собранных на Пермском НИИСХ, с использованием ISSR-маркеров.

Цекад 90 характеризуется как среднепоздний сорт. Сорт создан методом индивидуального отбора из гибридной популяции, полученной при скрещивании сортов пшеницы Цезиум 39 и Краснодарская 39, ржи Короткостебельная 69 и тритикале АД 3/5. Зимостойкость: на уровне 75 %. Отличительные особенности тритикале озимой «Цекад 90»: Сорт высокозимостойкий среднераннего типа пригоден к возделыванию по интенсивной технологии. Содержание алкилрезорцинов и ингибиторов трипсина в 4 раза ниже, чем у ржи и незначительно выше, чем у пшеницы [6, 7].

Сорт Форте получен путем двукратного отбора из гибридной популяции 3096/06 / Vogo. В родословную сорта входят сорта Зенит одесский, ТИ 17, АД 206, ПРАГ 48/8, Ласко и яровое тритикале Вира «S». В среднем за 2015-2017 гг. урожай зерна нового сорта по предшественнику пар составил 10,06 т/га, что на 1,61 т больше в сравнении со стандартом Каприз. Сорт может быть использован как в кондитерской, так и в комбикормовой промышленности, так и для получения крахмала. Наряду с высокой продуктивностью сорт характеризуется высокой устойчивостью к прорастанию на корню, повреждению злаковой мухой, не поражается вирусной карликовостью. Морозостойкость на уровне 93% [8, 9].

Сорт Сибард был получен методом отбора короткостебельных с крупным колосом растений из гибридов Сирс 57 и Бард. Его отличительные особенности: высокая зимостойкость (перезимовка растений составляет около 90%) и устойчивость к снежной плесени - одному из самых вредоносных заболеваний, вследствие которого потери урожая могут достигать 40-50 и даже 100%. Кроме того, новый сорт обладает высоким биологическим потенциалом и позволяет получать зерна более 5 тонн с гектара. В конкурсном испытании «Сибард» показал урожайность до 5,5 т/га, что выше стандарта «Башкирская короткостебельная» на 0,7 т/га [10].

Методы исследований. Подфлаговые листья озимой тритикале были собраны на полях Пермского НИИСХ. У каждого сорта были отобраны 3 делянки. Затем из листьев было выделено ДНК методом СТАВ [11]. Качественные характеристики и концентрацию ДНК определяли на спектрофотометре NanoDrop 2000 («Thermo Scientific», USA) [12]. Молекулярно-генетическое исследование было проведено с применением ISSR-метода. Ампликоны разъединяли горизонтальным электрофорезом в камере Sub-Cell GT Horizontal Electrophoresis System (Bio-Rad, США) в 1,7 % агарозном геле в 1x TBE буфере, окрашивали бромистым этидием [13]. Фотографирование электрофореграмм проводили с помощью системы гель-документации GelDoc XR (Bio-Rad, USA). Статистическая обработка полученных данных проведена с поддержкой общепризнанных генетических компьютерных программ: POPGENE 1.31 и GenAlEx 6.51.

При подборе эффективных праймеров было отобрано 5 самых эффективных: X10 (AGC)₆C, ISSR-8 (GAG)₆C, ISSR-10 (ATG)₇C, M1 (AC)₈CG, M2 (AC)₈CC.

Результаты исследований. В процессе молекулярно-генетического анализа сортов тритикале было выявлено 35 ISSR-PCR маркеров, из которых 24 были полиморфными. Самая высокая доля полиморфных локусов в сорте Форте - все 24, самая низкая у сорта Цекад 90 - 10.

В зависимости от праймера количество полиморфных фрагментов варьировало от 0 до 8. Для праймера ISSR10 в сорте Цекад 90 не обнаружено полиморфных фрагментов. Самое большое количество, равное 8, найдено у сорта Форте в том же праймере.

Оценку генетического разнообразия часто проводят с использованием индекса биоразнообразия Шеннона, который традиционно применяется при молекулярно-генетическом анализе. Биологический смысл данного индекса заключается в количественном выражении выравнивания видового обилия. Чем больше индекс Шеннона, тем больше разнообразие. Если сравнить сорта между собой, то для каждого из них индекс Шеннона невысок (Таблица 1). Значение индекса Шеннона для выборки (0,4660) в целом также мало и из этого мы можем сделать вывод, что все сорта между собой отличаются незначительно.

Гетерозиготность (H) – определяет вероятность того, что два любых аллеля одного локуса из генофонда выборки, взятые наугад, будут разными. Этот показатель чаще всего используется для оценки генетического разнообразия. Среди сортов наибольший показатель у сорта Форте ($0,2675 \pm 0,2015$), а самый маленький у Цекад 90 ($0,1085 \pm 0,1861$). Среднее наблюдаемое число аллелей (na) среди сортов варьируется от 1,3 до 1,7 для сортов Цекад 90 и Форте соответственно. Самое большое значение эффективного числа аллелей у сорта Форте, а самое меньшее у сорта Цекад 90.

Для каждого сорта было определено количество редких аллелей - то есть фрагментов, обнаруженных исключительно для определенного сорта. Для сорта Форте это значение равно 6, для Сибард 4, а для Цекад 90 было найдено 2 редких аллеля.

Таблица 1 – Генетическое разнообразие изученных сортов

Название сорта	Наблюдаемое количество аллелей (Na)	Эффективное число аллелей (Ne)	Гетерозиготность (H)	Индекс Шеннона (I)	Редкие аллели (R)
Форте	$1,7143 \pm (0,4583)$	$1,4671 \pm (0,3866)$	$0,2675 \pm (0,2015)$	$0,3947 \pm (0,2838)$	6
Сибард	$1,4 \pm (0,4971)$	$1,2064 \pm (0,3147)$	$0,1259 \pm (0,1802)$	$0,1917 \pm (0,2646)$	4
Цекад 90	$1,2857 \pm (0,4583)$	$1,1893 \pm (0,3356)$	$0,1085 \pm (0,1861)$	$0,1594 \pm (0,2686)$	2

Среди изученных сортов наибольшее генетическое разнообразие имеет сорт Форте.

Также мы оценили генетическую структуру и дифференциацию между изученными сортами. Для этого оценивались несколько показателей: средняя ожидаемая гетерозиготность на общую выборку и коэффициент подразделенности для каждого праймера (Таблица 2).

Ожидаемая гетерозиготность (Ht) на общую выборку равна 0,3095. Средняя ожидаемая гетерозиготность (Hs) на общую выборку равна 0,1673. Доля межпопуляционного генетического разнообразия в общем разнообразии или коэффициент подразделенности (Gst) равен 0,4595. Gst используется для оценки межпопуляционной гетерозиготности, это показатель разброса генных частот в разных субпопуляциях, в данном случае для разных

сортов. Этот показатель тем выше, чем сильнее различаются отдельные подгруппы в анализируемой выборке.

Таблица 2 – Генетическая структура изученных сортов тритикале

Праймер	Ожидаемая гетерозиготность (Ht)	Средняя ожидаемая гетерозиготность (Hs)	Коэффициент подразделенности (Gst)
ISSR8	0,3578	0,2813	0,1778
ISSR10	0,1413	0,0941	0,1938
M1	0,4536	0,1078	0,7560
M2	0,4652	0,4174	0,1085
X10	0,3307	0,0914	0,5562

Достаточно высокий коэффициент подразделенности определяется при использовании в анализе праймеров X10 и M1. Остальные праймеры связываются с более консервативными фрагментами.

Генетическое расстояние – это мера генетической дивергенции между группами. Кластерный анализ UPGMA показал, что наиболее близки в генетическом плане сорта Форте и Сибард.

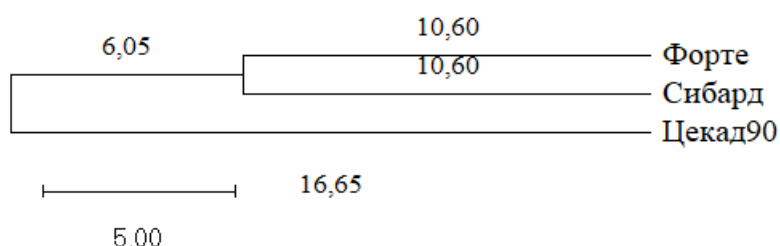


Рисунок – Дендрограмма кластеризации образцов озимой тритикале методом UPGMA по Nei (1972 г.).

Заключение. Было изучено генетическое разнообразие сортов озимой тритикале: Цекад 90, Форте и Сибард. Самые высокие показатели ($I = 0,3947$, $H = 0,2675$, $R = 6$) отмечены у сорта Форте. Анализ генетической структуры трех сортов показал, что сорта Форте и Сибард формируют один кластер, то есть являются более генетически сходными.

Библиографический список

1. Golebiowska, Gabriela & Dyda, Mateusz. The Genome Regions Associated with Abiotic and Biotic Stress Tolerance, as Well as Other Important Breeding Traits in Triticale. Plants. 2023.
2. Wasiak M, Niedziela A, Woś H, Pojmaj M, Bednarek PT. Genetic mapping of male sterility and pollen fertility QTLs in triticale with sterilizing *Triticum timopheevii* cytoplasm. Journal of Applied Genetics. 2021.
3. Moullet O, Díaz Bermúdez G, Fossati D, et al. Pyramiding wheat pre-harvest sprouting resistance genes in triticale breeding. Molecular Breeding: new Strategies in Plant Improvement. 2022.
4. Skowrońska R, Mariańska M, Ulaszewski W, et al. Development of Triticale × Wheat Prebreeding Germplasm With Loci for Slow-Rusting Resistance. Frontiers in Plant Science. 2020.

5. Антоненко Е.В., Лемеш В.А., Кременевская Е.М., Ермишина Н.М., Зайцева О.И. Сравнительный анализ полиморфизма локусов хромосомы 5a у пшеницы и тритикале с использованием SSR-маркеров. Молекулярная и прикладная генетика. 2013. Том 15.
6. Тритикале ЦИКАД 90 от ИЦиГ СО РАН. [Электронный ресурс]. URL: <https://glavagronom.ru/base/seeds/zernovie-tritikale-ozimoe-cikad-90-institut-citologii-i-genetiki-so-ran-9908173> (Дата обращения: 30.03.2024).
7. Тритикале озимая сорт «Цекад 90» Элита [Электронный ресурс]. URL: <https://www.apk-kolos.ru/tritikale-ozimaja/c2288.html> (Дата обращения: 30.03.2024).
8. Грабовец А. И., Бирюков К. Н., Гординская Е. А., Ляшков И. В. Технология возделывания нового сорта озимой тритикале Форте (рекомендации) под общей ред. А. И. Грабовца; ФГБНУ ФРАНЦ. Юг. 2022. С. 5-6.
9. Тритикале ФОРТЕ от ФРАНЦ [Электронный ресурс]. URL: <https://glavagronom.ru/base/seeds/zernovie-tritikale-ozimoe-franc-8262691> (Дата обращения: 30.03.2024).
10. Тритикале озимая сорт «Сибард» Элита [Электронный ресурс]. URL: <https://www.apk-kolos.ru/tritikale-ozimaja/c2285.html> (Дата обращения: 30.03.2024).
11. Doyle J.J. and Doyle J.L. A rapid DNA isolation procedure for small quantities of fresh leaf tissue. Phytochemical bulletin. 1987. P. 11–15.
12. Печенкина В.А., Вшивкова А.И., Тарбеев И.А., Вяткина Р.И., Марон К.А. Выявление эффективных праймеров для сортов озимой ржи *Secale cereale* L. // Аграрный научный журнал. 2023. № 6. С. 46–50.
13. Боне К.Д., Бочаркина Ю.В., Карлов Г.И., Разумова О.В. Использование межмикросателлитных маркеров для анализа полиморфизма облепихи крушиновидной (*Hippophaë rhamnoides* L.) Различного происхождения. Москва. 2020. С. 43–48.

ПОСЕВНЫЕ КАЧЕСТВА СЕМЯН ЗЕРНОВЫХ КУЛЬТУР ПОСЛЕ ПРЕДПОСЕВНОЙ ЛАЗЕРНОЙ ОБРАБОТКИ

Щербинина К.Э., Боронникова С.В.

Пермский государственный национальный исследовательский университет, Пермь

Аннотация. Исследованы посевные качества семян *Triticum aestivum* L., *Hordeum vulgare* L., *Avena sativa* L., такие как лабораторная всхожесть, зараженность семян фитопатогенами, до и после предпосевной лазерной обработки семян с разной интенсивностью и временем использования лазера

Ключевые слова: предпосевная обработка, посевные качества семян, лазер, зерновые культуры

SOWING QUALITIES OF GRAIN CROPS SEEDS AFTER PRE-SOWING LASER TREATMENT

Shcherbinina K. E., Boronnikova S. V.

Perm State National Research University, Perm

Annotation. The sowing qualities of the seeds of *Triticum aestivum* L., *Hordeum vulgare* L., *Avena sativa* L. were studied, such as laboratory germination, infection of seeds with phytopathogens, before and after pre-sowing laser treatment of seeds with different intensities and times of laser use.

Key words: pre-sowing treatment, sowing qualities of seeds, laser, grain crops

Одной из важнейших целей аграрной и экономической политики государства является поддержание продовольственной безопасности, требующее повышение эффективности сельскохозяйственного производства [1,2]. У пшеницы мягкой, основной продовольственной зерновой культуры, 68,42% семян заражены грибными болезнями. В связи с этим, необходимо решить проблему хранения, обработки от фитопатогенов и оптимизации показателей посевных качеств семян [3]. Лазерная предпосевная обработка семян является эффективным и экологически безопасным методом, который может поспособствовать улучшению качеств посевного материала, но на данный момент ее влияние на посевные качества семян недостаточно изучено [4,5].

Целью исследования является определение морфологических характеристик и посевных качеств семян *Triticum aestivum* L., *Hordeum vulgare* L., *Avena sativa* L. до и после предпосевной лазерной обработки семян. В ходе эксперимента были проведены измерения длины и ширины семян трех зерновых культур до облучения, а также исследованы некоторые посевные качества - лабораторная всхожесть [6] и зараженность семян грибными болезнями [7] до и после облучения.

Для проведения эксперимента были использованы оригинальные семена пшеницы мягкой (*Triticum aestivum* L.) сорта «Каменка», ячменя обыкновенного (*Hordeum vulgare* L.) сорта «Родник Прикамья» и овса посевного (*Avena sativa* L.) сорта «Дэнс», предоставленные сотрудниками Пермского НИИСХ – филиала Пермского ФИЦ УрО РАН. Семенной материал

каждой культуры был разделен на две группы: группу, подвергнутую предпосевной лазерной обработке, и контрольную группу необработанных семян.

Морфологические характеристики (длина и ширина) семян *T. aestivum*, *H. vulgare*, *A. sativa* определялись с использованием штангенциркуля по методике, соответствующей требованиям ГОСТ № 13586.2-81 «Методы определения содержания сорной, зерновой, особо учитываемой примесей, мелких зерен и крупности». Масса 1000 семян зерновых культур проверялась также согласно методике, описанной в ГОСТ 12042-80 «Семена сельскохозяйственных культур. Методы определения массы 1000 семян» до предпосевной обработки.

Лазерная обработка была проведена с использованием макета оптической установки, с включенными в него четырьмя лазерными полупроводниковыми диодам, которые излучают монохроматичный свет с длинами волн 360 нм (УФ), 450 нм (синий), 637 нм (красный) и 850 нм (инфракрасный) [4]. Обработка семян проводилась в два этапа, во время которых были исследованы 17 вариантов облучения. На первом этапе обработки выполнялось облучение семян УФ, синим, красным и инфракрасным лазерами, каждый из которых использовался в течение 0,5 минут, 1 минуты и 2 минут. Также, проводилось исследование всхожести облученных и необлученных семян трех зерновых культур. Второй этап подразумевал облучение семян отобранными комбинациями длин волн. Для *T. aestivum* были подобраны следующие варианты: красный 0,5 мин + ИК 2 мин и УФ 5 сек + красный 5 сек; для *H. vulgare* – УФ 1 мин+ красный 0,5 мин и УФ 1 мин + ИК 2 мин; для *A. sativa* – ИК 0,5 мин+ красный 0,5 мин. После облучения проводилось исследование всхожести и зараженности семян грибными болезнями.

Для измерения лабораторной всхожести семян был использован метод, описанный в ГОСТ №12038-84 «Семена сельскохозяйственных культур. Методы определения всхожести». Он позволяет определить процент проросших семян через 7 дней для *T. aestivum*, *H. vulgare* и *A. sativa* после закладки опыта на проращивание семян во влажных рулонах фильтровальной бумаги в термостат. Зараженность семян фитопатогенами определялась согласно методике, изложенной в ГОСТ №12044-93 «Семена сельскохозяйственных культур. Методы определения зараженности болезнями». Определение числа зараженных семян проводилось биологическим методом после проращивания семян во влажных рулонах фильтровальной бумаги в термостате на 7 сутки. Статистическая обработка данных проводилась с применением критерия Краскелла-Уоллиса [8] для всхожести семян зерновых культур и критерия Манна-Уитни [9] для зараженности. Корреляционный анализ проводился с использованием критерия Спирмена [10].

Результаты исследований показали, что из трех изученных злаковых культур наиболее крупными (табл. 1) являются семена овса посевного (макс. длина – 14 см, макс. ширина – 4 см), а самыми мелкими – семена пшеницы мягкой (макс. длина – 7 см, макс. ширина – 4 см). Наибольшая масса 1000 семян характерна для ячменя обыкновенного, а наименьшая – для пшеницы мягкой (табл. 1).

Исследование морфологических параметров и массы 1000 семян позволили получить однородный по форме материал для дальнейшего изучения. После облучения семян и проверки их на всхожесть было замечено, что каждая исследуемая культура по-разному реагирует на воздействие лазерного света.

Таблица 1- Масса 1000 семян и морфологические параметры семян трех видов злаковых культур

Культуры	Масса 1000 семян, гр	Морфологические параметры, мм	
		длина	ширина
<i>Triticum aestivum</i> L.	37,10 ± 0,07	6,04±0,31	2,99±0,31
<i>Hordeum vulgare</i> L.	45,30 ± 0,60	8,72±0,60	3,79 ±0,40
<i>Avena sativa</i> L.	42,40 ± 0,14	10,59±1,15	3,04 ±0,36

Примечание: указаны средние значения с учетом ошибки

Так, в первом этапе облучения после определения всхожести у пшеницы мягкой сорта «Каменка» наилучший результат составлял 98% и 97% после применения ИК и УФ лазера в течение 2 минут и 0,5 минут соответственно, по сравнению с контрольной группой, чья всхожесть достигала 92% (рис. 1).

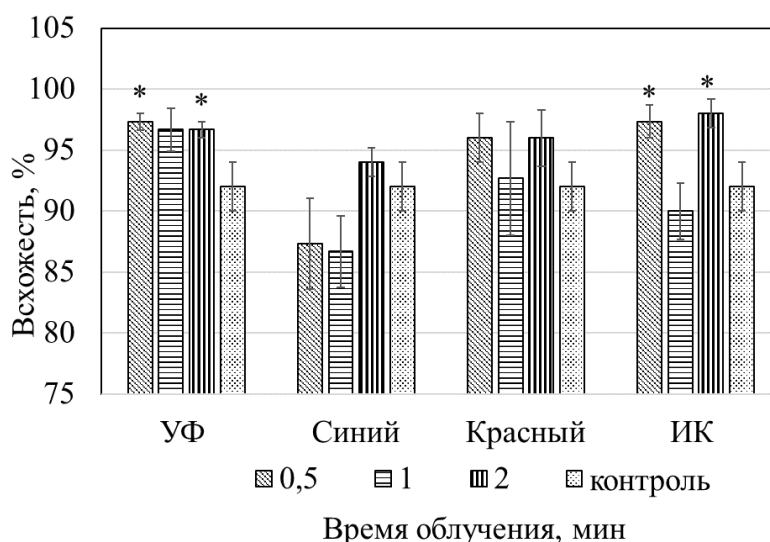


Рисунок 1 - Всхожесть семян *T. Aestivum*.

Примечание: * – статистически достоверные положительные отличия; ИК – инфракрасный лазер

Максимальная всхожесть семян ячменя обыкновенного сорта «Родник Прикамья» также достигала 98% после применения ИК лазера в течение 1 и 2 минут, результат контрольной группы – 94% (рис. 2).

Семена овса посевного сорта «Денс» достигали максимальной 100% всхожести после облучения ИК лазером в течение 2 минут, а всхожесть необлученных семян составляла 97% (рис. 3).

Кроме этого, при исследовании всхожести семян зерновых культур после облучения, помимо повышения, было замечено и статистически достоверное снижение при использовании синего лазерного луча (например, у пшеницы мягкой всхожесть семян снизилась до 87%, по сравнению с 92% контрольной группы).

После проведения первого этапа обработки были составлены несколько комбинированных вариантов облучения. Для оригинальных семян *T. aestivum* сорта

«Каменка» были отобраны следующие варианты облучения: красный 2 мин. + ИК 2 мин., а также УФ 5 сек + красный 5 сек.

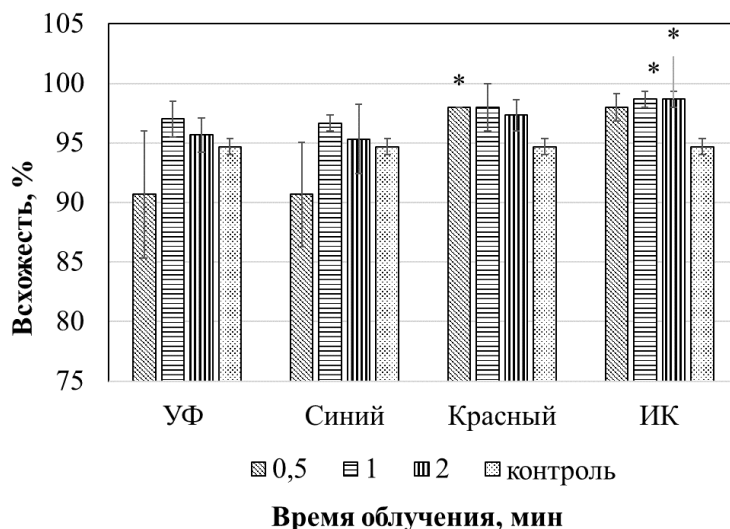


Рисунок 2 - Всхожесть семян *H. Vulgare*.

Примечание: * – статистически достоверные положительные отличия; ИК – инфракрасный лазер

После последовательного облучения наблюдалось повышение всхожести до 94% и 95% в двух вариантах опыта соответственно. При этом, всхожесть контрольной группы составляла 92%, а разница между облученной и необлученной группой не является статистически достоверной.

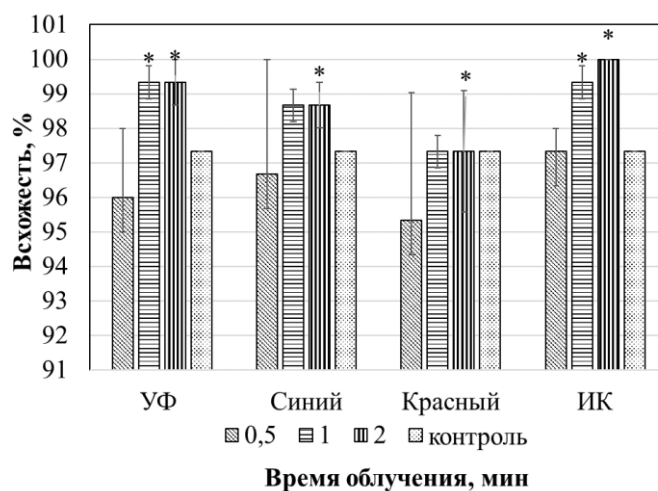


Рисунок 3 - Всхожесть семян *A. sativa*.

Примечание: * – статистически достоверные положительные отличия; ИК – инфракрасный лазер

Для семян *H. vulgare* сорта «Родник Прикамья» были отобраны следующие варианты облучения: УФ 1 мин. + красный 0,5 мин. и УФ 1 мин + ИК 2 мин. В этом опыте наблюдались статистически достоверные отличия для всхожести в двух вариантах облучения и составляла 98% и 99% соответственно по сравнению с 95% всхожестью контрольной группы.

Для семян *A. sativa* сорта «Дэнс» была отобрана лишь одна наиболее перспективная методика последовательного облучения, и она подразумевала использование ИК в течение 0,5 мин. и красного также в течение 0,5 мин. Данный вариант облучения не дал практически никакого результата – всхожесть составляла 96% для облученной и 97% для контрольной, что не является статистически достоверными отличиями.

При изучении уровня зараженности семян фитопатогенами учитывалось наличие на поверхности семян признаков альтернариоза, гельминтоспориоза, плесени и фузариоза. Результаты представлены в таблице 4.

Таблица 2 - Общая зараженность фитопатогенами семян до и после облучения лазером

Культура	Вариант опыта	Общая зараженность, %	
		опыт	контроль
<i>T. aestivum</i>	Кр 0,5 мин+ ИК 2 мин	0,29*	0,50
	УФ 5 сек + Кр 5 сек	0,24*	0,50
<i>H. vulgare</i>	УФ 1 мин+ Кр 0,5 мин	0,24*	0,37
	УФ 1 мин+ ИК 2 мин	0,30*	0,37
<i>A. sativa</i>	ИК 0,5 мин + Кр 0,5 мин	0,25*	0,35

Примечание: *- достоверные отличия по критерию Манна-Уитни при $p < 0,05$

Во всех вариантах опыта разница между облученной группой и необлученной оказалась достоверной. Максимальное снижение зараженности наблюдалось у семян *T. aestivum* – с 0,5% до 0,24%, у семян *H. vulgare* – с 0,37% до 0,24% и *A. sativa* – с 0,35% до 0,25%. Для более четкого представления был проведен корреляционный анализ Спирмена между наличием облучения и всхожестью семян трех зерновых культур. Результаты представлены в таблице 3.

Так, корреляция между облучением и всхожестью семян находится в области отрицательной высокой и положительной средней силы. Наиболее эффективным методом обработки оказалось использование лазера с ИК областью спектра (коэф. корреляции 0,535), которая дала увеличение всхожести в большинстве случаев его использования на семена трех зерновых культур. Также, была замечена сильная обратная связь (коэф. корреляции 0,801) при воздействии лазерных лучей синей области спектра на семена *T. aestivum*, *H. vulgare*, *A. sativa*.

Таблица 3 - Корреляционный анализ между наличием разных вариантов лазерной обработки семян и их всхожестью

Область спектра	УФ	Синий	Красный	ИК
Коэффициент корреляции Спирмена	0,280	-0,801	0,399	0,535
Теснота взаимосвязи [11]	слабая	обратная высокая	средняя	средняя

После проведения всех исследований мы пришли к выводу, что посевные качества семян *T. aestivum*, *H. vulgare*, *A. sativa* можно оптимизировать при применении лазерной

предпосевной обработки семян, но каждая методика будет отличаться видоспецифичностью и требовать более углубленное изучение.

Облучение ультрафиолетовыми, красными, инфракрасными лучами лазера (вне зависимости от длины волны и времени использования) и энергия прорастания со всхожестью семян положительно коррелируют в средней степени ($p = 0,39-0,53$).

Работа поддержана грантом от Фонда содействия инновациям за победу в конкурсе «Участник молодежного научно-инновационного конкурса» («У.М.Н.И.К.») по соглашению 18174ГУ/2022 (рук-ль Щербинина К.Э., 2022-2023 гг)

Библиографический список

1. Стратегия развития агропромышленного и рыбохозяйственного комплексов Российской Федерации на период до 2030 года от 8 сент. 2022 г. № 2567-р // Официальный интернет-портал правовой информации – Правительство России. 2022 г. С изм. и допол. в ред. от 23.11.2023.
2. Об итогах фитоэксперизы зерновых и зернобобовых культур [электронный ресурс] / Министерство сельского хозяйства Российской Федерации. №23. URL: <https://rosselhoccenter.ru/ob-uchrezhdenii/filialy/uralskiy/tyumenskaya-oblast/itogi-fiktoekspertizy-semyan-zernovykh-i-zernobobovykh-kultur/> (дата обращения 24.04.2024).
3. Иванов В. М., Чернуха С. А. Качество зерна и семян яровой пшеницы в зависимости от агротехнических приемов на каштановых почвах Волгоградского Заволжья // Известия НВ АУК, 2011. №2 (22).
4. Бурдышева О.В., Шолгин Е.С., Илюшин С.А., Ременникова М.В., Лисина Т.Н., Щербинина К.Э. Разработка макета оптической установки комплексного действия обработки семян сельскохозяйственных культур // Фотон-экспресс, 2023. № 6 (190). С. 31-32
5. ГОСТ №12038-84 Семена сельскохозяйственных культур. Методы определения всхожести: дата введения 1986-06-30. М., 2011. С. 64.
6. ГОСТ №12044-93 Семена сельскохозяйственных культур. Методы определения зараженности болезнями: дата введения 1995-01-01. М.: Стандартинформ, 2011. С. 55.
7. Klimek-Kopyra A. et al. Pre-Sowing Laser Light Stimulation Increases Yield and Protein and Crude Fat Contents in Soybean. Agriculture, 2022. №12 (10).
8. Гланц С. Медико-биологическая статистика. М.: Практика. 1998. С.460;
9. Гржибовский А. М. Анализ трех и более независимых групп количественных данных // Экология человека, 2008. № 3. С. 50-58.
10. Елисеева И.И., Юзбашев М.М. Общая теория статистики: Учебник / Под ред. И. И. Елисеевой. 4-е издание. М.: Финансы и Статистика, 2002. С.480.
11. Гмурман В.Е. Теория вероятностей и математическая статистика: Учебное пособие для вузов. 10-е издание, стереотипное. М.: Высшая школа, 2004. С. 479.

ВВЕДЕНИЕ В КУЛЬТУРУ *IN VITRO* НЕКОТОРЫХ СОРТОВ СЕНПОЛИИ

Белоногова А. Г., Шибанова Н. Л.

Пермский государственный национальный исследовательский университет, Пермь, Россия

Аннотация. Представлены результаты исследований по микроклональному размножению трех сортов сенполии: "Полина Виардо", "Blue dragon" и "Гранатовое вино". Установлено, что при использовании в качестве основных стерилизующих агентов 7% раствора гипохлорита натрия ("Белизна") в течение 15 мин и 96% этанол в течение 30 сек или 1 мин вся культура оказалась стерильной. Выход жизнеспособной культуры у всех изученных сортов низкий и не превысил 36%.

Ключевые слова: культура *in vitro*, *Saintpaulia* Wendland

INTRODUCTION TO *IN VITRO* CULTURE OF SOME *SAINTPAULIA* VARIETIES

Belonogova A. G., Shibanova N. L.

Perm State National Research University, Perm, Russia

Abstract. The results of research on micropropagation of three saintpaulia varieties: "Pauline Viardot", "Blue dragon" and "Pomegranate wine" are presented. It has been established that when using 7% sodium hypochlorite solution ("White") for 15 min and 96% ethanol for 30 sec or 1 min as the main sterilizing agents, the entire culture turned out to be sterile. The yield of viable culture for all studied varieties was low and did not exceed 36%.

Key words: *in vitro* culture, *Saintpaulia* Wendland

Сенполия пользуется большой популярностью у цветоводов за счет своей исключительной привлекательности в период цветения и сравнительной неприхотливости. Существует большое количество сортов с высокими декоративными качествами [1]. В практике цветоводства часто возникает необходимость быстрого размножения единичных ценных сортов сенполии [2].

Достижения в области культуры клеток и тканей привели к созданию метода микроклонального размножения растений. С его помощью можно получить безвирусный посадочный материал за небольшой период времени и в достаточном количестве [3].

Цель данной работы — оптимизировать введение в культуру *in vitro* трех сортов сенполии: "Полина Виардо", "Blue dragon" и "Гранатовое вино".

Исследования проводились в 2023 г. в лаборатории микроклонального размножения кафедры ботаники и генетики растений Пермского государственного национального исследовательского университета. В качестве первичного экспланта были использованы фрагменты листа размером 1 см × 1 см. Всего было высажено 12 эксплантов сорта "Полина Виардо", 40 — сорта "Blue dragon" и 29 — сорта "Гранатовое вино".

Стерилизацию проводили в три общепринятых этапа: престерилизация — раствор нейтрального детергента (стиральный порошок "Миф") 60 мин, промывка проточной водой 10

мин; стерилизация — 7% раствор гипохлорита натрия ("Белизна") 15 или 25 мин, 96% этанол 30 сек или 1 мин; постстерилизация — промывка стерилизованной дистиллированной водой в три смены по 5 мин в каждой. Всего было использовано 3 режима стерилизации.

На этапе введения в культуру *in vitro* экспланты высаживались на питательную среду, имеющую минеральную основу по Т. Murashige и F. Skoog [4] с добавлением сахарозы 20 г/л и агара 8 г/л. В среду также вносились витамины: тиамин в концентрации 1 мг/л, пиридоксин и никотиновая кислота — по 0,5 мг/л и фитогормоны: нафтилуксусная кислота (НУК) — 0,5 мг/л и бензиламинопурин (БАП) — 1 мг/л.

Стерилизация питательной среды в пробирках проводилась в автоклаве при температуре 120 °С, при давлении 1 атм. в течение 15 мин. Все этапы микроразмножения проводились в стерильных условиях в ламинар-боксе. Экспланты выращивались в климатической камере с периодом освещения 14/10, при температуре 20±2 °С.

Выход стерильной культуры определяли как количество стерильных эксплантов к их общему числу. Жизнеспособность рассчитывалась как число эксплантов с признаками регенерации от общего числа стерильного материала. Статистическая обработка данных проводилась с использованием стандартного пакета анализа Microsoft Office Excel. Различия по критерию Фишера считали статистически значимыми при $p < 0,05$.

Определяющую роль на первом этапе микрклонального размножения играет выход стерильной культуры. Он представлен на рисунке 1.

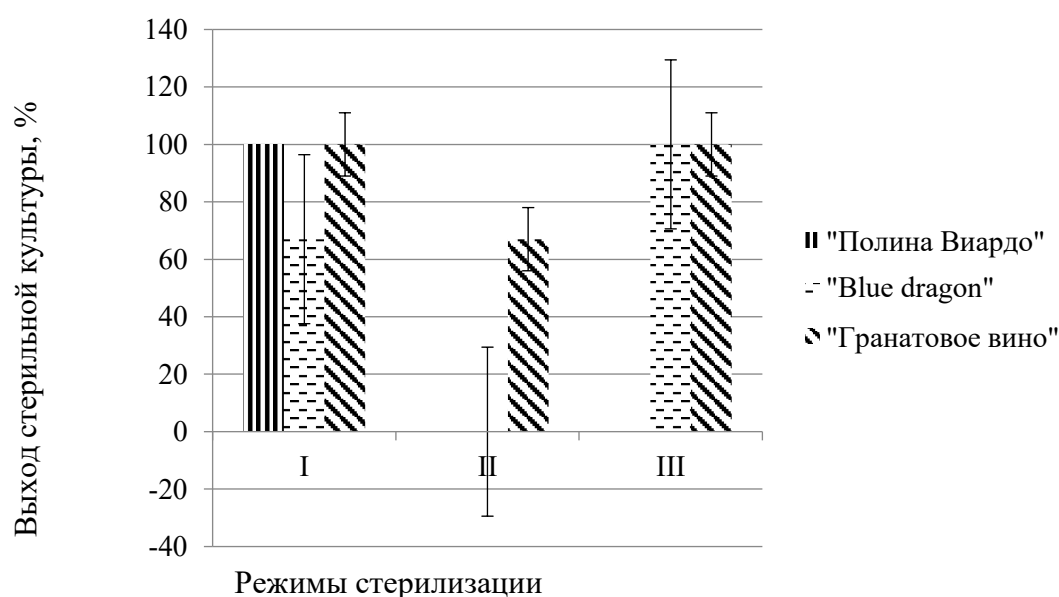


Рисунок 1 — Процент выхода стерильной культуры сортов сенполии: I режим — 7% раствор гипохлорита натрия ("Белизна") 15 мин, 96% этанол 30 сек; II режим — 7% раствор гипохлорита натрия ("Белизна") 25 мин, 96% этанол 30 сек; III режим — 7% раствор гипохлорита натрия ("Белизна") 15 мин, 96% этанол 1 мин

Наиболее высокий процент выхода стерильной культуры получен при использовании в качестве основных стерилизующих агентов 7% раствора гипохлорита натрия ("Белизна") в течение 15 мин и 96% этанола в течение 30 сек для сортов "Полина Виардо" и "Гранатовое вино", а также 7% раствора гипохлорита натрия ("Белизна") в течение 15 мин и 96% этанола в

течение 1 мин для сортов "Blue dragon" и "Гранатовое вино". Вся культура оказалась стерильной. Наименее эффективным является вариант с использованием 7% раствора гипохлорита натрия ("Белизна") в течение 15 мин и 96% этанола в течение 30 сек для сорта "Blue dragon", а также 7% раствора гипохлорита натрия ("Белизна") в течение 25 мин и 96% этанола в течение 30 сек для сорта "Гранатовое вино". Этот показатель составил 67%. Статистически значимых отличий между режимами не обнаружено.

В работе Н. Н. Ивановой [5] по микроклональному размножению сортов сенполии "Alocha Orchid" и "Margery's Melody" в качестве стерилизующих агентов использовали 70% раствор этилового спирта в течение 1 мин и раствор гипохлорита натрия в течение 5 и 10 мин. Выход стерильной культуры составил 35,2%. Согласно нашим результатам процент выхода стерильной культуры составил 67-100%.

У сорта "Полина Виардо" через 4 недели после посадки на питательной среде Мурасиге и Скуга наблюдается дифференциация меристематических очагов, через 5 недель культивирования на эксплантах образуются микророзетки (рисунок 2).

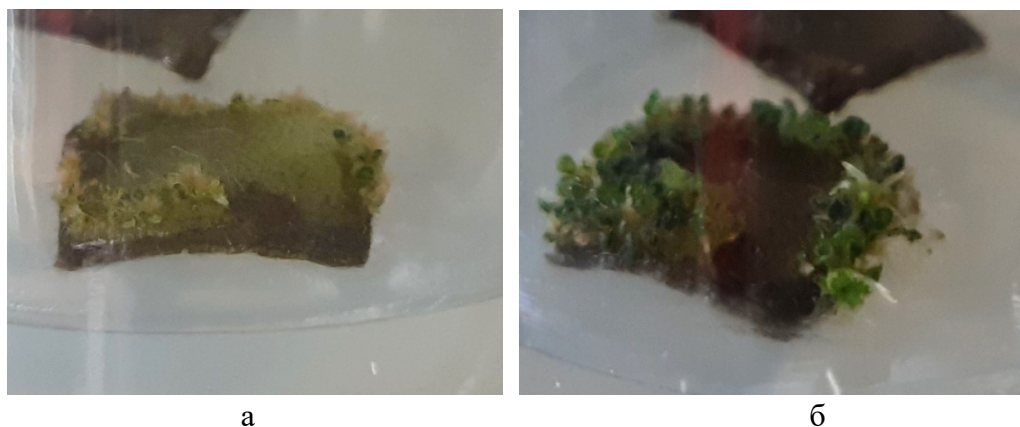


Рисунок 2 — Развитие эксплантов сорта "Полина Виардо" на питательной среде Мурасиге и Скуга: а — через 1 месяц после посадки; б — через 2 месяца после посадки

У сортов "Blue dragon" и "Гранатовое вино" образование микророзеток на питательной среде Мурасиге и Скуга наблюдается через 2 месяца после посадки (рисунок 3).

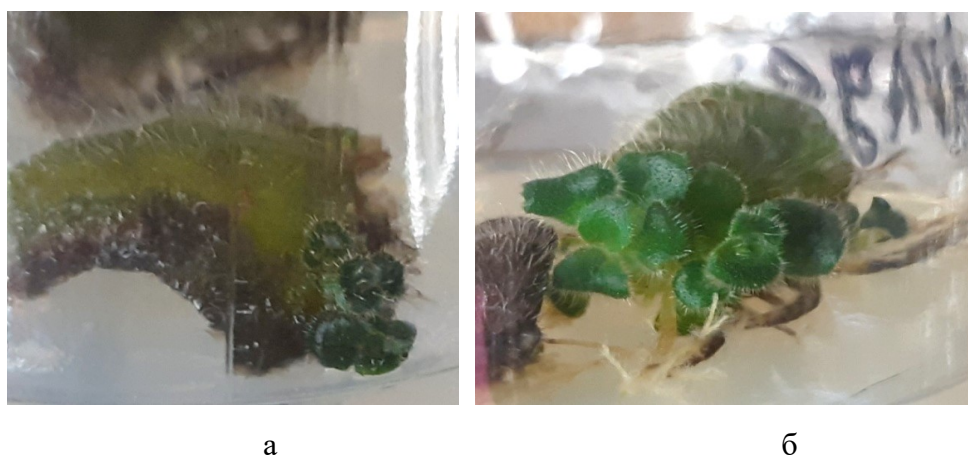


Рисунок 3 — Развитие эксплантов сорта "Blue dragon" на питательной среде Мурасиге и Скуга: а — через 3 месяца после посадки; б — через 4 месяца после посадки

Выход жизнеспособных эксплантов представлен на рисунке 4. Наиболее высокая жизнеспособность отмечается у сорта "Гранатовое вино" — 36%. Наиболее низкая жизнеспособность отмечается для сорта "Полина Виардо" — 8%.

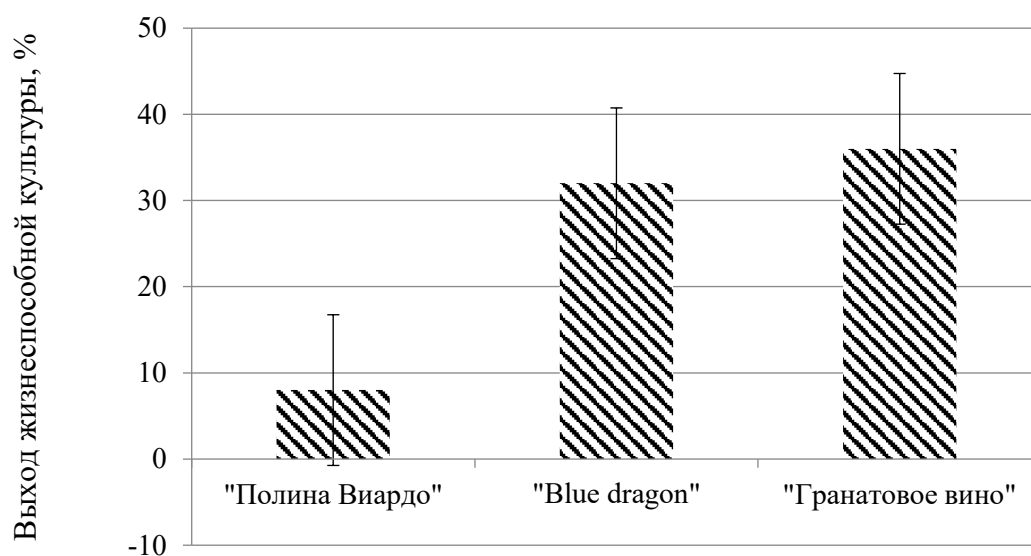


Рисунок 4 — Выход жизнеспособных эксплантов сортов сенполии

В работе Н.Н. Ивановой [5] по микроклональному размножению некоторых сортов сенполии высокая степень регенерации была достигнута при добавлении в среду НУК и БАП. Показатель жизнеспособности варьирует от 86 до 89%. Согласно нашим результатам на варианте среды Мурасиге и Скуга с добавлением 0,5 мг/л НУК и 1 мг/л БАП процент выхода жизнеспособной культуры составил 8-36% для исследованных сортов сенполии.

Таким образом, для получения хорошо растущей стерильной культуры сортов сенполии рекомендуется использовать раствор нейтрального детергента в течение 60 мин, промывку проточной водой в течение 10 мин, 7% раствор гипохлорита натрия ("Белизна") в течение 15 мин и 96% этанол в течение 30 сек или 1 мин. На этапе микроразмножения на варианте твердой питательной среды Мурасиге и Скуга с добавлением 0,5 мг/л НУК и 1 мг/л БАП наиболее высокая жизнеспособность эксплантов отмечается у сорта "Гранатовое вино" — 36%.

Библиографический список

1. Мальцева Е, И., Соромотина Т. В. Коэффициент размножения фиалки узамбарской в зависимости от вида посадочного материала и срока укоренения // Иновационное развитие современной науки: проблемы, закономерности, перспективы: сборник статей VII Международной научно-практической конференции. В 2 ч. Ч. 1. — Пенза: МЦНС "Наука и просвещение". — 2018. — С. 133-137.
2. Майджи О. В., Кобзаренко Е. Б. Микроклональное размножение мирта и сенполии // Вестник Российского государственного аграрного заочного университета. — 2023. — №44 (49). — С. 35-39.
3. Самарская В. О., Малаева Е. В., Постнова М. В. Аспекты клонального микроразмножения и сохранения растений *in vitro* // Природные системы и ресурсы. — 2019. — Т. 9. — №3. — С. 13-22.

4. Murashige T., Skoog F. A revised medium for rapid growth and bio-assays with tobacco tissue cultures // *Physiol. Plant.* — 1962. — 15(3). — P. 490.
5. Иванова Н. Н. Особенности регенерации растений интродуцированных сортов фиалки узамбарской (*Saintpaulia ionantha* Wendl.) в условиях *in vitro* // Труды Никитского ботанического сада. — 2007. — Т. 128. — С. 60-64.

ФИТОИНВАЗИИ: ОПАСНОСТЬ И ВРЕД

Кадыко В.В., Овеснов С.А.

Пермский государственный национальный исследовательский университет, Пермь, Россия

Аннотация. Рассмотрено понятие биологическая инвазия, фитоинвазия, инвазибильность. Приведены исследования, проведенные на территориях ООПТ Пермского края. Описаны гипотезы успешности наиболее опасного инвазионного вида *Acer negundo* L, предложены меры борьбы.

Ключевые слова: инвазия, фитоинвазия, *Acer negundo*, ООПТ, Пермский край

INVASIVE PLANT SPECIES: DANGER AND HARM

Kadyko V.V., Ovesnov S.A.

Perm State National Research University, Perm, Russia

Abstract. The concept of biological invasion, phytoinvasion, and invasiveness is considered. The research conducted in the territories of protected areas of the Perm region is presented. Hypotheses of the success of the most dangerous invasive species *Acer negundo* L are described, and control measures are proposed.

Key words: invasion, phytoinvasion, *Acer negundo*, specially protected natural area, Perm

Современное общество обеспокоено глобальными экологическими проблемами: потепление климата, загрязнение Мирового океана, опустынивание, разрушение озонового слоя и др. К числу таких проблем относят и биологические инвазии.

Биологическая инвазия – процесс проникновения (вторжения) живых организмов за пределы естественно исторически сложившихся ареалов [1]. Внедрение чужеродных видов ведет к сокращению естественного биоразнообразия, так как новые организмы способны создавать жесткую конкуренцию для аборигенных видов, что вызывает угрозу их исчезновения.

В настоящее время практически все страны мира столкнулись с биологическими инвазиями адвентивных видов. Государственные границы не являются препятствием для проникновения чужеродных видов [2].

Проблема проникновения видов живых организмов за пределы их исторических ареалов имеет исключительно важное социально-экономическое и природоохранное значение и для Российской Федерации. Для нашей страны, принимая во внимание ее обширную территорию, охватывающую несколько природных зон, наличие выхода к морям трех океанов, инвазии многих групп организмов достигают больших масштабов [3]. Н.И. Кириченко с соавторами в 2021 г. проанализировала убытки от биологических инвазий в РФ. Минимальная величина потерь составила 51,52 млрд долларов США (1.38 трлн руб.) [4].

Выделяют интродукцию – целенаправленное привнесение вида за пределы исторически сложившегося ареала и реинтродукцию – привнесения видов, ранее истребленных или вымерших вследствие деятельности человека.

За интродукцией (или заносом) нередко следует акклиматизация новых видов, а затем натурализация. Акклиматизация предполагает адаптацию к местным, прежде всего, климатическим условиям, натурализация – формирование самоподдерживающихся природных популяций [1]. Натурализовавшиеся виды способны вторгаться в природные сообщества и становиться инвазионными.

Биологическое внедрение чужеродных видов можно обнаружить среди сосудистых растений, хордовых и беспозвоночных животных, бактерий, хромистов, грибов, альвеолят. По данным ИПЭЭ РАН, к концу 1990-х гг. на территории РФ было обнаружено более 500 видов чужеродных животных, а в целом только в европейской части России встречались вселенцы 1150 видов растений, 192 видов растительных насекомых, 59 видов рыб, 62 видов млекопитающих [5].

Фитоинвазии или растительные инвазии влияют на биоразнообразие природных сообществ, приводят к изменению функционирования естественных экосистем, меняют состав местной флоры и растительности, преобразуют ландшафты целых регионов. Растительная инвазия, согласно терминологии, принятой на конференции в г. Ижевске в 2012 г. – вторжение на какую-либо территорию чужеродного для неё растения и его натурализация.

Инвазионный статус оценивается в зависимости от поведения (активности) чужеродного вида и типа его местообитаний. В «Черной книге Средней России» определены основные критерии, которые позволяют относить конкретные чужеродные виды к четырем категориям инвазионного статуса. К критериям относятся характер распространения в регионе, степень натурализации и тенденция к активному расселению [6].

Немаловажным является выявление характеристик, которые можно было бы использовать в качестве индикаторов инвазibility. Инвазibility – определенная способность в силу различных причин принимать в состав чужеродные виды [7]. Согласно гипотезе видовой разнообразия Элтона: чем выше видовое богатство ценозов, тем выше степень использования ресурсов и уровень межвидовой конкуренции, тем ниже вероятность внедрения в них адвентивных видов [8]. Предполагается, что знание особенностей структуры сообществ, определяющих их инвазibility, позволит прогнозировать ожидаемый масштаб и степень опасности процесса распространения адвентивных видов в регионах [9].

В 2022 г. Н.А. Молгановой и С.А. Овесновым было изучено ценотическое видовое разнообразие инвазibility сосновых лесных экосистем ООПТ Закамский бор. В результате ученые выявили, что в лесные сообщества Закамского бора проникали только 7 чужеродных видов; из них только два (*Acer negundo* L. и *Amelanchier spicata* (Lam.) C. Koch.) имели высокую встречаемость [7]. Это связано с бедными песчаными и супесчаными почвами ООПТ, заболоченными условиями, высокой густотой подроста и подлеска.

Для информации об угрозе биологических инвазий издаются Черные книги и черные списки. Они составляются с учетом уровня агрессивности, проявляемой инвазивными видами, и особенностей их распространения в соответствии с четырьмя статусами инвазивности. По единой методике написаны Черные книги флоры: Средней России, Тверской области, Удмуртской Республики, Сибири, Нижегородской области, Калужской области, Кабардино-Балкарской Республики, Дальневосточного федерального округа. Составлены «черные списки» территории Верхней Волги, бассейна реки Суры, Среднего Урала и т.д. [6]. Издана коллективная монография «Самые опасные инвазионные виды России (ТОП-100)», в которой содержится информация о 100 наиболее опасных для экосистем растениях и животных [3].

Важно отметить, что работа по инвентаризации инвазионных видов растений на территории Пермского края начата, но ведется неинтенсивно. По результатам маршрутных обследований лесонасаждений четырех ООПТ, проведенных в 2018, 2019, 2022 гг., был составлен конспект чужеродных видов, более или менее способных проникать в экосистемы и склонных образовывать биологические инвазии, изучению которых уделяется большое внимание. Исследованы ООПТ «Андроновский лес», «Черняевский лес», «Закамский бор» и «Сосновый бор» [10]. В конспекте внесен 21 инвазионный вид. Наиболее опасным инвазионным видом для лесных ООПТ в условиях г. Перми является *Acer negundo*, так как способен формировать монодоминантные сообщества, конкурировать с подростом и подлеском, приводя к их угнетению [10].

Появление *A. negundo* на городских территориях связано с использованием этого вида в садоводстве и озеленении. Это растение было завезено с территорий Северной Америки в прошлом столетии. Успешность его распространения связана с анемохорией крылаток (способны распространяться на 50 м от родительского дерева), аллелопатическими свойствами, которые угнетают рост конкурирующих растений. Стоит отметить, что его пыльца является сильным аллергеном, способна вызывать поллинозы.

Немалая опасность зарослей *A. negundo* заключается также в том, что они служат источником распространения белой американской бабочки (*Hyphantria cunea Drury*), вредителя древесных растений. Американская белая бабочка является карантинным вредителем плодовых культур, и своим появлением на территории Российской Федерации она обязана *A. negundo* [11].

Универсальных способов борьбы с фитоинвазиями не существует. Однако для борьбы с этим видом применяются следующие методы: плановые уходы по интенсивной обрезке крон деревьев в имеющихся посадках, разрубание или дробление корней и максимальное вычесывание полученных частей, применение арборицидов [11].

Для дальнейших исследований нами был выбран природный ландшафт местного значения ООПТ «Черняевский лес». Эта территория представляет собой лесной массив, сохранившийся в большей своей части в состоянии близком к естественному, находящийся в Индустриальном и Дзержинском районах города [12]. В Черняевском лесу покрытые лесом площади занимают 592,5 га (76,32%). На ООПТ встречается 15 типов леса, из которых 6 сосновых, 6 еловых, 1 березовый и 2 ольховых [12]. Представлены 9 древесных пород, образующих насаждения со своим преобладанием в первом ярусе древостоя, всего выявлено 127 видов сосудистых растений [13]. Нарушения растительного покрова выражаются в синантропизации (проникновении в состав фитоценоза синантропных видов растений). Наиболее подвержен синантропизации травяно-кустарничковый ярус. Синантропы распространены на периферии ООПТ, в непосредственной близости к жилым зонам, по обочинам дорог и троп, вокруг парка развлечений [13]. Наш выбор связан с разнообразием природных биоценозов и внутригородским положением ООПТ, что значительно повышает на него антропогенную нагрузку, увеличивает количество векторов инвазий.

Таким образом, инвазионный вид (популяция) – это вид (популяция, группа популяций), успешно прошедший четыре стадии инвазионного процесса: дальний перенос, интродукция, натурализация, распространение, преодолев при этом последовательно шесть барьеров: географический, границы участков искусственного культивирования, выживание, размножение, распространение, сопротивление окружающей среды на вновь занимаемых территориях в течение достаточного длительного времени [14].

Внедрение чужеродных видов растений в аборигенные флоры – актуальная экологическая проблема. На территории России этому способствует протяженность страны, высокий уровень антропогенного влияния, большое разнообразие инвазивных коридоров, слабый контроль за перемещением видов, низкий уровень информированности населения.

Чтобы сократить ущерб, наносимый видами-вторженцами, следует отслеживать их появление на территориях региона, выявлять пути направления заноса, научиться прогнозировать и предотвращать массовые фитоинвазии, проводить инвентаризации инвазионных растений.

Библиографический список

1. Буга С.В., Сауткин Ф.В. Чужеродные виды животных в фауне Беларуси. Минск: БГУ, 2019. 29 с.
2. Неронов В.М., Луцкекина А.А. Чужеродные виды и сохранение биологического разнообразия // Успехи современной биологии. 2001. Т. 121, № 1. С. 121–128.
3. Дгебуадзе Ю.Ю., Петросян В.Г., Хляп Л.А. Самые опасные инвазионные виды России (ТОП-100). Москва: Товарищество научных изданий КМК, 2018. 688 с.
4. Селиховкин А.В., Нехаева М.Ю., Мельничук И.А. Экономические и социальные последствия инвазий вредителей и патогенов древесных растений в Санкт-Петербурге // Российский журнал биологических инвазий. 2023. Т. 16, № 2. С. 163–171.
5. Золотарева К.А., Волгина Д.Д., Яныгина Л.В. Некоторые пути инвазии чужеродных видов в экосистемы юга Западной Сибири и роль экологической грамотности в предотвращении их распространения // Краеведение и туризм: материалы международной научно-практической конференции. Барнаул: Алтайский гос. пед. ун-т, 2020. Т. 2. С. 193–198.
6. Виноградова Ю.К. Ключевые направления изучения фитоинвазий в России // Фитоинвазии: остановить нельзя сдаваться: материалы всероссийской научно-практической конференции с международным участием. М.: Изд-во МГУ, 2022. С. 29–39.
7. Молганова Н.А., Овеснов С.А. Инвазибельные сосновые насаждения ООПТ Закамский бор (г. Пермь) // Вестник Пермского университета. Серия: Биология. 2023. № 2. С. 121–132.
8. Elton C.S. The ecology of invasions by animals and plants. Methuen; London, 1958. 181 p.
9. Акатов В.В., Акатова Т.В., Загурная Ю.С., Шадже А.Е. Инвазибельность растительных сообществ: прогноз на основе анализа ценологических параметров // Новые технологии. 2009. № 3. С. 112–119.
10. Молганова Н.А., Овеснов С.А. Опыт изучения биологических инвазий в городских лесах г. Перми // Проблемы озеленения крупных городов: сборник статей XXII научно-практического форума, Москва, 29–30 августа 2023 г. М.: Мк-Интертрейд; Интек, 2023. С. 128–130.
11. Мариничева Т.В., Мариничев Е.А., Костромина Ж.С. Оценка распространения клена ясенелистного (*Acer negundo* L.) в зеленых насаждениях города Балахна // Лесное хозяйство: актуальные проблемы и пути их решения : Сборник научных статей по материалам Всероссийской (национальной) научно-практической конференции, посвященной 70-летию Владимира Петровича Бессчетнова, Нижний Новгород: Нижегородская государственная сельскохозяйственная академия, 2022. С. 270–274.

12. Особо охраняемые природные территории г. Перми / С.А. Бузмаков, Г.А. Воронов, С.А. Кулакова и др. Пермь: Перм. гос. ун-т, 2012. 204 с.
13. Бузмаков С.А., Кувшинская Л.В., Жекин А.В. Оценка современного состояния особо охраняемой природной территории «Черняевский лесопарк» г. Перми // Известия Самарского научного центра Российской академии наук. 2009. Т. 11, № 1–3. С. 408–413.
14. Далькэ И.В. Инвазии как фактор трансформации природных экосистем: механизмы самоподдержания и расселения чужеродных видов (на примере борщевика сосновского) // Вестник института биологии Коми научного центра Уральского отделения РАН. 2014. № 6 (188). С. 38–41.

БОТАНИЧЕСКИЕ СПЕКТРЫ МЕДОВ ЧАСТИНСКОГО РАЙОНА ПЕРМСКОГО КРАЯ

Лузина Н.А., Новоселова Л.В.

Пермский государственный национальный исследовательский университет, Пермь, Россия

Аннотация. Пыльцевой анализ проб меда с 15 пасек Частинского района Пермского края, выполненный 2022 и 2023 гг., выявил 42 типа пыльцевых зерен растений, относящихся к 21 семейству. В ботаническом спектре медов Частинского района преобладают пыльцевые зерна липы, таволги и клевера.

Ключевые слова: пыльцевой анализ, ботанический спектр меда, Частинский район, Пермский край, мед

BOTANICAL SPECTRA OF HONEY FROM THE CHASTINSKY DISTRICT OF THE PERM KRAI

Luzina. N.A., Novoselova L.V.

Perm State National Research University, Perm, Russia

Abstract. Pollen analysis of honey samples from 15 apiaries of the Chastinsky district of the Perm Territory, performed in 2022 and 2023 years, revealed 42 types of pollen grains of plants belonging to 21 families. Pollen grains of linden, meadowsweet and clover predominate in the botanical spectrum of the Chastinsky district honey.

Key words: pollen analysis, botanical spectrum of honey, Chastinsky district, Perm Krai, honey.

Мед является одним из самых фальсифицируемых продуктов. Наиболее распространённым видом фальсификации считается ассортиментный, например, называют липовый мед, а по составу пыльцевых зерен он является смешанным. Пыльцевой анализ позволяет узнать ботанический состав и натуральность меда благодаря пыльцевым зернам, важными характеристиками которых являются размеры и форма пыльцевых зерен. Для зрелых пыльцевых зерен покрытосеменных растений характерны сравнительно небольшой размер, разнообразная форма, многослойная оболочка, наличие различных по строению и форме апертур [1]. Именно поэтому качество меда, а также его состав очень важны для пчеловодов и покупателей.

Сбор 30 образцов меда проводился 2022 и 2023 гг.. на 15 пасеках в Частинском районе Пермского края, было взято 2 пробы с каждой пасеки из 15 населенных пунктов: №1 д. Песьянка, №2 с. Частые, №3 д. Мельничная, №4 д. Ерзовка, №5 д. Кленовая, №6 с. Бабка, №7 д. Змеевка, №8 д. Меркуши, №9 с. Ножовка, №10 д. Средняя Головниха, №11 д. Ватолы, №12 д. Шабурь, №13 д. Шлыки, №14 д. Западная, №15 с. Верх-Рождество.

Пыльцевой анализа меда проводился по ГОСТ 31769–2012 «Мёд. Метод определения частоты встречаемости пыльцевых зёрен» [2]. Брели навеску 10 г меда и растворяли в дистиллированной воде. Полученный раствор переливали в пробирку в количестве 20 мг и центрифугировали в течение 20 минут. После сливали надосадочную жидкость и снова

доводили до 20 мл дистиллированной водой. Второе центрифугирование проходило 15 минут. Центрифугирование проводится для осаждения твердых частиц в меде (пыльцевые зерна, падевые элементы, дрожжи, посторонние нерастворимые частицы) и их очистки. После повторного центрифугирования надосадочную жидкость полностью сливали, и на дне пробирки оставалось 2–3 капли осадка. Весь осадок, полученный в результате центрифугирования, наносили на предметное стекло, подсушивали, подкрашивали слабым спиртовым раствором фуксина, после чего заключали в глицерин-желатин.

Из 30 образцов меда были сделаны 30 препаратов для исследования пыльцевого анализа по методике ГОСТ 31769–2012 «Мёд. Метод определения частоты встречаемости пыльцевых зёрен» [3]. Данные по результатам частоты встречаемости пыльцевых зерен за 2023 г. представлены в таблице.

В России содержание пыльцевых зерен нормируется только для пяти сортов меда в ГОСТ 31766–2022 «Меды монофлерные. Технические условия»: для каштанового – 60% пыльцевых зерен соответствующего медоноса, для подсолнечникового – не менее 45%, для липового и гречишного – не менее 30 %, а для меда белой акации – более 7% пыльцевых зерен.

В результате проведенных исследований всего в пробах было найдено 42 вида пыльцевых зерен растений, относящиеся к 21 семейству. Пыльцевыми зернами-идентификаторами Чагинского меда стали липа, таволга и клевер. По ГОСТу монофлерным липовым (содержание пыльцевых зерен липы от 30% до 79%) являются пробы №1-22, №2-22, №3-22, №7-22, №8-22, №9-22, №15-22 и №1-23, №2-23, №3-23, №7-23, №8-23, №9-23, №15-23 2023 г. Проба меда №11-22 является липовой, а 2023 г. оказалась полифлерной. Пробы меда №4-23, №5-23, №10-23, №14-23 считается липовой в 2023 г. и только пробы меда №12-22, №13-22, №12-23, №13-23 полифлерные. Из редко встречаемых – марь белая, иван-чай, незабудка лесная, фацелия пижмолистная.

Таблица – Частота встречаемости пыльцевых зерен в меде с пасек Чагинского района за 2023 г.

№ Пыльцевые зерна растений	Пробы меда с пасек Чагинского района														
	1- 23	2- 23	3- 23	4- 23	5- 23	6- 23	7- 23	8- 23	9- 23	10- 23	11- 23	12- 23	13- 23	14- 23	15- 23
<i>Betula</i>	–	2	–	1	–	–	–	–	1	–	–	2	–	2	–
<i>Plantago</i>	–	–	–	10	9	–	–	6	–	–	–	–	–	5	–
<i>Filipendula</i>	14	4	34	9	36	29	23	30	27	41	113	117	143	47	11
<i>Astragalus melilotoides</i>	–	–	1	2	–	–	–	4	2	–	–	–	–	4	–
<i>Tilia cordata</i>	138	160	134	157	103	58	84	74	127	68	51	25	20	72	156
<i>Apiaceae</i>	1	–	1	–	2	2	1	5	–	2	–	9	–	10	13
<i>Liliaceae</i>	–	–	3	1	2	–	4	–	2	2	–	1	–	1	–
<i>Poaceae</i>	3	–	3	1	6	3	4	5	4	–	1	5	3	2	1
<i>Melilotus</i>	11	1	4	3	7	6	2	25	1	79	7	6	7	2	3
<i>Trifolium hybridum</i>	3	2	–	6	4	6	2	8	3	4	4	4	6	5	3
<i>Trifolium pratense</i>	16	6	4	10	16	12	16	1	7	2	4	–	1	2	16
<i>Brassicaceae</i>	3	–	–	–	3	75	45	6	18	–	6	8	1	15	3
<i>Asteraceae</i> <i>Пунавка-мун</i>	1	4	–	3	1	1	3	0	1	–	–	1	5	1	–

№ Пыльцевые зерна растений	Пробы меда с пасек Частинского района														
	1- 23	2- 23	3- 23	4- 23	5- 23	6- 23	7- 23	8- 23	9- 23	10- 23	11- 23	12- 23	13- 23	14- 23	15- 23
<i>Asteraceae</i> <i>Бодяк-тун</i>	–	–	1	–	–	–	2	2	–	–	1	4	–	3	–
<i>Mentha arvensis</i>	–	1	1	–	2	2	2	1	1	–	–	–	–	–	–
<i>Hypericum perforatum</i>	–	–	–	–	–	–	–	2	–	–	–	–	–	–	–
<i>Centaurea cyanus</i>	7	2	–	–	–	1	5	5	–	1	2	2	–	13	1
<i>Scrophulariaceae</i>	5	4	5	–	–	1	–	–	4	–	–	5	8	3	–
<i>Centaurea pseudophrygia</i>	–	–	–	–	–	–	–	1	1	–	–	–	–	–	1
<i>Salix caprea</i>	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	1	1	4	–
<i>Verbascum nigrum</i>	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	1
<i>Barbarea vulgaris</i>	–	–	–	–	–	–	–	8	–	–	–	–	–	–	–
<i>Myosotis sylvatica</i>	–	–	–	–	–	–	–	2	–	1	–	–	–	–	–
<i>Artemisia absinthium</i>	–	–	–	1	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
<i>Chamaenerion angustifolium</i>	1	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
<i>Phacelia tanacetifolia</i>	–	2	2	–	–	–	9	–	1	–	–	–	–	–	–
<i>Salix fragilis</i>	–	–	–	1	2	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
<i>Rosaceae</i>	3	10	9	–	–	13	20	16	9	–	10	36	1	18	–
<i>Dianthus</i>	–	–	–	–	–	–	1	–	–	–	–	–	–	–	–
<i>Chenopodium album</i>	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	1	–	–	–
<i>Pinus sylvestris</i>	–	–	–	–	–	1	–	–	–	–	–	–	–	–	–
<i>Echium vulgare</i>	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	1	–	–
<i>Silene flos-cuculi</i>	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	1
<i>Lotus corniculatus</i>	–	–	–	–	–	–	–	–	1	–	–	–	–	–	–

Для сбора пылевой обножки брали специальные приборы-пылеуловители (пылесборники). Сбор пылевой обножки проводился на пасеке в деревне Мельничная с 12 по 18 июня собиралась с 5 ульев каждый день и с 19 по 25 июня собирали с одного улья. В итоге было собрано 42 образца обножки.

После очищали обножку от примесей, сушили при комнатной температуре. Далее обножку помещали в чашку Петри, заливали дистиллированной водой и после полного размягчения (20–30 минут), жидкость сливали, из осадка делали мазок на чистом предметном стекле. После подсыхания пыльцу фиксировали каплей 76%-ого спирта, слабо окрашенного фуксином. Появившееся жирное кольцо снимали ватным тампоном, который предварительно был смочен в спирте. Затем препарат сразу же заливали каплей разогретого глицерин-желатина и накрывали покровным стеклом [4].

Было проведено разделение обножки по цвету для определения состава пылевых зерен. Каждой грануле определённого цвета характерен свой тип пылевых зерен [5].

Получилось коричнево-оранжевой – 12% (розоцветные, сложноцветные Бодяк-тип), светло-зеленой – 14% (зонтичные, подорожник), оранжевой – 25% (сложноцветные Пупавка-тип, злаки, виды клевера), темно-желтой – 9% (крестоцветные, розоцветные), светло-желтой – 40% (липа, таволга, донник).

По результатам пыльцевого анализа меда и пыльцевой обножки был установлен ботанический состав. Частинский район относится к району широколиственно-елово-пихтовых лесов. Главными медоносными растениями в пробах меда за 2022 и 2023 гг. стали липа – 2296 (38%) пыльцевых зерен из 6 000, в 2022 – 869 и 2023 – 1427. Таволга – 1255 (21%) пыльцевых зерен из 6000, в 2022 – 577 и 2023 – 678. Клевер – 608 (10%) пыльцевых зерен из 6000, в 2022 – 426 и 2023 – 179. Большинство встретившихся растений являются естественными, кроме фацелии пижмолистной, синяка обыкновенного и лядвенца рогатого, выращиваемые пчеловодами. В пробе №6-23 из села Бабка найдено много крестоцветных, это объясняется тем что там находятся поля с рапсом.

Библиографический список

1. Куприянова Л.А., Л. А. Алешина. Пыльца и споры растений флоры Европейской части СССР. Санкт- Петербург: Наука, 1972. 171 с.
2. ГОСТ 31769–2012 Мед. Метод определения частоты встречаемости пыльцевых зерен: Межгосударственный стандарт. Изд-во. Стандартиформ. М.: 2012. 15 с.
3. ГОСТ 31766–2022 Меды монофлорные. Технические условия: Межгосударственный стандарт. Изд-во. Стандартиформ. М.: 2022. 12 с.
4. Бурмистров А.Н., В.А. Никитина. Медоносные растения и их пыльцевые зерна. М.: Росагропромиздат, 1990. 189 с.
5. Иойриш Н.П. Пчёлы и медицина / Н.П. Йориш. – М.: Медицина, 1975. 280 с.

ВВЕДЕНИЕ В КУЛЬТУРУ *IN VITRO* НЕКОТОРЫХ ПРЕДСТАВИТЕЛЕЙ РОДА *RHODODENDRON* L.

Лунёва Н.А., Шибанова Н.Л.

Пермский государственный национальный исследовательский университет, Пермь, Россия

Аннотация. Представлены результаты по введению в культуру *in vitro* некоторых представителей рода *Rhododendron* L. Установлено, что для стерилизации эксплантов наиболее подходящим является следующий порядок использования стерилизующих агентов: 7% раствор гипохлорита натрия (20 мин.), 0,4% раствор цефотаксима (60 мин.) и 70% этанол (2 мин.). Наибольший выход стерильной культуры варьировал от 50% до 81% в зависимости от сорта. Для введения Рододендронов в культуру *in vitro* оптимальной оказалась твердая питательная среда Андерсона с добавлением фитогормона 6-бензиламинопурина в концентрации 2,5 мг/л., и витаминов: тиамина и никотиновой кислоты в концентрации 0,1 и 0,3 мг/л. соответственно. Выход жизнеспособных эксплантов варьировал от 75% до 100% в зависимости от сорта.

Ключевые слова: введение в культуру *in vitro*, *Rhododendron* L.

INTRODUCTION OF SOME REPRESENTATIVES OF THE GENUS *RHODODENDRON* L. INTO *IN VITRO* CULTURE

Lunyova N.A., Shibanova N.L.

Perm State National Research University, Perm, Russia

Annotation. The results of *in vitro* culture of some representatives of the genus *Rhododendron* L. are presented. It was found that for sterilization of explants the following order of sterilizing agents is the most suitable: 7% sodium hypochlorite solution (20 min.), 0.4% cefotaxime solution (60 min.) and 70% ethanol (2 min.). The highest yield of sterile culture ranged from 50% to 81% depending on the cultivar. For *in vitro* culture of *Rhododendrons*, Anderson's solid nutrient medium with addition of phytohormone 6-benzylaminopurine at a concentration of 2.5 mg/L., and vitamins: thiamine and nicotinic acid at concentrations of 0.1 and 0.3 mg/L., respectively, proved to be optimal. The yield of viable explants ranged from 75% to 100% depending on the cultivar.

Key words: introduction to *in vitro* culture, *Rhododendron* L.

Рододендроны являются популярными декоративными растениями, зимостойкими и неприхотливыми в уходе. Их преимущество перед другими декоративными кустарниками заключается в огромном разнообразии видов и сортов, в значительной долговечности посадок и в широком диапазоне применения в насаждениях различного типа и назначения [1].

В настоящее время увеличился спрос на высокодекоративные сорта рододендрона со стороны озеленительных организаций. Их широкое использование в озеленении ставит задачу обеспечения достаточно высокого темпа увеличения количества посадочного материала новых ценных сортов этой медленно растущей и плохо укореняющейся древесной культуры [2]. При необходимости получения большого количества посадочного материала есть некоторые трудности. Поэтому возникает необходимость разработки современных

эффективных технологий размножения. Эффективная технология микроклонального размножения рододендронов может обеспечить необходимое количество здорового, свободного от патогенов растительного материала [3].

Цель работы — введение в культуру *in vitro* некоторых сортов рододендронов.

Исследования проводились в 2023-2024 годах в лаборатории микроклонального размножения кафедры ботаники и генетики растений Пермского государственного национального исследовательского университета. В качестве объектов были выбраны пять вечнозелёных сортов *Rhododendron* L.: «Золушка», «Киевский вальс», «Petticoat», «Violacea Multiflora», «Юность».

Первичными эксплантами для микроклонального размножения рододендрона выбраны пазушные вегетативные почки с частью стебля длиной 1,5–2,2 см. Стерилизацию материала проводили в 3 общепринятых этапа [4]. Первый этап заключался в обработке материала нейтральным детергентом (стиральный порошок «Ariel») в течение 20 мин, с последующей промывкой проточной водой в течение 10 мин. В качестве стерилизующих агентов для второго этапа были использованы: 70% этанол, 7% раствор гипохлорита натрия («Белизна»), 0,4% раствор цефотаксима, 0,4% раствор фунгицида, 3% перекись водорода [5; 6]. Всего было использовано 4 режима стерилизации (таблица 1). Третий этап заключался в промывке в трех сменах стерилизованной дистиллированной воды по 5 мин в каждой.

Таблица 1 – Режимы стерилизации эксплантов рододендрона

Режим стерилизации	Стерилизующий агент
I	7% раствор гипохлорита натрия («Белизна») 20 мин; 0,4% раствор цефотаксима 60 мин
II	7% раствор гипохлорита натрия («Белизна») 20 мин; 0,4% раствор цефотаксима 60 мин; 70% этанол 2 мин
III	3% перекись водорода 15 мин; 0,4% раствор фунгицида 60 мин
IV	7% раствор гипохлорита натрия («Белизна») 20 мин; 70% этанол 2 мин

На этапе введения в культуру *in vitro* экспланты высаживались на питательную среду Андерсона [7]. Всего было использовано 4 варианта среды с добавлением 30 г/л сахарозы, 7 г/л агар-агара, фитогормонов: 6-БАП в концентрации 0,5 мг/л и 5 мг/л, кинетин в концентрации 1 мг/л и 2,5 мг/л и витаминов: тиамин в концентрации 0,1 и 0,3 мг/л, пиридоксин и никотиновая кислота в концентрациях по 0,3 мг/л [8; 9; 10]. Все варианты питательной среды представлены в таблице 2.

Стерилизация питательной среды проводилась в автоклаве Sanyo MLS-3780 при температуре 120°C, давлении 1 атм, в течение 15 мин. Все этапы микроразмножения проводились в стерильных условиях в ламинар-боксе. Образцы культивировали в климатической камере в условиях искусственного освещения (2000 люкс), период 14/10, при температуре + 20 ± 2°C. Всего было высажено 210 эксплантов.

Через 14 суток после посадки проводили определение выхода стерильной культуры путем подсчета количества стерильного материала к общему числу посаженных эксплантов.

Через 30 суток после посадки оценивали жизнеспособность культуры путем подсчета количества эксплантов с признаками регенерации к общему числу стерильного материала.

Таблица 2 – Варианты питательной среды Андерсона для введения рододендрона в культуру *in vitro*

Вариант питательной среды	Регуляторы роста	Витамины
1	6-БАП 2,5 мг/л	Тиамин 0,1 мг/л; никотиновая кислота 0,3 мг/л
2	6-БАП 0,5 мг/л	Тиамин 0,1 мг/л; пиридоксин 0,3 мг/л; никотиновая кислота 0,3 мг/л
3	6-БАП 2,5 мг/л; кинетин 1 мг/л	Тиамин 0,1 мг/ никотиновая кислота 0,3 мг/л
4	6-БАП 2,5 мг/л; кинетин 2,5 мг/л	Тиамин 0,1 мг/л; пиридоксин 0,3 мг/л; никотиновая кислота 0,3 мг/л

Для статистической обработки экспериментальных данных использовали программу Microsoft Office Excel. Различия по критерию Фишера считали статистически значимыми при $p < 0,05$.

Микрклональное размножение рододендронов проводилось в четыре общепринятых этапа [11]. Первый этап включает стерилизацию эксплантов и их посадку на твердую питательную среду Андерсона. Результаты по выходу стерильной культуры представлены на рисунке 1.

Наилучшие результаты по стерилизации для сортов «Золушка», «Киевский вальс» и «*Violacea Multiflora*» наблюдались при применении II режима стерилизации с использованием 7% раствора гипохлорита натрия («Белизна») течении 20 мин в сочетании с 70% этанолом с экспозицией 2 мин и с раствором антибиотика цефотаксима в концентрации 0,4% с экспозицией 60 мин. Процент выхода стерильной культуры варьировал от 44 до 81 в зависимости от сорта. Достоверность результатов для этих сортов подтверждается статистически ($p=0,02$, $p<0,05$). Поэтому, данный режим может быть рекомендован для стерилизации указанных сортов.

Для сорта «Юность» оказались эффективны два режима стерилизации: с использованием 7% раствора гипохлорита натрия («Белизна») и раствором антибиотика без добавления 70% этанола в первом случае и с добавлением 70% этанола во втором случае. Процент выхода стерильной культуры был невысоким и составил 20% для первого режима стерилизации и 15% – для второго. Для сорта «Petticoat» подходят три первых режима стерилизации. Процент выхода стерильной культуры для этого сорта составил 37,5.

У всех изученных сортов рододендрона первые признаки регенерации появляются на 21 день после посадки на питательную среду Андерсона (рисунок 2).

Данные о жизнеспособности эксплантов представлены на рисунке 3.

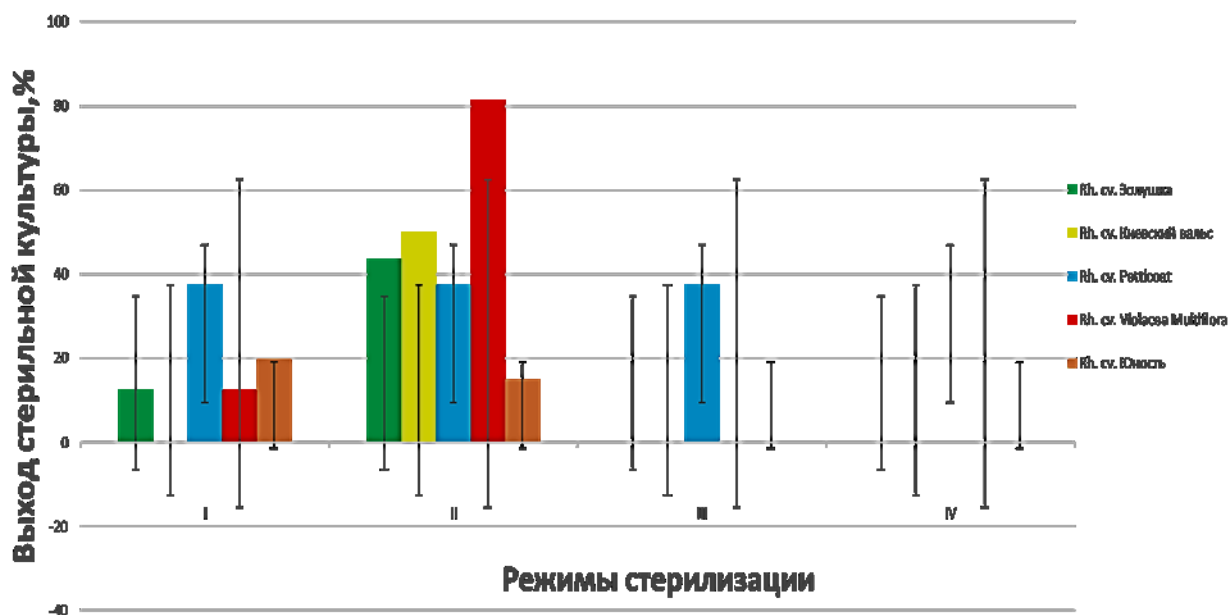


Рисунок 1 – Процент выхода стерильной культуры: I – 7% раствор гипохлорита натрия («Белизна») 20 мин; 0,4% раствор цефотаксима 60 мин; II – 7% раствор гипохлорита натрия («Белизна») 20 мин; 0,4% раствор цефотаксима 60 мин; 70% этанол 2 мин; III – 3% перекись водорода 15 мин; 0,4% раствор фунгицида 60 мин; IV – 7% раствор гипохлорита натрия («Белизна») 20 мин; 70% этанол 2 мин

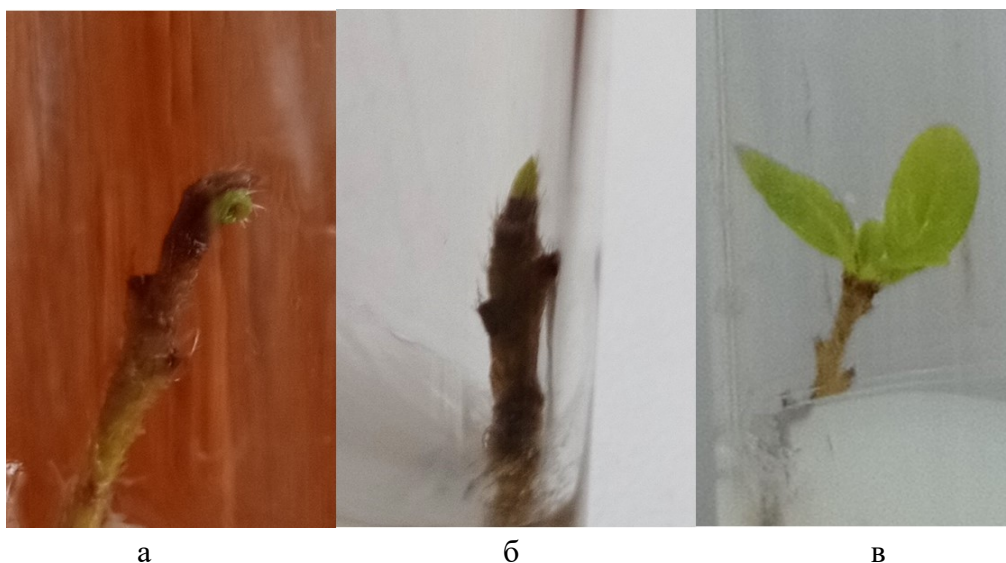


Рисунок 2 – Развитие эксплантов сорта «Киевский вальс»: а – через 3 недели после посадки; б – через 6 недель после посадки; в – через 5 месяцев после посадки

Наилучшие результаты по выходу жизнеспособной культуры всех изученных сортов рододендронов были получены при использовании первого варианта питательной среды Андерсона с добавлением фитогормона 6-БАП в концентрации 2,5 мг/л и витаминов: тиамина и никотиновой кислоты в концентрации 0,1 и 0,3 мг/л соответственно. Вся культура сортов «Золушка» и «*Violacea Multiflora*» оказалась жизнеспособной ($p=0,04$, $p<0,05$ и $p=0,00$, $p<0,05$ соответственно). Для сортов «Киевский вальс», «Petticoat» и «Юность» выход жизнеспособной культуры составил 75%.

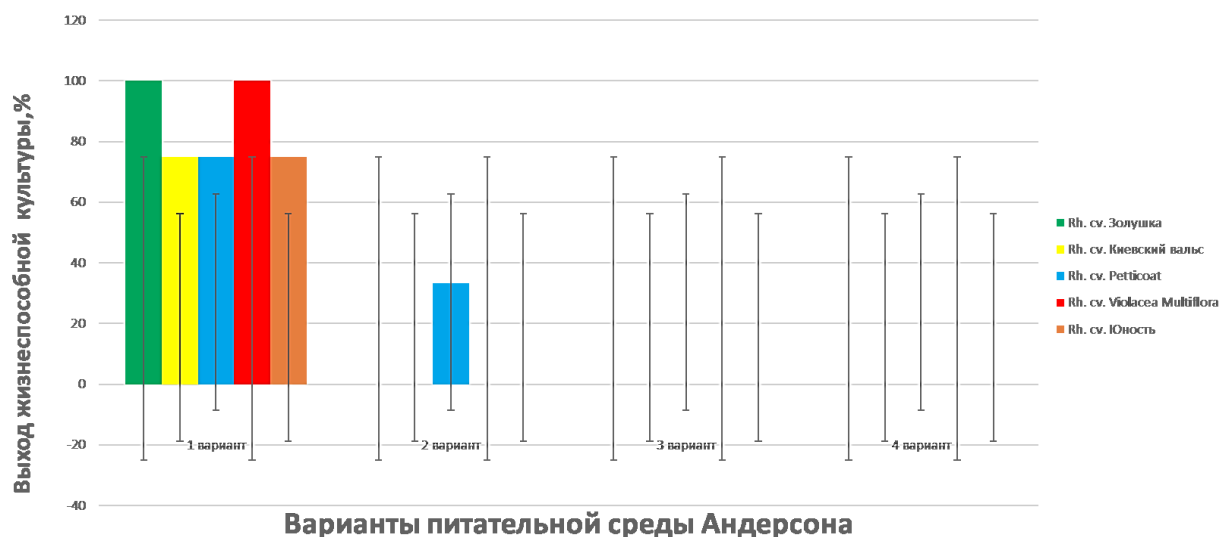


Рисунок 3 – Выход жизнеспособной культуры рододендрона: 1 – 6-БАП 2,5 мг/л, тиамин 0,1 мг/л, никотиновая кислота 0,3 мг/л; 2 – 6-БАП 0,5 мг/л, тиамин 0,1 мг/л, пиридоксин 0,3 мг/л; 3 – 6-БАП 2,5 мг/л, кинетин 1 мг/л, тиамин 0,1 мг/л, пиридоксин 0,3 мг/л, никотиновая кислота 0,3 мг/л; 4 – 6-БАП 2,5 мг/л, кинетин 2,5 мг/л, тиамин 0,1 мг/л, пиридоксин 0,3 мг/л, никотиновая кислота 0,3 мг/л

Заключение

Для получения стерильной культуры рододендронов сортов «Золушка», «Киевский вальс» и «Violacea Multiflora» рекомендуется использовать режим стерилизации, при котором основными стерилизующими агентами являются 7% раствора гипохлорита натрия («Белизна») с экспозицией 20 мин, 0,4% раствора цефотаксима с экспозицией 60 мин, 70% этанола с экспозицией 2 мин. Для сорта «Юность» оказались эффективны два режима стерилизации: с использованием 7% раствора гипохлорита натрия («Белизна») в течение 20 мин и 0,4% раствора цефотаксима в течение 60 мин и 70% этанола в течение 2 мин в одном из режимов. Для сорта «Petticoat» можно рекомендовать первые три режима стерилизации. Наибольший выход стерильной культуры варьировал от 50% до 81% в зависимости от сорта.

Для введения изученных сортов рододендронов в культуру *in vitro* можно использовать твердую питательную среду Андерсона с добавлением фитогормона 6-БАП в концентрации 2,5 мг/л и витаминов: тиамина в концентрации 0,1 мг/л, никотиновой кислоты в концентрации 0,3 мг/л. Выход жизнеспособной культуры варьировал от 75% до 100% в зависимости от сорта.

Библиографический список

1. Сидорович Е. А., Злотников А. К., Бурганская Т. М. Размножение декоративного кустарника рода *Rhododendron* L. для использования в зеленом строительстве Беларуси // Труды БГТУ. Серия 1: Лесное хозяйство, 2000. С. 130-134.
2. Филипеня В.Л., Горбачевич В.И., Антипова Т.В. Микрклональное размножение *Rhododendron* × *hybridum hort.* Физиология и биохимия культ. растений, 2009. Т. 41. № 6. С. 516 – 522.
3. Бутенко Р.Г. Биология клеток высших растений *in vitro* и биотехнологии на их основе. — М.: ФБК-Пресс, 1999. — 160 с.

4. Егорова Т.А. и др. Основы биотехнологии: Учеб. пособие для высш. пед. учеб. заведений. М.: Издательский центр «Академия», 2003. 208с.
5. Бабикова А. В. и др. Микроклонирование декоративных древесных растений // Проблемы озеленения населенных пунктов: материалы Городской научно-практической конференции, 2013. С. 10-14.
6. Каленчук Т. В. и др. Микроклональное размножение хозяйственно-ценных растений рода *Rhododendron* // The top actual research in modern science: proceedings of the International Scientific and Practical Conference, 2015 July 18–19, UAE. Ajman, 2015. Vol. 2. P. 54–60.
7. Anderson W.C. Rooting of tissue cultured rhododendrons. // Proc. Int. Plant Proc. Soc. 1978. Vol. 28. P. 135-139.
8. Зайцева Ю.Г. Особенности морфогенеза и размножения *in vitro* некоторых представителей рода *Rhododendron* L. Диссертация на соискание ученой степени кандидата биологических наук. Новосибирск, 2015. 128с.
9. Мухаметвафина А.А. Размножение *Rhododendron luteum* Sweet. в культуре *in vitro*. Экобиотех, 2019, Том 2, № 4, С. 451-455
10. Орловская И. Ю., Михеева А. В., Гафицкая И. В. Питательная среда для микроклонального размножения рододендрона и способ микроклонального размножения рододендрона. Патент RU 2679835, 2023. 8с.
11. Бутенко Р.Г., Шевелуха Е.А. Биология культивируемых клеток высших растений *in vitro* и биотехнологии на их основе. М.: ФБК-Пресс Москва, 1960. 152 с.

ГЛЯДЕНОВСКОЕ ГОРОДИЩЕ-КОСТИЩЕ В КОНТЕКСТЕ КАРПОЛОГИЧЕСКИХ ИССЛЕДОВАНИЙ

Орлова Е.М.¹, Шумиловских Л.С.², Новоселова Л.В.¹

¹ *Пермский государственный национальный исследовательский университет, Пермь, Россия*

² *Гёттингенский университет им. Георга Августа, Гёттинген, Германия и Томский государственный университет, Томск, Россия*

Аннотация. В статье представлены результаты карпологических исследований, проведённых на Гляденовском городище. Определено более 2000 экземпляров семян, часть которых относится к сорным видам и культурным злакам.

Ключевые слова: Приуралье, ранний железный век, Гляденовское городище, карпология, семена

GLYADENOVSKOYE FORTELOGY-KOSTISHCHE IN THE CONTEXT OF CARPOLOGICAL RESEARCH

Orlova E.M.¹, Shumilovskikh L.S.², Novoselova L.V.¹

¹ *Perm State National Research University, Perm, Russia*

² *University of Göttingen Georg August, Göttingen, Germany and Tomsk State University, Tomsk, Russia*

Annotation. The article presents the results of carpological studies conducted at the Glyadenovskoye hillfort. The authors identified more than 2000 specimens; some of which belong to weed species and cultivated cereals.

Key words: Cis-Urals, early Iron Age, Glyadenovskoye hillfort, carpology, seed

Изучение мест обитания древних людей происходит в комплексе естественнонаучных методов для воссоздания взаимоотношений прошлых народов с ландшафтами, которые они населяли. Карпологический анализ является одним из методов, в основе которого лежит изучение морфологии ископаемых растений [1]. С целью реконструкции растительности Гляденовского городища-костища был выполнен карпологический анализ.

Гляденовское городище расположено вблизи с. Большое Савино, на мысе коренного берега р. Нижняя Мулянка. Долина реки представлена древнеаллювиальным суглинистым, местами с торфяниками ландшафтом, где произрастают широколиственно-елово-пихтовые леса. Городище является главным поселением мулянской племенной территории, имеет сложную фортификационную систему для своего времени. Датируется VI-IV вв до н.э. На нижней площадке в V-IV вв до н.э. функционировал жилищно-хозяйственный комплекс, на средней площадке в III-II вв до н.э. появляется святилище [2].

В ходе карпологического исследования мы ставили задачами реконструкцию растительного покрова и восстановление экологической обстановки прошлого. Для этого были отобраны 44 пробы на макроостатки объёмом от 2 до 10 л из разных объектов нижней

площадки городища, а также с края площадки костыща. Все образцы обработаны методом флотации в полевых и лабораторных условиях [1]. Идентификацию и описательную морфологию проводили с помощью стереомикроскопа с использованием справочных коллекций и специализированных идентификационных атласов [3, 4]. Названия растений приведены по иллюстрированному определителю растений Пермского края [5]. Сохранность материала соответствует 2,5 по пятибалльной шкале. Фрагменты растений встречались в карбонизированном, минерализованном и не карбонизированном виде. При описании морфологии семян растений в содержательной части не учитывался эндосперм, т.к. в карбонизированном виде они не сохраняются. Размеры семян и плодов приведены в карбонизированном виде. Реконструкция окружающей среды на памятнике выполнена с помощью фитоиндикационной шкалы Элленберга, где учитывалось присутствие данного вида растения и его экологическая физиология. В общей сложности удалось определить 2090 растительных остатков. Описанные плоды и семена растений относятся к 17 семействам.

Бобовые (Fabaceae) – Астрagal солодколистный (*Astragalus glycyphyllos*): семена овально-изогнутой формы, с выступающим зародышем, семенной рубчик линейный, расположен в центре брюшной части, поверхностный слой гладкий, матовый, 2,3 мм длиной. Клевер мясокрасный (*Trifolium incarnatum*): семена эллипсоидной формы, зародыш развитый, яйцевидной формы, семенной рубчик эллипсоидальной формы, расположен в центре брюшной части, длина 2,2 мм. Горошек узколистный (*Vicia angustifolia*): семена округлые до эллиптических и продолговатых, гладкие, рубчик расположен в центре, составляет $\frac{1}{4}$ части от окружности, длина 1,3 мм. Найдено в количестве 3, 1 и 17 экземпляров соответственно, все в карбонизированном виде.

Гвоздичные (Caryophyllaceae) – Смолёвка двудомная (*Silene dioica*): семена почковидной формы, 1,5 мм длиной, поверхность бугорчатая, матовая. Зародыш изогнутый, занимающий периферическое положение в семени, семенной рубчик вдавленный. Звездчатка злаковая (*Stellaria graminea*): семена почковидные, поверхность морщинисто-бугорчатая, длиной 1 мм. Семенной рубчик вдавленный. Звездчатка жестколистная (*Stellaria holostea*): почковидная форма, поверхность бугорчатая, длина 1,6 мм. Семенной рубчик вдавленный. Звездчатка средняя (*Stellaria media*): округло-почковидные, сдавленные у семенного рубчика, бугорчатая. Семенной рубчик в углублении, едва заметный, поперечно-щелевидный. Выявлено по 1 экземпляру семян каждого вида, все карбонизированные.

Гречишные (Polygonaceae) – Горец вьюнковый (*Polygonum convolvulus*): плод сдавленно-трехгранный, длиной 2–3 мм, поверхность продольно-точечно-бороздчатая, матовая, зародыш латеральный, крючковидный, рубчик округлый, обычно закрыт остатками околоцветника. Горец почечуйный (*Polygonum persicaria*): форма сдавленно-трехгранная, гладкая, длиной 2 мм, околоцветник закрывает полностью рубчик. Горец птичий (*Polygonum aviculare*): трёхгранный матовый орешек, длиной 1,8 мм, рубчик скрыт околоцветником. Горец перечный (*Persicaria hydropiper*): плод плоско-выпуклый или почти трёхгранный с тусклой мелкозернистой поверхностью орешек, 2,2–3,5 мм длиной, рубчик закрыт околоцветником. Щавель малый (*Rumex acetosella*): орешки трёхгранные, грани равны между собой и слегка выпуклые. Плодовый рубчик слегка выступающий, едва заметный. Поверхность гладкая, блестящая, длина 1,3–1,5 мм. Обнаружено 9, 10, 5, 14 и 1 семян соответственно, в равном количестве карбонизированных и не карбонизированных.

Губоцветные (Lamiaceae) – Пахучка полевая (*Clinopodium acinos*): орешки трёхгранно-призматические, несколько сдавленные. К основанию орешки заканчиваются клиновидно-

сдавленным заострением. Поверхность матовая, длина 2 мм. Семенной рубчик косонаправленный, окружённый валиком. Будра плющевидная (*Glechoma hederacea*): трёхгранный яйцевидный орешек, с матовой поверхностью длиной 1,5 мм. Семенной рубчик на брюшной стороне у основания двух внутренних граней косоусеченный, несколько вдавленный. Мята водная (*Mentha aquatica*): яйцевидные орешки, гладкие или слегка шероховатые, длиной 2,2 мм. Семенной рубчик почти прямой, вдавленный, по краям окружен более или менее развитым ободком, в очертании трехгранный. Обнаружено 1, 1 и 13 экземпляров соответственно в минерализованном виде.

Жимолостные (Caprifoliaceae) – Бузина красная (*Sambucus racemosa*): костянки 2,5–3,2 мм длиной, форма от яйцевидной до узко-яйцевидной, с одной стороны выпуклая, с другой стороны четко двугранная. Рубчик у кончика двугранной стороны. Поверхность с поперечными морщинами, матовая. Найдено 96 костянок, большинство в минерализованном виде.

Злаковые (Poaceae), среди которых были культурные злаки, представленные 20 зерновками Ячмень обыкновенный (*Hordéum vulgäre*) и 101 Пшеница двузернянка (*Triticum dicoccum*). Кроме того, были найдены «колосовидные вилки» [6] пшеницы двузернянки (175). Ячмень – прямые рябые зерновки округлой формы, с круглым поперечным сечением, зародыш в полости, угол щитка более крутой. Пшеница – тонкие каплевидной формы зерновки, с дорсальной стороны присутствует горб, зародышевая полость часто перекрученная. Брюшная сторона большей частью слегка вогнуто-плоская. В поперечном сечении равномерно круглая, брюшная борозда узкая и глубокая, зародыш преимущественно косо-вертикальный. Колосовидные вилки в нижней части чешуи с узким междоузлем, довольно массивной прямоугольной формы в поперечном сечении, главный киль и основание чешуи менее развиты, угол раскрытия чешуи тупой. Костёр безостый (*Bromus inermis*): зерновка плюснутой, удлинённая длиной 1,2 мм, основание вытянутое, кососрезанное с внутренней стороны, зародыш сжатый, борозда узкая, неглубокая. Пырей ползучий (*Agropyron repens*): зерновка линейно-продолговатая, длина 4 мм, зародыш выдающийся. Диких злаков выявлено 7 и 3 штук соответственно.

Зонтичные (Apiaceae) – тмин обыкновенный (*Carum carvi*): продолговатый сплюснутый вислоплодник, около 3 мм длиной, семенной рубчик базальный. Был выявлен в 1 экземпляре в минерализованном виде.

Крапивные (Urticaceae) – крапива двудомная (*Urtica dioica*): орешки яйцевидно-овальные с заостренной вершиной, сильносдавленные, поверхность грубошероховатая, длина 1,2 мм. Семенной рубчик выступающий. Выявлено 2 экземпляра в карбонизированном виде.

Крестоцветные (Brassicaceae) – Капуста огородная (*Brassica oleracea*): семена шаровидные, гладкие, диаметром 2,5 мм. Семенной рубчик закрыт белой пленочкой, базальный. Горчица белая (*Sinapis alba*): семена шаровидные, сетчатые, диаметром 2 мм, семенной рубчик базальный и скрыт плёнкой. Горчица полевая (*Sinapis arvensis*) – семена шаровидные, поверхность – мелкая сетка, диаметром 1,5 мм. Семенной рубчик базальный. Выявлено 1, 5 и 3 семян соответственно, все карбонизированные.

Лютиковые (Ranunculaceae) – *Ranunculus aquatilis*: плодик, сжатый с булавообразным крючком, длина 1,5 мм, поверхность бугорчатая. Семенной рубчик выступающий, зародыш маленький. *Ranunculus repens*: плодик обратнояйцевидный, сильно сдавленный, на вершине с шиловидным, почти прямым остатком столбика, длина 1,3 мм. Семенной рубчик

тупоусеченный, сдавленный. Найдено 1 и 16 экземпляров соответственно в минерализованном виде.

Маковые (Papaveraceae) – Чистец большой (*Chelidonium majus*): семена небольшие, чёрные, блестящие с белым гребневидным придатком, похожи на элайосомы, сечато-бурчатая поверхность, длина 2 мм. Семенной рубчик, окруженный валиком. Дымянка лекарственная (*Fumaria officinalis*): орешки шаровидные, нераскрывающиеся, сверху сдавленные, односемянные, вершина, слегка вогнутая с небольшим выступом – остатком столбика. Поверхность бугорчато-морщинистая, длина 2 мм. Семенной рубчик окружен валиком. Найдено 43 и 1 экземпляр соответственно в карбонизированном виде.

Маревые (Chenopodioideae) – Марь белая (*Chenopodium album*): семена округло-сдавленные, выемка и окончание зародыша слабо выражены, 1,0-1,6 мм длиной. Семенной рубчик в основании бороздки. Поверхность микроскопически-точечная, окраска черная. Выявлено 256 семян, все в карбонизированном виде.

Мареновые (Rubiaceae) – Подмаренник цепкий (*Galium aparine*): орешки почковидные с боковой стороны, шаровидные со спинной, вогнутые с брюшной, с глубокой выемкой, длина 2,2 мм. Подмаренник бореальный (*Galium boreale*): почковидный, продолговатый с вогнутой брюшной выемкой орешек, поверхность точечно-бугорчатая, длина 1,2 мм. Подмаренник круглолистный (*Galium rotundifolium*): почковидный, округлённый со спины, с глубокой впадиной в брюшной части, длина 1,5 мм. Подмаренник ложный (*Galium spurium*): изогнутый, с глубокой брюшной выемкой, длина 1,8 мм. Подмаренник настоящий (*Galium verum*): почковидный, со спины шарообразный, с глубокой брюшной выемкой, длина 1 мм. У большинства видов семенной рубчик в брюшной выемке, овальный, по бокам окружен валиком. Поверхность точечно-бугорчатая. Обнаружено 3, 1, 2, 30 и 25 экземпляров соответственно в карбонизированном виде.

Молочайные (Euphorbiaceae) – Пролесник многолетний (*Mercurialis perennis*): двусемянка почкообразная, поверхность шероховатая, длина 1,9 мм. Семенной рубчик окружен валиком. Найдено 1 карбонизированный экземпляр.

Норичниковые (Scrophulariaceae) – Лянка обыкновенная (*Linaria vulgaris*): семена дисковидные, с широким перепончатым краем, поверхность радиальнобороздчатая, длина 1,2 мм. Зародыш слабоизогнутый, погруженный в роговидный эндосперм. Семенной рубчик округло-овальный, располагается на брюшной стороне. Выявлено 5 карбонизированных экземпляров.

Розоцветные (Rosaceae) – Манжетка (*Alchemilla*): семянки удлинённо-яйцевидные, спинная сторона обычно округлая, брюшная – прямая или слабовогнутая, поверхность морщинистая, длина 2 мм. Земляника лесная (*Fragaria vesca*): многокостянка яйцевидная, поверхность морщинистая, длина 1,5 мм. Тёрн (*Prunus spinosa*): однокостянка бугорчатая яйцевидная длиной 8 мм. Малина обыкновенная (*Rubus idaeus*): костянка вытянутая, запястовидной формы с продольно-борозчатой поверхностью, длиной 2,5 мм. Кровохлёбка лекарственная (*Sanguisorba officinalis*): четырёхгранные орешки с бугорчато-морщинистой поверхностью, длиной 3—3,5 мм. Семенной шов у большинства представителей семейства достигает половины или более длины семянки, в нижней части его располагается овальный или удлинённо-овальный рубчик. Выявлено 27, 7, 1, 133 и 2 экземпляра соответственно, большинство в минерализованном виде.

Сосновые (Pinaceae) – Ель (*Picea*): хвоя четырёхгранная призма, в сечение ее образуется почти правильный ромб [7]; Пихта (*Abies*): хвоя плоская, с выступом в сечении. Найдено 96 и 43 остатков хвои соответственно в карбонизированном виде.

Почти в каждой пробе были выявлены склеротии микоризообразующих грибов (*Senococcum geophilum*) (общее количество 813 штук).

Карпологические данные с Гляденовского городища дают общее представление о растительном покрове, который произрастал в округе поселения в период его функционирования, представленный деревьями и кустарниками, многолетними и однолетними травами, относящимися к светолюбивым мезофитам, произрастающим при средней температуре на щелочных незасолённых почвах или с нейтральным pH, со средним содержанием азота [8]. Найденные виды растений характерны для наличия антропогенной нагрузки на окружающую среду – все представители рудеральных растений произрастали непосредственно вблизи обитания людей. Колосовидные вилочки *Triticum dicocum* указывают на наличие земледелия. Выявленные культурные растения относятся к яровым, которые могут вызревать на бедных почвах и за короткое время. Целью выращивания культурных злаков было скорее всего употребление их в пищу [2].

Работа поддержана грантом РНФ проект № 19-78-10050 «Ранний железный век и эпоха Великого переселения народов в Приуралье: адаптация, миграция и культурная трансформация в изменяющейся природной среде», автор к.и.н. Перескоков М.Л.

Библиографический список

1. Междисциплинарная интеграция в археологии (по материалам лекций для аспирантов и молодых сотрудников) / отв. ред. Е.Н. Черных, Т.Н. Мишина. – М.: ИА РАН, 2016. – 384 с.
2. Орлова Е.М. Быт местного населения Гляденовского городища на позднеананьинском этапе раннего железного века // Апрельские тезисы. Социогуманитарные проблемы прошлого и настоящего: материалы Всероссийской научной конференции. Пермь, 08–09 апреля 2022 года. Пермь: ПГНИУ, 2022. С. 120–130.
3. Артюшенко З. Т., Федоров Ал. А. Атлас по описательной морфологии высших растений. Семя. - Л.: Наука, 1990. – 204 с.
4. Digitale Zadenatlas van Nederland: Digital Seed Atlas of the Netherlands: Cappers, R. T. J., Bekker, R.M., Jans, J.E.A. // Barkhuis Publishing. 2006. 528 p.
5. Иллюстрированный определитель растений Пермского края // под ред. С.А. Овеснова; Перм. гос. ун-т. Пермь: Кн. мир, 2007. – 743 с.
6. Jacomet, S. Identification of Cereal Remains from Archaeological Sites, 2nd ed. // IPAS: Basel, Switzerland, 2006. 61 p.
7. Попов, П. П. Морфологические признаки хвои ели сибирской на Урале / П. П. Попов, Л. Т. Жук, М. И. Жук // Леса Урала и хозяйство в них / Всесоюзный научно-исследовательский институт лесоводства и механизации лесного хозяйства, Уральская лесная опытная станция. - Свердловск, 1976. - Вып. 9. - С. 179-186.
8. Ellenberg H., Leuschner C. Vegetation Mitteleuropas mit den Alpen. Stuttgart: Ulmer, 2010. 1334 p.

ВЫХОД СТЕРИЛЬНОЙ КУЛЬТУРЫ НЕКОТОРЫХ ПРЕДСТАВИТЕЛЕЙ РОДА ГОРТЕНЗИЯ (*HYDRANGEA* L.)

Смирнова А.С., Шибанова Н.Л.

Пермский государственный национальный исследовательский университет, Пермь, Россия

Аннотация. Представлены результаты получения стерильной культуры для дальнейшего введения в культуру *in vitro* трех видов *Hydrangeae* L.: *H. bretschneideri* Dippel (Гортензия Бретшнейдера), *H. arborescens* L. (Гортензия древовидная) и *H. paniculata* Siebold (Гортензия метельчатая), который включает три сорта – «*Kyushu*», «*Grandiflora*», «*Tardiva*». Наибольший выход стерильной культуры *H. paniculata* сорта «*Tardiva*» (100%) получен при обработке эксплантов 3% перекисью водорода в течение 5 мин и 70% этанолом в течение 2 мин; для сортов «*Kyushu*» и «*Grandiflora*» (90%) – 3% перекисью водорода в течение 5 мин; для *H. bretschneideri* и *H. arborescens* (87% и 75% соответственно) – 7% раствором гипохлорита натрия («Белизна») в течение 7 мин и 70% этанолом в течение 2 мин.

Ключевые слова: выход стерильной культуры; *Hydrangea* L.

THE NUMBER OF A STERILE CULTURE OF SOME REPRESENTATIVES OF THE GENUS *HYDRANGEA* (*HYDRANGEA* L.)

Smirnova A.S. , Shibanova N.L.

Perm State National Research University, Perm, Russia

Abstract. The results of obtaining a sterile culture for further introduction into culture *in vitro* of three species of *Hydrangeae* L.: *H. bretschneideri* Dippel (*Bretschneider Hydrangea*), *H. arborescens* L. (*Tree Hydrangea*) and *H. paniculata* Siebold (*Paniculate Hydrangea*), which includes three varieties – "*Kyushu*", "*Grandiflora*", "*Tardiva*". The highest yield of sterile *H. paniculata* culture of the *Tardiva* variety (100%) was obtained when explants were treated with 3% hydrogen peroxide for 5 minutes and 70% ethanol for 2 minutes; for the *Kyushu* and *Grandiflora* varieties (90%) – 3% with hydrogen peroxide for 5 minutes; for *H. bretschneideri* and *H. arborescens* (87% and 75%, respectively) – 7% sodium hypochlorite solution ("*Whiteness*") for 7 minutes and 70% ethanol for 2 minutes.

Key words: number of sterile culture; *Hydrangea* L.

Гортензии являются популярными декоративными растениями, которые могут использоваться в живых изгородях, как одиночные экземпляры или в композициях с другими растениями; на срезку и для составления букетов или композиций [1]. Эти растения нетребовательны в уходе, устойчивы к различным болезням и вредителями, что дает им преимущество над другими декоративными культурами [2].

В настоящее время увеличивается спрос на высокодекоративные и малораспространенные сорта гортензии. При необходимости получения большого количества посадочного материала возникают определенные трудности. Поэтому необходима разработка современных эффективных технологий размножения. Для быстрого получения посадочного

материала идентичного материнскому организму применяют микроклональное размножение [3,4].

Цель исследования – получение хорошо растущей стерильной культуры для введения в культуру *in vitro* перспективных сортов и видов гортензии.

Исследования проводились в 2023 г. в лаборатории микроклонального размножения кафедры ботаники и генетики растений Пермского государственного национального исследовательского университета. В качестве объектов были использованы три вида из рода *Hydrangea* L. – *H. bretschneideri* Dippel (Гортензия Бретшнейдера), *H. arborescens* L. (Гортензия древовидная) и *H. paniculata* Siebold (Гортензия метельчатая), который включает три сорта – «*Kyushu*», «*Grandiflora*», «*Tardiva*».

Первичными эксплантами для введения в культуру *in vitro* гортензии выбраны пазушные вегетативные почки с частью стебля длиной 1,5–2,2 см. Стерилизацию материала проводили в 3 общепринятых этапа [5]. Первый этап заключался в обработке образцов нейтральным детергентом (стиральный порошок «Ariel») в течение 25 мин, с последующей промывкой проточной водой в течение 10 мин. В качестве стерилизующих агентов для второго этапа были использованы 70% этанол, 7% раствор гипохлорита натрия («Белизна»), 3% перекись водорода. Всего было использовано 5 режимов стерилизации (таблица). Третий этап заключался в промывке в трех сменах стерилизованной дистиллированной воды по 5 мин в каждой.

Таблица – Режимы стерилизации эксплантов гортензии

Режим стерилизации	Стерилизующий агент
I	70% этанол 2 мин
II	7% раствор гипохлорита натрия («Белизна») 7 мин; 70% этанол 2 мин
III	3% перекись водорода 5 мин
IV	7% раствор гипохлорита натрия («Белизна») 10 мин
V	3% перекись водорода 5 мин; 70% этанол 2 мин

На этапе введения в культуру *in vitro* экспланты высаживались на твердую питательную среду Мурасиге и Скуга (MS), в которую добавляли регуляторы роста – 6-бензиламинопурин (6-БАП), кинетин, α -нафтилуксусную кислоту (НУК), β -индолилмасляную кислоту (ИМК) и витамины – тиамин (B1), пиридоксин (B6), никотиновую кислоту (ниацин, PP). Стерилизация питательной среды проводилась в автоклаве Sanyo MLS-3780 при температуре 120°C, давлении 1 атм, в течение 15 мин. Все этапы микроразмножения проводились в стерильных условиях в ламинар-боксе.

Через 14 суток после посадки определялся выход стерильной культуры путем подсчета количества стерильного материала к общему числу посаженных эксплантов. Фотографии были сделаны на смартфоне Samsung galaxy A54. Для статистической обработки

экспериментальных данных использовали программу Microsoft Office Excel. Различия по критерию Фишера считали статистически значимыми при $p < 0,05$.

Первый этап микроклонального размножения гортензии заключается в получение хорошо растущей стерильной культуры. В качестве основных стерилизующих агентов использовались: 70% этанол, 7% раствор гипохлорита натрия («Белизна») и 3% перекись водорода. Выход стерильной культуры гортензии представлен на рисунках 1–2.

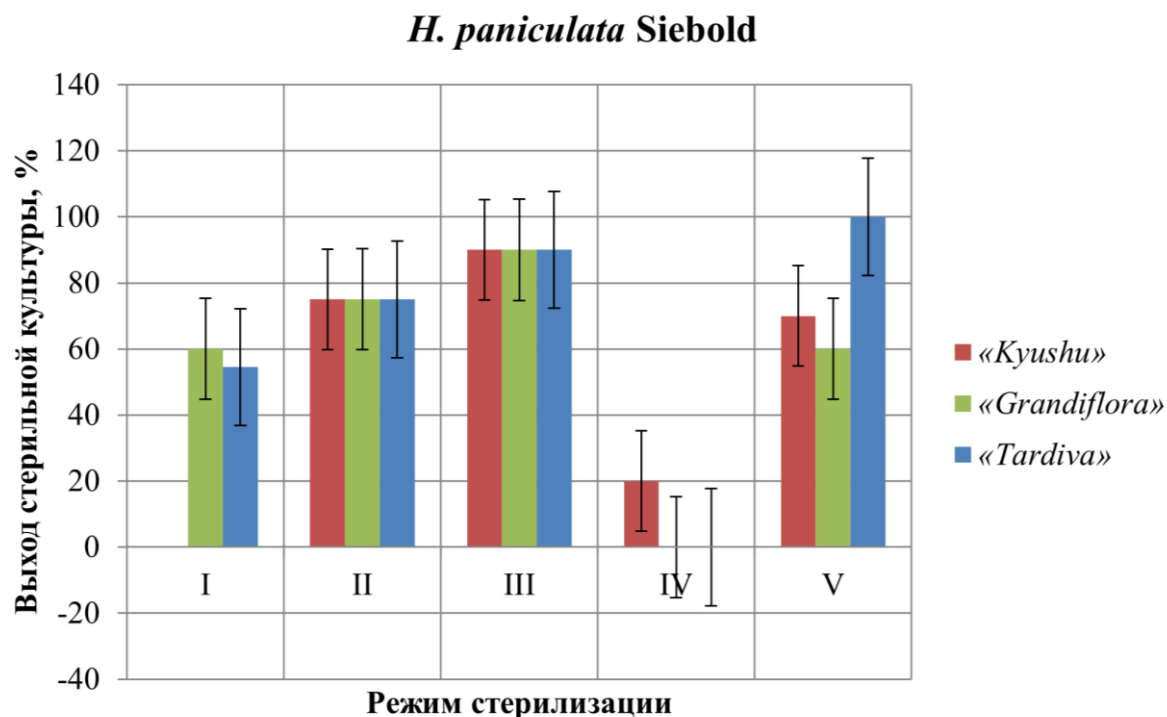


Рисунок 1 – Выход стерильной культуры *H. paniculata* Siebold: I – 70% этанол 2 мин; II – 7% раствор гипохлорита натрия («Белизна») 7 мин, 70% этанол 2 мин; III – 3% перекись водорода 5 мин; IV – 7% раствор гипохлорита натрия («Белизна») 10 мин; V – 3% перекись водорода 5 мин, 70% этанол 2 мин

Наилучший результат по стерилизации эксплантов *H. paniculata* сорта «*Tardiva*» получены при использовании V режима с обработкой 3% перекисью водорода в течение 5 мин и 70% этанолом в течение 2 мин. Все экспланты оказались стерильными. Для *H. paniculata* сортов «*Kyushu*» и «*Grandiflora*» лучшие результаты получены при использовании III режима с обработкой эксплантов 3% перекисью водорода с экспозицией 5 мин. Выход стерильной культуры составил 90%.

Достоверные отличия имеются только с IV режимом с использованием в качестве основного стерилизующего агента 7% раствора гипохлорита натрия («Белизна») в течение 10 мин ($p=0,03$, $p<0,05$), который показал самые низкие результаты и не рекомендуется для применения.

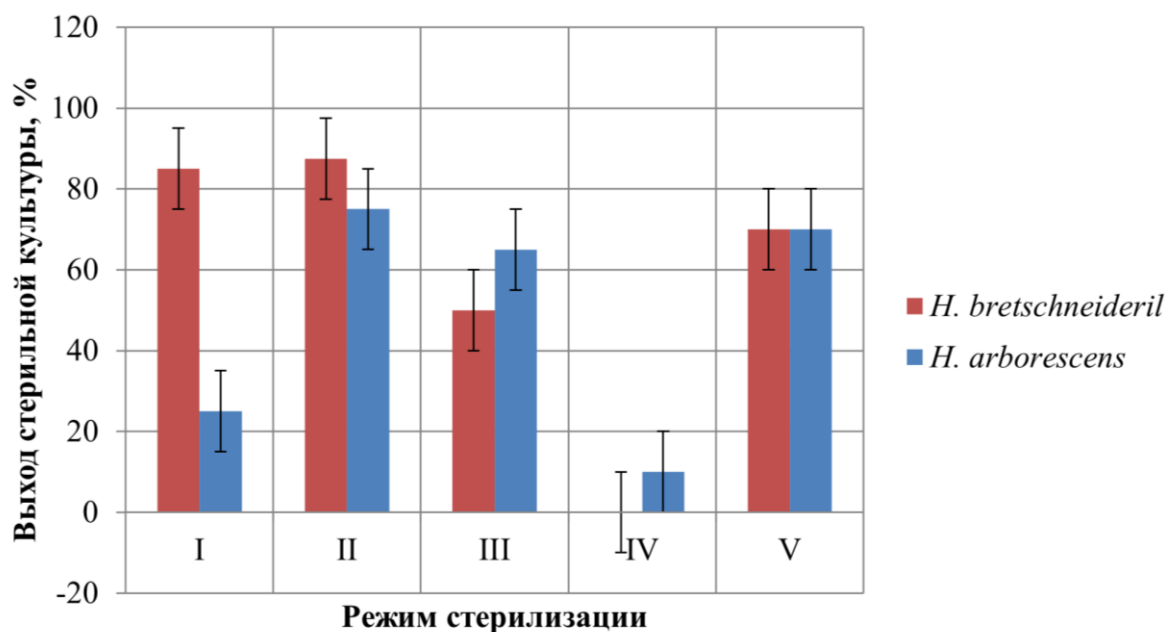


Рисунок 2 – Выход стерильной культуры *H. bretschneideri* Dippel и *H. arborescens* L.: I – 70% этанол 2 мин; II – 7% раствор гипохлорита натрия («Белизна») 7 мин, 70% этанол 2 мин; III – 3% перекись водорода 5 мин; IV – 7% раствор гипохлорита натрия («Белизна») 10 мин; V – 3% перекись водорода 5 мин, 70% этанол 2 мин

Для *H. bretschneideri* и *H. arborescens* лучшие результаты получены при использовании II режима – 7% раствора гипохлорита натрия («Белизна») в течение 7 мин и 70% этанола в течение 2 мин. Выход стерильной культуры составил 87,5 и 75% соответственно. Для *H. bretschneideri* статистически значимые отличия имеются с IV режимом ($p=0,03$, $p<0,05$). Вся культура оказалась нестерильной. Для *H. arborescens* достоверные отличия имеются с I ($p=0,03$, $p<0,05$) и IV ($p=0,04$, $p<0,05$) режимами стерилизации с использованием в качестве стерилизующих агентов 7% раствора гипохлорита натрия («Белизна») в течение 7 мин и 3% перекиси водорода в течение 5 мин в сочетании с 70% этанолом в течение 2 мин, которые также не обеспечивают получение стерильной культуры.

Таким образом, наибольший выход стерильной культуры *H. paniculata* сорта «Tardiva» обеспечивает обработка эксплантов 3% перекисью водорода в течение 5 мин и 70% этанолом в течение 2 мин; для сортов «Kyushu» и «Grandiflora» можно использовать 3% перекись водорода в течение 5 мин. Обработку эксплантов *H. bretschneideri* и *H. arborescens* рекомендуется проводить 7% раствором гипохлорита натрия («Белизна») в течение 7 мин и 70% этанолом в течение 2 мин.

Библиографический список

1. Ахметова Л. Р., Крахмалева И. Л., Молканова О. И. Биотехнологические методы размножения декоративных сортов представителей рода *Hydrangea* L. // Достижения науки и техники. 2020. — Т. 34. — № 11. — С. 79–82.
2. Иванова Л. М. Методы размножения гортензии: преимущества и недостатки // Цветы и растения. 2012. — № 3. — С. 19–22.

3. Ахметова Л. Р. Изучение особенностей вегетативного размножения некоторых сортов гортензий // Сборник научных трудов Государственного Никитского ботанического сада. 2017. — № 145. — С. 247–251.
4. Маляровская В.И. Историко-систематический обзор представителей рода Гортензия // Вестник ИРГСХА. 2011. — №8. — С. 75-79.
5. Бутенко Р. Г., Шевелуха Е. А. Биология культивируемых клеток высших растений *in vitro* и биотехнологии на их основе. М.: ФБК-Пресс. 1960. С. 160.

ВВЕДЕНИЕ В КУЛЬТУРУ *IN VITRO* СИРЕНИ (*SYRINGA* L.) ФРАНЦУЗСКОЙ СЕЛЕКЦИИ

Фазиуллина К.А., Шибанова Н.Л.

Пермский государственный национальный исследовательский университет, Пермь, Россия

Аннотация. Представлены результаты введения в культуру *in vitro* четырёх сортов сирени: «*President Grevy*», «*President Poincare*», «*Mme Abel Chatenay*» и «*Mme Lemoine*». Наибольший процент выхода стерильной культуры варьировал в пределах от 49 до 75 в зависимости от сорта. Процент выхода жизнеспособной культуры составил для разных сортов от 33 до 100.

Ключевые слова: культура *in vitro*, *Syringa* L.

INTRODUCTION TO THE *IN VITRO* CULTURE OF LILAC (*SYRINGA* L.) OF FRENCH BREEDING

Faziullina K.A., Shibanova N.L.

Perm State National Research University, Perm, Russia

Abstract. The results of *in vitro* culture of four lilac cultivars: «*President Grevy*», «*President Poincare*», «*Mme Abel Chatenay*» and «*Mme Lemoine*» are presented. The highest percentage of sterile culture yield ranged from 49 to 75 depending on the cultivar. The percentage of viable culture yield ranged from 33 to 100 for different cultivars.

Key words: *in vitro* culture, *Syringa* L.

Сирень является одним из самых распространённых и любимых декоративных кустарников в нашей стране. Многие её виды издавна применяются для декоративных насаждений и в озеленении городских ландшафтов. В связи с этим особую актуальность приобретает изучение методов размножения сирени [1, 2].

Традиционные методы размножения не всегда дают желаемый результат, а многие сорта трудно размножаются этими методами. В настоящее время возможно значительно ускорить процесс размножения востребованных сортов сирени с помощью технологии клонального микроразмножения, которая приобретает всё большую популярность. Растения, полученные с помощью этого метода, являются оздоровлёнными и свободными от вирусной и микоплазменной инфекции [3, 4].

Цель данного исследования – введение в культуру *in vitro* некоторых сортов сирени французской селекции.

Исследования проводились в лаборатории микрклонального размножения растений кафедры ботаники и генетики растений Пермского государственного национального исследовательского университета (ПГНИУ). Объектами изучения стали 4 сорта сирени обыкновенной (*Syringa vulgaris* L.): «*President Grevy*», «*President Poincare*», «*Mme Abel Chatenay*» и «*Mme Lemoine*» из коллекции Учебного ботанического сада имени профессора А.Г. Генкеля ПГНИУ.

Для введения в культуру *in vitro* выбирались хорошо развитые побеги сирени. В качестве экспланта использовались пазушные почки с частью стебля длиной 2-2,5 см. Всего было высажено 212 эксплантов.

Стерилизация эксплантов проводилась в три общепринятых этапа [5]. На этапе престерилизации материал обрабатывался раствором нейтрального детергента или 5% раствором NaOCl «Homestar» в течение 30 мин и промывался проточной водой в течение 10 мин. Стерилизация эксплантов проводилась в растворах дезинфицирующих средств, в качестве которых использовались: 5% раствор гипохлорита натрия (NaOCl), 70% этиловый спирт и перекись водорода (H₂O₂) или фунгицид. Этап постстерилизации при всех режимах был одинаковый и включал промывание эксплантов в трёх объёмах стерилизованной дистиллированной воды, по 5 мин в каждом. Всего было использовано 6 режимов стерилизации (таблица 1).

Таблица 1 – Режимы стерилизации эксплантов сирени

Режим стерилизации	Престерилизация	Стерилизация
I	Нейтральный детергент (порошок марки «Миф»)	5% раствор NaOCl 15 мин, фунгицид 15 мин, 70% этанол 30 сек
II	Нейтральный детергент (порошок марки «Миф»)	Фунгицид 15 мин, 5% раствор NaOCl 15 мин, 70% этанол 30 сек
III	5% раствор NaOCl «Homestar»	5% раствор NaOCl 10 мин, 70% этанол 15 сек, H ₂ O ₂ 10 мин
IV	Нейтральный детергент (порошок марки «Миф»)	5% раствор NaOCl 15 мин, 70% этанол 30 сек, H ₂ O ₂ 15 мин
V	Нейтральный детергент (порошок марки «Миф»)	5% раствор дихлоризоцианурата натрия 10 мин, 70% этанол 30 сек, H ₂ O ₂ 15 мин
VI	Нейтральный детергент (порошок марки «Миф»)	5% раствор NaOCl 15 мин, 70% этанол 1 мин, H ₂ O ₂ 10 мин

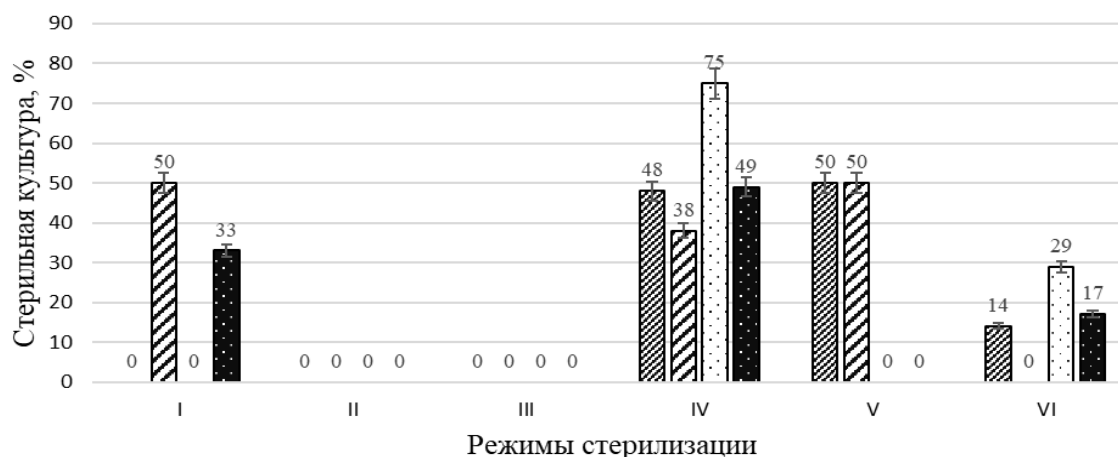
Посадка проводилась в условиях ламинар-бокса с соблюдением всех правил стерильности. Экспланты высаживались на питательную среду Мурасиге и Скуга (МС) с содержанием 30 г/л сахарозы, 8 г/л агар-агара. В среду были добавлены ауксины: индолил масляная кислота (ИМК) и индолилуксусная кислота (ИУК) и цитокинин 6-бензиламинопурин (6-БАП) в различных концентрациях, а также витамины – тиамин или никотиновая кислота. Всего было использовано 7 вариантов питательной среды Мурасиге и Скуга (таблица 2).

Таблица 2 – Варианты питательной среды Мурасиге и Скуга для введения сирени в культуру *in vitro*

Вариант среды	Состав питательной среды Мурасиге и Скуга (МС)
1	МС + тиамин 0,2 мг/л
2	1,5 МС + БАП 2,0 мг/л, ИМК 0,05 мг/л, тиамин 0,2 мг/л
3	1,5 МС + БАП 2,0 мг/л, ИУК 0,1 мг/л, тиамин 0,2 мг/л
4	МС + БАП 1,0 мг/л, ИУК 0,3 мг/л, никотиновая кислота 0,3 мг/л
5	МС + БАП 1,0 мг/л, ИМК 0,05 мг/л, никотиновая кислота 0,3 мг/л
6	МС + БАП 1,5 мг/л, ИУК 0,3 мг/л, никотиновая кислота 0,3 мг/л
7	МС + БАП 1,0 мг/л, ИУК 0,1мг/л, никотиновая кислота 0,25 мг/л

Стерилизация питательной среды проводилась в автоклаве Sanyo MLS-3780 при температуре 120°C и давлении 1 атм в течение 15 мин. Все этапы микроразмножения проводились в стерильных условиях в ламинар-боксе. Образцы культивировали в климатической камере в условиях искусственного освещения 2000 лк 14/10 при температуре 20±2°C.

Первый этап микрклонального размножения сирени включает получение хорошо растущей стерильной культуры. Стерильность определялась как количество стерильных эксплантов к общему числу высаженного материала. Результаты по выходу стерильной культуры представлены на рисунке 1.



▨President Grevy ▩President Poincare □Mme Abel Chatenay ■Mme Lemoine

Рисунок 1 – Выход стерильной культуры сирени: I – 5% раствор NaOCl 15 мин, фунгицид 15 мин, 70% этанол 30 сек; II – фунгицид 15 мин, 5% раствор NaOCl 15 мин, 70% этанол 30 сек; III – 5% раствор NaOCl 10 мин, 70% этанол 15 сек, H₂O₂ 10 мин; IV – 5% раствор NaOCl 15 мин, 70% этанол 30 сек, H₂O₂ 15 мин; V – 5% раствор дихлоризоцианурата натрия 10 мин, 70% этанол 30 сек, H₂O₂ 15 мин; VI – 5% раствор NaOCl 15 мин, 70% этанол 1 мин, H₂O₂ 10 мин.

В результате проведённого исследования было установлено, что наибольший выход стерильной культуры для сортов «Mme Abel Chatenay» и «Mme Lemoine» наблюдается при использовании режима со стерилизующими агентами: 5% раствор NaOCl 15 мин, 70% этанол 30 сек, H₂O₂ 15 мин; для сорта «President Poincare» – 5% раствор NaOCl 15 мин, фунгицид

15 мин, 70% этанол 30 сек; 5% раствор дихлоризоцианурата натрия 10 мин, 70% этанол 30 сек, H₂O₂ 15 мин; для сорта «*President Grevy*» – 5% раствор дихлоризоцианурата натрия 10 мин, 70% этанол 30 сек, H₂O₂ 15 мин. Процент выхода стерильной культуры в зависимости от сорта варьировал от 49 до 75.

Развитие эксплантов сирени начинается на 14 день после посадки (рисунок 2).

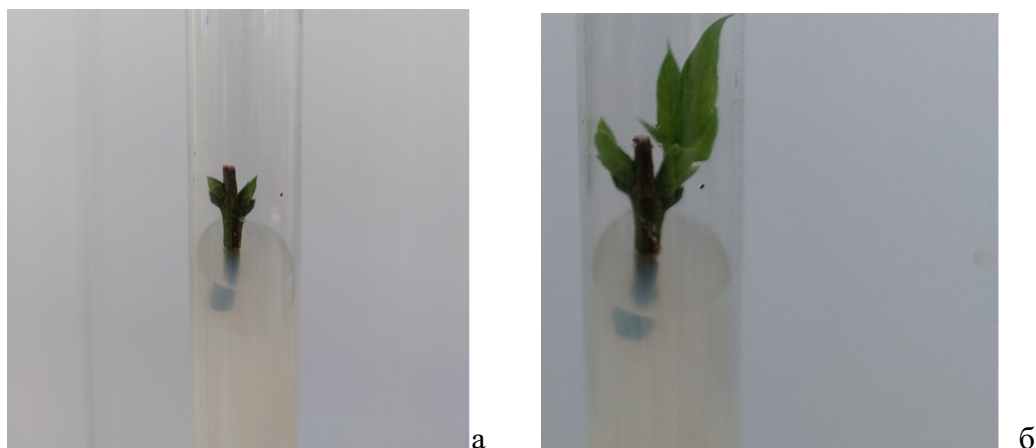


Рисунок 2 – Развитие эксплантов сирени: а — через 7 дней после посадки; б — через 14 дней после посадки.

Жизнеспособность рассчитывалась как количество эксплантов с признаками регенерации от общего числа стерильного материала. Результаты по выходу жизнеспособной культуры представлены на рисунке 3.

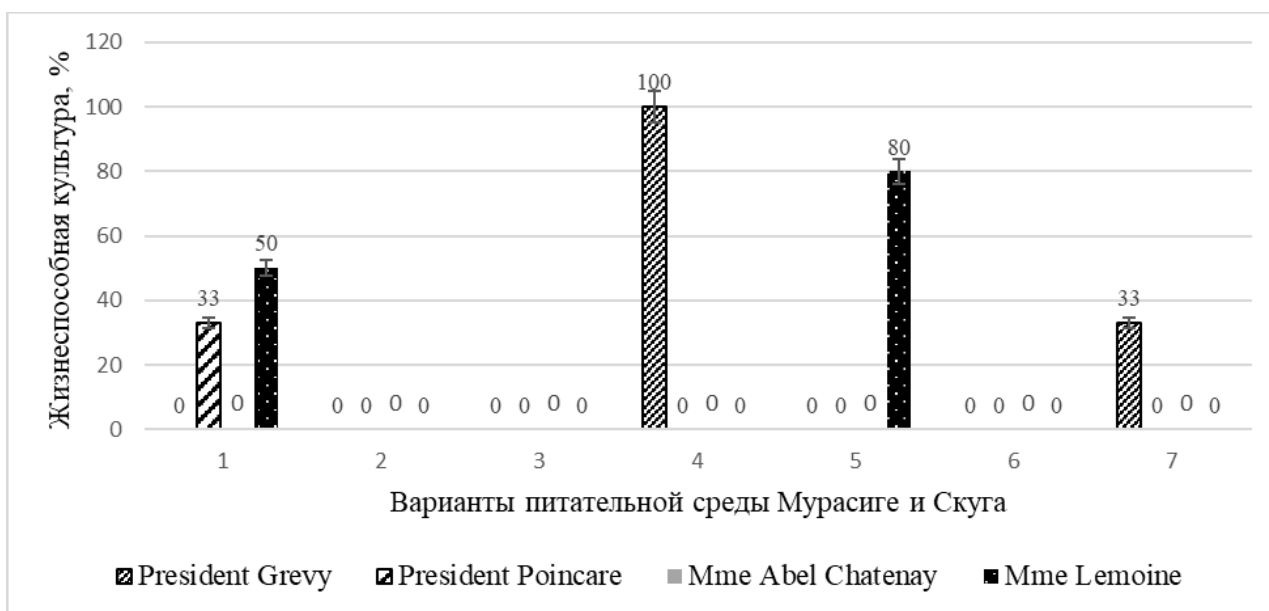


Рисунок 3 – Выход жизнеспособной культуры сирени: 1 – МС+ тиамин 0,2 мг/л; 2 – 1,5 МС + БАП 2,0 мг/л, ИМК 0,05 мг/л, тиамин 0,2 мг/л; 3 – 1,5 МС + БАП 2,0 мг/л, ИУК 0,1 мг/л, тиамин 0,2 мг/л; 4 – МС + БАП 1,0 мг/л, ИУК 0,3 мг/л, никотиновая кислота 0,3 мг/л; 5 – МС + БАП 1,0 мг/л, ИМК 0,05 мг/л, никотиновая кислота 0,3 мг/л; 6 – МС + БАП 1,5 мг/л, ИУК 0,3 мг/л, никотиновая кислота 0,3 мг/л; 7 – МС + БАП 1,0 мг/л, ИУК 0,1мг/л, никотиновая кислота 0,25 мг/л

Наибольший выход жизнеспособной культуры по сортам составил: «*Mme Lemoine*» – 80% при использовании варианта среды МС + БАП 1,0 мг/л, ИМК 0,05мг/л, никотиновая кислота 0,3 мг/л; «*President Poincare*» – 33% на среде МС без фитогормонов; «*President Grevy*» – 100% на среде МС + БАП 1,0 мг/л, ИУК 0,3 мг/л, никотиновая кислота 0,3 мг/л.

Библиографический список

1. Рубцов Л. И., Михайлов Н. Л., Жоголева В. Г. Виды и сорта сирени, культивируемые в СССР. К.: Наук. думка. — 1980. — 127 с.
2. Лунева З. С., Михайлов Н. Л., Судакова Е. А. Сирень. М.: Агропромиздат. — 1989. — 253 с.
3. Лободина Е. В. и др. Влияние сроков отбора эксплантов сирени (*Syringa vulgaris* L.) на жизнеспособность и контаминацию при введении в культуру *in vitro* // Плодоводство и виноградарство Юга России. — 2020. — № 61. — С. 98-107.
4. Суркова О. А. Микроклональное размножение сирени // Современное состояние садоводства Российской Федерации, проблемы отрасли и пути их решения: материалы научно-практической конференции (Мичуринск, 17–18 сентября 2020 г.). Тамбов. — 2020. — С. 87-91.
5. Бутенко Р. Г. Биология клеток высших растений *in vitro* и биотехнологии на их основе. М.: ФБК-ПРЕСС. — 1999. — 160 с.

ЗООЛОГИЯ БЕСПОЗВОНОЧНЫХ, ГИДРОБИОЛОГИЯ И ЭКОЛОГИЯ БЕСПОЗВОНОЧНЫХ

НОВЫЕ ДАННЫЕ О СТРУКТУРЕ ЛОВЧИХ СЕТЕЙ ПАУКОВ-КРУГОПРЯДОВ CYCLOSA CONICA (PALLAS, 1772) И MANGORA ACALYPHA (WALCKENAER, 1802)

Григорьева Т.А., Тиунов А.В.

*Пермский Государственный Национальный Исследовательский Университет, Пермь,
Россия*

Аннотация. Изучены особенности строения ловчей сети у пауков-кругопрядов *Cyclosa conica* и *Mangora acalypha*. Приводятся генерализованные параметры структуры ловчих сетей изученных видов.

Ключевые слова: поведение животных, геометрическая морфометрия, пауки-кругопряды

NEW DATA ON THE WEB STRUCTURE OF ORB WEAVING SPIDERS CYCLOSA CONICA (PALLAS, 1772) AND MANGORA ACALYPHA (WALCKENAER, 1802)

Grigoreva T.A., Tiunov A.V.

Perm State National Research University, Perm, Russia

Annotation. Web structure of two species of orb-weaving spiders *Cyclosa conica* and *Mangora acalypha* are studied. Average parameters of studied species are calculated using traditional and geometrical morphometry approaches.

Key words: geometrical morphometry, spiders, orb weavers

Введение

Отличительной особенностью пауков-кругопрядов Araneidae Clerck, 1757 является колесовидная сеть, служащая им для ловли добычи. Это одно из крупнейших семейств пауков в мире: известно более 3100 видов из 191 рода [1].

Ловчие сети семейства Araneidae являются результатом сложного строительного поведения и представляют большой интерес для изучения. Существуют работы об использовании сетей кругопрядов в биоиндикации [2] и биотестировании [3], в которых отмечаются такие достоинства применения ловчих сетей кругопрядов в роли биоиндикаторов, как формализуемая геометрическая структура, дешевизна и экологическая безопасность использования, высокая чувствительность кругопрядов к загрязнителям и токсикантам. Авторы исследований отмечают, что важным этапом в разработке методов биоиндикации с использованием ловчих сетей является изучение структуры и изменчивости сетей в природе.

Целью этой работы было изучить строение ловчих сетей двух модельных видов пауков-кругопрядов *Cyclosa conica* и *Mangora acalypha*, сравнить полученные данные с литературными данными и получить усредненные данные о структуре и геометрических параметрах сети.

Материалы и методы

Сбор материала осуществлялся на базе ООПТ «Троицкий государственный природный комплексный заказник» (Челябинская область, Троицкий район) в период с начала июня по начало июля 2023 года. За этот период было изучено 50 сетей *Cyclosa conica* (Pallas, 1772) и 50 сетей *Mangora acalypha* (Walckenaer, 1802). Изучались сети половозрелых самок.

После обнаружения сети её местоположение отмечалось на карте, затем сеть подвергалась механическому разрушению, чтобы стимулировать строительство новой сети. Через некоторое время область, в которой находилась сеть, проверялась снова. Далее к сети крепился кусок бумаги размером 1х1 см для дальнейших измерений. Сеть фотографировалась, для улучшения заметности на сеть распылялась вода. Для подтверждения идентификации пауки помещалась в пробирку Эппендорфа с 70% раствором изопропилового спирта. На месте определялось растение, на котором была найдена сеть.

После подтверждения идентификации видов фотографии сетей обрабатывались с использованием методов геометрической морфометрии [4]. Номенклатура структур ловчей сети приводится в соответствии с Тыщенко [5]. На изображение сети накладывался шаблон с шестью линиями, пересекающимися под углом 30°. Центр шаблона помещался в центр сети, опорные точки расставлялись в местах пересечения ловчей зоны сети с линиями шаблона с помощью программы TPSDig232 [6]. Для выравнивания изображений использовалось Прокрустово преобразование.

Для расчёта площади, периметра и коэффициента округлости использовалась программа TPSRelw32 [6] и PAST 4.09 [7]. Также было подсчитано количество радиальных нитей каждой сети. Для составления усреднённых моделей сетей каждого вида использовалась программа Paint Tool Sai 1.2.0.

Результаты

Во время сбора данных отмечались растения, на которых находились сети изучаемых видов. Сравнение частот встречаемости сетей на разных растениях показало, что спектр растений-субстратов для постройки сетей у изученных видов различается ($\chi^2 = 38,4$, $p < 0,05$): особи *M. acalypha* в большинстве случаев отдавали своё предпочтение сухим стеблям крапивы и вишне, а *C. conica* предпочитает клён. Исследуемые виды предпочитают неодинаковую высоту для строительства сетей – *C. conica* обычно плетёт их на высоте $81 \pm 36,22$ см от земли, а *M. acalypha* – на высоте $63 \pm 23,84$ см [8]; вероятно, именно это и служит основной причиной выбора разных растений.

В результате исследования с помощью методов геометрической морфометрии были получены усреднённые параметры сетей *C. conica* и *M. acalypha* (таблица 1).

Сравнение с результатами наблюдения за теми же видами в Троицком заказнике в 2019 г. [8] показали наличие различий в количестве радиусов у *C. conica* (t -критерий Стьюдента, $t = 2,82$, $p = 0,006$). Однако при сравнении данных по количеству радиусов *M. acalypha* t -критерий Стьюдента не показал различия ($t = 0,86$, $p = 0,39$). Площадь же ловчей зоны статистически значимо не отличается от данных 2019 года: критерий Манна-Уитни показал отсутствие различия в площади ловчей зоны *C. conica* ($U = 1748$, $p = 0,27$) и для *M. acalypha* ($U = 876$, $p = 0,41$).

Таблица 1 - Средние значения параметров сетей *C. conica* и *M. acalypha*. Приведены средние и 95% доверительный интервал, рассчитанный с помощью бутстреппинга. Звездочкой (*) отмечены статистически значимые различия (тест Манна-Уитни, $p < 0,05$). Подчеркнутые значения — распределение признака статистически значимо отличается от нормального (тест Шапиро-Уилка, $p < 0,05$).

	<i>C. conica</i>	<i>M. acalypha</i>
Количество радиусов (медиана)	44 (40–47)	44 (41–48)
Площадь ловчей зоны сети	<u>123,37 (93,24–149,24)*</u>	<u>94,65 (76,84–109,55)*</u>
Периметр (внешний)	<u>41,89 (36,70–46,65)*</u>	<u>36,38 (32,74–38,76)*</u>
Коэффициент округлости (внешний)	<u>0,95 (0,94–0,96)</u>	<u>0,95 (0,95–0,96)</u>

По данным Карташева [9] по Западной Сибири, в среднем сеть *C. conica* имеет 42 радиуса, одновыборочный t -критерий Стьюдента показывает статистически значимые различия с полученными нами данными ($t = 0,53$, $p < 0,05$).

Так как распределение некоторых исследованных переменных статистически значимо отличалось от нормального, для проверки связей между показателями был использован непараметрический коэффициент Спирмена. Была установлена положительная взаимосвязь между количеством радиусов и площадью ловчей зоны ($r_s = 0,70$, $p < 0,001$) и между количеством радиусов и периметром сети ($r_s = 0,69$, $p < 0,001$). В целом связь положительная, разброс значений площади немного возрастает с увеличением количества радиусов в сети (рисунок 1).

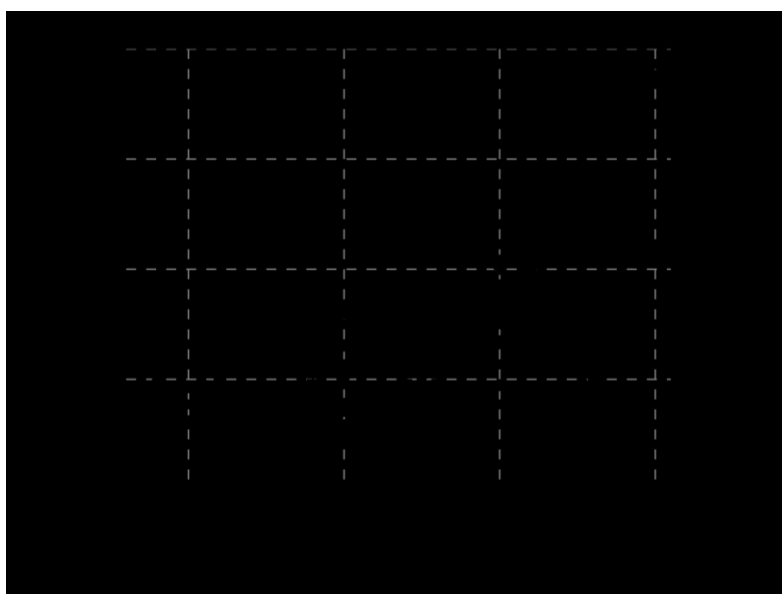


Рисунок 1 - Зависимость между количеством нитей-радиусов и площадью ловчей зоны сетей *C. conica* (точка) и для *M. acalypha* (крестик).

Для получения генерализованной формы ловчей сети использована программа TPSRelw32 (метод Consensus, Прокрустово выравнивание) [6]. На получившихся диаграммах (рисунок 2) можно увидеть, что ловчие зоны обоих видов неодинаковы, хоть и близки к кругу. Дисперсии положения опорных точек верхней части наружного периметра несколько выше, чем дисперсии остальных опорных точек.

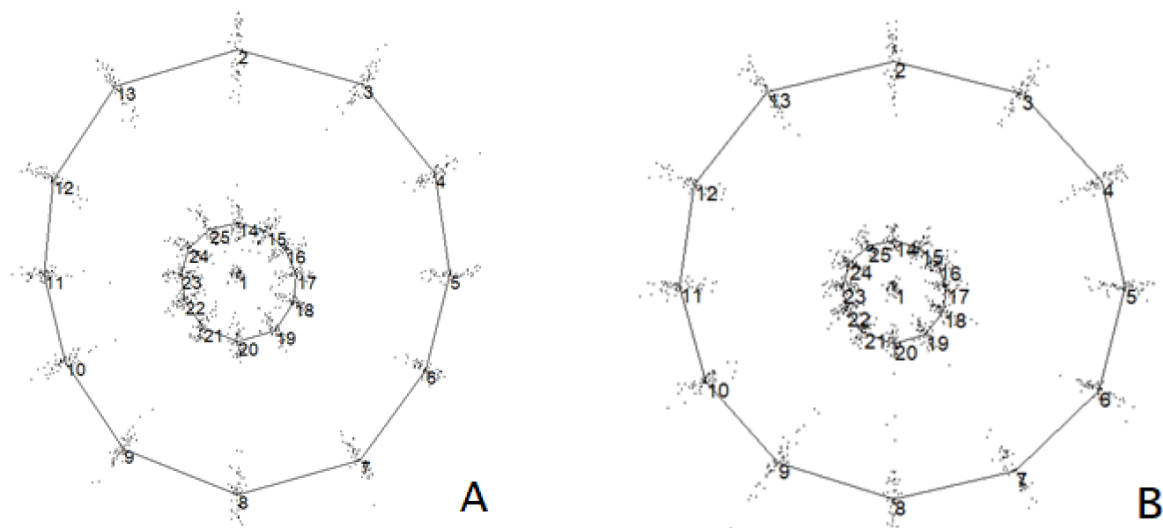


Рисунок 2 - Средние значения и разброс значений положения опорных точек на границах ловчей зоны сети *C. conica* (A) и *M. acalypha* (B).

На основании полученных усредненных форм, средних значений радиусов и фотографий сетей с помощью графического редактора нами подготовлены усреднённые изображения сетей *C. conica* и *M. acalypha* (рисунок 3).

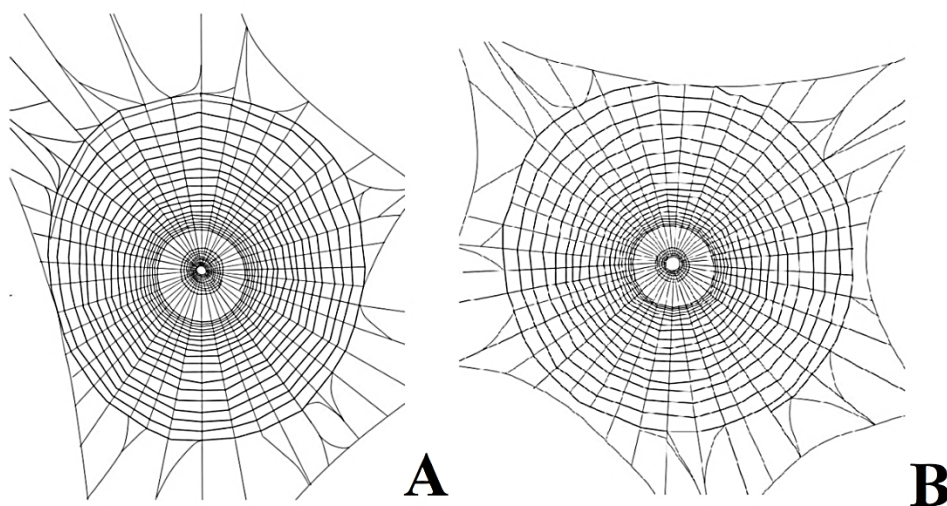


Рисунок 3 - Усреднённые изображения сетей *Cyclosa conica* (A) и *Mangora acalypha* (B).

Выравненные опорные точки проверялись на сходство с помощью дискриминантного анализа (LDA). Дискриминантный анализ позволяет различать сети изученных видов по

форме с точностью 90,91% (из 50 экземпляров *C. conica* — 45 классифицировано верно, из 50 экземпляров *M. acalypha* 47 классифицировано верно). Тем не менее, анализ главных компонент (РСА) не позволяет выявить среди координат опорных точек такие, которые бы в большей степени определяли разницу между видами.

Заключение

В процессе анализа данных были просчитаны средние параметры сетей исследуемых видов. Статистически значимые параметры сетей (площадь и периметр ловчей зоны) отличаются у каждого вида: оба показателя для *C. conica* больше, чем у *M. acalypha*. Вероятно, это связано с тем, что виды используют разные субстраты для строительства несмотря на то, что строят ловчие сети в одинаковых биотопах.

С помощью методов геоморфометрии были выявлены различия в структуре сетей *C. conica* и *M. acalypha*, составлены усреднённые модели их ловчих сетей. Проведён дисперсионный анализ опорных точек, показавший различия в дисперсии точек между видами. В целом, дисперсия наружных верхних опорных точек для каждого вида выше, чем для остальных точек.

Форма ловчей зоны сетей исследованных видов различается. Дискриминантный анализ позволяет различать сети *C. conica* и *M. acalypha* с точностью до 90,91%, однако выделить главные опорные точки, объясняющие различия, не удалось.

Библиографический список

1. World Spider Catalog (2024). World Spider Catalog. Version 25.0. Natural History Museum Bern, online at <http://wsc.nmbe.ch>, accessed on 09.04.2024. doi: 10.24436/2
2. Benamú MA, Schneider MI, González A, Sánchez NE. Short and long-term effects of three neurotoxic insecticides on biological and behavioural attributes of the orb-web spider *Alpaida veniliae* (Araneae, Araneidae): implications for IPM programs. *Ecotoxicology*. 2013 Sep;22(7):1155-64. doi: 10.1007/s10646-013-1102-9. Epub 2013 Jul 12. PMID: 23846558.
3. Hose, G. C. Spider webs as environmental indicators / G. C. Hose, J. M. James, M. R. Gray // *Environmental Pollution*. – 2002. – Т. 120. – № 3. – С. 725-733.
4. Васильев, А. Г. Геометрическая морфометрия: от теории к практике. Геометрическая морфометрия / А. Г. Васильев, И. А. Васильева, А. О. Шкурихин. – Москва : Товарищество научных изданий КМК. – 471 с.
5. Тыщенко, В. П. Определитель пауков европейской части СССР / В. П. Тыщенко – Ленинград: изд. «Наука», ленинградское отд., 1971. - 281с.
6. Официальный сайт SB Morphometrics [Электронный ресурс] – Режим доступа: <https://sbmorphometrics.org/soft-utility.html>
7. Hammer, Ø., Harper, D.A.T., and P. D. Ryan, 2001. PAST: Paleontological Statistics Software Package for Education and Data Analysis. *Palaeontologia Electronica* 4(1): 9pp.
8. Устинова А. Л. Характеристика изменчивости сетей пауков-кругопрядов *Mangora acalypha* (Walckenaer, 1802) и *Cyclosa conica* (Pallas, 1772) (Aranei, Araneidae) / Устинова А. Л. // *Фундаментальные и прикладные исследования в биологии и экологии: материалы регион. с междунар. участием студ. науч. конф.* – Пермь, 2020. – С. 146-150.
9. А. Г. Карташев. Структура ловчих сетей пауков-кругопрядов / А. Г. Карташев, А. А. Карташева. – Томск : Томск. гос. ун-т систем упр. и радиоэлектроники, 2009. – 120 с.

ПРЕДСТАВИТЕЛИ СЕМЕЙСТВА LYCOSIDAE (ARANEI) НЕКОТОРЫХ ОКРЕСТНОСТЕЙ Д.КОРЧЕВНЯ (КУДЫМКАРСКИЙ РАЙОН)

Делидов Д.В.

Пермский государственный национальный исследовательский университет, Пермь, Россия

Аннотация. В результате исследования 4 площадок на территории Кудымкарского района за 2 года было обнаружено 10 видов, относящихся к семейству Lycosidae. Из них к роду Alopecosa относится 3 вида, к роду Pardosa 4 вида, к Trochosa 2 вида и к роду Pirata 1 вид.

Ключевые слова: семейство Lycosidae, пауки-герпетобионты, Кудымкарский район

REPRESENTATIVES OF THE FAMILY LYCOSIDAE (ARANEI) OF SOME VICINITIES OF THE V. KORCHEVNYA VILLAGE (KUDYMKAR DISTRICT)

Delidov D.V.

Perm State National Research University, Perm, Russia

Abstract. In as a result of the study of 4 sites on the territory of Kudymkar district for 2 years 10 species belonging to the family Lycosidae were found. 10 species belonging to the family Lycosidae were found. Of them 3 species belong to the genus Alopecosa, 4 species to the genus Pardosa, 2 species to the genus Trochosa and 1 species to the genus Pirata.

Key words: Lycosidae family, herpetobiont spiders, Kudymkar district

Введение. Кудымкарский район, а в частности окрестности деревни Корчёвня представляют собой типичный агроландшафт, на котором мы можем наблюдать большое количество сельскохозяйственных угодий и лесных вырубок. Основные исследования по изучению состава Aranei проводились в период осени 2022 года и весенне-летний период 2023 года. Все площадки для отбора материала находятся в области одного ботанико-географического района Пермской области, а именно район южнотаежных пихтово-еловых лесов с преобладанием сельскохозяйственных земель. Южнотаежные леса по сравнению со среднетаежными характеризуются более сложной структурой; господством в древостое и подлеске бореальных - участием неморальных видов; сосуществованием бореальных и неморальных видов в травяно-кустарничковом ярусе, заметным увеличением роли трав по сравнению с кустарничками и преобладанием травяных типов лесов [1]. Для сравнения двух периодов было выбрано 4 площадки, отличающиеся между собой как в геоботаническом плане, так и в степени антропогенного воздействия: зарастающая вырубка, ельник разнотравный, зарастающий луг, злаково-разнотравный луг.

Сравнительная характеристика весенне-летнего и осеннего периодов видового состава семейства Lycosidae ранее не проводилась, именно поэтому данное исследование является актуальным.

Материалы и методы. Основным методом исследования были почвенные ловушки Барбера. Ловушки представляют собой пластиковые стаканчики емкостью 250 мл,

наполненные на 2/3 72% раствором спирта в качестве фиксирующей жидкости и зарытые в почву на расстоянии в 1,5-2 м друг от друга. В каждом биотопе устанавливалась линия из 10 ловушек. Время экспозиции – 14 суток. Для характеристики относительного обилия видов пауков в наших пробах применялась пятибалльная логарифмическая шкала Песенко (1982). Преимущество данного подхода заключается в наличии формальных критериев для дифференциации видов. Такой показатель учитывает объем выборки, не зависит от значения обилия наиболее массового вида и позволяет сравнивать группировки с резко различной попадаемостью животных. Обилие видов в населении конкретного биотопа изменяется течение сезона [2].

Таблица – Разнообразие видов представителей семейства Lycosidae

LYCOSIDAE Sundevall, 1833	Осень 2022			
	Вырубка	Ельник	Зараст. Луг	Злак.-разнотр. Луг
<i>pod Alopecosa</i>				
Alopecosa cuneata (Clerck, 1757)			+	+
Alopecosa pulverulenta (Clerck, 1757)			+	+
Alopecosa taeniata (C.L.Koch, 1835)				
<i>pod Pardosa</i>				
Pardosa fulvipes (Collett, 1875)			+	+
Pardosa lugubris (Walckenaer, 1802)	+	+	+	+
Pardosa palustris (Linnaeus, 1758)			+	+
Pardosa sphagnicola (F.Dahl, 1908)				+
<i>pod Pirata</i>				
Pirata hygrophilus (Thorell, 1872)	+	+	+	
<i>pod Trochosa</i>				
Trochosa terricola Thorell, 1856		+	+	
Trochosa spinipalpis (F.O.P.-Cambridge, 1895)				
LYCOSIDAE Sundevall, 1833	Лето 2023			
	Вырубка	Ельник	Зараст. Луг	Злак.-разнотр. Луг
<i>pod Alopecosa</i>				
Alopecosa cuneata (Clerck, 1757)			+	+
Alopecosa pulverulenta (Clerck, 1757)	+	+	+	+
Alopecosa taeniata (C.L.Koch, 1835)				+
<i>pod Pardosa</i>				
Pardosa fulvipes (Collett, 1875)	+	+	+	+
Pardosa lugubris (Walckenaer, 1802)	+	+	+	+
Pardosa palustris (Linnaeus, 1758)	+	+	+	+
Pardosa sphagnicola (F.Dahl, 1908)				
<i>pod Pirata</i>				
Pirata hygrophilus (Thorell, 1872)		+	+	+
<i>pod Trochosa</i>				
Trochosa terricola Thorell, 1856	+	+	+	+
Trochosa spinipalpis (F.O.P.-Cambridge, 1895)		+	+	+

Результаты и обсуждение. В результате исследования 4 площадок на территории Кудымкарского района за 2 года было обнаружено 10 видов, относящихся к семейству Lycosidae. Из них к роду *Alopecosa* относится 3 вида, к роду *Pardosa* 4 вида, к *Trochosa* 2 вида и к роду *Pirata* 1 вид.

Наименьшим разнообразием видов обладает вырубка. Осенью, после длительного антропогенного воздействия, фауна не многочисленна и представлена лишь 2 видами – *Pardosa lugubris* и *Pirata hygrophilus*. В весенне-летний же период, когда ботаническое разнообразие достигает максимума на данной площадке, к составу пауков-герпетобионтов добавляются представители рода *Alopecosa* и *Trochosa*. Преобладающим видом на данной площадке в летний период является *Pardosa fulvipes* (57%), наименьшим же количеством представлена *Trochosa terricola* (4,6%).

Ельник представляет собой ту же тенденцию, что и вырубка. Резкие колебания видового состава можно объяснить преобладанием монокультуры на протяжении всех периодов, из чего можно сделать вывод, что численный состав зависит непосредственно от условий среды – температуры и влажности. В летний период, когда условия для нормального функционирования большинства герпетобионтов оптимальны, видовой состав намного выше. *Pardosa lugubris* (66,3%), *Pardosa fulvipes* (13,7%), *Alopecosa pulverulenta* (7,6%), *Pirata hygrophilus* (6,63%), *Trochosa spinipalpis* (2,55%), *Pardosa palustris* (2,04%), *Trochosa terricola* (1,02%).

Зарастающий луг представлен наибольшим разнообразием, как в весенне-летний, так и в осенний периоды. Фауна представлена всеми из обнаруженных представителей семейства Lycosidae, кроме *Alopecosa teaniata*. Наибольшее всего представителей рода *Pardosa* – *Pardosa fulvipes* (38,5%), *Pardosa palustris* (20,4%) и *Pardosa lugubris* (3,9%). Наименьшая попадаемость обнаружена у рода *Trochosa* – *Trochosa spinipalpis* (3,9%) и *Trochosa terricola* (1,2%).

Также тенденция к повышению видового состава в весенне-летний период замечена и на злаково-разнотравном лугу. Если в осенний период фауна представляет собой род *Alopecosa* и род *Pardosa*, то в летнее время обнаружены представители рода *Pirata* и *Trochosa*. Однако как и в случае с зарастающим лугом доминантным является вид *Pardosa fulvipes* (39,8%).

Библиографический список

1. Овеснов С.А. Конспект флоры Пермской области. Пермь, 1997
2. Песенко Ю.А. Принципы и методы количественного анализа в фаунистических исследованиях. М., 1982
3. Тыщенко В.П. 'Определитель пауков европейской части СССР. Определители по фауне СССР, издаваемые зоологическим институтом академии наук СССР, № 105' - Ленинград: Наука, 1971 - с.281
4. Есюнин С.Л. Фауна пауков (Aranei) Урала: разнообразие, структура, типизация. Пермь, 2015
5. Олигер Т. И. Пауки юго-восточного Приладожья. — СПб.: Изд-во С.-Петербург. ун-та, 2010. — 000 с. (Труды С.-Петербург. о-ва естествоисп.; Сер. 4. Т. 89).

ДОННЫЕ БЕСПОЗВОНОЧНЫЕ НЕКОТОРЫХ ВОДОТОКОВ ОЛЬСКОГО ПЛАТО (КОЛЫМСКОЕ НАГОРЬЕ)

Ермакова Т.В., Паньков Н.Н.

Пермский государственный национальный исследовательский университет, Пермь, Россия

Аннотация: В составе зообентоценозов Ольского плато выявлено 14 видов и форм водных беспозвоночных. Наиболее разнообразно представлены двукрылые и подёнки. Биомасса сообществ колеблется в пределах 2,2-13,9 г/м², а численность 1,2-13,4 тыс. экз./м².

Ключевые слова: зообентос, Ольское плато, Колымское нагорье

BENTHIC INVERTEBRATES OF SOME WATERCOURSES OF THE OLSKY PLATEAU (KOLYMA HIGHLANDS)

Ermakova. T.V., Pan'kov N.N.

Perm State National Research University, Perm, Russia

Abstract: 14 species and forms of aquatic invertebrates have been identified in the zoobenthocenoses of the Olsky plateau. Diptera and mayflies are represented in the most diverse ways. The biomass of communities ranges from 2.2-13.9 g/m², and the number of 1.2-13.4 thousand copies/m².

Key words: zoobenthos, Olsky plateau, Kolyma highlands

Введение

Ольское плато расположено на Охотском макросклоне северо-востока Азии в 130 км к северо-востоку от Магадана и занимает площадь около 100 км². Представляет собой массовое поднятие с абсолютными отметками вершин от 1100 до 1600 м и более, сложенное плоско-залегающими третичными базальтами, ныне интенсивно разрушенными с поверхности [1]. Река Ола и ее притоки образуют в пределах плато глубокие каньоны с относительной разницей высот в 600-700 м. Грунт водотоков преимущественно каменисто-галечный.

Растительность Ольского плато отличается от зональной растительности Охотско-Колымского водораздела и имеет много общих видов растений с Чукоткой [2]. Флора сосудистых растений плато изучена достаточно хорошо, и включает большое число видов, распространенных преимущественно в зональных и горных метаарктических тундрах и отсутствующих в других районах Колымского нагорья [3]. Исследуемая территория является местом повышенной концентрации реликтовых растений. Аннотированный список флоры плато насчитывает более 370 видов сосудистых растений.

Исследования бентоса водотоков Ольского плато ранее не проводились, поэтому настоящая работа представляется актуальной.

Материалы и методы

Материалом для работы послужили качественные и количественные сборы бентоса и имаго амфибиотических насекомых. Отбор проб осуществлялся на водотоках Ольского плато в период с 11 по 16 июля 2023 года.

Пробы отбирались бентометром площадью 0,0625 м². Организмы отделялись от грунта путем отмучивания в ведре и процеживания слива через промывалку. Пробы помещались в пластиковые банки, этикетировались и фиксировались 75% этиловым спиртом. Для уточнения таксономического состава амфибиотических насекомых производился отлов их крылатых особей. Имагинальные стадии фиксировались в растворе этилового спирта и глицерина.

Последующая обработка материала производилась по общепринятым гидробиологическим методикам [4]. Всего было исследовано 6 водотоков Ольского плато: ручей Восточный, р. Игака, р. Нил, р. Хурэнды, ручей Безымянный, и верховья реки Ола.

Структура сообществ рассчитывалась с помощью числовой классификации Чельцова-Бебутова в модификации Леванидова [5]. Доминанты составляли более 15.0% плотности или биомассы бентоса, субдоминанты – 5.0 – 14.9%, второстепенные виды – 1.0 – 4.9%, третьестепенные виды – менее 1.0%.

Результаты и обсуждение

В составе зообентоса водотоков Ольского плато выявлено 14 видов и форм (таблица). Наиболее разнообразно представлены личинки Diptera – 4 формы и Ephemeroptera – 3 вида. Среди Plecoptera и Trichoptera обнаружено по 2 вида и форме. Также встречаются Oligochaeta, Planaria и Hydracarina.

В ручье Восточном сформировалось сообщество донных животных, биомасса которых достигает 4,6 г/м², а численность 3,4 тыс. экз./м². По биомассе преобладают личинки подёнок *Cinygmula kurenzovi* (35,5%), двукрылые Tipulidae (31%) и Chironomidae (17%). К субдоминантам по биомассе относятся куколки Chironomidae (9,7%). Второстепенный комплекс представлен пятью таксонами. По численности преобладают личинки Chironomidae (50,4%). К субдоминантам по плотности относятся куколки Chironomidae (13%), подёнки *Cinygmula kurenzovi* (12,6%), Oligochaeta (9,8%), веснянки *Haploperla lepnevae* (8,4%). К второстепенному комплексу по плотности относится 4 таксона.

В реке Игаке сформировался зообентоценоз с биомассой 13,9 г/м², численностью 5,7 тыс. экз./м². Ядро сообщества по биомассе составляют личинки Simuliidae (73%). Субдоминанты отсутствуют. В комплекс второстепенных организмов по биомассе вошло 6 таксонов. По численности преобладают личинки Chironomidae (45,7%) и Simuliidae (40,1%). К субдоминантам относятся личинки подёнок *Acentrella fenestrata* (6,7%). К второстепенным организмам по плотности относится 3 таксона.

В реке Ниле сложился зообентоценоз с биомассой 2,8 г/м², и численностью 2,9 тыс. экз./м². По биомассе преобладают личинки Chironomidae (48,8%), Oligochaeta (28,9%). К субдоминантам относятся личинки Simuliidae (6,8%), веснянки *Nemoura arctica* (13%). К второстепенному комплексу по биомассе относятся 2 таксона. По численности преобладают личинки Chironomidae (79%). К субдоминантам относятся Oligochaeta (10,2%). К второстепенному комплексу по плотности относятся 4 таксона.

В реке Хуренде сформировался зообентоценоз, биомасса которого составляет 2,2 г/м², а численность 1,2 экз./м². Ядро сообщества по биомассе составляют личинки подёнок *Cinygmula kurenzovi* (66,9%). К субдоминантам относятся личинки двукрылых Tipulidae (11,3%), подёнок *Baetis bicaudatus* (6,3%) и *Acentrella fenestrata* (5,6%). К второстепенному комплексу по биомассе относятся 6 таксонов. По численности доминируют личинки подёнок *Cinygmula kurenzovi* (34,5%), Chironomidae (22,2%), *Baetis bicaudatus* (20,9%). К субдоминантам относятся Nymphomyiidae (6,1%), *Acentrella fenestrata* (5,9%). К второстепенному комплексу по плотности относятся 5 таксонов.

Таблица – Фауна донных беспозвоночных водотоков Ольского плато

Таксон	Водоток					
	Руч. Восточный	Р. Игака	Р. Нил	Р. Хурэнды	Руч. Безымянный	Р. Ола
Ephemeroptera						
Baetidae						
<i>Acentrella fenestrata</i> (Kazlauskas, 1963)	+	+	-	+	+	+
<i>Baetis bicaudatus</i> Dodds, 1923	-	-	-	+	-	+
Heptageniidae						
<i>Cinygmula kurenzovi</i> (Bajkova, 1965)	+	+	+	+	+	+
Plecoptera						
Chloroperlidae						
<i>Haploperla lepnevae</i> Zhiltzova et Zwick, 1971	+	+	+	+	+	+
Nemouridae						
<i>Nemoura arctica</i> Esben- Petersen, 1910	-	-	+	-	-	-
Trichoptera						
Glossosomatidae						
<i>Glossosoma sp.</i>	-	-	+	-	-	-
Brachicentridae	-	-	-	+	+	-
Diptera						
Chironomidae	+	+	+	+	+	+
Nimphomyiidae	-	-	-	+	-	
Simuliidae	+	+	+	-	-	+
Tipulidae	+	-	-	+	-	+
Oligochaeta	+	+	+	-	+	-
Plathelminthes						
Planaria	-	-	-	+	+	-
Hydracarina	+	-	-	+	+	+

Особый интерес представляет нахождение в этом водотоке высокоспециализированных двукрылых Nimphomyiidae, которые являются филогенетическими и географическими реликтами [4]. Всего в мировой фауне насчитывается 7 видов этого семейства, найденных в Японии, Приморье, Южном Сахалине, бассейне р. Амур, Верхней Колыме, Канаде, США и Индии.

В ручье Безымянном, вытекающем из Безымянного озера близ реки Хурэнды, сформировалось сообщество донных животных илистого грунта, биомасса которого достигает 7,6 г/м², а численность 13,4 тыс. экз./м². По биомассе доминируют Oligochaeta (33,4%), личинки Chironomidae (33,3%) и подёнки *Acentrella fenestrata* (26,4%). К второстепенному комплексу по биомассе относятся 6 таксонов. По численности доминируют личинки

Chironomidae (59,2%), Oligochaeta (37,3%). Субдоминанты представлены личинками подёнок *Acentrella fenestrata* (11,9%). К второстепенному комплексу по плотности относятся 6 таксонов.

В реке Оле сформировался зообентоценоз с биомассой 6,3 г/м² и численностью 3,7 экз./м². По биомассе доминируют личинки двукрылых Tipulidae (26,7%), подёнок *Cinygmula kurenzovi* (25,4%), Simuliidae (17,7%). К субдоминантам относятся подёнки *Acentrella fenestrata* (13%), *Baetis bicaudatus* (6,5%). Второстепенный комплекс по биомассе составляют 4 таксона. По численности доминируют подёнки *Acentrella fenestrata* (47,8%), *Baetis bicaudatus* (23,9%). К субдоминантам относятся личинки Chironomidae (12,2%), Simuliidae (7,2%). К второстепенному комплексу по плотности относятся 5 таксонов.

Библиографический список

1. Хохряков А. П., Юрцев Б. А. Флора Ольского базальтового плато (Колымско-Охотский водораздел) // Бюллетень Московского общества испытателей природы, отд. биол. 1974. Т. 79. Вып. 2. С. 59-70.
2. ИАС «ООПТ РФ» URL: <http://oopt.aari.ru/> (дата обращения 10.04.2024)
3. Юрцев Б. А., Хохряков А. П. Анализ флоры Ольского плато (в связи с историей растительного покрова Колымского нагорья) // Бюллетень Московского общества испытателей природы, отд. биол. 1975. Т. 80. Вып. 2. С. 120-133.
4. Методические рекомендации по сбору и определению зообентоса при гидробиологических исследованиях водотоков Дальнего Востока России: Методическое пособие. — М.: Изд-во ВНИРО. 2003.— 95 с: Ил. 44, библ. 47.
5. Леванидов В.Я., 1977. Биомасса бентоса некоторых водотоков Чукотского п-ова // Гидробиологический журнал. Т. 13. Вып. 1. С. 56–62.

БИОТОПИЧЕСКОЕ РАСПРЕДЕЛЕНИЕ И СЕЗОННАЯ ДИНАМИКА ПОПАДАЕМОСТИ ДНЕВНЫХ ЧЕШУЕКРЫЛЫХ ЗАКАЗНИКА ПРЕДУРАЛЬЕ

Жуланова В.И., Лямин М.Я.

Пермский государственный национальный исследовательский университет, Пермь

Аннотация. В работе представлены некоторые новые сведения о фауне чешуекрылых УНБ «Предуралье», полученные в 2022 году.

Ключевые слова: чешуекрылые, Предуралье, структура населения

BIOTOPIC DISTRIBUTION AND SEASONAL DYNAMICS OF THE OCCURRENCE OF DIURNAL SCALES IN THE PRE-URALS RESERVE

Zhulanova V.I., Lyamin M.Ya.

Perm State National Research University, Perm

Annotation. The paper presents some new data on the fauna of scales of scales of the «Pre-Uralie» Reserve obtained in 2022.

Key words: scales, Urals, population structure

Исследования проводились в период с 8 июня по 20 июля 2022 года на территории УНБ «Предуралье». В течение всего периода исследований дневных чешуекрылых собирались с помощью энтомологического сачка. Собранный материал раскладывался в конвертики, где подписаны дата, время, место сбора, температура воздуха в момент отлова, освещенность в момент отлова. Определение материала проводилось в лаборатории по справочникам-определителям чешуекрылых [1-6]. В таблице представлена структура населения дневных чешуекрылых в исследованных биотопах.

Таблица - Биотопическое распределение дневных чешуекрылых заказника Предуралье

Биотопы Семейства/Виды	Суходольные луга		Пойменные луга		Опушка леса	
	Экз.	%	Экз.	%	Экз.	%
Семейство HesperIIDae	27	42,9	14	22,2	22	34,9
<i>Ochlodes sylvanus</i> Esper, 1777	25	39,7	14	22,2	22	34,9
<i>Pyrgus alveus</i> Hübner, 1803	2	3,2				
Семейство Pieridae	24	44,4	8	14,8	22	40,7
<i>Aporia crataegi</i> Linnaeus, 1758	4	7,4			3	5,6
<i>Euchloe ausonia</i> Hübner, 1805			5	9,3	3	5,6
<i>Gonepteryx rhamni</i> Linnaeus, 1758	1	1,9	1	1,9	7	13
<i>Leptidea sinapis</i> Linnaeus, 1758	10	18,5	1	1,9	5	9,3
<i>Pieris brassicae</i> Linnaeus, 1758	7	13	1	1,9	4	7,4

Таблица (окончание)

Биотопы Семейства/Виды	Суходольные луга		Пойменные луга		Опушка леса	
	Экз.	%	Экз.	%	Экз.	%
<i>Pieris napi</i> Linnaeus, 1758	2	3,7				
Семейство Nymphalidae	12	21,1	6	10,5	39	68,4
<i>Aglais io</i> Linnaeus, 1758	2	3,5				
<i>Aglais urticae</i> Linnaeus, 1756					1	1,8
<i>Apatura ilia</i> Denis et Schiffermüller, 1775					2	3,5
<i>Argynnis paphia</i> Linnaeus, 1758	5	8,8	3	5,3	4	7
<i>Limenitis camilla</i> Linnaeus, 1764	1	1,8	2	3,5	24	42,1
<i>Melitaea athalia</i> Rottemburg, 1775	2	3,5				
<i>Melitaea didyma</i> Esper, 1778					3	5,3
<i>Nymphalis antiopa</i> Linnaeus, 1758	1	1,8	1	1,8		
<i>Polygonia c-album</i> Linnaeus, 1758					2	3,5
<i>Vanessa cardui</i> Linnaeus, 1758	1	1,8			3	5,3
Семейство Satyridae	195	85,5	19	8,3	14	6,1
<i>Aphantopus hyperantus</i> Linnaeus, 1758	11	4,8	11	4,8	5	2,2
<i>Erebia aethiops</i> Esper, 1777	159	69,7				
<i>Maniola jurtina</i> Linnaeus, 1758	2	0,9			1	0,4
<i>Coenonympha glycerion</i> Borkhausen, 1788	23	10,1	8	3,5	5	2,2
Семейство Papilionidae	1	50,0	1	50,0		
<i>Papilio machaon</i> Linnaeus, 1758	1	50,0	1	50,0		
Семейство Lycaenidae	69	45,7	38	25,2	44	29,1

На рисунке 1 показана количественная структура населения дневных чешуекрылых в обследованных биотопах. В результате было обнаружено, что наибольший процент представителей семейства *Hesperiidae* характерен для суходольного луга (42,9%). Меньшее число особей данного семейства было поймано на опушке леса (34,9%). Ещё меньше на пойменном лугу (22,2%). Особи семейства *Pieridae* преобладают на суходольных лугах (44,4%). Также в достаточном количестве особи данного семейства встречаются на опушке леса (40,7%), и на пойменных лугах (14,8%). Бабочки из семейства *Lycaenidae* преобладают на суходольном лугу (45,7%). Небольшой процент распределения представителей данного семейства отмечен на опушке леса (29,1%), пойменном лугу (25,2%). Наибольший процент представителей семейства *Nymphalidae* отмечен на опушке леса (68,4%), также достаточно часто особи семейства встречаются на суходольном лугу (21,1%), наименьшее количество экземпляров было поймано на пойменных лугах (10,5%).

Представители семейства *Satyridae* наиболее характерны для суходольного луга (85,5%), незначительное количество экземпляров было поймано на пойменном лугу (8,3%) и на опушке леса (6,1%). Бабочки семейства *Papilionidae* встречаются на суходольном лугу (50%), а также были найдены на пойменном лугу (50%), на опушке леса замечены не были.

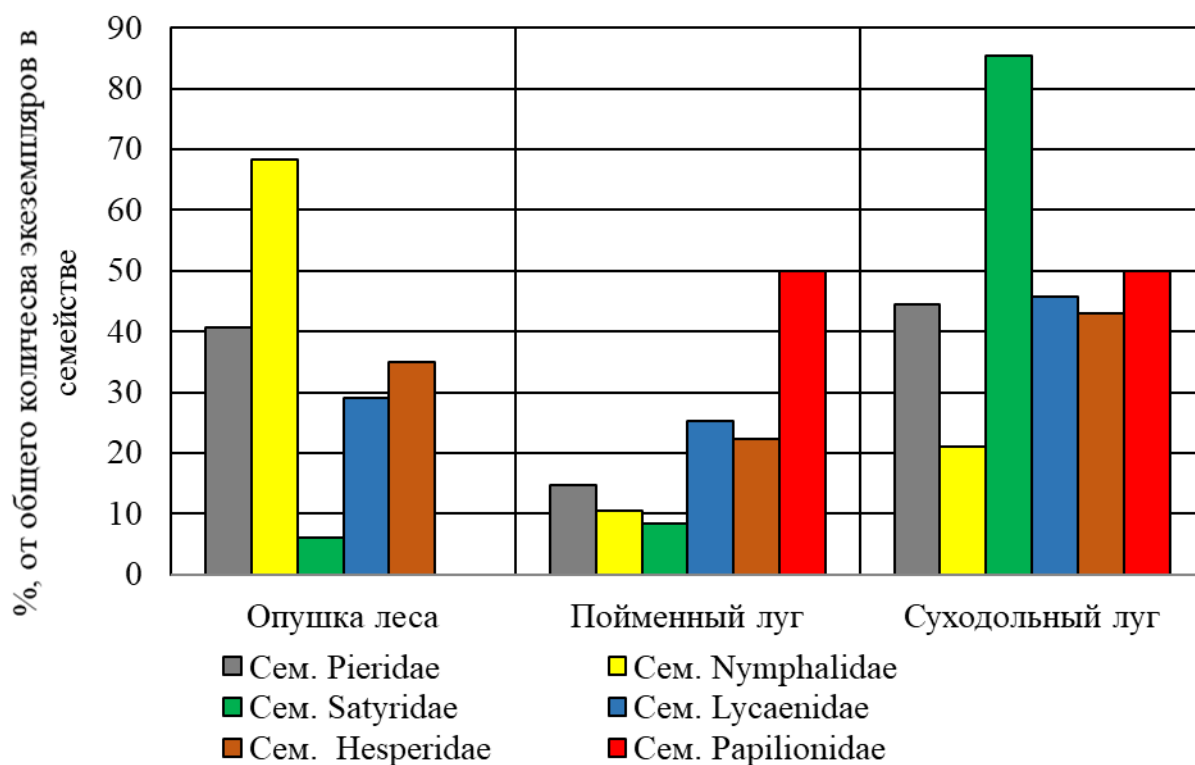


Рисунок 1 – Биотопическое распределение дневных чешуекрылых по семействам.

На рисунке 2 представлено видовое богатство в исследуемых биотопах. Как видно на диаграмме на пойменном лугу доминируют виды из семейства Pieridae (4 вида), затем виды семейства Nymphalidae (3 вида), Satyridae (2 вида), Papilionidae и Hesperidae (1 вид). На опушке леса доминировали виды семейства Nymphalidae (7 видов), Pieridae (5 видов), Satyridae (4 вида), Papilionidae и Hesperidae (1 вид). На суходольном лугу доминируют представители семейства Nymphalidae (6 видов), далее Pieridae (5 видов), Satyridae (4 вида), Hesperidae (2 вида), виды из семейства Papilionidae не встретились.

В результате метеорологических измерений в ходе проведения исследований нами было выявлено, что наиболее оптимальные условия для активности чешуекрылых были 14, 15 июня и 4, 6, 13, 18 июля. Остальные дни характеризуются как очень низкими температурами, обильными осадками и очень сильными ветрами, так и чрезмерно высокой температурой воздуха, что отрицательно сказалось на лётной активности бабочек. На рисунке 3 показана динамика лета дневных чешуекрылых.

На диаграмме видно, что июль был более благоприятен для лёта чешуекрылых, чем июнь. Вторая половине июня характеризуется более низкой активностью чешуекрылых, это напрямую связано с неблагоприятными погодными условиями, такими как пониженные температуры, сильные ветра и обильные дожди, а также с особенностями жизненного цикла многих видов. Максимальная активность чешуекрылых отмечена в середине июля. В этот период было поймано 369 экземпляра. Всего же за июль было собрано 514 экземпляров.

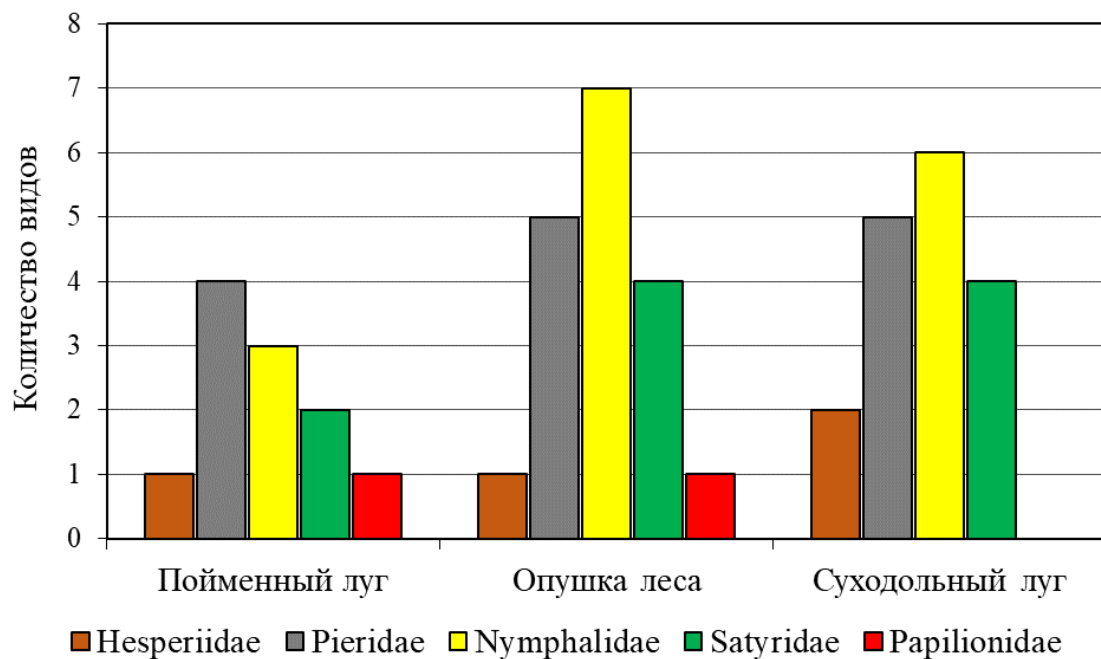


Рисунок 2 – Видовое богатство чешуекрылых в исследуемых биотопах.

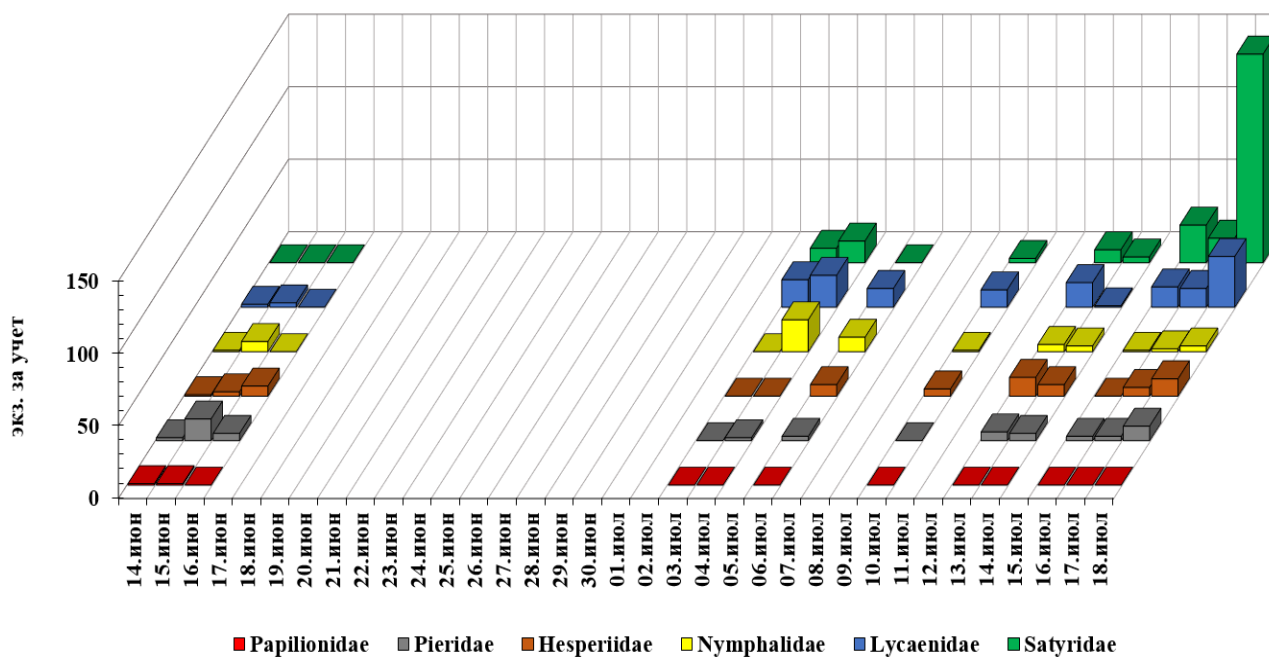


Рисунок 3 – Сезонная динамика попадаемости дневных чешуекрылых в 2022 году.

Активный лёт бабочек начался с июля, в связи с плохой погодой. С первых чисел июля представители семейства Satyridae показывает значительную активность. Наибольшее количество экземпляров зарегистрировано 18 июля 2022 года. Представители семейства Lycaenidae также активно и повсеместно встречались, пики зарегистрированы 4 июля и 18 июля. Экземпляров из семейства Nymphalidae было не так много, пик активности 4 июля. Особи из семейства Hesperidae тоже встречались, но экземпляров было мало, пики активности 13 июля и 18 июля. У чешуекрылых из семейства Pieridae активность приходилась на 6 июля,

13 июля и 18 июля. Бабочки из семейства Papilionidae были встречены всего 2 раза 14 июня и 15 июня.

Выводы.

1. В сезонной динамике лёта пики активности наблюдались 3-4, 13-14 и 16-18 июля, что связано с наиболее благоприятными погодными условиями для лета чешуекрылых.
2. Наибольшая численность чешуекрылых отмечена нами на суходольном лугу, затем наблюдается снижение численности в ряду биотопов: опушка леса, и пойменный луг.
3. Отмечены существенные различия в структуре населения чешуекрылых в исследуемых биотопах: нимфалиды характерны для опушки леса, бархатниц, белянки, голубянки и толстоголовки доминировали на суходольном лугу, 2 экземпляра парусников встретились на опушке леса и пойменном лугу. Такие отличия в структуре доминирования связаны с особенностями трофической специализации как на стадии имаго, так и на стадии гусеницы.
4. Наиболее эвритопными видами являются представители семейства Nymphalidae (*Argynnis paphia*, *Limenitis camilla*), Pieridae (*Leptidia sinapis*, *Pieris brassicae*), Satyridae (*Erebia aethiops*), Hesperidae (*Ochlodes sylvanus*), что связано с особенностями их биологии.

Библиографический список

1. Горбунов П.Ю., Ольшванг В.Н. Бабочки Среднего Урала: Справочник-определитель. – Екатеринбург. из-во «Сократ», 2007. С. 352.
2. Горбунов П.Ю., Ольшванг В.Н. Бабочки Южного Урала: Справочник-определитель. – Екатеринбург. из-во «Сократ», 2008. С. 416.
3. Коршунов Ю.П., Горбунов П.Ю., Дневные бабочки азиатской части России: Справочник. – Екатеринбург: Изд-во Урал ун-та, 1995. С. 202.
4. Мигранов М.Г., Булавоусые чешуекрылые Башкирии: Определитель// БНЦ УрО СССР. Уфа, 1991. С. 132.
5. Татаринов А.Г., Долгин М.М., булавоусые чешуекрылые // Фауна европейского Северо-Востока России. Булавоусые чешуекрылые. СПб: Наука, Т.7, ч. 1, 1999. С. 183.
6. Bestimmungshilfe. – URL: https://lepiforum.de/lepiwiki_vgl.pl?Bestimmungshilfe (дата обращения: 12.09.2022).

РУЧЕЙНИКИ (TRICHOPTERA: INSECTA) БАССЕЙНА РЕКИ ОЧЁР

Манина М.Ю., Власов С.В.

Пермский государственный национальный исследовательский университет, Пермь

Аннотация. Представлены результаты исследований фауны ручейников бассейна реки Очёр. По собственным и литературным данным о бентосе зарегистрировано 40 видов, приводится их список. Наиболее богаты видами семейства Limnephilidae и Leptoceridae. Указаны доминирующие виды, индекс встречаемости, приведены их количественные характеристики.

Ключевые слова: ручейники, зообентос, Очёр

THE CADDISFLIES (INSECTA: TRICHOPTERA) OF THE OCHER RIVER BASIN

Manina M.Y., Vlasov S.V.

Perm State National Research University, Perm, Russia

Abstract. The results of studies of the caddisfly fauna of the Ocher River basin are presented. According to our own and literary data on benthos, 40 species have been registered, and a list of them is given. The richest species are from the families Limnephilidae and Leptoceridae. The dominant species, the occurrence index are indicated, and their quantitative characteristics are given.

Key words: caddisflies, zoobenthos, Ocher

Река Очёр — типичная равнинная река, является одним из крупных правобережных притоков Воткинского водохранилища. Длина реки составляет 82 км, площадь водосбора — 1210 км² [8].

Сведения по ручейникам в составе зообентоценозов реки содержатся в работах [1,2,3]. Для выявления состояния донной фауны реки нами проведена гидробиологическая съемка р. Очёр. Отбор количественных гидробиологических проб проводился в полевой сезон 2016-2018 гг по унифицированному методу [6] при помощи гидробиологического скребка шириной 15 см. Пробы собирали на семи станциях, расположенных в верхнем (№ 1 — близ д. Киприно), среднем (№ 2 и 3 — в черте г. Очёр, № 4 — близ д. Грязново) и нижнем (№ 5 — близ д. Галешник, № 6,7 — близ с. Острожка, 6) течении реки. При выборе станций учитывали тип грунта, наличие заиления, детрита и высшей водной растительности. Кроме того, были отобраны разовые пробы в Очёрском пруду и пруду на реке Сосновке. Всего собрано 115 проб. Идентификация ручейников проводилась по определителям и отдельным статьям [4,5,7,10]. При составлении фаунистических списков ручейников придерживались системы, принятой в электронной базе данных Pan-European Species directories Infrastructure [9].

По оригинальным данным трихoptерофауна бассейна р. Очёр насчитывает 40 видов (табл. 1), относящихся к 13 семействам. По видовому составу среди ручейников бассейна р. Очёр преобладают виды сем. Limnephilidae — 12; в семействе Leptoceridae отмечено 9 видов, сем. Hydropsychidae — 4 вида, сем. Polycentropodidae — 3 вида, сем. Hydroptilidae — 2 вида, в

остальных семействах по одному виду. Такое соотношение видовой представленности семейств в целом соответствует их распределению в фауне Палеарктики.

Наибольший индекс встречаемости отмечается у ручейников из сем. Hydropsychidae: *Hydropsyche angustipennis*, *Hydropsyche pellucidula* и *Hydropsyche contubernalis* (86%). У двух видов индекс встречаемости оказался равным 71%. Это *Neureclipsis bimaculata* и *Psychomyia pusilla*. У трех видов: *Ecnomus tenellus*, *Brachycentrus subnubilus*, *Apatania crymophila* индекс встречаемости 57%. У остальных видов индекс встречаемости меньше 50%.

В биотопах р. Очёр формируются трихoptероценозы, различающиеся по видовому разнообразию и с неодинаковыми показателями численности и биомассы. Только на гравийно-галечниковом грунте верхнего течения отмечены *Halesus tessellatus*, *Limnephilus extricatus*, *Potamophylax rotundipennis* и *Oecetis* sp. Виды *Limnephilus flavicornis*, *Ceraclea dissimilis*, *Silo pallipes*, *Hydroptila* sp. зарегистрированы лишь на заиленном гравийно-песчаном грунте среди зарослей элодеи. Вид *Polycentropus flavomaculatus* был встречен только на песчаном грунте близ д. Грязново, а *Phryganea bipunctata* и *Polycentropus irroratus* обнаружены только в нижнем течении на гравийно-песчаном биотопе. Общими для биотопов среднего и нижнего течения оказались виды *Psychomyia pusilla*, *Neureclipsis bimaculata*, *Ecnomus tenellus*. Виды сем. Hydropsychidae (*Hydropsyche angustipennis*, *H. contubernalis*, *H. pellucidula*) отмечены на всех исследованных биотопах.

Наибольшим таксономическим разнообразием характеризуется сообщества ручейников заиленного гравийно-песчаного биотопа с зарослями элодеи среднего течения (22 вида), наименьшим — трихoptероценоз песчано-гравийного биотопа в устье безымянного ручья (7 видов).

Доминантный комплекс верхнего течения реки складывается из ручейников *Hydropsyche contubernalis* – 28,2%. Среди заиленного гравийно-песчаного биотопа с зарослями элодеи доминируют также *Hydropsyche contubernalis* – 48,5%, субдоминантом является *Neureclipsis bimaculata*. В устье ручья (станция 3) абсолютным доминантом является холодолюбивый вид *Apatania crymophila* – 84,4%. На песчаном биотопе среднего течения преобладает *Hydropsyche pellucidula* - 33,3%. На станции 5 доминировал *Hydropsyche contubernalis* – 50,5%. В нижнем течении у с. Острожка преобладающим видом оказался *Hydropsyche pellucidula* - 64,4%.

Таблица 1 - Видовой состав и распределение ручейников по станциям бассейна реки Очёр в 2016-2018 гг.*

Название таксона	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Семейство Rhyacophilidae										
<i>Rhyacophila nubila</i> Zetterstedt, 1840	+	+			+					
Семейство Ecnomidae										
<i>Ecnomus tenellus</i> (Rambur, 1842)		+		+	+	+				
Семейство Brachycentridae										
<i>Brachycentrus subnubilus</i> Curtis, 1834	+	+				+	+			
Семейство Hydropsychidae										
<i>Cheumatopsyche lepida</i> (Pictet, 1834)	+	+			+	+	+			
<i>Hydropsyche angustipennis</i> (Curtis, 1834)	+	+	+	+	+	+	+			
<i>Hydropsyche contubernalis</i> McLachlan, 1865	+	+	+	+	+	+	+			
<i>Hydropsyche pellucidula</i> (Curtis, 1834)	+	+	+	+	+	+	+			
Семейство Apataniidae										
<i>Apatania crymophila</i> McLachlan, 1880	+	+	+				+			

Название таксона	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Семейство Limnephilidae										
<i>Anabolia furcata</i> Brauer, 1857		+		+				+		
<i>Arctopora trimaculata</i> (Zetterstedt, 1840)	+			+						
<i>Chaetopteryx villosa</i> (Fabricius, 1798)									+	+
<i>Halesus radiatus</i> (Curtis, 1834)	+	+		+						
<i>Halesus tessellatus</i> (Rambur, 1842)	+									
<i>Limnephilus extricatus</i> McLachlan, 1865	+									
<i>Limnephilus flavicornis</i> (Fabricius, 1787)		+								
Название таксона	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
<i>Limnephilus fuscinervis</i> (Zetterstedt, 1840)										+
<i>Limnephilus nigriceps</i> (Zetterstedt, 1840)									+	
<i>Limnephilus politus</i> McLachlan, 1865										+
<i>Limnephilus rhombicus</i> (Linnaeus, 1758)						+				+
<i>Limnophilus</i> sp.		+								
<i>Potamophylax latipennis</i> (Curtis, 1834)			+							
<i>Potamophylax rotundipennis</i> (Brauer, 1857)	+									
Семейство Hydroptilidae										
<i>Agraylea multipunctata</i> Curtis, 1834						+	+			
<i>Hydroptila</i> sp.		+								
Семейство Leptoceridae										
<i>Athripsodes aterrimus</i> (Stephens, 1836)						+	+			+
<i>Athripsodes cinereus</i> (Curtis, 1834)		+			+					
<i>Athripsodes commutatus</i> (Rostock, 1874)		+						+		
<i>Ceraclea annulicornis</i> (Stephens, 1836)		+			+					
<i>Ceraclea dissimilis</i> (Stephens, 1836)		+								
<i>Ceraclea excisa</i> (Morton, 1904)					+					
<i>Ceraclea senilis</i> (Burmeister, 1839)		+			+					
<i>Mystacides azureus</i> (Linnaeus, 1761)		+						+		
<i>Oecetis</i> sp.	+									
Семейство Polycentropodidae										
<i>Neureclipsis bimaculata</i> (Linnaeus, 1758)		+	+	+	+	+		+		
<i>Polycentropus flavomaculatus</i> (Pictet, 1834)				+						
<i>Polycentropus irroratus</i> Curtis, 1835						+				
Семейство Psychomyiidae										
<i>Psychomyia pusilla</i> (Fabricius, 1781)	+	+	+	+	+	+	+			
Семейство Molannidae										
<i>Molanna angustata</i> Curtis, 1834									+	
Семейство Phryganeidae										
<i>Phryganea bipunctata</i> Retzius, 1783						+				
Семейство Goeridae										
<i>Silo pallipes</i> (Fabricius, 1781)		+								
Всего	14	22	7	10	12	13	9	4	3	5

Примечание: *1 – станция 1; 2 – станция 2; 3 – станция 3; 4 – станция 4; 5 – станция 5; 6 – станция 6; 7 – станция 7; 8 – р. Очёр (Кокуй), заросли; 9 – Очёрский пруд; 10 – пруд на р. Сосновка

Наибольшая численность отмечена в сообществе ручейников на заиленном гравийно-песчаном грунте среди зарослей элодеи (950 экз/м²). Высокие показатели биомассы характерны также для сообществ ручейников гравийно-песчаного биотопа (13,657 г/м²).

Наименьшие показатели как численности, так и биомассы отмечены для сообществ ручейников песчаного биотопа среднего течения (36 экз/м² и 0,1 г/м² соответственно).

Библиографический список

1. Боброва О.А. Сезонная динамика бентоса реки Очёр Пермской области // Учёные записки Пермского государственного университета. – Пермь. – 1969. – Т. 179. – С. 198-212.
2. Боброва О.А. Донная фауна малых рек Очёра и Бабки // Материалы итоговой научной конференции зоологов Волжско-Камского края. – Казань. – 1970. – С. 315-321.
3. Кузнецова В.И., Зенкова Н.И., Костарева Н.П. Гидробиологический очерк реки Очёра // Изв. ест.-науч. ин-та при Пермском ун-те. – 1959. – Т. 14. – Вып. 3. – С. 85 – 95.
4. Лепнева С.Г. Фауна СССР. Ручейники. Т. II, вып. 1. Личинки и куколки подотряда кольчатощупиковых (Annulipalpia). – М.: Наука. – 1964. – 560 с.
5. Лепнева С.Г. Фауна СССР. Ручейники. Т. II, вып. 2. Личинки и куколки подотряда цельнощупиковых (Integripalpia). – М.: Наука. – 1966. – 560 с.
6. Методика изучения биогеоценозов внутренних водоемов / Под. ред. Ф.Д. Мордухай-Болтовского. – М.: Наука. – 1975. — 239 с.
7. Определитель пресноводных беспозвоночных России и сопредельных территорий. Т. 5. Высшие насекомые (ручейники, чешуекрылые, жесткокрылые, сетчатокрылые, большекрылые, перепончатокрылые) / Под общ. ред. С.Я. Цалолихина. – СПб.: Наука. – 2001. – 836 с.
8. Ресурсы поверхностных вод СССР. Т. 11: Средний Урал и Приуралье. Вып. 1. Кама. Т. 11 / Уральское упр. гидрометеорол. Службы. – 1966. – 324 с.
9. PESI, 2024. Pan-European Species directories Infrastructure. Accessed through www.eunomen.eu/portal, at 2024-05-16 (дата обращения: 15.05.2024).
10. Waringer, J. & Graf, W. Key and bibliography of the genera of European Trichoptera larvae // Zootaxa. – 2013. – V. 3640. – №2. – P. 101–151.

ПРИМЕНЕНИЕ ЛОВУШЕК МЕРИКЕ ПРИ ИЗУЧЕНИИ ЛОКАЛЬНОЙ ФАУНЫ ЧЛЕНИСТОНОГИХ

Шутова Е.Н.^{1,2}, Новикова У.Д.³

¹ Пермский государственный национальный исследовательский университет, Пермь, Россия

² Арктический научно-исследовательский стационар Института экологии растений и животных УрО РАН, г. Лабытнанги, Россия

³ Пермский государственный национальный исследовательский университет, Лицей с углубленным изучением отдельных учебных предметов, Пермь, Россия

Аннотация. Проведён анализ стационарных сборов членистоногих, полученных с применением линии ловушек Мерике в период с 11 июня по 3 июля 2023 года на территории полевого стационара «Еркута». Всего собрано 327 экземпляров из 25 семейств. В сборах доминировали насекомые, в частности отряд Diptera.

Ключевые слова: членистоногие, ловушки Мерике, таксономический состав, Ямал

THE USE OF MERIKE TRAPS IN THE STUDY OF THE LOCAL ARTHROPOD FAUNA

Shutova E.N.^{1,2}, Novikova U.D.³

¹ Perm State National Research University, Perm, Russia

² Arctic Research Station of the Institute of Plant and Animal Ecology of the Ural Branch of the Russian Academy of Sciences, Labytnangi, Russia

³ Perm State National Research University, Lyceum with Advanced Study of Selected Academic Subjects, Perm, Russia

Abstract. The analysis of stationary collections of arthropods obtained using a line of Merike traps in the period from June 11 to July 3, 2023 on the territory of the Eerkuta field-station was carried out. Totally 327 specimens belonging 25 families were collected. Insects were the dominants in the collection, in particular belonging to order Diptera.

Key words: arthropods, Merike traps, taxonomic composition, Yamal

Ловушки Мерике – эффективный и доступный метод стационарного лова активно летающих насекомых. В первую очередь, ловушки Мерике рассчитаны на опылителей, а именно на имаго двукрылых и перепончатокрылых. Сами ловушки представляют собой пластиковые тарелки, как правило жёлтого цвета, которые устанавливают в линию на исследуемой территории [1]. Считается, что их принцип действия основан на зрительной чувствительности многих насекомых к предметам, напоминающим формой и окраской цветы и соцветия. Помимо непосредственных опылителей, в ловушки Мерике могут попадаться насекомые не связанные с цветами (например, паразитические перепончатокрылые, тли) и некоторые герпетобионты [2].

Целью нашей работы стала оценка биоразнообразия артроподофауны юго-западной тундры полуострова Ямал при помощи ловушек Мерике.

Сбор материала осуществлялся в период с 11 июня по 3 июля 2023 года. Исследования проводились на территории полевого стационара «Еркута», ловушки Мерике были

установлены на правом берегу реки Паютаяха (N 68,22443° E 69,15051°). Выбор локации для установки ловушек был обусловлен наличием ветровой тени. Всего нами было использовано пять чашек жёлтого цвета, которые выставлялись в линию на расстоянии друг от друга 1 метр, и были прикопаны в грунт для более устойчивого положения. В качестве фиксатора мы использовали раствор моющего средства и поваренной соли. Выемка материала осуществлялась раз в 1-3 дня, в зависимости от количества насекомых. Собранных насекомых мы помещали в пробирку, фиксировали 70%-м этиловым спиртом и этикетировали. В общей сложности было отобрано 10 проб, включающих 327 экземпляров членистоногих.

Всего ловушками Мерики удалось собрать представителей трёх классов членистоногих – Collembola, Arachnida и Insecta. И по частоте встречаемости, и по таксономическому разнообразию доминировали насекомые, их доля по частоте встречаемости составила 88% (рис. 1). Среди представителей пауков были отмечены два семейства – Linyfiidae и Lycosidae. В рамках этого класса, по численности и разнообразию преобладали представители семейства Linyfiidae, что в целом характерно для Арктических экосистем. Самая маленькая доля пришлась на представителей класса Collembola, однако, это может не отображать реальной картины локальной артроподофауны, так как при сборе материала сборщик не всегда мог заметить их в чашках Мерики, из-за маленьких размеров коллембол, а при определении мы ограничивались определением до класса, не вдаваясь в более низкие таксоны.

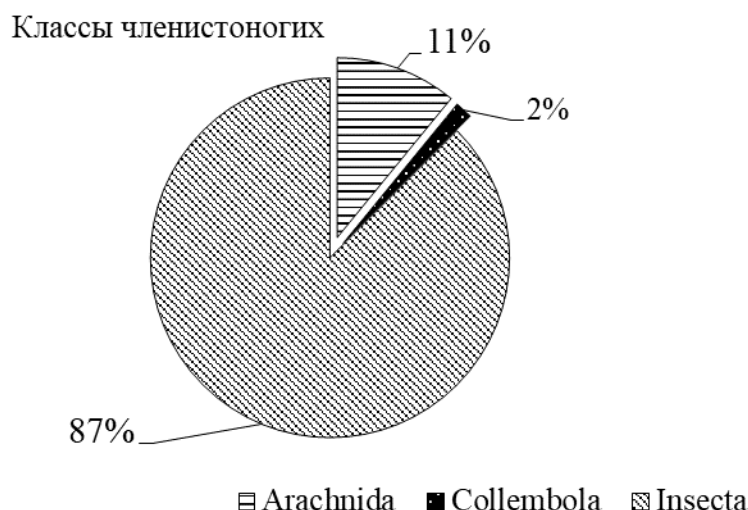


Рисунок 1 - Соотношение классов обнаруженных членистоногих по частоте встречаемости.

Среди наиболее богато представленного класса мы выделили четыре отряда – Hymenoptera, Hemiptera, Coleoptera и Diptera (рис. 2). Фауна перепончатокрылых в основном была представлена инфраотрядом наездники. Жуки были представлены двумя семействами – листоедами и жужелицами. Среди полужесткокрылых нами были отмечены клопы, листоблошки и цикадки. Доминировал и по численности, и по таксономическому разнообразию отряд двукрылые – нами были отмечены представители пятнадцати семейств. Все насекомые, зафиксированные ловушками Мерики в период с 11 июня по 3 июля были на имагинальной стадии развития.

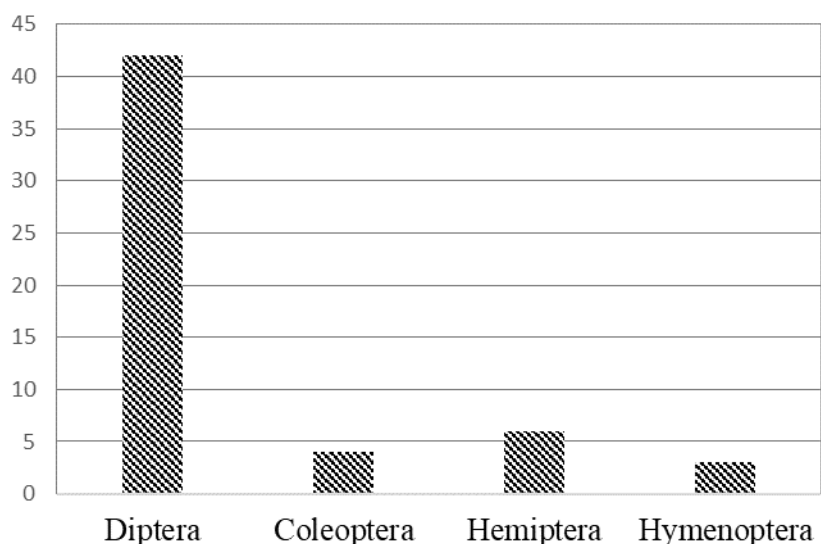


Рисунок 2 - Соотношение отрядов насекомых по частоте встречаемости.

Лидирующим отрядом в составе энтомофауны оказались двукрылые. Нами были встречены представители отрядов Nematocera и Brachycera, но доминировали по численности, таксономическому разнообразию и частоте встречаемости в пробах короткоусые двукрылые. Среди комаров мы зафиксировали хирономид, мокрецов, лимонид, грибных комариков. Мухи были представлены десятью семействами, среди которых наибольшая доля пришлась на семейства Dolichopodidae, Phoridae и Tachinidae.

В таблице 1 представлены семейства, которые нам удалось обнаружить при помощи ловушек Мерике в период с 11 июня по 3 июля 2023 года, а также число экземпляров, обнаруженных каждые пять дней.

Как мы видим из таблицы, в сборах отсутствуют членистоногие в период с 11 июня по 15 июня. Это связано с тем, что этот период пришёлся на середину июня, когда на территории исследования ещё не сошёл снежный покров. Так, 12 июня, на исследуемой территории были отмечены экстремально холодные условия. Несмотря на это, среднесуточная температура за этот период была выше, чем за некоторые последующие, когда ловушки Мерике фиксировали активность членистоногих. В ходе исследования нами были обнаружены представители двадцати пяти таксонов.

В сборах регулярно встречались пауки, в частности семейство Linyfiidae (41 экземпляр), и насекомые. Среди насекомых чаще всего встречался доминирующий отряд – Diptera, в частности такие семейства как Chironomidae (27 экземпляров), Dolichopodidae (102 экземпляра), Mucetophilidae (8 экземпляров), Phoridae (54 экземпляра). Общая численность членистоногих за исследуемый период составила 327 экземпляров.

Стационарные методы пассивного лова, осуществляемые в течение вегетационного сезона, позволяют получать стандартизированные количественные данные, которые можно применить для установления периода активности конкретных видов или целых таксономических групп. Мы попытались отследить динамику активности в период с 11 июня по 3 июля (рис.3).

Таблица 1 - Таксономический состав членистоногих и распределение числа экземпляров из разных семейств в период с 11 июня по 3 июля 2023 г.

Номер	Таксон	Период					Всего
		11.06- 15.06	16.06. – 20.06	21.06. – 25.06	26.06. – 30.06	1.07 – 3.07	
1	надсемейство Aphidoidea	-	4	-	-	-	4
2	семейство Carabidae	-	-	-	4	1	5
3	семейство Ceratopogonidae	-	-	-	14	-	14
4	семейство Chironomidae	-	3	8	10	6	27
5	семейство Chloropidae	-	-	1	4	-	5
6	семейство Chrysomelidae	-	-	-	2	1	3
7	семейство Cicadelidae	-	-	-	2	-	2
8	семейство Dolichopodidae	-	52	15	18	17	102
9	семейство Empididae	-	-	-	1	3	4
10	семейство Ephydriidae	-	1	-	-	1	2
11	надсемейство Ichneumonoidea	-	1	-	-	-	1
12	семейство Ichneumonidae	-	-	1	-	1	2
13	семейство Limoniidae	-	-	1	-	-	1
14	семейство Linyphiidae	-	14	13	13	1	41
15	семейство Lycosidae	-	-	-	-	1	1
16	семейство Muscidae	-	-	-	11	4	15
17	семейство Mycetophilidae	-	2	2	2	2	8
18	семейство Phoridae	-	4	13	19	18	54
19	надсемейство Psylloidea	-	-	-	2	2	4
20	семейство Saldidae	-	-	1	-	-	1
21	семейство Scatophagidae	-	1	-	2	-	3
22	семейство Sciaridae	-	-	-	1	-	1
23	семейство Sphaeroceridae	-	-	-	6	-	6
24	семейство Syrphidae	-	-	2	2	-	4
25	семейство Tachinidae	-	6	3	-	9	18
	Всего экземпляров	0	88	60	113	66	327

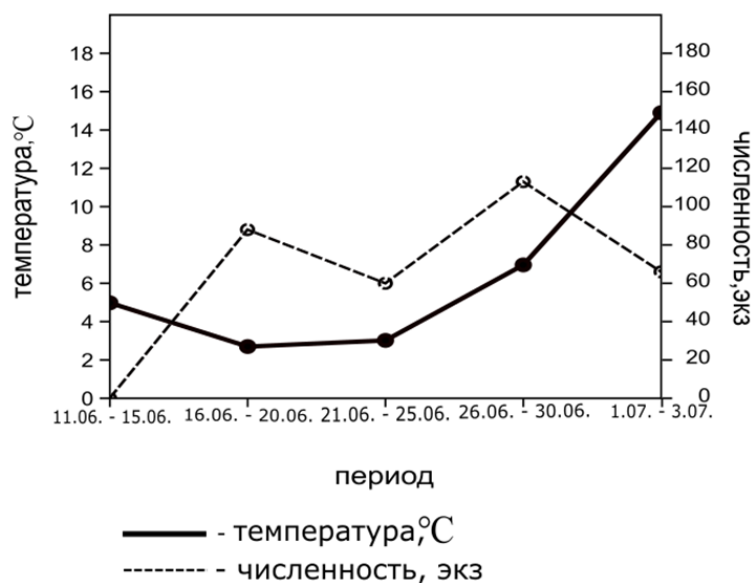


Рисунок 3 - Зависимость численности членистоногих от среднесуточной температуры.

Как видно из графика, в некоторых случаях наблюдается прямая зависимость между численностью членистоногих и показателями среднесуточной температуры. Из общей картины выпадают два периода – с 11 июня по 15 июня и период с 1 июля по 3 июля. Нулевую численность членистоногих в первый период можно объяснить неблагоприятными погодными условиями в этот отрезок времени – скорость ветра временами достигала 23 м/с. Кроме того, в первую декаду июня на исследуемой территории ещё частично лежал снежный покров. Понижение численности при скачке среднесуточной температуры в период с 1 июля по 3 июля мы можем объяснить тем, что этот временной отрезок короче, чем предыдущие. Для получения более точной картины, необходимо проанализировать пробы, отобранные в период более высокой активности насекомых.

Работа выполнена в рамках государственного задания Института экологии растений и животных УрО РАН ЕГИСУ НИОКТР № 122021000089-9.

Библиографический список

1. Хабибуллин, В. Ф. Опыт применения ловушек Мерике при изучении локальных фаун / В. Ф. Хабибуллин // Материалы по флоре и фауне республики Башкортостан. 2016. № 12. С. 47-53
2. Дедюхин, С. В., Шоренко, К. И. Опыт применения ловушек Мерике при изучении жесткокрылых (Insecta, Coleoptera) на юго-востоке Черноморского побережья Крыма. / С. В. Дедюхин, К. И. Шоренко // Труды Карагадской научной станции им. Т.И.Вяземского – природного заповедника РАН. — Ижевск: ФГБОУВО «Удмуртский государственный университет», 2022. — С. 23-31.
3. Гурьева, Е.Л. Определитель насекомых европейской части СССР. Том 2: жесткокрылые (Coleoptera) и веерокрылые / Е.Л. Гурьева, О.Л. Крыжановский. – Москва - Ленинград: Наука, 1965. – 668 с.

4. Нарчук Э.П., Определитель семейств двукрылых насекомых (INSECTA: Diptera) фауны России и сопредельных стран (с кратким обзором семейств мировой фауны) / Э. П. Нарчук — Санкт-Петербург: Зоологический институт РАН, 2003 — 251 с.
5. Штакельберг А.А Определитель мух Европейской части СССР / Штакельберг А.А — 1-е изд. — Санкт-Петербург: Академия наук СССР, 1983 — 725 с

ЖУЖЕЛИЦЫ (COLEOPTERA, CARABIDAE) В ОРАНЖЕРЕЙНОМ КОМПЛЕКСЕ БОТАНИЧЕСКОГО САДА ПГНИУ (ПЕРМЬ)

Плакхина Е.В., Есюнин С.Л.

Пермский государственный национальный исследовательский университет, Пермь, Россия

Аннотация. Жужелицы оранжерейного комплекса Ботанического сада ПГНИУ были изучены в период с 30 декабря 2020 года по 24 января 2021 года методом почвенных ловушек с фиксатором (формалин 4%). Всего за период исследований собран 321 экземпляр; идентифицировано 17 видов из 12 родов, относящихся к 5 жизненным формам и 5 экологическим группам. По видовому разнообразию преобладают зоофаги, а по количеству отловленных особей – миксофитофаги. Жужелицы присутствовали в теплицах на протяжении всего периода исследований, с пиком численности в летние месяцы. Абсолютным доминантом является *Harpalus rufipes* (Degeer, 1774), субдоминантами выступают *Calathus erratus* (C.R. Sahlberg, 1827), *Pterosticus melanarius* (Illiger, 1798) и *Harpalus affinis* (Schrank, 1781). Распределение особей в оранжерейном комплексе не равномерное: жужелицы отдают предпочтение менее влажным секциям.

Ключевые слова: жужелицы, жизненные формы, экологические группы, ботанический сад, Пермь

GROUND BEETLES (COLEOPTERA, CARABIDAE) IN THE GREENHOUSES OF THE PSU'S BOTANICAL GARDEN (PERM)

Plakkhina E.V., Esyunin S.L.

Perm State National Research University, Perm, Russia

Abstract. Ground beetles of greenhouses in the PSU's Botanical Garden (Perm) were studied from December 30, 2020 to January 24, 2021 by the method of soil traps with a fixative (formalin 4%). In total, 321 specimens were collected during the research period, 17 species from 12 genera belonging to 5 life forms and 5 ecological groups were registered. Zoophages predominate in terms of species diversity, and mixophytophages predominate in the number of captured individuals. Ground beetles were present in greenhouses throughout the study period, with peak numbers in the summer months. The absolute dominant is *Harpalus rufipes* (De geer, 1774), the subdominants are *Calathus erratus* (C.R. Sahlberg, 1827), *Pterosticus melanarius* (Illiger, 1798) and *Harpalus affinis* (Schrank, 1781). The distribution of individuals in the greenhouse complex is not equal: ground beetles prefer less humid sections.

Key words: ground beatles, life-forms, ecological groups, greenhouses, botanical garden, Perm

Введение

Несмотря на все возрастающий интерес к изучению жужелиц урбанизированных территорий, публикации о карабидокомплексах ботанических садов немногочисленны, и большинство из них, посвящены жужелицам открытого грунта [2, 3, 9]. Крайне редкими являются исследования населения теплиц и оранжерей, которые в основном ориентированы на изучение группы как потенциальных агентов биологической борьбы с вредителями [13],

реже исследователи описывают видовой состав, динамику численности и демографические спектры [8]. В рамках комплексного изучения герпетобионтных беспозвоночных Ботанического сада ПГНИУ (далее БС) исследуются не только различные по типу растительности участки открытого грунта, но и оранжерейный комплекс. Ранее были опубликованы результаты о пауках [12], муравьях [7], детритницах [6], населяющих теплицы, а также предварительные данные о динамике численности *H. rufipes* в закрытом грунте в зимне-весенний период [5].

Материал и методы

Материал, анализирующийся в данной работе, был собран в период с 30 декабря 2020 года по 24 декабря 2021 года в оранжерейном комплексе БС. Обследованы десять секций теплиц, отличающихся гидротермическим режимом и набором растений: 1 – Пермский период, 2 – Влажные тропики, 3 – Сухие тропики, 4 – Полезные растения тропиков, 5 – Эпифиты, 6 – Кактусы и суккуленты, 7 – Коллекция орхидей, 8 – Субтропики, 9 – Мемориальная оранжерея (теплая часть), 10 – Мемориальная оранжерея (холодная часть). Отделения №1-6 расположены в фондовой оранжерее, построенной в 2010 году; отделения №7-10 - в мемориальной оранжерее, которая была построена в 1930 году [10]. Материал собирался при помощи почвенных ловушек: пластиковые стаканы объемом 200 мл на 1/3 заполненные фиксирующей жидкостью (4% формалин). В каждой секции было установлено по 5 ловушек, интервал между учетами составлял 14 дней. Видовая принадлежность особей устанавливалась при помощи Определителя насекомых Европейской части СССР [1]. Пользуясь случаем, выражаю благодарность д.б.н., профессору кафедры зоологии беспозвоночных и водной экологии С.Л. Есюнину, а также д. б. н., ведущему научному сотруднику Лаборатории филогенетики и биохронологии Института экологии растений и животных УрО РАН, Е.В. Зиновьеву за помощь в определении материала. Экологические и фенологические группы, а также жизненные формы жуужелиц выделены по А.Г. Воронину [4]. В качестве показателя доминирования использовалась пятибалльная, ограниченная сверху, логарифмическая шкала, предложенная Ю.А. Песенко [11]. Графики и рисунки выполнены в среде MS Excel.

Результаты

Всего за период исследования было отловлено 321 экземпляр жуужелиц и выявлено 17 видов из 12 родов (таблица). Наибольшее число видов зарегистрировано в роде *Harpalus* (3 вида).

Распределение особей жуужелиц по секциям оранжерейного комплекса показано на рис. 1. Наибольшее количество особей зарегистрировано в секциях «Субтропики» (97 экз.) и «Кактусы и суккуленты» (72 экз.). В целом, в мемориальной оранжерее численность жуужелиц существенно выше. Низкая численность жуужелиц в фондовой оранжерее может быть связана с высоким уровнем влажности, который поддерживается практически во всех секциях, кроме отделения «Кактусы и суккуленты».

Таблица. Видовой состав группировок и количество отловленных особей жуужелиц в оранжерейном комплексе ботанического сада ПГНИУ

		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	Всего особей
<i>Amara aenea</i> (De Geer, 1774)	♂										1	1
	♀						1					1
<i>Amara municipalis</i> (Duftschmid, 1812)	♂						2		1		1	4
	♀		1				6		1			8
<i>Anisodactylus binotatus</i> (Fabricius, 1787)	♂			1								1
<i>Asaphidion flavipes</i> (Linnaeus, 1760)	♂							1				1
	♀							1				1
<i>Bembidion properans</i> (Stephens, 1828)	♂			1								1
	♀				1							1
<i>Broscus cephalotes</i> (Linnaeus, 1758)	♂			1	1		3					5
	♀						2					2
<i>Calathus erratus</i> (C.R. Sahlberg, 1827)	♂			1				4	6	3	5	19
	♀			1		1	1	4	12	2	1	22
<i>Calathus melanocephalus</i> (Linnaeus, 1758)	♂							1	1			2
	♀						1		2		1	4
<i>Harpalus affinis</i> (Schrank, 1781)	♂						6	1	2		1	10
	♀				1		4	2	1		1	9
<i>Harpalus rufipes</i> (Degeer, 1774)	♂	6	3	1		2	9	6	31	9	4	71
	♀	7	2		1		20	13	21	8	3	75
<i>Harpalus tardus</i> (Panzer, 1797)	♂		1				1		2			4
	♀								3			3
<i>Metabletus truncatellus</i> (Linnaeus, 1760)	♀										1	1
<i>Ophonus rufibarbis</i> (Fabricius, 1792)	♂								1			1
<i>Patrobis septentrionis</i> (Dejean, 1828)	♂						1	1	1		1	4
<i>Poecilus lepidus</i> (Leske, 1785)	♂							1	4	2		7
	♀						3			3		6
<i>Pterostichus melanarius</i> (Illiger, 1798)	♂	7	4	6	1	3	5		8	3	3	40
	♀	1	1		1		5			2	1	11
<i>Pterostichus strenuus</i> (Panzer, 1796)	♂	1	1	1			2	1				6

*Примечание. Секции: 1 – Пермский период, 2 – Влажные тропики, 3 – Сухие тропики, 4 – Полезные растения тропиков, 5 – Эпифиты, 6 – Кактусы и суккуленты, 7 – Коллекция орхидей, 8 – Субтропики, 9 - Мемориальная оранжерея (теплая часть), 10 – Мемориальная оранжерея (холодная часть).

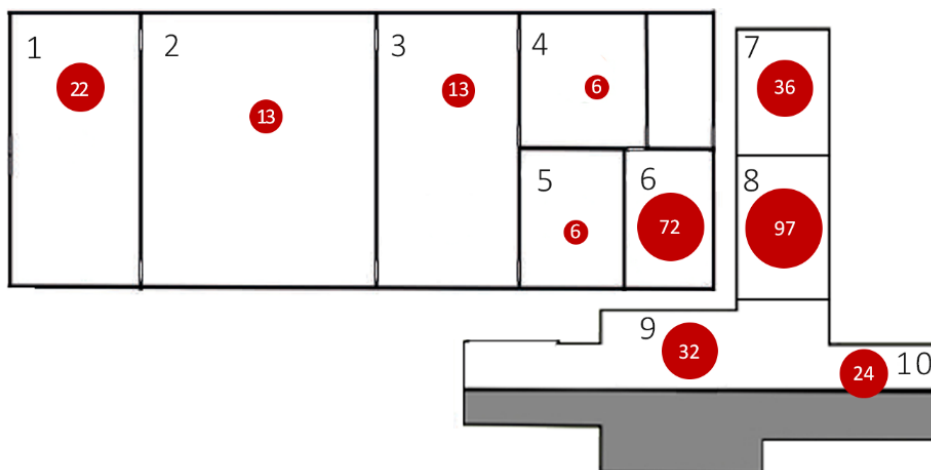


Рисунок 1 - Количество отловленных экземпляров жужелиц по секциям оранжевейного комплекса ботанического сада ПГНИУ (нумерация секций как в табл.).

Динамика численности жужелиц в оранжевейном комплексе представлена на рис. 2. Представители семейства Carabidae отмечались в теплицах на протяжении всего периода исследований. В осенние, зимние и весенние месяцы их численность не высока. Летом отмечается ее существенное увеличение. Максимальная численность зарегистрирована в июле. Хотя количество отловленных особей было относительно невелико, среди них можно выделить виды, слагающие доминантный комплекс теплиц. Эудоминантом выступает *H. rufipes* (балл V по шкале Песенко), к доминантам относятся *C. erratus* и *P. melanarius* (балл IV), субдоминантом является *H. affinis* (балл III). Только *H. affinis* не показывает ярко выраженного летнего пика численности, а равномерно представлен особями на протяжении всего года с небольшим подъемом в летний период (рис. 2).

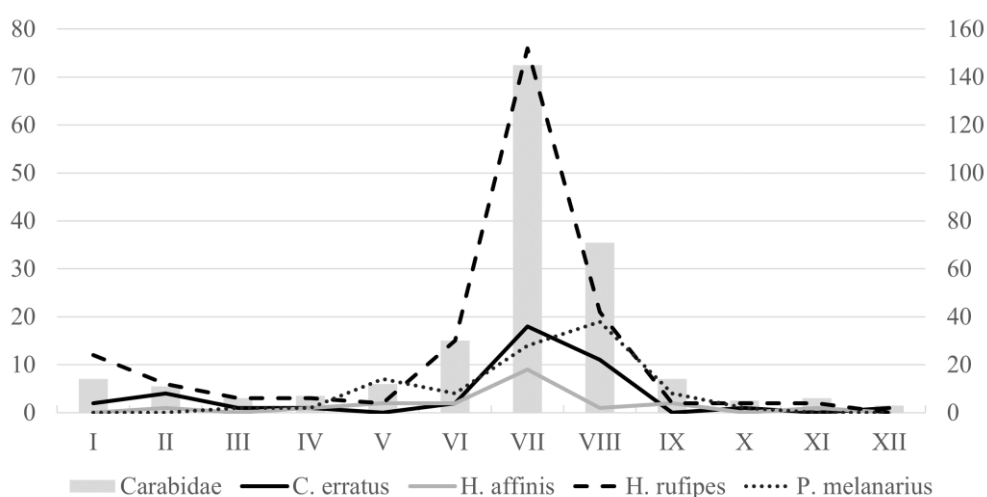


Рисунок 2 - Динамика численности видов доминантного комплекса и общей численности Carabidae (гистограммы; вспомогательная ось) в оранжевейном комплексе ботанического сада ПГНИУ.

Среди экологических групп, выделяемых по биотопическому преферентуму, почти половину от общего видового разнообразия составляют луго-полевые виды (рис. 3А), однако по количеству отловленных особей их доля не велика (19%). В то же время лесо-луговые виды,

составляющие лишь 12% видового разнообразия карабидокомплекса теплиц, по количеству особей преобладают над всеми остальными и составляют более 60% от общего числа отловленных особей.

По отношению к влажности (рис. 3Б) выделяется мезофильная группа видов, они составляют 41% от количества зарегистрированных видов и 70% от количества особей, собранных за весь период исследования. Хотя в тепличном комплексе отмечено большое количество и ксерофильных видов (41% от всего видового разнообразия), они составляют лишь четверть отловленных особей. Гигрофильная группа представлена всего 3 видами и ее вклад в общее число особей также не велик (3,7%).

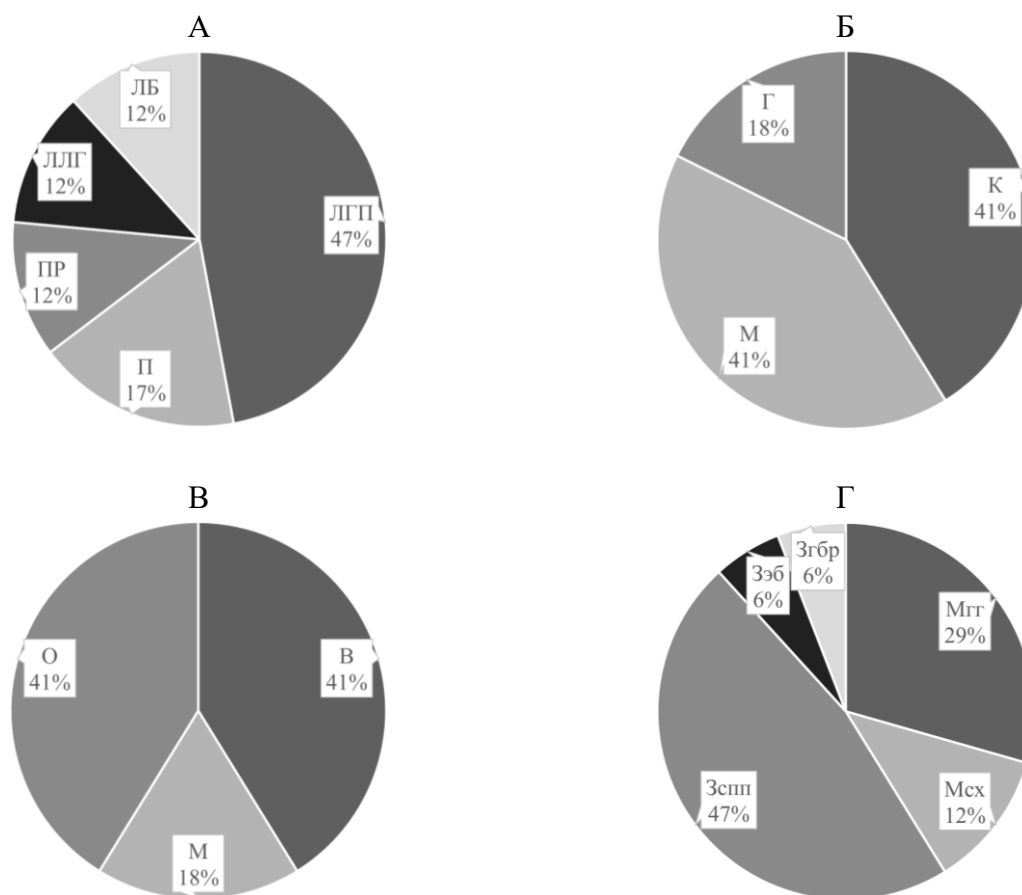


Рисунок 3 - Соотношение экологических групп по биотопическому преферендуму (А) и по отношению к влажности (Б), а также соотношение фенологических групп (В) и жизненных форм (Г) жуужелиц в оранжерейном комплексе ботанического сада ПГНИУ. Условные обозначения. Рис. 3А: ЛГП – луго-полевые, П – полевые, ПР – прибрежные, ЛЛГ – луго-полевые, ЛБ – лесоболотные; рис. 3Б: К – ксерофилы, М – мезофилы, Г – гигрофилы; рис. 3В: В – весенние, М – мультисезонные, О – осенние; рис. 3Г: Мгг - миксофитофаги геохортобионты гарпалоидные, Мсх - миксофитофаги стратохортобионты, Зспп - зоофаги стратобионты поверхностно-подстилочные, Ззб - зоофаги эпигеобионты, Згбр - зоофаги геобинты бегающие-роющие.

Осенние и весенние виды представлены в теплицах в одинаковом количестве (41%), мультисезонные составляют меньшую часть (18%) (рис. 3В). В оранжереях наиболее

многочисленны представители осенней группы (71%), а численность весенних видов самая низкая (6,2%).

Жужелицы теплиц относятся к пяти жизненным формами (рис. 3Г). Зоофаги стратобионты поверхностно-подстилочные представлены наибольшим количеством видов (47%), чуть меньшее количество видов приходится на миксофитофагов геохортобионтов гарпалоидных (29%). По количеству особей преобладают миксофитофаги стратохортобионты (45%). В общем миксофитофаги преобладают над зоофагами по количеству отловленных особей (59% и 41% соответственно).

Таким образом, для фауны жужелиц оранжерейного комплекса БС ПГНИУ характерны следующие черты: (1) небольшое видовое разнообразие (17 видов) с ярко выраженным эудоминантом (*H. rufipes*); (2) преобладание по числу видов луго-полевых, а также видов ксерофильной и мезофильной группы, а по количеству отловленных особей лесо-луговых и мезофильных видов; (3) одинаковое таксономическое разнообразие весенних и осенних видов, при абсолютном преобладании по количеству отловленных особей осенних видов; (4) преобладание миксофитофагов над зоофагами по количеству зарегистрированных особей, при существенно большем количестве видов зоофагов. Полученные данные о динамике численности и распределении жужелиц в оранжереях БС свидетельствуют о том, что теплица не является благоприятным местообитанием для реализации жизненного цикла жужелиц, также как и для аборигенной фауны паукообразных [12], и является в основном транзитной зоной, что соотносится с выводами, полученными в ходе исследования карабидокомплекса защищенного грунта в Краснодарском крае [8].

Библиографический список

1. Алексеев А. В., Арнольди Л. В., Гурьева Е. Л. и др. Определитель насекомых европейской части СССР в 5 томах. Т. 2. Жесткокрылые и веерокрылые / Ред. Г.Я. Бей-Биенко. М.; Л.: Наука, 1965. 668 с.
2. Бабенко А.С., Нужных А.С. Фауна и сезонная динамика активности хищных герпетобионтов ягодных насаждений экспериментального участка Сибирского ботанического сада г. Томска. Сообщение 1. Фауна и сезонная динамика активности жужелиц (Coleoptera: Carabidae) // Вестник Томского государственного университета. Биология. 2012. № 3. С. 81-91.
3. Бережнова О.Н., Цуриков М.Н. К изучению фауны и экологии герпетобионтных насекомых ботанического сада Воронежского государственного университета // Фундаментальные исследования. 2015. № 2-12. С. 2600-2605.
4. Воронин А.Г. Фауна и комплексы жужелиц (Coleoptera, Trachypachidae, Carabidae) лесной зоны Среднего Урала (эколого-зоогеографический анализ). Пермь: Изд-во Пермского ун-та, 1999. 244 с.
5. Плакхина, Е. В. Динамика численности и половой состав *Harpalus rufipes* (DeGeer, 1774) в зимний период в условиях закрытого грунта Ботанического сада ПГНИУ // Фундаментальные и прикладные исследования в биологии и экологии: Сб. статей по мат. регион. науч. конф., Пермь, 19–23 апреля 2021 года. – Пермь: Пермский государственный национальный исследовательский университет, 2021. – С. 197-200.

6. Плакхина Е.В. Детритницы (Diptera, Sciaridae) в оранжереях Ботанического сада ПГНИУ // Фундаментальные и прикладные аспекты биологии: сб. стат. Междунар. конф. ученых-биологов (г. Пермь, ПГНИУ, 30 октября – 3 ноября 2023 г.). – Пермь, 2024. – С. 282-289.
7. Плакхина Е.В., Поспелова А.Д. К фауне муравьев (Hymenoptera, Formicidae) ООПТ «Ботанический сад ПГНИУ» // Экологическая безопасность в условиях антропогенной трансформации природной среды. Мат. Всеросс. науч. конф. молодых ученых, посв. памяти Н.Ф. Реймерса и Ф.Р. Штильмарка / Ред. С.А. Бузмакова. Пермь: Пермский государственный национальный исследовательский университет, 2023. С. 177–180.
8. Хомицкий, Е.Е. Комплекс жужелиц (Insecta, Coleoptera, Carabidae) защищенного грунта в условиях предгорной зоны Краснодарского края // Экология: рациональное природопользование и безопасность жизнедеятельности: Сб. мат. Всеросс. научно-практ. конф., с междунар. участием, Майкоп, 19–22 октября 2017 года. – Майкоп: Изд-во АГУ, 2017. – С. 92-97.
9. Рогатных Д.Ю. Первые данные по населению жужелиц (Coleoptera, Carabidae) Амурского филиала Ботанического сада-института ДВО РАН // Проблемы экологии верхнего Приамурья. 2008. Т.2, вып.10. С. 77-89.
10. Шумихин С.А. Ботанические экскурсии по коллекциям и экспозициям Ботанического сада им. А.Г. Генкеля Пермского университета: путеводитель. Санкт-Петербург: Маматов, 2015. 208 с.
11. Песенко Ю.А. Принципы и методы количественного анализа в фаунистических исследованиях. Москва: Наука, 1982. 287 с.
12. Plakkhina, E.V., Esyunin S.L. New data on introduced spider species (Arachnida: Aranei) from the Urals // Arthropoda Selecta. 2022. Vol. 31, No. 3. P. 363–371. <https://doi.org/10.15298/arthscl.31.3.13>.
13. Renkema J. Cutler G., Blanchard D., Hammermeister A. Using ground beetles (Coleoptera: Carabidae) to control slugs (Gastropoda: Pulmonata) in salad greens in the laboratory and greenhouse // The Canadian Entomologist. 2014. Vol. 146. P. 567-578.

СУТОЧНАЯ И СЕЗОННАЯ ДИНАМИКА НАСЕЛЕНИЯ ПАУКОВ-ХОРТОБИОНТОВ СТЕПЕЙ ТРОИЦКОГО ЗАКАЗНИКА

Устинова А.Л., Есюнин С.Л.

Пермский государственный национальный исследовательский университет, Пермь

Аннотация. Динамика населения пауков-хортобионтов на четырех модельных участках степи в Троицком заказнике различна. Представлены данные о изменении численности и доминантного комплекса видов в сезонном и суточном аспекте.

Ключевые слова: пауки, хортобионты, сезонная динамика, суточная динамика, Южный Урал

DAILY AND SEASONAL DYNAMICS OF THE HORTOBIONT SPIDERS ASSEMBLAGES OF TROITSKY STEPPE RESERVE

Ustinova A.L., Esyunin S.L.

Perm State National Research University, Perm, Russia

Abstract. The dynamics of the assemblages of hortobiont spiders in the four model areas of the steppe in Troitsky Reserve is different. Data on changes in the abundance and dominant complex of species in seasonal and diurnal aspects are presented.

Keywords: spiders, hortobionts, diurnal dynamics, seasonal dynamics, South Urals

В степных биоценозах травостой самый богатый видами ярус. Именно в нем обитает основная численность беспозвоночных животных [1]. Однако не все из них находятся в травостое постоянно. Большинство особей совершают миграции в пределах яруса и между ярусами. Вертикальная подвижность хортобионтов выше любых других ярусно-приуроченных видов [2].

Наиболее многочисленными хищниками травостоя являются пауки. Они регулируют численность не только насекомых, но и других групп беспозвоночных. Миграции пауков обусловлены реакцией на микроклиматические условия и хищнической активностью. Суточные и сезонные миграции хортобионтов на данный момент недостаточно изучены [3]. Большая часть работ по изучению динамики населения травостоя проводилась в Ильменском заповеднике (Челябинская область) под руководством А.В. Логунова. Пауки в составе комплекса изучались только на уровне отряда и некоторых доминантных видов. Целью настоящего исследования было выявить особенности суточной и сезонной динамики населения пауков-хортобионтов.

В ходе исследования было выполнено шесть серий суточных учетов динамики численности пауков-хортобионтов на четырех модельных участках степи в Троицком государственном природном комплексном заказнике (Челябинская область). Первая модельная площадка представляет собой разнотравно-ковыльную степь, вторая – таволгово-солодко-лисохвостовую степь, третья – полынную ассоциацию солончака, четвертая – березовый колок. В начале лета (с 13 июня по 6 июля 2023 года) было выполнено четыре серии

учетов, в конце лета (с 19 по 26 августа) – две серии учетов. Учеты осуществлялись методом кошения стандартным энтомологическим сачком с интервалом в 6 часов [2]. Для ряда серий не удалось осуществить утренние учеты из-за обилия росы. Общий объем выборки составил 55 проб. Размер единичной пробы с одной площадки составлял 150 взмахов (3 повтора по 50 взм.). Полученные данные переводились на 100 взмахов (экз./100 взм.). Последующая статистическая обработка данных осуществлялась в программе PAST [4] с использованием алгоритмов непараметрических и многомерных методов анализа данных. Для описания доминантного комплекса видов использована шкала Песенко [5].

Предварительный анализ данных U-критерием Манна-Уитни и H-критерием Краскела-Уоллиса показал отсутствие значимых различий между численностью пауков в утреннее, дневное и вечернее время на каждой модельной площадке и между ними. В отдельных случаях наблюдались значимые различия, уровень которых был близок к 0,05. Использование показателей структуры населения, таких как индекса выравненности Симпсона, индексов разнообразия Шеннона и Маргалеф, индекса доминирования Бергера-Паркера, также не повлияло на результат сравнений. Исходя из этого было принято решение усреднить и объединить данные для дальнейшего анализа.

В таблице 1 представлены данные о средней численности пауков в пробах. Сезонная динамика численности пауков на четырех биотопах различна. На площадках таволгово-солодко-лисохвостовой степи и в березовом колке численность пауков возрастает к концу лета, в то время как на разнотравно-ковыльной степи и полынных ассоциациях она почти не изменяется за сезон. Для группировок пауков начала лета характерны различия в суточной динамике, при этом наибольшая численность пауков во всех пробах отмечена в вечернее время. Численность группировок пауков в начале лета изменяется в течении суток, при этом наибольшая численность отмечена в вечернее время (табл. 1).

Таблица 1 - Среднее количество пауков-хортобионтов в пробе (экз./100 взм. \pm ошибка среднего)

Биотоп		Разнотравно- ковыльная степь	Таволгово- солодко- лисохвостовая степь	Полынная ассоциация солончака	Березовый колос
Период наблюдений					
Начало лета	Утро	2,50 \pm 1,32	8,83 \pm 3,75	16,92 \pm 4,59	24,83 \pm 7,35
	День	6,54 \pm 2,64	8,58 \pm 3,31	8,95 \pm 4,57	18,46 \pm 5,14
	Вечер	10,67 \pm 7,15	9,50 \pm 4,07	10,83 \pm 6,21	23,00 \pm 5,79
Конец лета	День	6,67 \pm 1,99	12,92 \pm 3,62	5,33 \pm 2,86	42,75 \pm 13,63
	Вечер	6,00 \pm 1,14	14,50 \pm 2,28	12,00 \pm 6,22	45,42 \pm 8,81
За весь период		7,43 \pm 4,85	10,46 \pm 4,03	10,54 \pm 5,94	27,99 \pm 12,90

На рисунке представлены данные по анализу численности пауков-хортобионтов методом главных компонент (РСА). Пробы из березового колка, взятые в начале и конце лета, образуют две отдельные группы (рис.). Обособление этих групп от остальных проб происходит по первой главной компоненте (РС 1), разделение их между собой – по второй (РС 2). Специфика арахнокомплексов березняка обусловлена наличием многочисленных неполовозрелых особей из родов *Xysticus* и *Philodromus* в начале лета (табл. 2), и резким

увеличением численности неполовозрелых пауков рода *Tibellus*, а также половозрелых *Phylloneta impressa* и *Mangora acalypha* в конце лета.

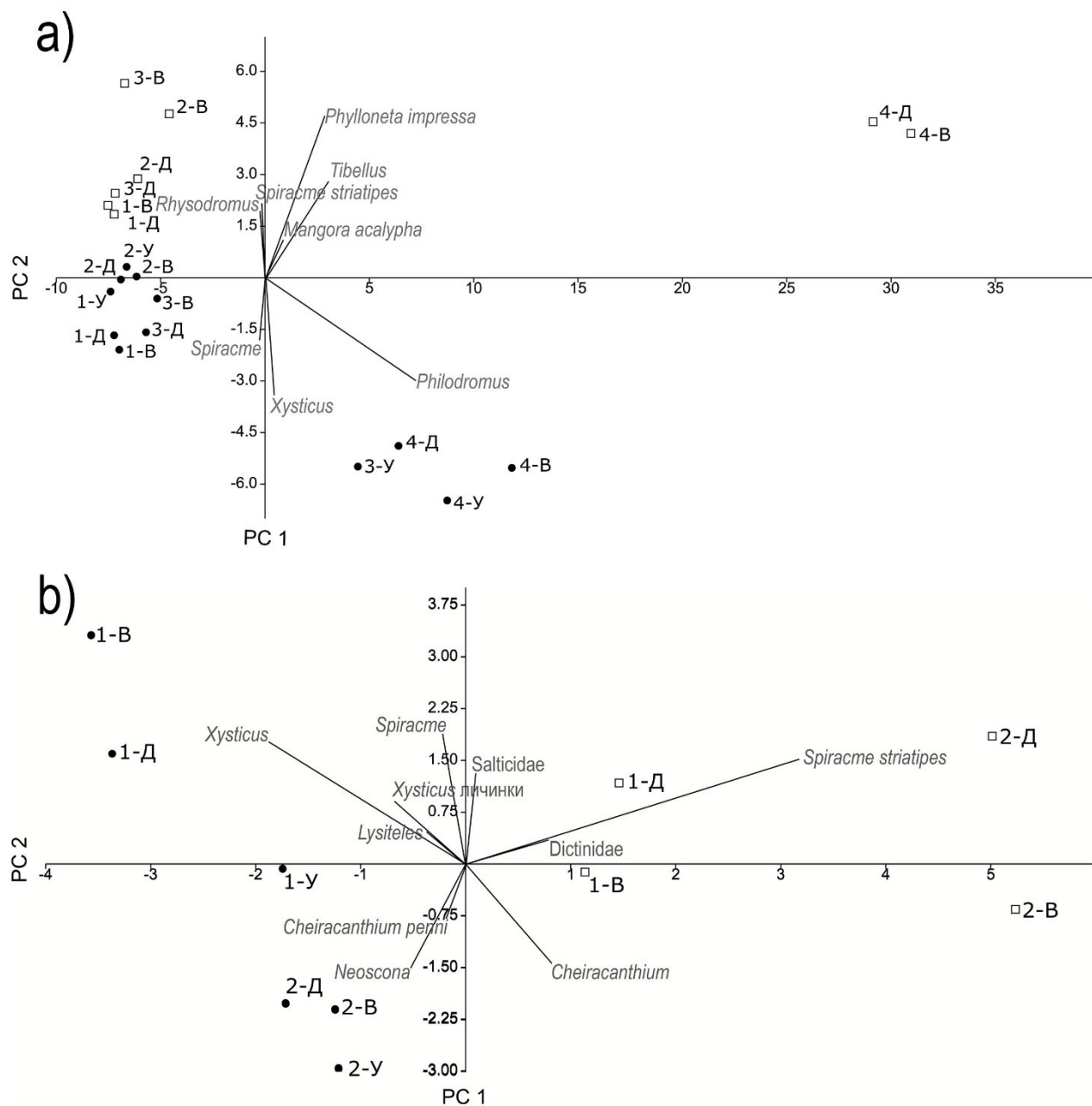


Рисунок – Биplot анализ главных компонент (PCA) проб пауков-хортобионтов на четырех модельных площадках (а) и отдельно для степных биотопов (б). Символы: точка – начало лета, квадрат – конец лета. Условные обозначения: PC 1, PC 2 – первая и вторая главные компоненты (соответственно), 1 – разнотравно-ковыльная степь, 2 – таволгово-солодко-лисохвостовая степь, 3 – полынная ассоциация солончака, 4 – березовый колок, Y – утро, Д – день, В – вечер. Угловой коэффициент представлен только для видов с наибольшим вкладом в дисперсию данных.

Таблица 2 - Виды-доминанты хортобионтного комплекса пауков по биотопам в начале (НЛ) и конце (КЛ) лета

	Разнотравно-ковыльная степь		Таволгово-солодко-лисохвостовая степь		Полынная ассоциация солончака		Березовый колок	
	НЛ	КЛ	НЛ	КЛ	НЛ	КЛ	НЛ	КЛ
<i>Aculepeira</i> *						III		
Araneidae *			III		IV		III	
<i>Brigittea latens</i> (Fabricius, 1775)					III			
<i>Cheiracanthium</i> *	III		IV	IV	III	IV	III	
<i>Cheiracanthium pennyi</i> O. Pickard-Cambridge, 1873			III					
Dictinidae *				III				
<i>Dictyna arundinacea</i> (Linnaeus, 1758)			III					
<i>Evarcha falcate</i> (Clerck, 1757)							III	III
<i>Heriaeus</i> *					III			
<i>Lysiteles</i> *	III							
<i>Mangora acalypha</i> (Walckenaer, 1802)								III
<i>Misumena vatia</i> (Clerck, 1757)				III				III
<i>Neoscona</i> *			IV		III			
<i>Neriene</i> *							III	
<i>Oxyopes</i> *						III		
<i>Philodromus</i> *			III	III	IV		V	V
<i>Phylloneta impressa</i> (L. Koch, 1881)				III		IV	III	IV
<i>Rhysodromus</i> *					III	IV		
Salticidae *	III	IV			III	III		
<i>Spiracme</i> *	IV	IV	IV	IV	IV		IV	
<i>Spiracme striatipes</i> (L. Koch, 1870)		IV		IV				
<i>Thanatus</i> *	III	III	III		III	III		
<i>Tibellus</i> *				III			IV	IV
<i>Tibellus oblongus</i> (Walckenaer, 1802)			III					
<i>Tmarus piger</i> (Walckenaer, 1802)							III	III
<i>Xysticus</i> *	IV		III		IV		IV	III
<i>Xysticus</i> **	IV				III		III	

Примечание. III – обычный вид, IV – обильный вид, V – очень обильный вид [5], * – неполовозрелые (преимагинальные) особи, возможно относящиеся к нескольким видам, ** – неполовозрелые особи первой преимагинальной стадии, возможно относящиеся к нескольким видам.

В случае степных биотопов – разнотравно-ковыльной и таволгово-солодко-лисохвостовой степи, можно выделить еще ряд интересных тенденций (рис.). Пробы начала и конца лета вновь формируют две разные группы вдоль второй главной компоненты. Различия между сезонными пробами обусловлены, во-первых, многочисленностью неполовозрелых

пауков родов *Xysticus*, *Spiracme* и *Neoscona* в начале лета, а, во-вторых, увеличение численности неполовозрелых Salticidae и половозрелых *Spiracme striatipes* к концу лета.

Доминантный комплекс пауков-хортобионтов полынной ассоциации и березового колка представлены наибольшим количеством видов (табл. 2). В целом, для всех биотопов характерно уменьшение разнообразия доминантного комплекса к концу лета. Большинство таксонов, многочисленных в учетах, демонстрируют эврибионтность. Возможно, это обусловлено тем, что многие из них являются сборными таксонами (Araneidae, Salticidae, *Xysticus* и др.). Характерным степным видом является *Spiracme striatipes*, который в половозрелом состоянии обилен на разнотравно-ковыльной и таволгово-солодко-лисохвостовой степи. Наличие неполовозрелых *Spiracme* в начале лета во всех биотопах объясняется периодом активного расселения вида. Для таволгово-солодко-лисохвостовой степи также обычно наличие *Dictyna arundinacea*, при этом в начале лета присутствуют половозрелые особи, а в конце лета, вероятно, их неполовозрелые личинки (Dictynidae).

Evarcha falcata, *Nerienne* и *Tibellus* встречались во всех пробах, но обычны только в березняке. Популяция паука-кругопряда *Mangora acalypha* также наиболее многочисленна в березняке, что обусловлено биологией вида. Эти пауки предпочитают строить свои сети на невысоких кустарниках. Ксерофитные *Rhysodromus* и *Oxyopes* входят в доминантный комплекс только на солончаке.

Библиографический список

1. Логунов А.В. Стратиграфическая структура хортобионтного комплекса беспозвоночных животных в Ильменском заповеднике // Экологические исследования в Ильменском государственном заповеднике. Миасс: ИГЗ. – 1994. – С. 25–42.
2. Чернов Ю.И., Руденская Л.В. Комплекс беспозвоночных – обитателей травостоя как яруса животного населения // Зоологический журнал. – 1975. – Т. 54. – №6. – С. 884–894.
3. Гудощикова В. Суточная миграция животных в комплексе ассоциаций // Труды биологического научного-исследовательского института при Пермском университете. – 1928. – Т. 1. – №4. – С. 299–325.
4. Hammer O., Harper D.A.T., Ryan P.D. PAST: Paleontological statistics software package for education and data analysis // Palaeontologia Electronica. – 2001. – Vol. 4. – №1. – 9 pp.
5. Песенко Ю.А. Принципы и методы количественного анализа в фаунистических исследованиях. М: Наука, 1982. 288 с.

МАКРОЗООБЕНТОС НЕЗАМЕРЗАЮЩИХ ВОДОТОКОВ МАГАДАНСКОЙ ОБЛАСТИ

Крашенинников А.Б.^{1,2}, Мухина Я.В.²

¹ ИБПС ДВО РАН, г. Магадан

² ПГНИУ, г. Пермь

Аннотация. Изучены восемь незамерзающих водотоков северного побережья Охотского моря. Общая численность макрозообентоса в них варьирует от 608 до 27600 экз/м², общая биомасса – от 0,3 до 29,7 г/м². Наиболее продуктивным водотоком оказалась река Угликан.

Ключевые слова: талик, бентос, побережье Охотского моря

MACROZOOBENTHOS OF NON-FREEZING WATER STREAMS OF THE MAGADAN REGION

¹ *Institute of Biological Problems of the North, Far East Branch of the Russian Academy of Sciences, Magadan, Russia*

² *Perm State National Research University, Perm, Russia*

Abstract. Eight non-freezing water streams on the northern coast of the Sea of Okhotsk were studied. The total number of macrozoobenthos in them varies from 608 to 27600 individuals/m², the total biomass – from 0.3 to 29.7 g/m². The most productive watercourse turned out to be the Uglikan River.

Key words: non-freezing water, benthos, sea of Okhotsk coast

Северное побережье Охотского моря находится в зоне приморского климата тундры и лесотундры (Клюкин, 1970; Андриянова и др., 2019). Весеннее повышение температуры воды в реках (переход через 0,2°C) происходит 15–25 мая. Среднемесячная температура воды в реках за период с июня по сентябрь находится в пределах 6–10°C. Переход через 0,2°C в сторону понижения происходит 10–25 октября, лед устанавливается в конце октября–начале ноября. Весеннее таяние льда начинается в первой половине мая, полное очищение водотоков – в конце мая (Иогансен и др., 1970). Несмотря на всю суровость климата, на территории встречаются незамерзающие водотоки, связанные с таликами. В таких местообитаниях особый термический и световой режим, что довольно сильно влияет на гидрофлору и гидрофауну. Благодаря наличию незамерзающих водотоков возможен круглогодичный рост и цветение *R. nipponicus* на северном побережье Охотского моря (Андриянова и др., 2019; Андриянова, Мочалова, 2018).

Целью данной работы является изучение макрозообентоса некоторых незамерзающих водотоков Магаданской области. Всего обследовано 8 водотоков, подробная информация о их расположении приведена в таблице 1.

Таблица 1 - Сведения о расположении точек сбора бентосных проб

Обозначение	Дата сбора	Географическая привязка	Широта	Долгота
Угликан	15.06.2023	Магаданская область, р. Угликан	N 59,62017°	E 151,31609°
ключ у Угликана	15.06.2023	Магаданская область, ручей у р. Угликан	N 59,62034°	E 151,31685°
ручей с калужницей	16.06.2023	Магаданская область, незамерзающий ручей, с зарослями калужницы	N 59,74217°	E 149,86374°
«аквариум»	16.06.2023	Магаданская область, исток незамерзающего безымянного ручья	N 59,74373°	E 149,85252°
болото-Совхозный	29.06.2023	Магаданская область, ручей Совхозный около р. Хасын, заболоченный незамерзающий участок	N 60,01226°	E 150,67587°
Совхозный	29.06.2023	Магаданская область, ручей Совхозный, нижнее течение, около р. Хасын	N 60,00413°	E 150,65711°
голый ключ	16.06.2023	Магаданская область, исток ручья недалеко от «аквариума»	N 59,740805°	E 149,856421°
Наледный	15.06.2023	Магаданская область, ручей Наледный	N 59,70171°	E 151,35541°

Все пробы бентоса отбирались при помощи складного бентометра Богатова, фиксировались этанолом (Богатов, 1994). В последующем в лаборатории из субстрата выбирались все представители макрозообентоса, происходило их определение, подсчет и взвешивание на торсионных весах. Количественные данные по макрозообентосу изученных водотоков приведены в таблице 2.

Таким образом, в составе макрозообентоса незамерзающих водотоков Магаданской области отмечены свободноживущие плоские черви *Polycelis schmidtii*, малощетинковые черви семейства Enchytraeidae, рачки-бокоплавы *Synurella stadukhini*, водные клещи и личинки насекомых отрядов поденки, веснянки, ручейники и двукрылые. В большинстве местообитаний по численности доминируют личинки комаров-звонцов, реже энхитреиды и водные клещи. По биомассе доминируют те же хирономиды, иногда энхитреиды и ручейники семейства Apataniidae. Общая численность варьирует от 608 до 27600 экз/м², общая биомасса – от 0,3 до 29,7 г/м². Наиболее продуктивным водотоком оказалась река Угликан. Для сравнения местообитаний использован метод главных компонент в программе Past 4.13. Результаты классификации по всем характеристикам макрозообентоса приведены на рисунке.

Таблица 2 - Количественные характеристики макрозообентоса незамерзающих водотоков Магаданской области

Таксон	«аквариум»		болото- Совхозный		голый ключ		ключ у Угликана		Наледный		ручей с калужницей		Совхозный		Угликан	
	N*	B**	N	B	N	B	N	B	N	B	N	B	N	B	N	B
<i>Ameletus sp.</i>													48	40		
Apataniidae	128	56							147	353	48	88	64	17	1280	445
									2	6				6		6
Baetidae	16	16							80	235					2112	219
										2						2
Capniidae	16	16									32	48				
Chironomidae	1419	321	1000	853	107	320	96	224	267	315	510	166	12	16	1753	869
	2	6	0	6	2				2	2	4	4	8		6	6
Chloroperlidae									64	152					976	224
															0	
Enchytraeidae	16	80	512	126	448	104	126	232	144	296	32	24			192	168
				4			4	8								
<i>Ephemerella sp.</i>									128	16						
Hydracarina	112	8			48	1,6			176	40	80	64	35	11	768	248
													2	2		
Limnephilidae									64	261						
										6						
<i>Polycelis schmidtii</i>			16	8					304	144					2080	659
															2	
Simuliidae							32	40	560	155			16	8	2656	511
										2						2
<i>Synurella stadukhina</i>	80	120	784	384												
				0												
Итого	14560	3512	11312	13648	1568	425,6	1392	2592	5664	13856	5296	1888	608	352	27600	29704

N* – численность, экз/м²

B** – биомасса, мг/м²

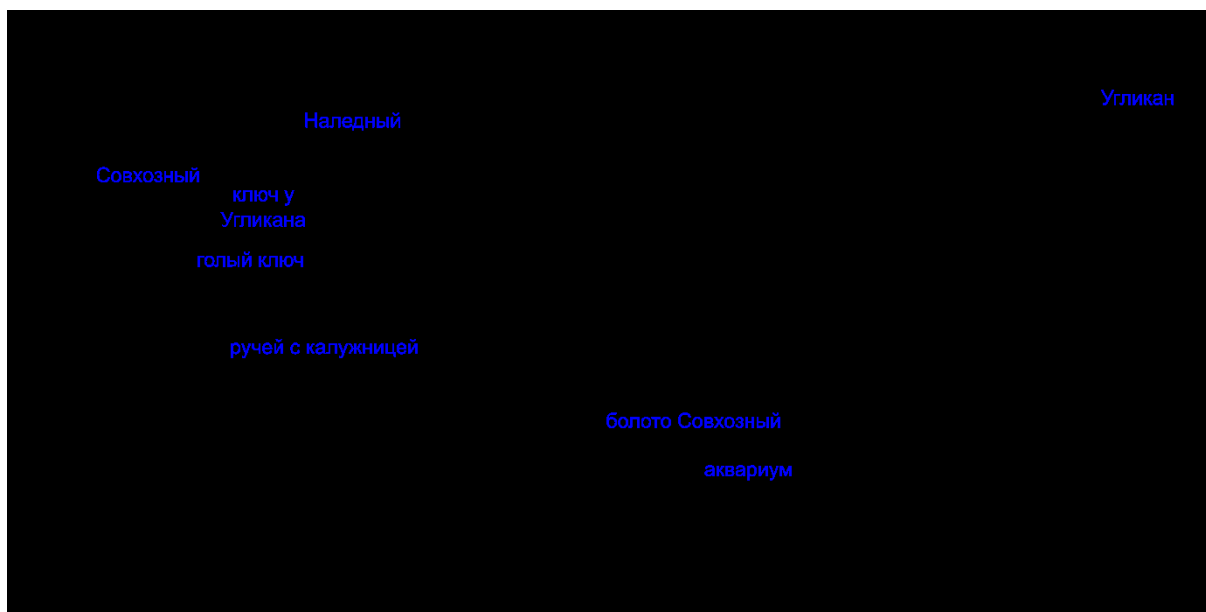


Рисунок - Результат классификации незамерзающих водотоков Магаданской области по параметрам макрозообентоса методом главных компонент.

Особняком от всех остальных точек стоит река Угликан, вторую группу формируют исток незамерзающего безымянного ручья («аквариум») и заболоченный незамерзающий участок ручья Совхозный около р. Хасын, к третьей крупной группе относятся остальные водотоки.

Библиографический список

1. Андриянова Е.А., Мочалова О.А. Лютики, цветущие в морозы // Природа. 2018. № 4. С. 24–33.
2. Андриянова Е.А., Мочалова О.А., Мовергоз Е.А. Экология и сезонное развитие *Ranunculus nipponicus* Nakai (Batrachium, Ranunculaceae) в незамерзающих водотоках северного побережья Охотского моря // Биология внутренних вод. 2019. № 4. Вып. 1. С. 33–40.
3. Богатов В.В. Экология речных сообществ российского Дальнего Востока. Владивосток: Дальнаука, 1994. 218 с.
4. Иогансен В.Е., Кузнецов А.С., Деев Г.Н. Реки // Север Дальнего Востока. М.: Наука, 1970. С. 186–188.
5. Клюкин Н.К. Климат // Север Дальнего Востока. М.: Наука, 1970. С. 101–132.

ЗООЛОГИЯ ПОЗВОНОЧНЫХ, ЭКОЛОГИЯ ПОЗВОНОЧНЫХ

ПИТАНИЕ ПТЕНЦОВ ТОПОРКА (*FRATERCULA CIRRHATA*) И ИПАТКИ (*FRATERCULA CORNICULATA*) НА ОСТРОВЕ ТАЛАН (ОХОТСКОЕ МОРЕ)

Варушкина Т.С.¹, Голубова Е.Ю.², Матвеева Г.К.¹

¹Пермский государственный национальный исследовательский университет, Пермь, Россия

²Институт биологических проблем Севера ДВО РАН, Магадан, Россия

Аннотация. Представлены результаты изучения питания птенцов топорка и ипатки на о. Талан в 2023 г. Установлены состав питания, характеристики пищевых проб, размерно-весовые параметры кормовых объектов, частота кормления птенцов и сезонная изменчивость питания.

Ключевые слова: ипатка, топорок, питание птенцов, Охотское море

FEEDING OF TUFTED PUFFIN (*FRATERCULA CIRRHATA*) AND HORNED PUFFIN (*FRATERCULA CORNICULATA*) ON TALAN ISLAND (SEA OF OKHOTSK)

Varushkina T.S.¹, Golubova E.Y.², Matveeva G.K.¹

¹Perm State National Research University, Perm, Russia

²Institute of the Biological Problems of the North FEB RAS, Magadan, Russia

Abstract. The article presents the features of tufted and horned puffin's feeding on Talan Island in 2023: the chick's diet composition, the food samples' characteristics, the size of forage species, the feeding frequency and seasonal variability of the diet.

Key words: tufted puffin, horned puffin, chick diet, Sea of Okhotsk

Топорок (*Fratercula cirrhata*) и ипатка (*Fratercula corniculata*) являются экологически близкими рыбадными видами чистиковых птиц, широко распространенными в северной части Тихого океана. Для них характерно скрытное гнездование, откладка одного яйца за сезон, длительные периоды инкубации и выкармливания птенцов. В период размножения ипатки добывают корм на расстоянии 1–2 км от гнездовой колонии, топорки предпочитают кормиться дальше (15 км и более) [1,2]. Макальная глубина погружения у топорка составляет 110 м, у ипатки, имеющей меньшую массу тела, она ограничивается 77 м [3]. Особенности кормового поведения этих видов птиц и состав питания птенцов могут оказывать влияние на успешность размножения, а также, служить индикатором состояния трофических ресурсов в прилежащих к колонии водах [4,5].

Изучение питания птенцов проводили в июле – августе 2023 г. на о. Талан, расположенном в Тауйской губе (северная часть Охотского моря). Для сбора пищевых проб использовали металлические сетки, которыми на 1,5–2 часа в сутки перегораживали вход в гнездо с находящимся внутри птенцом [6]. Прилетевшая с моря взрослая птица, наткнувшись на преграду, тут же бросала принесенный корм. Дополнительно применяли вспугивание

подлетающих с кормом к гнездовой колонии птиц и последующий сбор брошенной ими добычи. Для выявления видового разнообразия кормовых объектов собирали все остатки рыб, обнаруженных в гнездах, на земле и на скалах. У полученных экземпляров измеряли вес и размер. Для выявления частоты кормления (количество приносов корма в каждое гнездо за сутки) из постоянных наблюдательных пунктов проводили наблюдения за заранее помеченными гнездами. Учеты проводили с 4–5 (в зависимости от времени восхода солнца) до 21–22 часов, когда птицы прекращали кормовую активность. Состав питания определяли по частоте встречаемости кормов в пробах (100% – общее число проб), их доле в биомассе (100% – суммарный вес собранного корма) и доле экземпляров конкретного вида среди всех кормовых объектов (100% – количество объектов во всех пробах). Разнообразие рациона оценивали с помощью индекса Шеннона (H), перекрытие рационов – с помощью индекса Мористы–Хорна. Значимость различий между группами выявляли с помощью H-критерия Краскала–Уоллеса. Корреляционный анализ проводили с использованием коэффициента Спирмена. Различия считали статистически значимыми при уровне $p < 0,05$. Средние величины приведены как $M \pm SD$ (где M — среднее арифметическое, SD – стандартное отклонение). Видовая принадлежность отдельных видов рыб и беспозвоночных была определена М.В. Назаркиным (ЗИН РАН) и К.В. Регель (ИБПС ДВО РАН) за что выражаем им огромную признательность.

В питании птенцов топорка было отмечено 15 видов рыб и 1 вид беспозвоночных; в рационе ипатки – 13 видов рыб, 1 вид круглоротых и 1 вид беспозвоночных (табл. 1). Перекрытие рационов составило 82%.

В рационе обоих видов птиц по весу, количеству экземпляров и частоте встречаемости преобладали сельдь, песчанка, мойва и пятнистый терпуг (табл.1, рис. 1). Суммарно на их долю пришлось 89,61% массы всего корма у топорка и 91,47% у ипатки. В связи с тем, что в рационе ипатки распределение биомассы основных кормов было достаточно равномерным, а в питании топорка основная доля пришлась на один вид – тихоокеанскую сельдь, разнообразие кормов у первого из этих видов было выше ($H = 1,63$ у топорка и $H = 1,22$ у ипатки).

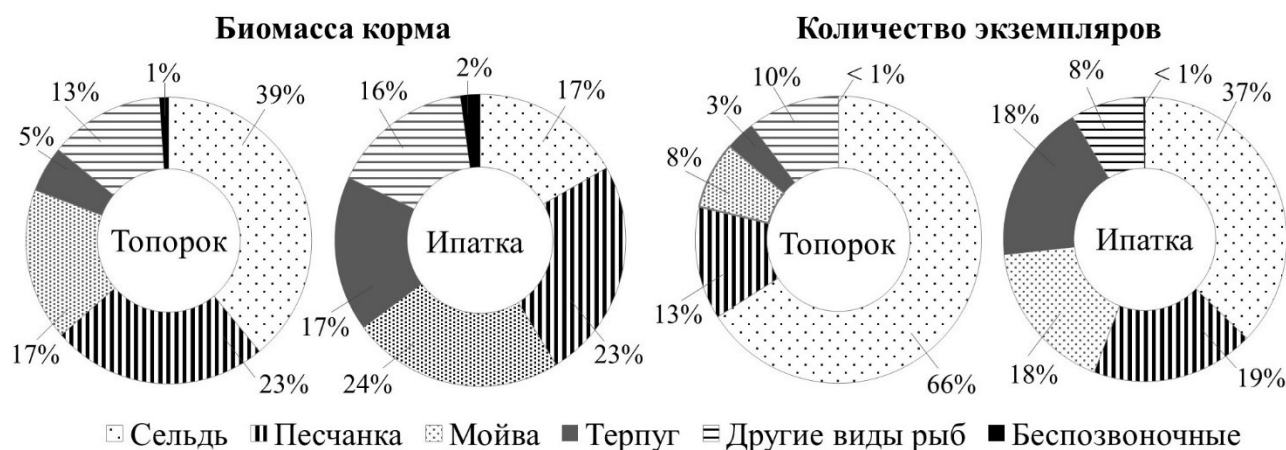


Рисунок 1 – Состав питания птенцов по количеству экземпляров и биомассе.

За один раз топорки могли приносить от 1 до 8 кормовых объектов, в среднем – $1,87 \pm 1,49$ ($n = 103$). В пищевых пробах ипатки содержалось от 1 до 12 экземпляров, среднее значение

составило $3,28 \pm 2,51$ ($n = 124$), что было статистически больше, чем у топорка ($H = 25,47$; $p = 0,0000001$). Вес проб у топорка варьировал от 0,1 до 48,0 г, его среднее значение составило $15,03 \pm 8,32$ г ($n=103$). Ипатки приносили порции корма весом от 2,5 до 35,9 г, в среднем – $13,61 \pm 5,89$ г ($n=124$). При сравнении средних значений веса проб у двух видов статистически значимых различий не обнаружено ($H = 2,15$; $p = 0,12$).

Таблица 1 – Состав питания топорка и ипатки по встречаемости кормов в пищевых пробах

Вид	Встречаемость, %	
	Топорок	Ипатка
КРУГЛОРОТЫЕ – CYCLOSTOMATA		
Тихоокеанская минога – <i>Lethenteron camtschaticum</i> (Tilesius, 1811)	–	0,80
КОСТНЫЕ РЫБЫ – OSTEICHTHYES		
Тихоокеанская сельдь – <i>Clupea pallasii</i> Valenciennes, 1847	58,25	33,60
Тихоокеанская мойва – <i>Mallotus villosus catervarius</i> (Pennant, 1784)	10,68	18,40
Тихоокеанская зубастая корюшка – <i>Osmerus mordax dentex</i> Steindachner et Kner, 1870	1,94	0,80
Тихоокеанская навага – <i>Eleginus gracilis</i> (Tilesius, 1810)	1,94	4,00
Тихоокеанский минтай – <i>Theragra chalcogramma</i> (Pallas, 1814)	2,91	–
Трехиглая колюшка – <i>Gasterosteus aculeatus</i> Linnaeus, 1758	0,97	4,00
Голубой окунь – <i>Sebastes glaucus</i> Hildendorf, 1880	0,97	6,4
Бурый терпуг – <i>Hexagrammos octogrammus</i> (Pallas, 1810)	0,97	1,60
Пятнистый терпуг – <i>Hexagrammos stelleri</i> Tilesius, 1810	5,83	23,20
Охотский ицел – <i>Icelus ochotensis</i> Schmidt, 1927		*
Двулопастной бычок – <i>Blepsias bilobus</i> Cuvier in Cuvier, 1829	0,97	–
Игловидная лисичка – <i>Pallasina aix</i> Starks, 1896	*	–
Малоусая лисичка – <i>Podothecus veterinus</i> Jordan et Starks, 1895	–	0,80
Стреловидный люмпен – <i>Lumpenus sagitta</i> Wilimovsky, 1956	0,97	–
Тихоокеанская песчанка – <i>Ammodytes hexapterus</i> Pallas, [1814]	21,36	27,20
Желтоперая камбала – <i>Limanda aspera</i> (Pallas, [1814])	*	2,40
Хоботная камбала – <i>Myxopsetta proboscidea</i> (Gilbert, 1896)	2,91	5,60
БЕСПОЗВОНОЧНЫЕ		
Эвфаузида – <i>Thysanoessa</i> sp.	1,94	–
Северный кальмар – <i>Boreoteuthis borealis</i> (Sasaki, 1923)	–	1,60
Общее количество видов	16	15

Примечание: * – Вид присутствовал в питании, но не был отмечен в пищевых пробах.

В питании изучаемых видов присутствовали экземпляры рыб длиной 27–233 мм, весившие от 0,1 до 48,0 г. Средние вес и размер сельди, которую получали птенцы топорка (табл. 2), были статистически больше, чем у ипатки (длина: $H = 16,37$; $p = 0,0001$; вес: $H = 16,01$; $p = 0,0001$). Экземпляры мойвы в рационе птенцов топорка также были крупнее, чем в рационе ипатки (вес: $H = 4,0$; $p = 0,04$; длина: $H = 5,0$; $p = 0,03$). Статистически значимых различий между параметрами песчанки в питании топорка и ипатки не выявлено (длина: $H =$

0,25; $p = 0,61$; вес: $N = 0,20$; $p = 0,66$), размерно-весовые характеристики терпугов у двух видов были близки (длина: $N = 0,97$; $p = 0,32$; вес: $N = 0,87$ $p = 0,35$).

Таблица 2 – Размерно-весовые характеристики основных кормов у топорка и ипатки в 2023 г.

Вид	Полная длина (TL), мм					Вес (m), г				
	Среднее	SD	Мин.	Макс.	n	Среднее	SD	Мин.	Макс.	n
Топорок										
Тихоокеанская сельдь	132,47	25,28	53	167	86	14,08	7,15	0,9	28,5	85
Тихоокеанская песчанка	102,22	39,72	63	170	49	4,07	4,51	0,5	14,6	49
Тихоокеанская мойва	97,58	13,28	74	131	40	3,63	1,43	1,4	5,8	39
Пятнистый терпуг	83,56	7,41	71	93	18	4,63	1,51	2,5	7,5	18
Ипатка										
Тихоокеанская сельдь	103,20	41,42	50	206	84	9,18	8,98	0,6	35,9	84
Тихоокеанская песчанка	94,44	32,50	54	181	121	2,99	3,61	0,4	19,0	118
Тихоокеанская мойва	90,59	15,45	36	116	105	3,08	1,57	0,3	6,3	105
Пятнистый терпуг	81,78	6,75	63	95	87	4,27	1,31	1,9	7,2	87

Соотношение преобладающих кормов в рационе птенцов изменялось на протяжении периода выкармливания. В конце июля в пищевых пробах топорка преобладала сельдь, также встречались мойва и терпуг (рис. 2). В дальнейшем произошло сокращение доли последних двух видов, увеличение содержания сельди и появление в рационе песчанки. Основу питания ипатки в конце июля составляли мойва и пятнистый терпуг, доля сельди была невелика. В начале августа в рационе ипатки появилась песчанка, которая к концу сезона, наряду с сельдью, стала преобладающим видом корма. Перекрывание рационов двух видов птиц увеличивалось на протяжении сезона от 61 до 89%.

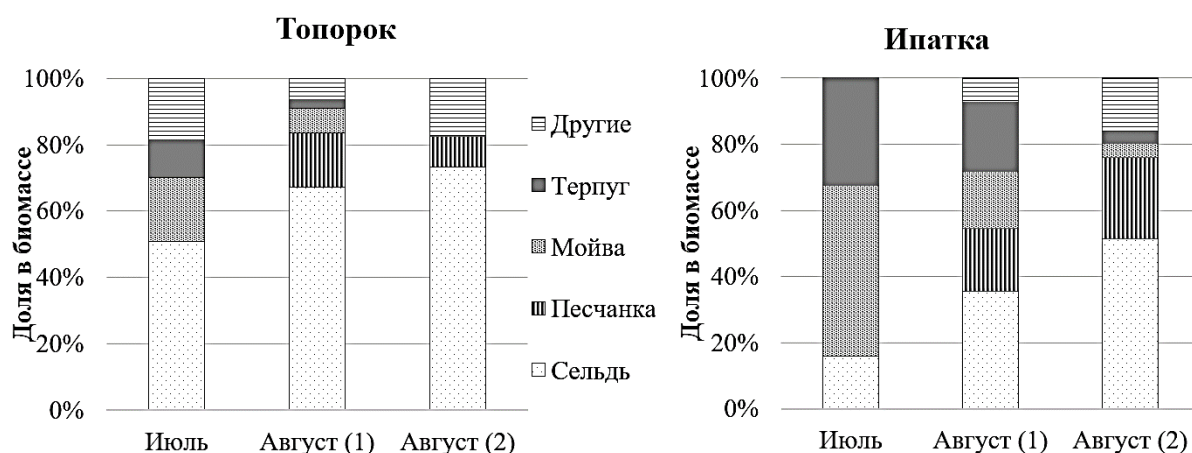


Рисунок 2 – Изменения состава питания птенцов по биомассе корма в течение периода выкармливания.

Количество образцов в отдельной порции корма практически не изменялось в течение сезона (рис. 3). У обоих видов не выявлено корреляции между этим параметром и датой сбора проб ($r_s = -0,05$; $p = 0,63$ у топорка и $r_s = -0,07$; $p = 0,42$ у ипатки). Статистически значимых различий между средними значениями на трех этапах периода выкармливания также не обнаружено (топорок: $N = 0,70$; $p = 0,63$; ипатка: $N = 1,40$; $p = 0,49$). Средний вес пищевых

проб у топорка незначительно увеличивался от начала периода выкармливания к его концу (рис. 3), выявлена положительная корреляция между датой сбора проб и значениями этого параметра ($r_s = 0,40$; $p = 0,00003$), у ипатки такая связь не обнаружена ($r_s = -0,08$; $p = 0,40$).

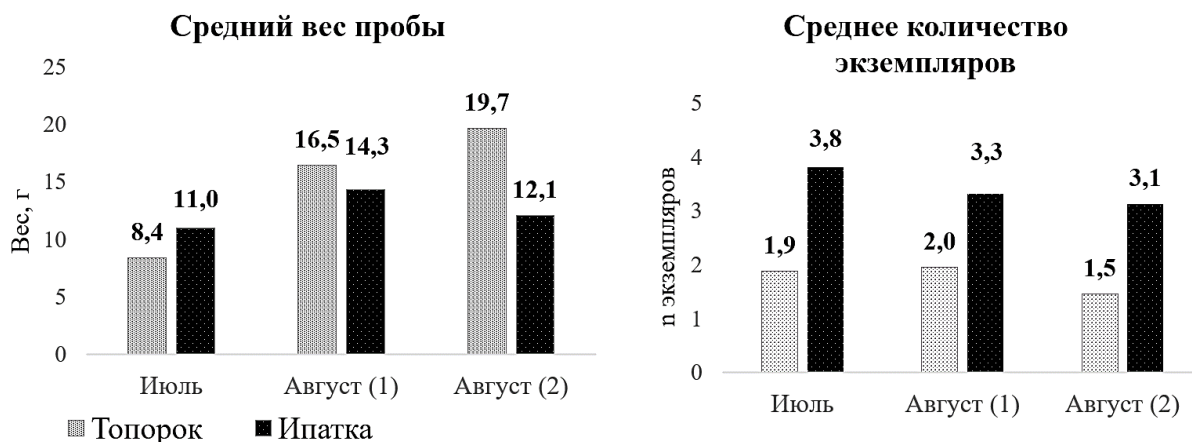


Рисунок 3 – Изменения среднего веса пищевых проб и среднего количества экземпляров в пробе в течении периода выкармливания.

В течение сезона средняя частота кормления птенцов была сходной: $3,00 \pm 2,22$ раз/сут. (0–7, $n=27$) у топорка и $3,17 \pm 1,85$ раз/сут. (0–7, $n=46$) у ипатки. В большей степени количество приносов корма в день варьировало у топорка ($CV = 73,96\%$), у ипатки изменчивость была ниже ($CV = 58,40\%$). У обоих видов в этом сезоне были отмечены гнезда, в которых родители не доставляли корм в течение суток. У ипатки пропуски в кормлении наблюдались в двух гнездах с птенцами возрастом 1 и 6 суток. У топорка птенцы, не получившие корм, были старше (9 и 27 суток) и в большинстве случаев это отмечалось во время штормовой погоды с сильным порывистым ветром. У обоих видов происходило некоторое увеличение частоты кормления в течение сезона (рис. 4): выявлена положительная корреляция между этим параметром и датой наблюдения ($r_s = 0,41$, $p = 0,03$ у топорка; $r_s = 0,54$, $p = 0,0001$ у ипатки), также имеются статистически значимые различия частоты приноса в начале и в конце периода выкармливания (топорок: $N = 4,18$; $p = 0,04$; ипатка: $N = 6,62$; $p = 0,01$).

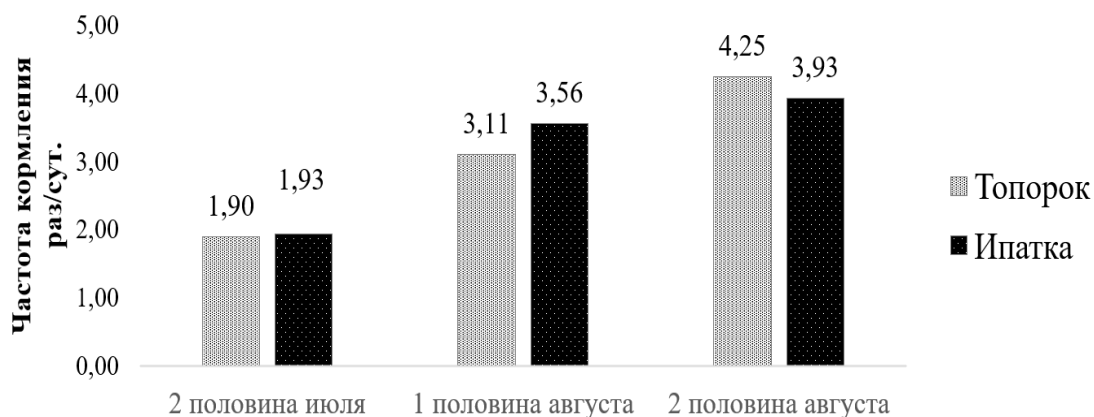


Рисунок 4 – Изменения средней частоты кормления птенцов в течении периода выкармливания.

Как известно, рацион морских птиц в значительной степени определяется доступностью и обилием рыбных ресурсов вблизи гнездовой колонии [7]. В 2023 г. основу питания птенцов топорка и ипатки составляли сельдь, песчанка и мойва, которые являются энергетически ценными кормами и обеспечивают благополучное существование популяций рыбоядных птиц в Тауйской губе [4]. Сельдь и песчанка регулярно выступали в качестве преобладающих кормовых объектов этих видов птиц на о. Талан, а с 2000 г. в число основных кормов стала входить и мойва. В этом сезоне была велика доля пятнистого терпуга, который ранее лишь в отдельные годы составлял значительную часть рациона птенцов [4]. На протяжении сезона происходила смена качественного состава пищи и увеличение частоты кормления птенцов обоих видов, что было обусловлено обилием и доступностью кормов в акватории Тауйской губы в связи с нагульными миграциями молоди пелагических рыб [4].

Согласно литературным данным, топорки и ипатки используют различные кормовые станции. Топорки предпочитают кормиться в более глубоководных и удаленных от берега районах, в связи с чем у них отмечают более широкие вариации спектра питания, чем у прибрежного вида – ипатки [1, 2, 6]. В наших исследованиях мы не нашли существенных различий в разнообразии добываемых ими кормов. Заметных изменений в их количественном содержании не было отмечено и в другие годы [4]. В то же время, как и в предыдущие годы, имеются различия в содержании основных видов рыб и их размерно-весовых характеристик. В питании топорка доля сельди была более высокой, а их птенцы получали более крупные экземпляры сельди и мойвы, чем ипатки. Также обращает внимание присутствие эвфаузиид и минтая в питании птенцов топорка в настоящем и предыдущих [4] исследованиях. Все это может указывать на использование топорками более отдаленных кормовых станций [2]. Однако содержание в питании у топорка, как и у ипатки, придонных и литоральных видов рыб (камбалы, лисички и др.), а также высокая доля песчанки, указывают на добывание кормов в прибрежных водах [1, 6].

По физико-географическим характеристикам Тауйская губа, где находится о. Талан, является обширным, но сравнительно неглубоким заливом, что позволяет обоим видам птиц добывать корм в пределах ее акватории, как на поверхности воды, так и в придонных участках, без увеличения дальности перелетов. Непосредственно вблизи острова существует зона повышенной биологической продуктивности, связанная с поступлением в море большого количества биогенов в процессе жизнедеятельности птиц. Это способствует высокой концентрации молоди рыб в прибрежных водах [4]. Такие условия, на наш взгляд, позволяют топорку и ипатке использовать одинаковые кормовые станции, что и выражается в сходстве состава питания и частоты кормления, зависящей от дальности перелетов.

Библиографический список

1. Piatt J.F., Kitaysky A.S. Horned Puffin (*Fratercula corniculata*) // The birds of North America. – 2002. – № 603. – P. 1–27.
2. Piatt J.F., Kitaysky A.S. Tufted Puffin (*Lunda cirrhata*) // The birds of North America. – 2002. – № 708. – P. 1–31.
3. Burger, A.E. Maximum diving depths and underwater foraging in alcids and penguins // Can. Wildl. Serv. Occas. Pap. – 1991. – № 68. – P. 9–15.

4. Голубова Е.Ю., Назаркин М.В. Экология питания топорка (*Lunda cirrhata*) и ипатки (*Fratercula corniculata*) в северной части Охотского моря // Изв. ТИНРО. – 2009. – Т. 158. – С. 303–323.
5. Kitaysky A.S., Golubova E.Y. Climate change causes contrasting trends in reproductive performance of planktivorous and piscivorous alcids // J. Anim. Ecol. – 2000. – V. 69. P. 248–262.
6. Hatch S.A., Sanger G.A. Puffins as samplers of juvenile pollock and other forage fish in the Gulf of Alaska // Mar. Ecol. Prog. Ser. – 1992. – V. 80. – P. 1–14.
7. Fayet A.L. et al. Local prey shortages drive foraging costs and breeding success in a declining seabird, the Atlantic puffin // J. Anim. Ecol. – 2021. – V. 90. – № 5. – P. 1152–1164.

ФАКТОРЫ, ВЛИЯЮЩИЕ НА ФОРМИРОВАНИЕ БЮДЖЕТОВ ЭНЕРГИИ У СЕВЕРНЫХ МОРСКИХ КОТИКОВ *CALLORHINUS URSINUS* В УСЛОВИЯХ НЕВОЛИ

Вяткина Ю.В., Костицына Н.В.

Пермский государственный национальный исследовательский университет, Пермь, Россия

Аннотация. Изучены бюджеты энергии *Callorhinus ursinus* в условиях неволи. Оценено влияние массы, пола, возраста, этапа годового цикла и дрессировки на затраты и получения энергии у представителей данного вида.

Ключевые слова: морские котики, бюджеты энергии, условия неволи, поведение, дрессировка.

FACTORS INFLUENCING THE FORMATION OF ENERGY BUDGETS IN NORTHERN FUR SEALS *CALLORHINUS URSINUS* IN CAPTIVITY

Vyatkina Yu.V., Kostitsyna N.V.

Perm State National Research University, Perm, Russia;

Abstract. Energy budgets of *Callorhinus ursinus* in captivity have been studied. The influence of weight, gender, age, stage of the annual cycle and training on energy expenditure and consumption in representatives of this species is estimated.

Key words: northern fur seals, energy budgets, captivity conditions, behavior, training.

Ластоногие давно стали любимцами публики океанариумов и зоопарков. Их приручение началось еще в 19 веке. Наиболее часто содержатся в неволе северные морские котики. Эти умные млекопитающие легко обучаются и хорошо поддаются дрессировке, однако в условиях неволи животные сталкиваются с дисбалансом ресурсов времени и энергии, что зачастую ведёт к необратимым последствиям для их организма. С этой точки зрения изучение социальных связей и бюджета энергии морских млекопитающих позволит воссоздать для них в зоопарках комфортные условия существования и снизить действие стресс-факторов на психологическое здоровье этих ластоногих [1].

Целью данного исследования явилась оценка влияния различных факторов на формирование бюджетов энергии у представителей северных морских котиков в условиях Ижевского зоопарка.

Сбор первичных данных проводили с 9 по 15 января, со 2 по 8 июня и с 11 по 17 октября 2023 года. Средняя уличная температура составила: -21°C зимой, +24°C летом, +6°C осенью, средняя температура воды: +11°C зимой, +20°C летом, +14°C осенью. Животные находились на улице с 9:00 до 20:00 часов летом, с 9:00 до 16:00 часов зимой и осенью. Кормление экспонируемых котиков производили 2 раза в день, а дрессированных - 4 раза в день во время тренировок [2]. Живые наблюдения проводили с 8:00 до 17:00 часов, активность животных в остальное время регистрировали по записи видеокамер из вольеров. Во время наблюдений

хронометрировали поведение особей, заполняя таблицу суточной активности. По этим данным рассчитывали бюджеты времени и энергии.

Расчёты производили, опираясь на работы Светочева В.Н. и Журида Б.А.[3, 4] по формуле:

$$\text{СБЭ} = \text{ВМ} \cdot \text{СБВ}, \text{ где}$$

СБЭ – Суточный бюджет энергии

ВМ – Основной обмен

$$\text{ВМ} = 293 \cdot m^{0,75}, \text{ где}$$

m – масса тела животного, значение степенного показателя (наклон линии регрессии) у млекопитающих равно 0,75.

СБВ – Суточный бюджет времени, определенный по формуле:

$$\text{СБВ} = \sum[(\mathcal{K}i \cdot ti)/100], \text{ где}$$

ti – доля времени, потраченная на i -ую форму суточной активности,

$\mathcal{K}i$ – коэффициент энергетических затрат i -ой формы суточной активности.

Деление на 100 необходимо для перевода процентных показателей разных форм активности в безразмерную форму.

СПЭ – суточная потребляемая энергия. Она рассчитана с использованием наблюдаемого рациона питания, массы (m), калорийности (k) и количества приёмов пищи (n):

$$\text{СПЭ} = \sum[k \cdot m] \cdot n$$

Расчеты показывают, что калорийность рациона и затраты энергии животных растут с увеличением массы тела. Связь между этими показателями является статистически достоверной, однако в период гона у самцов наблюдается обратная зависимость (рисунок 1). Это вызвано ярко выраженным половым диморфизмом и адаптацией животных к резко меняющимся показателям гормонального фона и условиям среды.

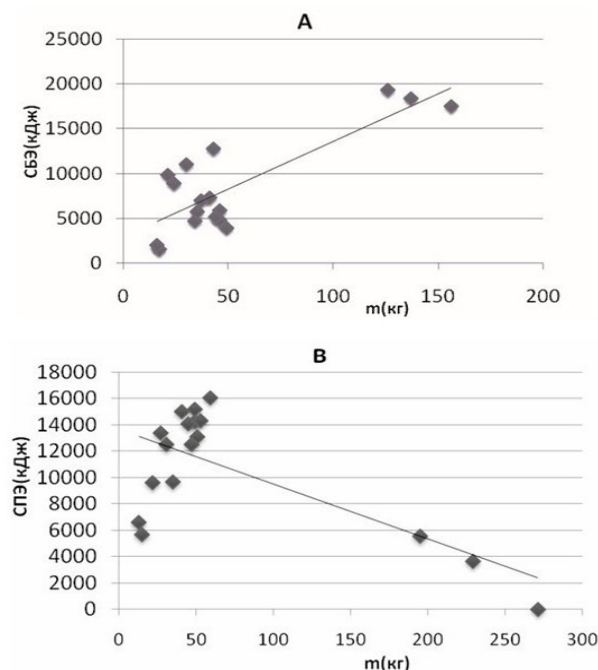


Рисунок 1 – Графики зависимости: А – затрат энергии от массы тела зимой, В – калорийности рациона от массы тела летом; линией показаны тенденции изменения показателей.

Для большей наглядности влияния остальных факторов на формирование бюджетов энергии, мы разделили полученные показатели на массу тела животных, тем самым получили уСБЭ и уСПЭ (удельные затраты энергии и удельное получение энергии). Эти значения сильно меняются в зависимости от этапа годового цикла котиков. У самцов *Callorhinus ursinus* значительно снижается аппетит с конца весны до начала осени, вплоть до полного отказа от рыбы (в среднем показатели уСПЭ♂ летом снизились в 20 раз), что совпадает по времени с лежбищным периодом жизни северных морских котиков в естественной среде, во время которого они долго не покидают гаремные участки [5]. У самок же наоборот наблюдается снижение количества поедаемой рыбы в зимне-весенний период (в среднем уСПЭ♀=294кДж/кг) и заметное увеличение рациона со второй половины лета до конца осени (в среднем уСПЭ♀=482кДж/кг). Такой аппетит самок обусловлен большими затратами энергии на кормление и воспитание потомства. У многих малышей вероятность пережить первый год жизни невелика, поэтому энергия, которую потомство получает от своих родителей, может увеличить их шансы на выживание, позволяя им быть крупнее, иметь большие запасы энергии и располагать энергией, доступной для развития навыков добывания пищи и выживания [6].

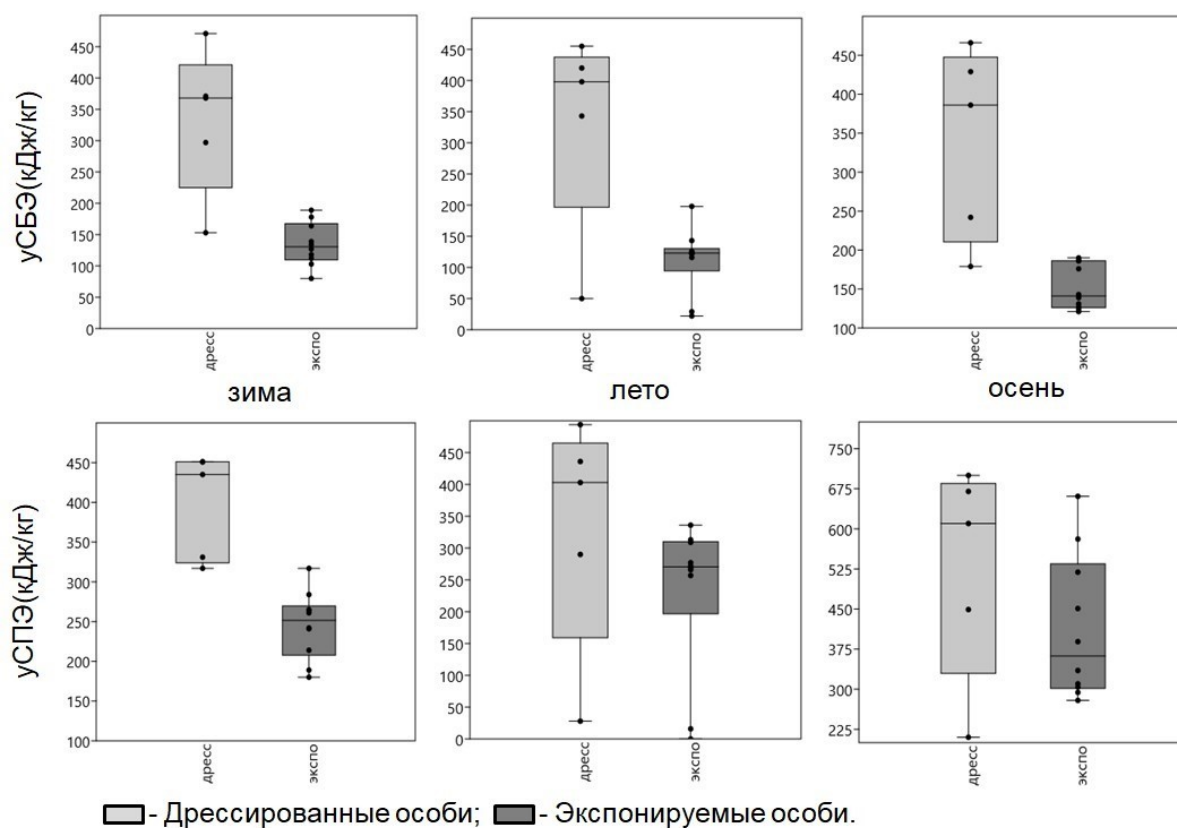


Рисунок 2 – Показатели удельных затрат и потребления энергии у дрессированных и экспонируемых особей на разных этапах годового цикла.

Удельные показатели затрат энергии в состоянии покоя у молоди выше (в среднем уСБЭ=375кДж/кг), чем у взрослых особей (в среднем уСБЭ=140кДж/кг) из-за повышенных затрат на рост и терморегуляцию, однако особенно сильное влияние на формирование бюджетов энергии оказывает именно дрессировка. Показатели уСБЭ у экспонируемых животных значительно ниже вне зависимости от остальных факторов, что отображено на

рисунке 2. Это вызвано тем, что дрессированные особи тратят много энергии во время тренировок, а также более активны в течение всего дня (коэффициент СБВ у них в среднем выше в 1,5 раза).

Результаты проведенных расчетов показывают, что с увеличением массы тела животного увеличивается общее потребление энергии в течение суток. Затраты энергии с увеличением массы тела у *Callorhinus ursinus* так же увеличивается. Связь между данными параметрами достоверна, однако в период гона можно наблюдать обратную зависимость. Также наблюдается связь между удельными затратами/получением энергии и этапом годового цикла животных, она является достоверной только в периоды максимальной активности животных (зима/осень). Есть статистически достоверные отличия между уСБЭ и уСПЭ у дрессированных и экспонируемых особей, у самцов и самок, у молоди и половозрелых северных морских котиков.

Библиографический список

1. Винобер А.В. Доместикация байкальской нерпы: возможный вариант решения проблемы // Козволюция и ноосфера: исследования, аналитика, прогнозирование. – 2017. – №2. – С. 154–168.
2. Моржи и морские котики в зоопарке Удмуртии / Рубцов Ю.А. [и др.]. Ижевск: Ин-т компьютерных исслед., 2014. – 234 с.
3. Светочев В.Н. Биология и экология гренландского тюленя (*Phoca groenlandica* Erxleben, 1777) беломорской популяции на первом году жизни: автореф. на соиск. ученой степ. канд. биол. наук: 25.00.28 – Мурманск, 2013. – 24 с.
4. Журид Б.А., Верижникова С.А. Кормление морских млекопитающих в океанариуме / ФГБОУ УлГАУ. Изд. Акварин. – 2000. – 368 с.
5. Wilson D.E., Mittermeier R.A. Handbook of the Mammals of the world. Barcelona: Lynx Edicions. – 2014. – V. 4. – 89 p.
6. Clutton-Brock T.H., Major M., Guinness F.E. Population regulation in male and female red deer // The Journal of Animal Ecology. – 1985. – V. 54. – № 3. – P. 831–846.

СРАВНЕНИЕ СООБЩЕСТВ ПТИЦ ДВУХ ООПТ Г.ПЕРМИ: «ЛИПОВАЯ ГОРА» И «ЧЕРНЯЕВСКИЙ ЛЕС» И КАМНЯ ВЕТЛАН (ОКРЕСТНОСТИ Г.КРАСНОВИШЕРСКА)

Еловикова К.Н.¹, Колбин В.А.², Костицына Н.В.¹

¹ Пермский государственный национальный исследовательский университет, Пермь, Россия

² ФГБУ «Государственный заповедник "Вишерский"», г. Красновишерск, Россия

Аннотация. В статье приводятся сведения о качественном и количественном составе орнитофауны двух ООПТ г.Перми «Черняевский лес» и «Липовая гора», а также камня Ветлан (окрестности г.Красновишерска).

Ключевые слова: орнитофауна; видовое разнообразие; Ветлан; Липовая гора; Черняевский лес

COMPARISON OF BIRD COMMUNITIES OF TWO PAs IN PERM: “LIPOVAYA GORA” AND “CHERNYAEVSKY LES” AND STONE VETLAN (NEAR KRASNOVISHERSK)

Elovikova K.N.¹, Kolbin V.A.², Kostitsyna N.V.¹

¹ Perm State National Research University, Perm, Russia¹

² Vishersky nature reserve, Krasnovishersk, Russia

Annotation. The article provides information on the qualitative and quantitative composition of the avifauna of two protected areas in Perm, “Chernyaevsky les” and “Linden Mountain,” as well as the Vetlan stone (in the vicinity of Krasnovishersk).

Key words: avifauna; species diversity; «the Vetlan stone»; «Lipovaya gora»; «Chernyaevsky les»

Проведено сравнение орнитоценозов двух лесных биотопов ООПТ г. Перми – охраняемый ландшафт «Черняевский лес» и охраняемый ландшафт «Липовая гора» по результатам маршрутных учетов, проведенных в конце мая – начале июня 2023 г. Также в качестве сравнительной территории были проведены маршрутные учеты в окрестностях г. Красновишерск (от п. Набережный (г. Красновишерск) до к. Ветлан). В окрестностях г. Красновишерск маршрутные учеты проводили по верхней и нижней тропе до к. Ветлан. Ранее на этой территории уже проводился учет орнитофауны методом картирования [1].

Маршрутный учет проводили методом трансектного учета (учета в ограниченной полосе) [2]. Перед проведением маршрутных учетов были предварительно изучены материалы о видовом составе птиц исследуемых территорий [3, 4], растительности исследуемых биотопов [5, 6, 7]. Маршрутные учеты проводили по заложенному маршруту примерно в одно и то же время (с учетом погодных условий). В таблице 1 представлен перечень видов птиц исследуемых биотопов. Список видов птиц дан по Е.А. Коблику и В.Ю. Архипову [8].

На ООПТ «Черняевский лес» был отмечен 21 вид, на ООПТ «Липовая гора» – 27 видов. Общее количество видов птиц на исследуемых ООПТ г. Перми – 31 вид. На маршруте по нижней тропе до камня Ветлан было встречено 25 видов птиц, по верхней тропе – 22 вида.

Общее количество видов птиц по результатам учетов, проведенных около г. Красновишерска,
– 33 вида.

Таблица 1 – Видовой состав птиц исследованных биотопов в 2023 г.

№	Вид	Исследуемый биотоп и дата			
		ООПТ «Черняевский лес» (20 мая)	ООПТ «Липовая гора» (4 июня)	Нижняя тропа до к.Ветлан (7 июня)	Верхняя тропа до к.Ветлан (8 июня)
1	Пеночка-весничка <i>Phylloscopus trochilus</i> L., 1758	+		+	+
2	Полевой воробей <i>Passer montanus</i> Linnaeus, 1758		+	+	
3	Дрозд-рябинник <i>Turdus pilaris</i> L., 1758	+	+	+	+
4	Садовая славка <i>Sylvia borin</i> Bodd., 1783		+	+	
5	Ворона <i>Corvus cornix</i> L., 1758	+	+	+	
6	Чечевица <i>Carpodacus erythrinus</i> Pall., 1770		+	+	
7	Горихвостка <i>Phoenicurus phoenicurus</i> L., 1758		+	+	+
8	Сорока <i>Pica pica</i> L., 1758			+	+
9	Речная крачка <i>Sterna hirundo</i> Linnaeus, 1758			+	
10	Садовая камышовка <i>Acrocephalus dumetorum</i> Beyth., 1849		+	+	+
11	Глухая кукушка <i>Cuculus optatus</i> Gould, 1845			+	+

Продолжение таблицы 1

12	Дрозд-белобровик <i>Turdus iliacus</i> L., 1758	+	+	+	+
13	Сизая чайка <i>Larus canus</i> Linnaeus, 1758			+	+
14	Вьюрок <i>Fringilla montifringilla</i> L., 1758	+	+	+	+
15	Зяблик <i>Fringilla coelebs</i> L., 1758	+	+	+	+
16	Обыкновенная кукушка <i>Cuculus canorus</i> L., 1758	+		+	+
17	Соловей <i>Luscinia luscinia</i> L., 1758	+		+	
18	Снегирь <i>Pyrrhula pyrrhula</i> L., 1758	+	+	+	
19	Черноголовый чекан <i>Saxicola rubicola</i> L., 1758			+	
20	Белая трясогузка <i>Motacilla alba</i> L., 1758	+	+	+	
21	Зеленая пеночка <i>Phylloscopus trochiloides</i> L., 1758	+	+	+	+
22	Пеночка-таловка <i>Phylloscopus borealis</i> J.H. Blasius, 1858			+	+
23	Певчий дрозд <i>Turdus philomelos</i> Brehm., 1831	+	+	+	+
24	Дрозд-деряба <i>Turdus viscivorus</i> Linnaeus, 1758			+	
25	Перевозчик <i>Actitis hypoleucos</i> , L, 1758			+	
26	Зарянка <i>Erithacus rubecula</i> L., 1758	+	+		+
27	Большой пёстрый дятел <i>Dendrocopos major</i> L., 1758	+	+		+

Продолжение таблицы 1

28	Желтоголовый королек <i>Regulus regulus L., 1758</i>				+
29	Клест-еловик <i>Loxia curvirostra L., 1758</i>				+
30	Мухоловка- пеструшка <i>Ficedula hypoleuca Pall., 1764</i>	+	+		+
31	Пеночка-теньковка <i>Phylloscopus collybita Vieel., 1817</i>	+	+		+
32	Лесной жаворонок <i>Lullula arborea Linnaeus, 1758</i>				+
33	Славка- черноголовка <i>Sylvia atricapilla, L., 1758</i>		+		+
34	Зеленушка <i>Chloris chloris L., 1758</i>		+		
35	Сизый голубь <i>Columba livia Gmelin, 1789</i>	+	+		
36	Черный стриж <i>Apus apus, L., 1758</i>	+	+		
37	Щегол <i>Carduelis carduelis L., 1758</i>		+		
38	Большая синица <i>Parus major L., 1758</i>	+	+		
39	Черный коршун <i>Milvus migrans Bodd, 1783</i>		+		
40	Буроголовая гаичка <i>Parus montanus Baldenst., 1827</i>	+	+		
41	Пеночка-трещотка <i>Phylloscopus sibilatrix (Bechstein, 1793)</i>		+		
42	Московка <i>Parus ater L., 1758</i>	+			

Сравнение сообществ птиц в исследуемых биотопах проведено с помощью показателей биологического разнообразия: индексы биоразнообразия Маргалефа (d) и Шеннона-Уивера (H), мера доминирования Симпсона (C), и индекс выравненности Пиелу (E) [9]. Показатели биоразнообразия птиц представлены в таблице 2.

Таблица 2 – Показатели биоразнообразия птиц исследованных биотопов в 2023 г.

Место и дата	Показатель биоразнообразия			
	d	H	C	E
ООПТ «Черняевский лес» (20 мая)	4,23	2,52	0,11	1,57
ООПТ «Липовая гора» (4 июня)	4,83	2,62	0,44	1,63
Нижняя тропа до к. Ветлан (7 июня)	5,08	2,76	0,09	3,16
Верхняя тропа до к. Ветлан (8 июня)	4,98	2,6	0,12	3,09

Примечание: d – Индекс Маргалефа, H – индекс Шеннона-Уивера, C – мера доминирования Симпсона, E – Индекс выравненности Пиелу.

Анализ индексов Маргалефа (d) и Шеннона-Уивера (H) показал (таблица 2), что максимальное разнообразие птиц характерно для нижней тропы до к. Ветлан (d = 5,08; H = 2,76). Нижняя тропа до к. Ветлан расположена на границе двух биотопов (долина р. Вишера и лес), там были отмечены такие характерные для водоемов виды как речная крачка, перевозчик. Среди двух исследуемых ООПТ г. Перми максимальное разнообразие птиц характерно для ООПТ «Липовая гора» (d = 4,83; H = 2,62). ООПТ «Липовая гора» территориально расположена на окраине города, в то время как ООПТ «Черняевский лес» внутри города.

Мера доминирования, согласно индексу Симпсона (C) достигает максимального значения на ООПТ «Липовая гора». Индекс Пиелу (E), указывающий на выравненность сообществ птиц, имеет высокие значения на маршруте по нижней тропе до к. Ветлан.

Для определения фаунистического сходства исследуемых биотопов использовали коэффициент Жаккара (таблица 3). Наибольшим фаунистическим сходством по данному показателю обладают ООПТ «Липовая гора» и ООПТ «Черняевский лес» (55%). Также высокое сходство характерно для нижней и верхней тропы до к. Ветлан (42%). Наименьшее значение этот показатель принимает при сравнении фауны ООПТ «Липовая гора» и верхней тропы до к. Ветлан (29%).

Орнитофауна исследуемых биотопов представлена 42 видами, из них во всех биотопах встречаются 6 видов. Все исследуемые биотопы имеют определенную рекреационную нагрузку. ООПТ г. Перми «Черняевский лес» и «Липовая гора» используются жителями в целях туризма и отдыха. Нижняя и верхняя тропа до камня Ветлан являются популярными туристическими маршрутами. Несмотря на рекреационную нагрузку, видовое разнообразие птиц исследуемых территорий в гнездовой период остается достаточно высоким.

Таблица 3 – Фаунистическое сходство орнитофауны исследованных биотопов в 2023 г. по индексу Жаккара

Биотоп	ООПТ «Черняевский лес»	ООПТ «Липовая гора»	Нижняя тропа до к.Ветлан	Верхняя тропа до к.Ветлан
ООПТ «Черняевский лес»	100%	55%	35%	39%
ООПТ «Липовая гора»	55%	100%	37%	29%
Нижняя тропа до к. Ветлан	35%	37%	100%	42%
Верхняя тропа до к. Ветлан	39%	29%	42%	100%

Библиографический список

1. Колбин В.А., Тугунова К.С. Опыт картирования птиц поймы р. Вишера в окрестностях камня Ветлан // Вестник Пермского государственного гуманитарно-педагогического университета. – Серия № 2. Физико-математические и естественные науки. – Вып. 1/2020. С. 26–35.
2. Романов В.В., Мальцев И.В. Методы исследований экологии наземных позвоночных животных: количественные учеты: учеб.пособие: Владим. гос. ун-т. – Владимир: Изд-во Владим. гос. ун-та., 2005 – 79 с.
3. Колбин В.А. Птицы заповедника «Вишерский» и прилегающих территорий. – Москва: Арсенал АМТ, 2016. – 356 с.
4. Шепель А.И., Матвеева Г. К. Птицы города Перми. – Пермь: Книжный мир, 2020. – 344 с.
5. Молганова Н.А. Дендрофлора ООПТ «Черняевский лес» (г. Пермь) // Вестник Пермского университета. Серия: Биология. – 2013. – № 3. – С. 27–30.
6. Овеснов С.А. К флоре Красновишерского района Пермской области // Вестник Пермского университета. Серия: Биология. – 2004. – Вып. 2. – С. 7–13.
7. Тиунов Д.Н., Ефимик Е.Г. Ботаническая характеристика ООПТ «Липовая гора» // Антропогенная трансформация природной среды, 2017. – С. 78–80.
8. Коблик Е.А., Архипов В.Ю. Фауна птиц стран Северной Евразии в границах бывшего СССР: списки видов // Зоологические исследования. – 2014. – № 14. – 171 с.
9. Городничев Р.М. и др. Методы экологических исследований. Основы статистической обработки данных: учебно-методическое пособие. – Якутск: Издательский дом СВФУ, 2019. – 94 с.

НАБЛЮДЕНИЯ ЗА ИХТИОФАУНОЙ НИЖНЕГО УЧАСТКА РЕКИ БЕЛАЯ В НЕРЕСТОВЫЙ ПЕРИОД 2023 ГОДА

Каралаш А.А.^{1,2}, Житлухина В.Н.^{1,2}, Токарев А.В.², Бакланов М.А.¹

¹ Пермский государственный национальный исследовательский университет, Пермь, Россия

² Пермский филиал Всероссийского научно-исследовательского института рыбного хозяйства и океанографии, Пермь, Россия

Аннотация. Приводятся данные наблюдений за ихтиофауной в нерестовый период 2023 г. на нижнем участке реки Белая (с. Кушнаренково).

Ключевые слова: река Белая, ихтиофауна, нерест

OBSERVATIONS OF ICHTHYOFAUNA OF THE LOWER SECTION OF THE BELAYA RIVER DURING THE SPAWNING SEASON 2023

Karalash A.A.^{1,2}, Zhitlukhina V.N.^{1,2}, Tokarev A.V.², Baklanov M.A.¹

¹ Perm State National Research University, Perm, Russia

² Perm Branch «VNIRO», Perm, Russia

Annotation. The data of observations of ichthyofauna during the spawning period of 2023 in the lower section of the Belaya River (Kushnarenkovo village) are presented.

Key words: Belaya River, ichthyofauna, spawning

Введение. Река Белая – один из крупнейших притоков р. Камы, имеет длину 1430 км, площадь водосбора 142 тыс. км². Впадает в р. Каму с левого берега на расстоянии 177 км от устья. Река Белая берет начало в горах Южного Урала у восточного подножия хребта Аваляк, течет через основную часть территории Башкортостана и впадает в р. Каму в пределах Татарстана [1, 2].

Актуальность статьи связана с отсутствием свежих данных о состоянии ихтиофауны на р. Белая и информации о ходе нереста массовых видов рыб. Мониторинг этих данных важен для дальнейшего анализа состояния ихтиофауны в последующие годы.

Цель исследования – анализ состава ихтиофауны и хода нереста массовых видов рыб на р. Белая в настоящее время.

Материалы и методы. Материал, использованный в данной работе, был собран с 4 по 19 мая 2023 г. на нижнем участке р. Белая около с. Кушнаренково.

Лов рыбы проводили набором ставных сетей с размером ячеи 35, 40, 45, 50, 60, 65 мм и неводом ячеей 40 мм. На месте проанализирован размерно-видовой состав уловов с каждого орудия лова (2162 экз.). Сбор и обработку материала проводили согласно общепринятым методикам [3, 4, 5]. Измерения осуществляли на свежесобранном материале.

Для обработки и анализа первичных данных использовалось программное обеспечение Fish Reader [6] и Fish Explorer [7].

Анализ результатов. Главным фактором, который определяет сроки начала нереста и массового выхода рыб на нерестилища является температура воды. Во второй половине

апреля в районе с. Кушнаренково температура воздуха поднялась до 20-25°C, что способствовало прогреву воды для нереста таких видов рыб как: щука, жерех, подуст, голавль и окунь. Данные виды рыб в уловах встречались с 6 стадией развития гонад (выбой). В начале мая наблюдалась переменчивая погода, иногда с сильными ветрами. В период с 7 по 8 мая было зафиксировано резкое снижение температуры воздуха с 22°C до 5°C, что в последствии привело к снижению температуры воды с 15 до 13°C. Нерест леща и плотвы был отмечен с 4 по 14 мая, в последствии нестабильных погодных условий у густеры период икрометания растянулся с 4 по 18 мая. К середине мая отмечалось потепление, ясная или малооблачная погода, без осадков. Температура воздуха достигла 22°C, при этом показатели температуры воды достигли 17°C. В этот период с 15-19 мая начался массовый нерест белоглазки и чехони.

Основная масса улова была представлена лещом – 40,75% по численности и 63,14% по массе (таблица). В вылове встречаются особи леща длиной от 173 до 532 мм и массой от 116 до 3645 г, в возрасте от 3 до 17 лет, преимущественно доминировали особи 6-8 летней возрастной группы. Доля самок (66%) заметно превышает численность самцов (34%). Основная часть леща отмечена в крупноячейных сетях.

Таблица – Видовой состав уловов в нерестовый период на р. Белая

Вид	Численность		Масса	
	шт.	%	кг	%
Лещ	881	40,75	729,97	63,14
Щука	68	3,15	89,31	7,73
Судак	21	0,97	21,73	1,88
Сом	1	0,05	4,7	0,41
Густера	475	21,97	107,32	9,29
Плотва	467	21,6	119,25	10,32
Чехонь	101	4,67	15,98	1,38
Окунь	75	3,47	13,61	1,18
Белоглазка	7	0,32	1,24	0,11
Жерех	15	0,69	19,59	1,7
Подуст	8	0,37	3,23	0,28
Карп	2	0,09	3,78	0,33
Золотой карась	5	0,23	3,41	0,3
Голавль	26	1,2	17,03	1,47
Язь	5	0,23	3,09	0,27
Линь	1	0,05	0,31	0,03
Синец	3	0,14	0,7	0,06
Пёстрый толстолобик	1	0,05	1,41	0,12
Общее	2162	100	1155,66	100

Ценными видами рыб для промысла являются судак и щука, в уловах за период наблюдений общая численность которых составила 4,12% по численности и 9,61% по массе. В выловах встречается щука длиной от 302 до 860 мм и массой от 248 до 6800 г. Возрастная группа представлена особями от 3 до 12 лет, основную массу которых составляют 4-5 летки. Самки составляют 92%. Размеры судака в уловах варьировали от 230 до 605 мм, масса – от 165 до 3400 г, возраст – от 2 до 8 лет, преимущественно доминировали особи 3-4 летней возрастной группы. Доля незрелых особей составила 19%, остальные рыбы (81%) были самками, самцов в улове не отмечено. Основная часть щуки и судака отмечена в крупноячейных сетях.

Массовыми видами так же являются густера (21,97% по численности) и плотва (21,6% по численности). Длина густеры варьировала от 115 до 281 мм и масса – от 92 до 627 г. Данный вид представлен 11 возрастными группами от 2 до 12 лет, основная масса представлена особями 5-6 летнего возраста. Самки существенно преобладали над самцами (84% и 16%, соответственно). Размеры плотвы в уловах варьировали от 161 до 302 мм, масса – от 38 до 340 г, возраст – от 5 до 12 лет, преимущественно были особи 7-8 летней возрастной группы. Доля самок (86%) также значительно превышала долю самцов (14%).

Чехонь была отмечена только при ловле неводом ячеей 40 мм, основная масса представлена особями 4-5 летнего возраста. В вылове встречались особи длиной от 195 до 327 мм и массой от 162 до 365 г, возрастные группы от 4 до 12 лет. Самки составили 81% улова.

Размеры окуня в уловах варьировали от 138 до 276 мм, масса – от 43 до 474 г, возраст от 3 до 10 лет, преимущественно были особи 5-7 летней возрастной группы. В улове были отмечены только самки на 6 стадии зрелости гонад.

Заключение. Благоприятные погодные условия в конце апреля способствовали прогреву воды на нерестилищах, в связи с чем такие виды рыб как, щука, жерех, подуст, голавль и окунь отнерестились до начала периода наблюдений. Резкое снижение температуры воздуха в первой декаде мая привело к снижению температуры воды, из-за чего нерест густеры оказался прерывистым и затянутым.

В уловах в основном преобладал лещ, значительно были представлены густера, плотва, чехонь. Численность ценных промысловых видов рыб таких как, щука, судак, сом, не превышает 4%. У всех массовых видов в нерестовых скоплениях преобладали самки (66-100%).

Библиографический список

1. Ресурсы поверхностных вод СССР. Средний Урал и Приуралье /под ред. Н.М. Алюшинской. Т. 11. Л.: Гидрометеиздат. 1973. 848 с.
2. Ураксин З.Г. Башкортостан: Краткая энциклопедия. Уфа: Научное издательство "Башкирская энциклопедия", 1996. 672 с.
3. Чугунова Н.И. Руководство по изучению возраста и роста рыб. М., 1959. 164 с.
4. Правдин И.Ф. Руководство по изучению рыб. М.: Пищ. пром-сть, 1966. 376 с.
5. Сечин Ю.Т. Методические указания по оценке численности рыб в пресноводных водоемах. М., 1990. 50 с.
6. Свидетельство о государственной регистрации программы для ЭВМ № 2015611815 Российская Федерация. Fish Reader: № 2014663677 / В. В. Безматерных; заявл. 18.12.2014; опубл. 06.02.2015.
7. Свидетельство о государственной регистрации программы для ЭВМ № 2021618173 Российская Федерация. Fish Explorer: № 2021617448 / В. В. Безматерных; заявл. 18.05.2021; опубл. 24.05.2021.

ИЗУЧЕНИЕ СТРУКТУР МОЗЖЕЧКА СЕРОЙ ВОРОНЫ НА РАЗНЫХ СТАДИЯХ ПОСТНАТАЛЬНОГО РАЗВИТИЯ

Каширская В.В.¹, Воронов Л.Н.²

¹Пермский государственный национальный исследовательский университет, Пермь, Россия

²Чувашский государственный университет им. И.Н. Ульянова, Чебоксары, Россия

Аннотация: Исследовано строение коры мозжечка птенцов серой вороны в 1, 14, 30 и 90-дневном возрасте по сравнению со взрослыми особями. Установлены закономерности развития молекулярного и зернистого слоёв мозжечка, а также зернистых клеток и клеток Пуркинье.

Ключевые слова: мозжечок, птицы, онтогенез

THE STUDY OF THE STRUCTURES OF THE CEREBELLUM IN GRAY CROWS AT DIFFERENT STAGES OF POSTNATAL DEVELOPMENT

Kashirskaya V.V.¹, Voronov L.N.²

¹Perm State National Research University, Perm, Russia

²I.N. Ulyanov Chuvash State University, Cheboksary, Russia

Abstract: The structure of the cerebellum cortex of gray crow chicks at 1, 14, 30 and 90 days of age compared with adults was studied. The regularities of the development of the molecular and granular layers of the cerebellum, as well as granular cells and Purkinje cells, have been established.

Key words: cerebellum, birds, ontogenesis

Мозжечок – это часть мозга, связанная с управлением опорно-двигательного аппарата, а также участвующая в когнитивных процессах [15][16]. Для птиц характерно высокое совершенство вестибулярного аппарата и системы координации движений. Следствием интенсивного развития координационных сенсомоторных центров стало появление крупного мозжечка с настоящими складками — бороздами и извилинами.

Актуальность изучения онтогенеза головного мозга птенцов серой вороны связана с тем, что группой учёных была проведена серия работ по когнитивным способностям вороновых птиц. Исследовали способность врановых к обобщению и символизации [12], позднее особенности протоорудийной деятельности [1] и элементов сознания. Удалось показать, что серые вороны способны выявлять аналогии в структуре двухкомпонентных стимулов, не имеющих явного перцептивного сходства, но состоящих из двух одинаковых или двух разных элементов. Мозжечок, в свою очередь, как часть мозга представляет собой своеобразную структуру центральной нервной системы. Oleinik и Grigoryan [18] сделали вывод, что значительное увеличение объема и количества клеток мозжечка способствует выполнению большего набора движений. Соответственно, чем быстрее происходит увеличение объема и количества клеток мозжечка, тем быстрее живой организм сможет выполнять локомоторные, ориентационные и определённые когнитивные функции. Хотелось бы отметить работу Butts et al. [14], в которой выявили наличие различной морфологии взрослых особей рыб, из чего

можно сделать вывод о потенциале мозжечка как модальной системы для эволюционных исследований развития ЦНС. Об этом также свидетельствуют Katajamaa et al.[16]: по результатам проведённого эксперимента они выявили связь между размером мозжечка и способностью птиц адаптироваться к жизни с человеком, обрабатывая пугливые стимулы. Работами А.Г. Резанова было показано сложное кормовое пищедобывательное поведение вороновых птиц, где мозжечок задействован из-за контроля за сложным движением [9][10]. Особую значимость принимает мозжечок в связи с перелётами птиц и ориентации в пространстве [6-7]. Морфологическую структуру конечного мозга серой вороны изучали в своих работах Воронов Л. Н. [3-5].

Однако, структура мозжечка птиц исследована недостаточно. В обзоре Т.Б. Голубевой и др. [8] указано, что мозжечок птиц в связи с освоением ими трёхмерного пространства, как правило, очень большой по сравнению с мозжечком других позвоночных. Особенно он велик у попугаев, врановых, дятлов и сов. У врановых, попугаев и дятлов заметно увеличены доли мозжечка, связанные с тройничным нервом и зрением, это объясняется прежде всего разнообразным использованием клюва как инструмента с обязательным участием зрения. У сов достоверно более развиты вестибулярные и соматосенсорные каудальные доли мозжечка, что объясняют их специализацией ночных хищников [17]. Стоит также отметить, что к моменту рождения мозжечок сформирован не до конца, в особенности его структуры. Основные клетки мозжечка – клетки Пуркинье – на момент первого дня постнатального периода практически не сформированы [2]. В постнатальном онтогенезе птиц до становления представителя взрослой особи, существует определенное количество периодов, на границах которых изменяются взаимоотношения организма и среды, что ведёт к смене векторов органогенеза [11], [13]. Из этого можно сделать вывод, что на границах периодов и, вероятно, в самом начале постэмбрионального развития можно заметить наиболее активное развитие мозжечковых структур.

Материалы и методика исследований

В ходе работы изучали мозжечок вороны серой (*Corvus cornix*) в 5 стадиях онтогенеза – 1 день, 14 дней, 30 дней, 90 дней и взрослая особь (по 5 особей каждого возраста). Птицы добывались в районе города Чебоксары. Гистологические исследования проводили по стандартным прописям с фиксацией в спирте и заливкой в парафин. Определение и подсчёт структурных компонентов производился по фотографиям, сделанных с помощью программы «Levenhuk Lite», цифровой камеры «Levenhuk» и микроскопа Микмед 5. Фотографии сделаны при увеличениях 40 x 10. Для работы использовался каждый 10 срез толщиной 20 мкм. в фронтальной проекции. Измеряли площади слоев мозжечка, их длину и ширину, а также количество клеток Пуркинье и их площадь, длину и ширину листов мозжечка. Материал обработан на достоверность различия сравниваемых показателей с использованием программного пакета «Statistica».

Результаты исследований и их обсуждение

В возрасте 1 день – клетки Пуркинье практически не отличимы от других клеток. Остальные клетки уже дифференцированы, но четких границ между определёнными слоями нет. Зернистый слой представляется скоплением клеток примерно в середине мозжечка (рис. 1). На 14 день наблюдается уплотнение молекулярного слоя наибольшее, клетки Пуркинье начинают различаться от других, а ганглионарный слой здесь наиболее широкий. Происходит дифференцировка на слои. На 30 день постнатального развития клетки Пуркинье приобретают более округлую форму (рис. 2), клетки зернистого слоя наиболее густо сосредоточены. В

возрасте 3 месяцев наблюдается уплотнение молекулярного слоя, при этом четкость границы становится меньше. Видны самые большие по площади клетки Пуркинье. На примере строения 90-дневного мозжечка можно детально рассмотреть строение структурных компонентов (рис. 3): фолia (листок) мозжечка (FL), мягкая оболочка (O), молекулярный слой (ML), слой клеток Пуркинье (PR), гранулярный слой (GL), мозговое вещество (M). У взрослых: количество клеток Пуркинье больше и границы между слоями выглядят чётче. Эти клетки наиболее густо сосредоточены по латеральным сторонам зернистого слоя, наиболее редко – ближе к центру мозжечка и имеют как округлую, так и вытянутую форму. В основном представлены грушевидные формы, но имеются и более округлые или вытянутые, а также угловатые, особенно на ранних стадиях развития.

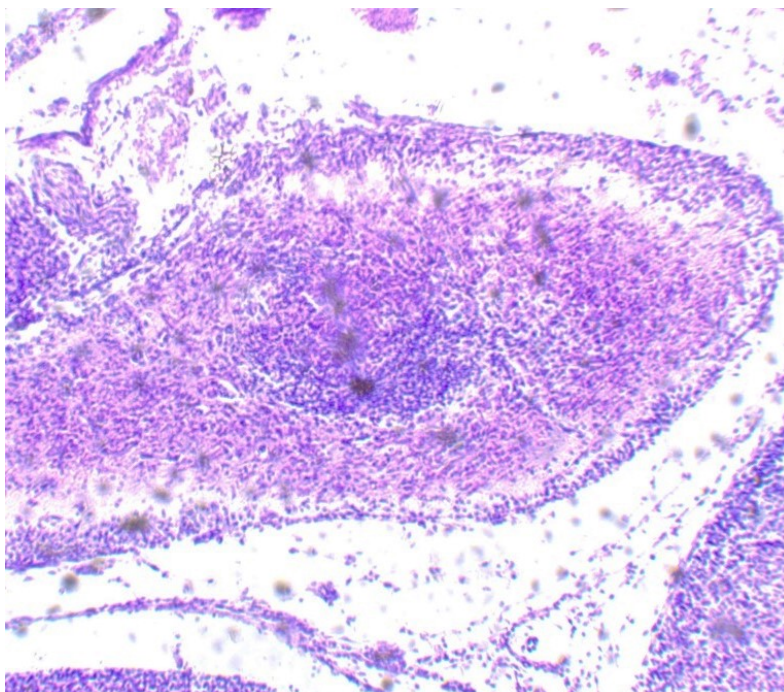


Рисунок 1 – Поперечный разрез мозжечка *Corvus Cornix* возрастом 1 день (10x10).

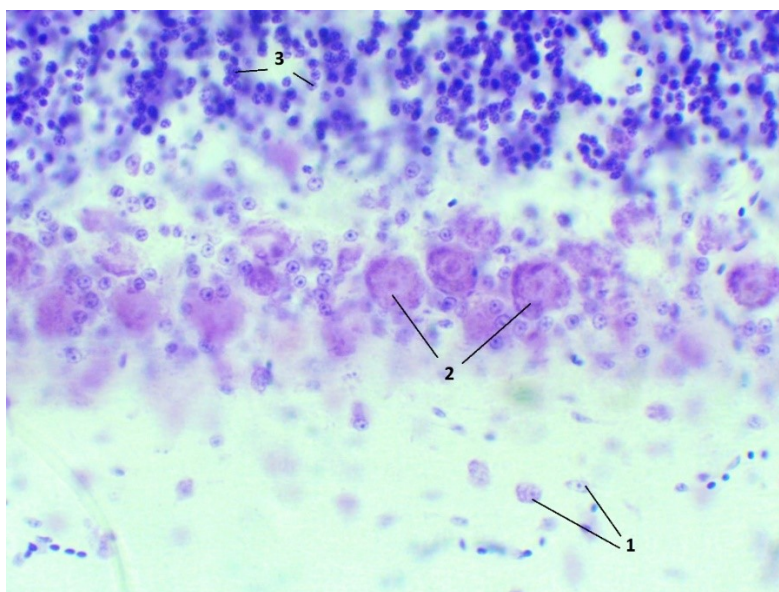


Рисунок 2 – Поперечный разрез мозжечка *Corvus Cornix*, показывающий клетки молекулярного слоя (1), клетки Пуркинье (2) и клетки гранулярного слоя (3) (40x10).

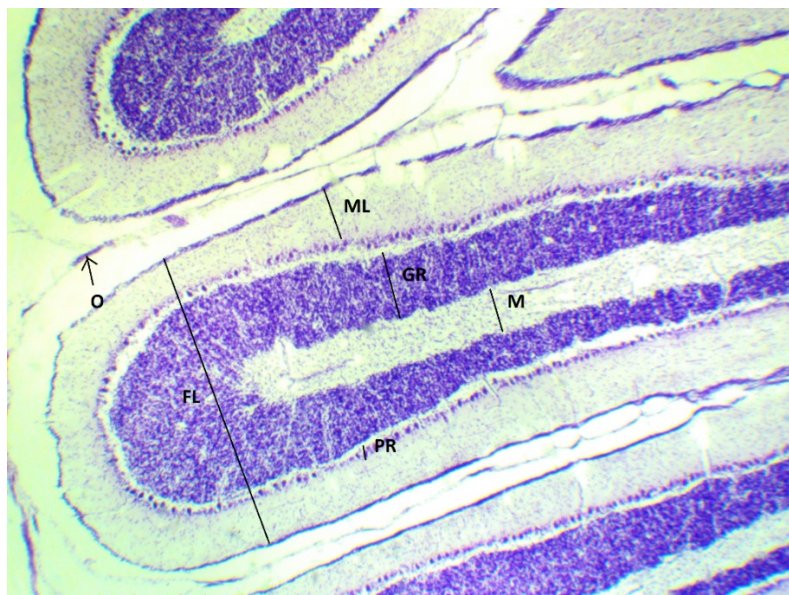


Рисунок 3 – Поперечный разрез мозжечка *Corvus Cornix* (4x10).

Общая площадь мозжечка на фронтальных срезах в средней части увеличивается равномерно с 1 по 90 день и значительно у взрослых особей. Изменчивость этого показателя по коэффициенту вариации больше в 30 дней и у взрослых. Площадь молекулярного слоя равномерно увеличивается от 1 дня до взрослого состояния, а зернистого слоя – с 1 по 90 день. После 3-х месячного срока наблюдается резкий рост этого слоя. При этом, большая изменчивость данного параметра наблюдается в возрасте 30 дней.

Удельное количество клеток Пуркинье равномерно увеличивается от 1 дня до взрослого состояния, а площадь этих клеток растёт до 90 дней, а у взрослых даже уменьшается, как и диаметр этих клеток. Площадь наиболее многочисленных зернистых гранул молекулярного слоя находятся на одинаковом уровне с 1 по 3 день, затем наблюдается резкий рост до 90 дней и уменьшение у взрослых птиц.

Выводы

1. Во время постнатального онтогенеза мозжечка у птенцов серой вороны площадь молекулярного слоя увеличивается равномерно, а зернистого – прерывисто.
2. Удельное количество клеток Пуркинье во время постнатального онтогенеза увеличиваются поступательно с одинаковой амплитудой.
3. Самые многочисленные зернистые гранулы в молекулярном слое развиваются неравномерно и скачкообразно.
4. Видимо, основные перестройки в мозжечке во время онтогенеза происходят в месячном возрасте, так как в этом возрасте возрастает изменчивость всех структурных элементов.

Библиографический список

1. Багоцкая М.С., Смирнова А.А., Зорина З.А. Врановые способны понимать логическую структуру задач на подтягивание закреплённой на нити приманки // Журн. высш. нерв. деят. 2010. Т. 60, № 5. С. 543-551.

2. Есаков С. А. Морфологические особенности клеток Пуркинье коры мозжечка в постнатальном онтогенезе у белой мыши // Вестник Удмуртского университета. Серия «Биология. Науки о Земле». 2006. №1.
3. Воронов Л.Н. Особенности постнатального развития конечного мозга птенцов серой вороны // Сб. науч. тр. Врановые птицы в антропогенном ландшафте. Липецк, 1992. С. 29-33.
4. Воронов Л.Н., Богословская Л.С., Маркова Е.Г. Морфологическое развитие конечного мозга птенцов серой вороны // Зоологич. журн. 1996. Т. 75. Вып.12. С. 1828 -1841.
5. Воронов Л.Н. Морфофизиологические закономерности совершенствования головного мозга и других органов птиц. Монография. - Изд-во МГУ, 2003. 111 с.
6. Воронов Л.Н., Алексеев Ф.С., Константинов В.Ю. Особенности строения конечного мозга у перелётных и осёдлых птиц. Русский орнитологический журнал. 2015. Том. 24. Экспресс-выпуск 1203. С. 3745-3750.
7. Воронов Л.Н. Структурные особенности анализаторов конечного мозга, участвующих в ориентации и навигации птиц // Второй Всероссийский орнитологический конгресс (г. Санкт-Петербург, Россия, 30 января – 4 февраля 2023 г.). Тезисы докладов. М.: Товарищество научных изданий КМК, 2023. С. 41-42.
8. Голубева Т.Б., Корнеева Е.В. Головной мозг и сенсорные системы птиц: современное представление // Русский орнитологический журнал. 2019. Т. 28. Экспресс-выпуск 1747. С. 1305-1313.
9. Резанов А.Г. Кормовое поведение птиц: метод цифрового кодирования и анализ базы данных. М.: Издат-школа. 2000. С. 1-224.
10. Резанов А.Г. Эколого-эволюционный анализ антропогенных модификаций кормового поведения врановых птиц (Passeriformes, Corvidae). Врановые птицы в антропогенном ландшафте. Липецк, 2001. Вып. 4. С. 84-104.
11. Родимцев А. С. Периодизация постэмбрионального развития птиц // Рус. орнитол. журн.. 2004. №263.
12. Самулеева М.В., Смирнова А.А., Обозова Т.А., Зорина З.А. Исследование формирования отношений симметрии между «знаком» и «обозначаемым» у серых ворон // Когнитивная наука в Москве: новые исследования. Материалы конф. М., 2015. С. 390-394.
13. Хохлова С.Н., Симанова Н.Г., Богданова М.А., Степочкин А.А., Фасахутдинова А.Н. Некоторые закономерности морфогенеза нейроцитов домашних млекопитающих и птиц // МНИЖ. 2017. №4-1 (58).
14. Butts T, Chaplin N, Wingate RJ. Can clues from evolution unlock the molecular development of the cerebellum? Mol Neurobiol. 2011 Feb;43(1):67-76.
15. Ebner C, Pick JL, Tschirren B. 2016 A trade-off between reproductive investment and maternal cerebellum size in a precocial bird. Biol. Lett. 12.
16. Katajamaa R, Wright D, Henriksen R, Jensen P. Cerebellum size is related to fear memory and domestication of chickens. Biol Lett. 2021.
17. Sultan F. Why some bird brains are larger than others // Curr. Biol. 2005.15, 17: R649-R650. doi:10.1016/j.cub.2005.08.043.
18. Oleinik TL, Grigorian RA. Morfometricheskoe izuchenie razvitiia kletok Purkin'e mozzhechka v postnatal'nom ontogeneze krysa [Morphometric study of the development of the cerebellar Purkinje cells during postnatal rat ontogenesis]. Zh Evol Biokhim Fiziol. 1998 Jul-Aug;34(4):480-4.

ВЛИЯНИЕ ЗАГРЯЗНЕНИЯ РЕК ГОРОДА БЕРЕЗНИКИ НА БИОЛОГИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ РЫБ

Мурзыев А.Р.¹, Казаринов С.Н.², Комарова Л.В.^{1,2}, Бакланов М.А.^{1,2}, Михеев П.Б.^{1,3,45}

¹ *Пермский государственный национальный исследовательский университет, Пермь, Россия*

² *Пермский филиал ФГБНУ «ВНИРО» («ПермНИРО»), г. Пермь, Россия*

³ *Хабаровский филиал ФГБНУ «ВНИРО» («ПермНИРО»), г. Хабаровск, Россия*

Аннотация. Приводятся результаты сравнительного анализа биологических характеристик рыб из рр. Лёнвы и Толыч загрязненных предприятиями г. Березники и в фоновых условиях водной среды. В условиях техногенного засоления р. Лёнвы размерный состав окуня был шире. По росту молодь окуня из засоления не отличалась от рыб из фоновых условий среды. Наполненность пищеварительного тракта и жирность окуня в условиях засоления была выше, что может свидетельствовать о более благоприятных условиях нагула для окуня. При комплексном загрязнении р. Толыч рост уклеи и плотвы был выше, чем в фоновых условиях, что объяснимо повышенной температурой воды. При этом у рыб р. Толыч наполненность кишечника и жирность уклеи была ниже, а плотвы выше, что может указывать на более благоприятные условия для нагула бентофагов, но не планктонофагов. В целом, видовой состав ихтиофауны в условиях загрязнения был беднее.

Ключевые слова: загрязнение вод, засоление, промышленные стоки, ихтиофауна, нагул рыб

THE INFLUENCE OF POLLUTION OF THE BEREZNIKOV-SOLIKAMSK INDUSTRIAL COMPLEX ON THE BIOLOGICAL CHARACTERISTICS OF FISH

Murzyev A.R.¹, Kazarinov S.N.², Komarova L.V.^{1,2}, Baklanov M.A.^{1,2}, Mikheev P.B.^{1,3}

¹ *Perm State National Research University, Perm, Russia*

² *Perm Branch of the All-Russian Scientific Research Institute of Fisheries and Oceanography, Perm, Russia*

³ *Khabarovsk Branch of the All-Russian Scientific Research Institute of Fisheries and Oceanography, Khabarovsk, Russia*

Abstract. The results of a comparative analysis of the biological characteristics of fish from polluted Lyonva R. and Tolych R. and from the reference conditions are presented. In the conditions of technogenic salinization of the Lyonva River, the size composition of the perch was wider. In terms of growth, juvenile perch from salinization did not differ from fish from the reference conditions. The fullness of the digestive tract and the fat content of perch under salinization conditions were higher, which may indicate more favorable feeding conditions for perch. With the complex pollution of the Tolych River, the growth of bleak and roach was higher than in background conditions, which is explained by the increased water temperature. At the same time, in the Tolych river the intestinal fullness and fat content were lower for bleak, and higher for roach, which may indicate more favorable conditions for feeding of benthic feeding fish, but not plankton feeders. In general, fish species number was lower under pollution conditions.

Key words: water pollution, salinization, industrial effluents, ichthyofauna, fish feeding

Загрязнение естественных водоемов – серьёзная экологическая проблема, требующая пристального внимания. Водные экосистемы промышленно развитых регионов зачастую подвержены загрязнению, при этом рыбы могут использоваться в качестве индикаторов уровня загрязнения [1–4]. В Пермском крае характер загрязнения водных объектов обладает своими особенностями. Одним из крупнейших источников загрязнения водных объектов Пермского края являются предприятия Березниковско-Соликамского промузла. При этом большая часть загрязняющих веществ представлена минеральными солями, дренирующими в результате фильтрационных разгрузок от действующих и законсервированных шламохранилищ и накопителей жидких и твердых отходов [5].

Воздействие на ихтиофауну водосбора Камского водохранилища в районе влияния Березниковско-Соликамского промузла практически не исследовано. При этом изучение структуры состава ихтиофауны реки, загрязненной промышленными стоками ряда предприятий г. Березники, продемонстрировало свою применимость для отражения уровня загрязнения методами биоиндикации [6]. Ввиду комплексности требований к среде обитания ихтиофауна является важнейшим показателем экологической целостности водных экосистем. Реакция различных видов рыб как на индивидуальном уровне (показатели упитанности, роста, созревания), так и на популяционном уровне (структура популяции) определяется взаимосвязью различных элементов среды обитания в широком пространственно-временном контексте. Таким образом, биоиндикация на основе анализа ихтиофауны представляет собой хороший инструмент мониторинга [7].

Целью данной работы было проведение анализа биологических характеристик рыб водосбора Камского водохранилища в условиях загрязнения и в фоновых условиях водной среды. В наши задачи входил анализ состава уловов и биологических характеристик рыб в условиях техногенного засоления р. Ленвы и комплексного загрязнения р. Толыч, а также в фоновых условиях.

Сбор материалов для исследования проводился на территории Пермского края в Усольском районе на р. Ленва и в Березниковском городском округе на р. Толыч. Отлов рыб в фоновых условиях проводили в заливе правобережного притока Камского водохранилища – р. Лысьве (Березниковский городской округ). Отлов рыб производился ставными сетями сечением ячеи 8, 10, 12, 14, 16, 18, 20, 25, 30, 35, 40, 45, 50, 60 и 70 мм в период с 8 июля по 20 июля 2023 года. Первый сбор материала был осуществлён на р. Ленве на двух её участках с минерализацией 14 г/л и в фоновых условиях среды. Общее число отловленных экземпляров составило 436 рыб 13 видов (рис. 1).

Также сбор материала проводился на р. Толыч, в условиях температурного загрязнения (температура воды до 30°C), загрязнения нефтепродуктами, тяжелыми металлами (никель, кадмий, ртуть), хлоридами и нитритами. Здесь улов составил 172 экз. 10 видов рыб. На р. Лысьве, в фоновых условиях среды, был отловлен 381 экз./ 13 видов рыб (рис. 2).

Весь собранный материал подвергался биологическому исследованию, в ходе которого определялись следующие характеристики выловленных рыб, такие как длина тела, масса, жирность, наполненность желудочно-кишечного тракта, половая принадлежность, стадия развития гонад и возраст в соответствии с методическим руководством И.Ф. Правдина [8]. Обработка материала проводилась как в полевых, так и в лабораторных условиях на кафедре зоологии позвоночных и экологии ПГНИУ. В последнем случае использовались рыбы, фиксированные в формалине. Полученные данные были обработаны, занесены в электронный вид, обработаны статистически. Численность рыб приводилась к единице улова на усилие

(стандартной суткосетепостановке). Проводили оценку на нормальность распределения по критерию Шапиро-Уилка. Данные не подчинялись закону нормального распределения, поэтому для статистического сравнения использовали критерий Манна-Уитни. Различия считали статистически достоверными при уровне значимости 0,05.



Рисунок 1 – Карта-схема расположения р. Лены и спутниковый снимок мест отлова рыб; 1 – участок с минерализацией воды 14 г/л; 2 – участок с фоновой минерализацией воды.

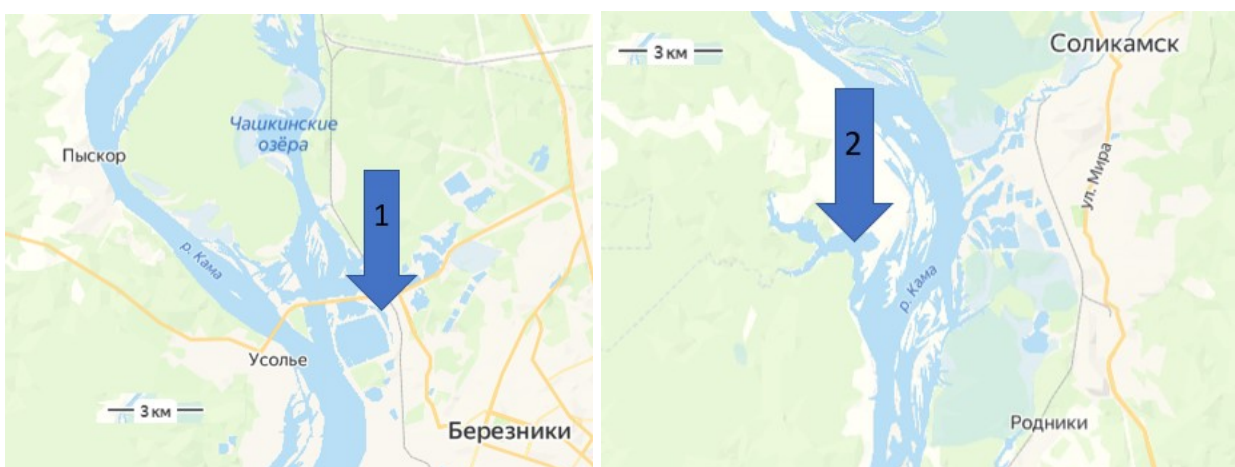


Рисунок 2 – Карта-схема расположения р. Толыч (1), загрязнённой стоками промышленных предприятий и р. Лысвы (2) с фоновыми условиями среды обитания рыб.

По итогам исследования установлены различия в видовом составе и численности рыб. В условиях фоновой минерализации было отловлено 11 видов рыб. В условиях засоления – 5. В фоновых условиях р. Лысьвы было отловлено 12 видов рыб. В условиях комплексного загрязнения р. Толыч – 9 видов. Были выделены основные доминировавшие по численности виды рыб для каждого из двух этапов работы. Так, на р. Ленве основным видом из-за количественного преимущества как на засоленном, так и на пресном участках, был выделен окунь *Perca fluviatilis*. На рр. Толыч и Лысьва выделены плотва *Rutilus rutilus* и уклейка *Alburnus alburnus* (рис. 3, 4)

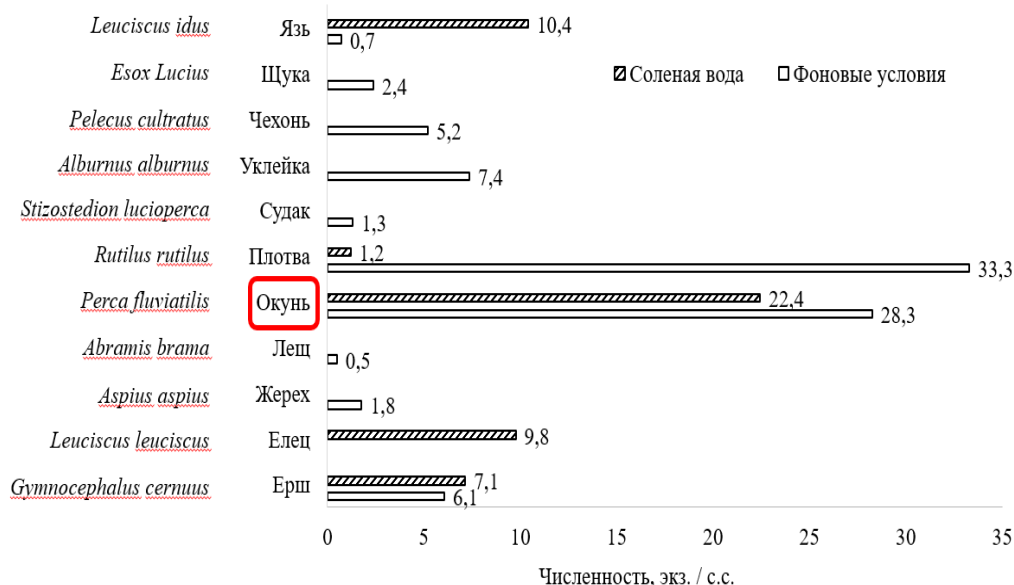


Рисунок 3 – Численность рыб в уловах на участке р. Ленвы, подверженной засолению и участку с фоновой минерализацией.

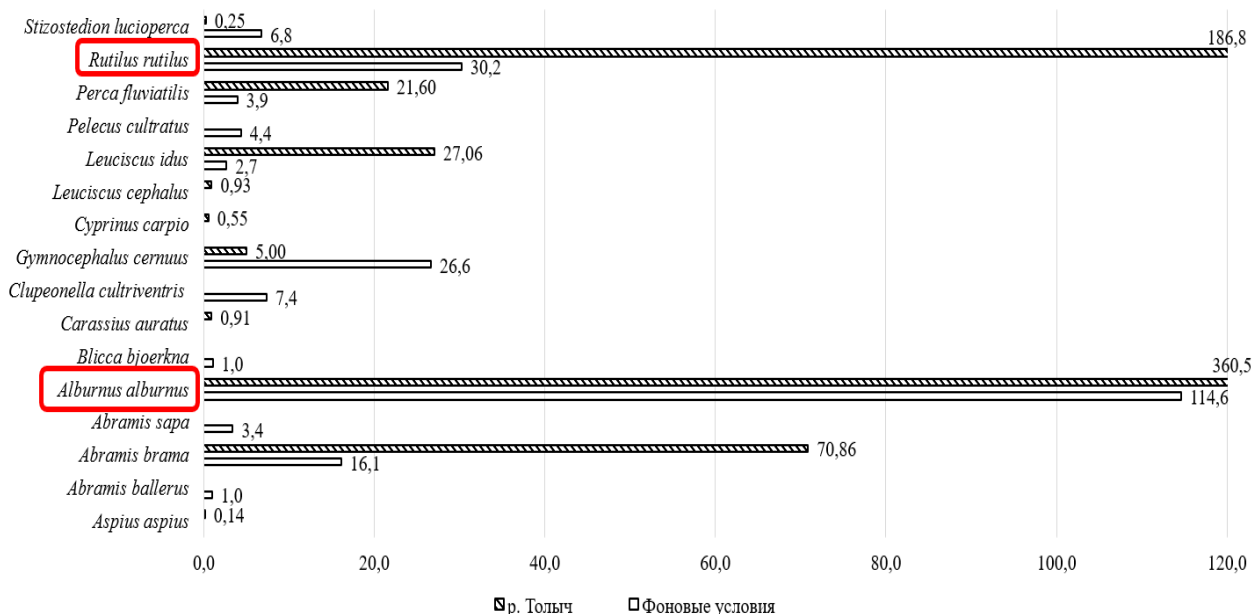


Рисунок 4 – Численность рыб в уловах на р. Толыч, подверженной комплексному загрязнению и заливе р. Лысьвы с фоновыми условиями.

В условиях засоления размерный состав окуня был шире, что объяснимо присутствием старшевозрастных особей окуня, которые использовали участок выклинивания подпора залива р. Ленвы для нагула. Аналогичные результаты были получены при сравнении размерного состава уклейки и плотвы в р. Толыч и в фоновых условиях. Среднее значение длины тела как плотвы, так и уклейки было достоверно выше в условиях загрязнения (рис. 5).

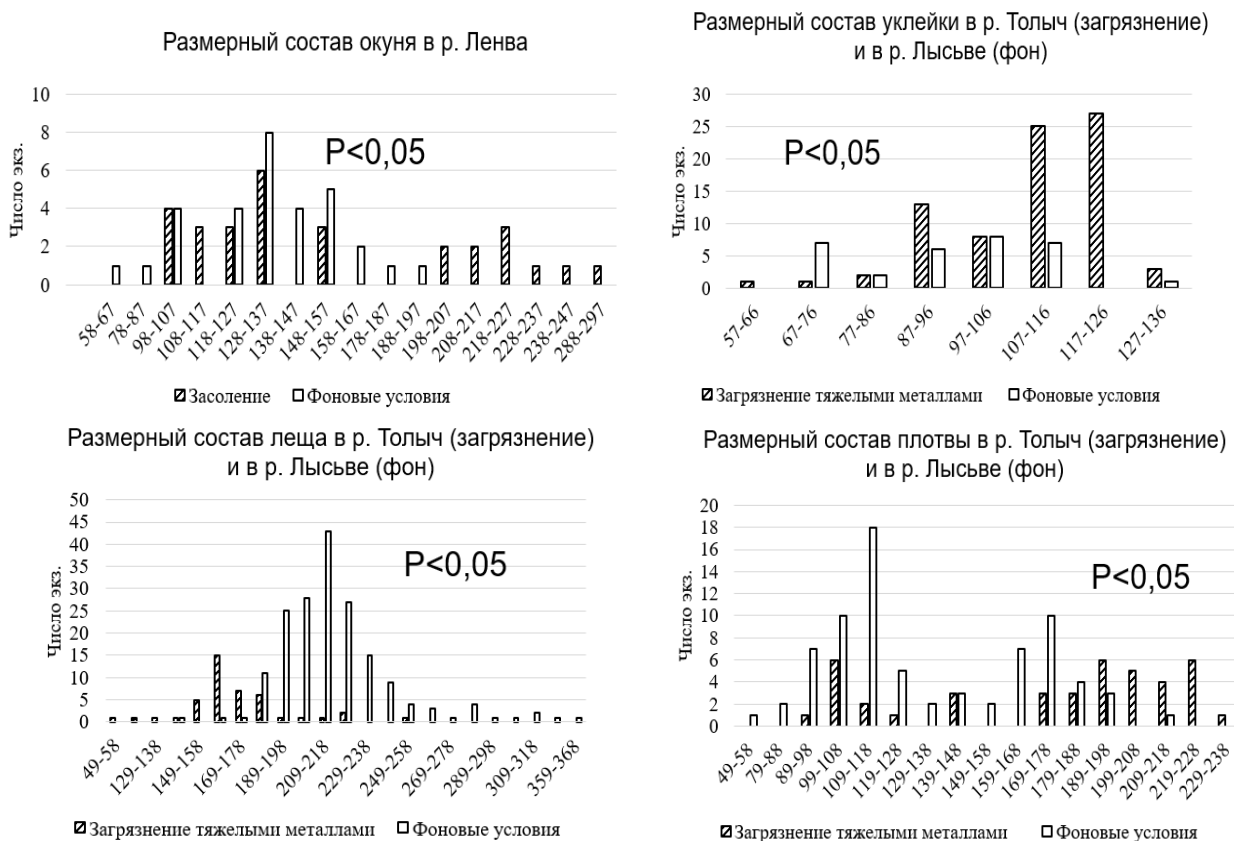


Рисунок 5 – Размерный состав наиболее массовых видов рыб, собранных в условиях загрязнения и в фоновых условиях.

Сравнительный анализ роста окуня, проведённый для наиболее массовых возрастных групп, показал, что для молоди окуня, отловленного на р. Ленва, статистически достоверных отличий по длине рыб в возрастных группах 1+, 2+ и 3+ не выявлено. Соотношение числа молоди и взрослых рыб в уловах было близким как в условиях засоления, так и в условиях фоновой минерализации (рис. 6). Однако наполненность ЖКТ и жирность окуня в условиях засоления была выше, что может свидетельствовать о более благоприятных условиях нагула.

В условиях комплексного загрязнения реки Толыч рост уклейки и плотвы был выше, чем в фоновых условиях реки Лысьвы, что объяснимо повышенной температурой в реке Толыч. При этом наполненность пищеварительного тракта (ЖКТ) у уклейки была ниже в условиях загрязнения, а плотвы выше. Статистически по показателям жирности уклейка р. Толыч и залива р. Лысьвы не отличалась, а жирность у плотвы р. Толыч была значимо выше, чем у рыб в фоновых условиях. Соотношение численности молоди и взрослых рыб в уловах было близким как в условиях загрязнения, так и в условиях фоновое состояние среды (рис. 7, 8).

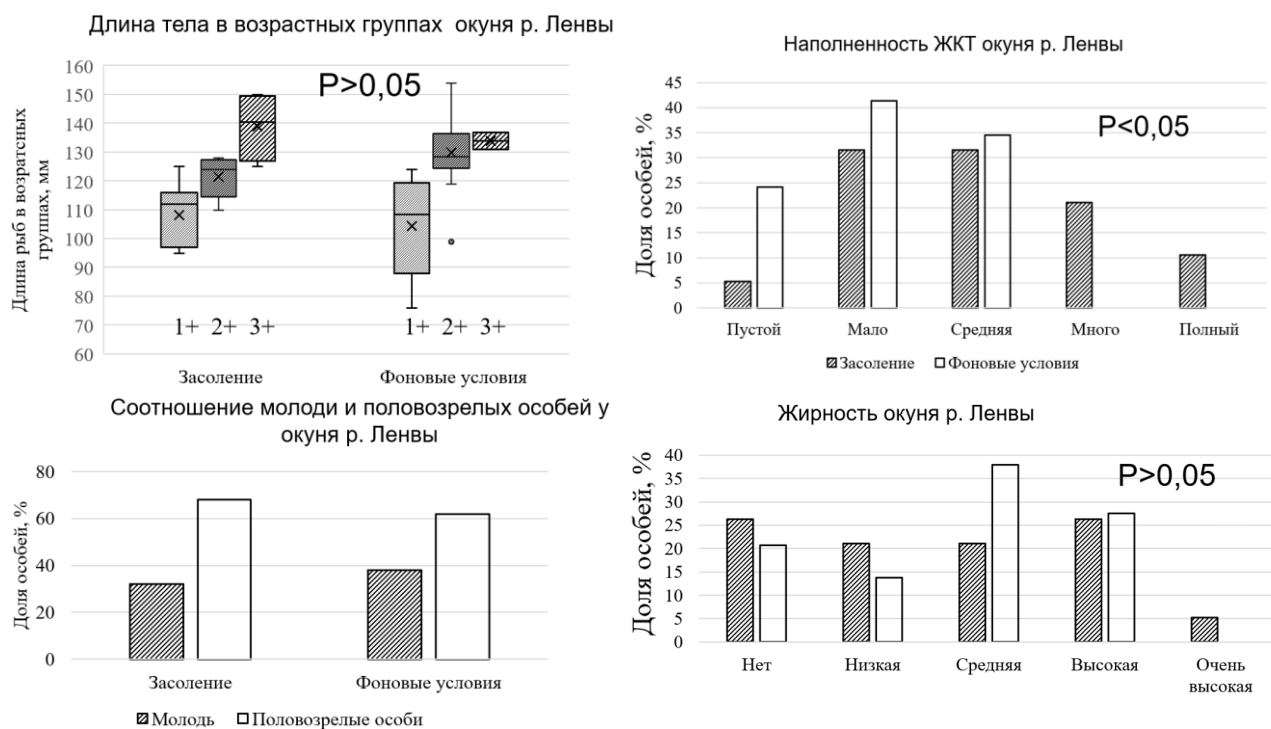


Рисунок 6 – Биологические характеристики окуня в условиях засоления и в условиях фоновой минерализации р. Ленвы.

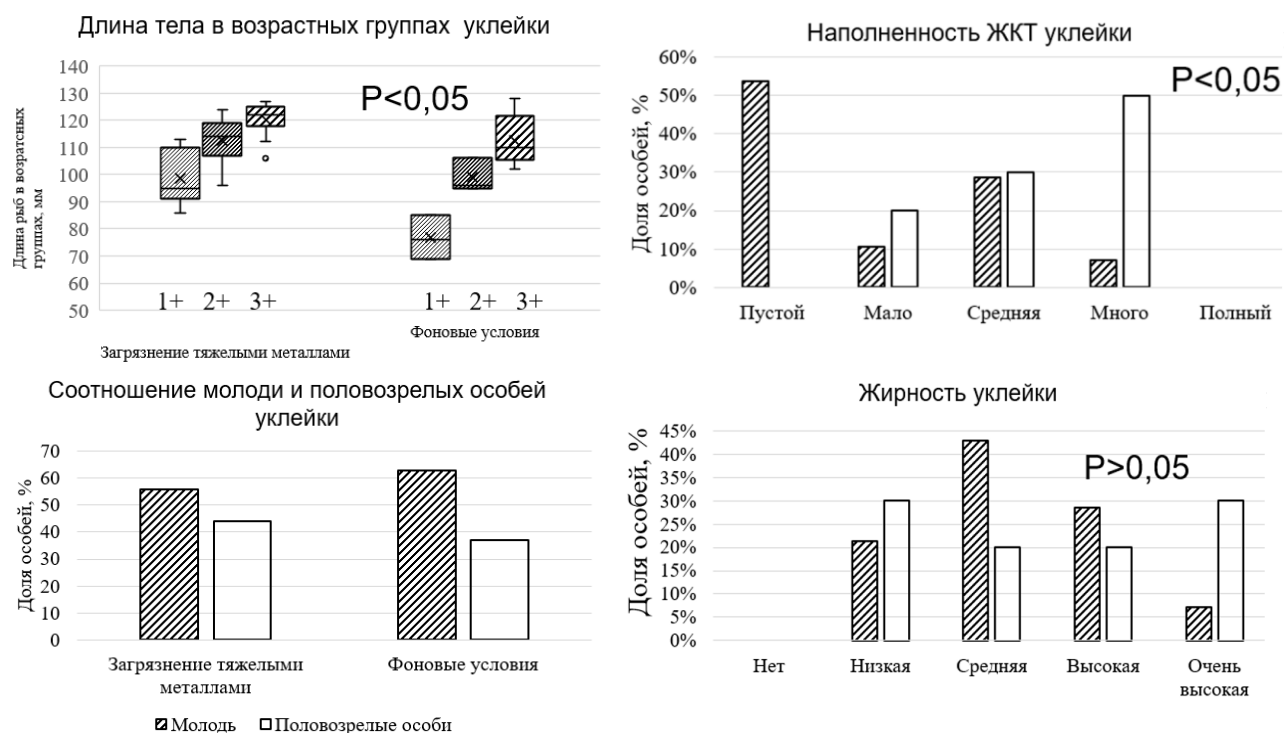


Рисунок 7 – Биологические характеристики уклейки в условиях загрязнения р. Толыч и в условиях фоновом состоянии залива р. Лысьвы.

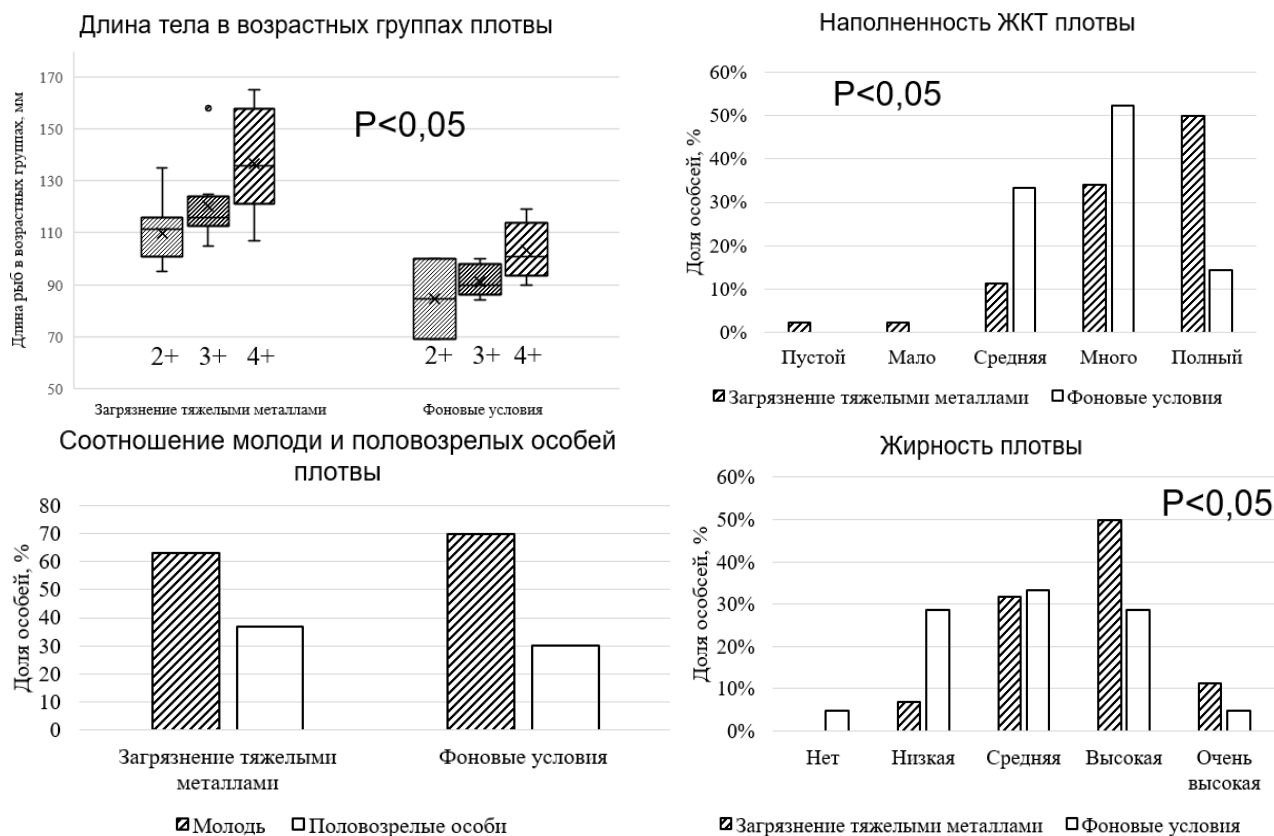


Рисунок 8 – Биологические характеристики плотвы в условиях загрязнения р. Толыч и в условиях фоновом состоянии залива р. Лысьвы.

В результате анализа полученных данных были сформулированы следующие выводы:

1. В условиях засоления и комплексного загрязнения видовой состав рыб был беднее. Как в р. Лёнве, так и в р. Толыч отсутствовали судак и чехонь, что может свидетельствовать об их низкой толерантности к анализируемым типам загрязнения.
2. В условиях засоления размерный состав окуня был шире, по росту молодь окуня из засоления не отличалась от рыб из фоновых условий среды. Наполненность ЖКТ и жирность окуня в условиях засоления была выше, что может свидетельствовать о более благоприятных условиях нагула.
3. В условиях комплексного загрязнения р. Толыч рост уклейки и плотвы был выше, чем в фоновых условиях, что объяснимо повышенной температурой воды. При этом наполненность ЖКТ и жирность уклейки была ниже, а плотвы – выше в р. Толыч. Это может указывать на более благоприятные условия для нагула бентофагов, но не планктонофагов.

Библиографический список

1. Pinna M., Zangaro F., Saccomanno B., Scalone C., Bozzeda F., Fanini L., Specchia V. An Overview of Ecological Indicators of Fish to Evaluate the Anthropogenic Pressures in Aquatic Ecosystems: From Traditional to Innovative DNA-Based Approaches // *Water*. – 2023, – 15, – 949. <https://doi.org/10.3390/w15050949>
2. Sajina et al. Fish as Ecological Health Indicators of Freshwater Ecosystems // *Biotica Research Today*. – 2021. – 3(1): 077-080.

3. Lasheen M.R., Abdel-Gawad F.K., Alaneny A.A., Abd El bary H.M.H. Fish as bio indicators in aquatic environmental pollution assessment: A case study in Abu-Rawash area, Egypt // *World Appl Sci J.* – 2012. – 19: 265–275.
4. Zelnickova L., Blahova J., Marsalek P., Hostovsky M., Sevcikova M., Dobsikova R., Siroka Z., Divisova L., Plhalova L., Svobodova Z. Biochemical markers for the assessment of pollution of selected small streams in the Czech Republic // *Neuro Endocrinol. Lett.* – 2013, – 34, – P. 109–115.
5. Лепихин А.П., Возняк А.А., Любимова Т.П., Паршакова Я.Н., Ляхин Ю.С., Богомолов А.В. Исследование особенностей формирования и масштабов диффузного загрязнения, сформированного крупными промышленными комплексами, на примере Соликамско-Березниковского промузла // *Водные ресурсы.* – 2020. – Т. 47. – № 5. – С. 560–566.
6. Ushakova E., Drobinina E., Puzik A., Mikheev P. Impact of Wastewater on Water Quality and Fish Community in the Tolych River, Perm Krai, Russia // *Pollution.* – 2023, – 9, – 459–476. [CrossRef]
7. Chovanec A., Hofer R., Schiemer F. Fish as bioindicators // *Trace metals and other contaminants in the environment.* – Elsevier, 2003. – P. 639–676.
8. Правдин И. Ф. Руководство по изучению рыб (преимущественно пресноводных). – М.: Пищевая промышленность. 1966. – 365 с.

СОДЕРЖАНИЕ МИКРОПЛАСТИКА В ЖЕЛУДОЧНО-КИШЕЧНЫХ ТРАКТАХ ПЛОТВЫ И ОКУНЯ МОТОВИЛИХИНСКОГО ПРУДА (ПЕРМСКИЙ КРАЙ)

Пепеляева А.Д.¹, Бакланов М.А.¹, Михеев П.Б.^{1,2}

¹ Пермский государственный национальный исследовательский университет, Пермь, Россия

² Хабаровский филиал ФГБНУ «ВНИРО», Хабаровск, Россия

Аннотация. Представлены данные по оценке содержания микропластика в желудочно-кишечных трактах двух видов рыб – обыкновенной плотвы *Rutilus rutilus* и речного окуня *Perca fluviatilis* из Мотовилихинского пруда расположенного на территории г. Перми (Пермский край). Выявлены различия между данными видами по содержанию микропластика, очевидно обусловленные разным типом питания рыб.

Ключевые слова: микропластик, антропогенное загрязнение, рыбы, плотва, окунь.

MICROPLASTICS IN THE GUT OF COMMON ROACH *RUTILUS RUTILUS* AND THE EURASIAN PERCH *PERCA FLUVIATILIS* OF MOTOVILIKHA POND (PERM KRAI)

Pepeliaeva A.D.¹, Baklanov M.A.¹, Mikheev P.B.^{1,2}

¹ Perm State National Research University, Perm, Russia

² Khabarovsk Branch of the All-Russian Scientific Research Institute of Fisheries and Oceanography, Khabarovsk, Russia

Abstract. The results of the assessment of number and type of microplastic particles in the gastrointestinal tracts of two fish species - common roach *Rutilus rutilus* and perch *Perca fluviatilis* from Motovilikha pond located in Perm (Russia) are presented. The differences between these species in the content of microplastics were revealed, probably due to different types of fish nutrition.

Key words: microplastic, urban waters, fish, roach, perch, gastrointestinal tracts.

Микропластик – это термин, используемый для описания частиц пластика размером менее 5 мм. По происхождению выделяют первичный и вторичный микропластик. Первичный микропластик – это частицы, которые изначально попадают в среду микроразмеров, а вторичный – это, как правило, обычный пластиковый мусор, разрушенный под воздействием внешней среды. В природных условиях, под воздействием фотоокисления, механического и биологического разрушения, разные виды пластиков фрагментируются до макро- (свыше 5 мм), микро- (от 5 мм до 1 мкм) и нано- (менее 1 мкм) частиц. Микропластики также классифицируют на основе их физических свойств таких, как плотность (легкие/тяжелые), твердость (твердые/мягкие) или форма (фрагменты, шарики, волокна и гранулы, а также пленки) [1].

Основными источниками микропластика являются стирка синтетического текстиля (и дальнейший сброс сточных вод), производственные отходы, стирание автомобильных шин и т.п. [2]. Таким образом, в природной среде преобладает вторичный пластик.

Распространение микропластика изучено слабее, чем распространение более крупных фракций. Тем не менее, он обнаружен в почвах, водных экосистемах, а также в живых организмах. Распределение и концентрацию синтетических микрочастиц трудно оценить из-за трудностей, возникающих при их обнаружении [3].

Частицы микропластика находятся практически повсеместно: в водах и донных отложениях Мирового океана, речных, озерных и подземных водах, пляжных отложениях и даже в снегах и льдах Арктики и Антарктики, в бутилированной воде и продуктах питания. Также пластиковые фрагменты были обнаружены в различных живых организмах, таких как морские водоросли, планктонные организмы, двусторчатые моллюски, ракообразные, рыбы, морские птицы, китообразные, наземные позвоночные.

Негативное влияние микропластика на живые организмы сейчас активно изучается. В качестве основных воздействий указывается механическое травмирование клеток и тканей, содержание токсичных добавок, перенос из окружающей среды адсорбированных поллютантов [4, 5].

Как и для многих других загрязняющих веществ, отмечается повышенная аккумуляция микропластика в водных экосистемах. В связи с этим для исследования был выбран Мотовилихинский пруд (площадь водного зеркала 0,076 км², объем воды около 165 тыс. м³), расположенный на территории г. Перми. Материалом послужили желудочно-кишечные тракты (ЖКТ) наиболее массовых видов рыб в пруду – обыкновенной плотвы *Rutilus rutilus* и речного окуня *Perca fluviatilis*. Отлов рыб был произведен в 2016 и 2023 гг., и все особи до анализа находились в 4%-ном водном растворе формальдегида. Выбор объектов, выловленных в эти годы, связан со спуском и частичной очисткой Мотовилихинского пруда в 2018–2019 гг., в результате чего возможно произошло временное снижение содержания загрязняющих веществ в водоеме.

В данном исследовании использовался метод растворения органов и тканей рыб в 10%-ном растворе щелочи КОН [6]. Рыб препарировали в чистом лотке, отделяли желудочно-кишечные тракты, которые помещали в пробирки и заливали 10%-ным раствором КОН. Пробы находились в сушильном шкафу 24 часа при 60°C. После растворения проводилась фильтрация раствора с помощью вакуумного мембранного насоса НВМ-0,33П (Россия) через фильтры с размером пор 82 мкм. Затем пробы просушивались и просматривались под бинокулярным микроскопом. Частицы микропластика выделялись по нетипичным для естественных объектов цвету (красный, синий, черный и т.д.) и форме (встречались только волокна). При выявлении микропластика в анализируемых пробах проводили фотофиксацию и записывали форму и цвет частиц. Данные обрабатывали методами описательной статистики. Проводили оценку нормальности распределения с использованием теста Шапиро-Уилка. Поскольку данные подчинялись закону нормального распределения, для оценки значимости различий использовали дисперсионный анализ (ANOVA) с апостериорным (post-hoc) критерием Тьюки. Вычисления проводили в программе Past 4.12b.

За 2016 г. были обследованы ЖКТ у 13 окуней и 15 особей плотвы, в сборе 2023 г. данные получены по 9 экз. обоих видов. Во всех случаях анализировались молодые особи, однако, средние размеры рыб в 2023 г. оказались больше, чем в 2016 г., особенно в выборке окуня (таблица).

Микропластик был обнаружен в ЖКТ у 69% особей окуня и 100% особей плотвы в 2016 г., у 56% особей окуня и 89% особей плотвы в 2023 г. По данным за 2016 г. среднее число частиц микропластика на одну исследованную особь окуня составило 3,38 единиц на особь, у

плотвы – 4,13 ед./особь. Достоверных отличий выявлено не было ($p>0,05$). Для окуня и плотвы в 2023 г. данный показатель составил 1,0 ед./особь и 3,11 ед./особь, соответственно. Отличия статистически значимые ($p<0,05$). У окуня, отловленного в 2016 г., было обнаружено достоверно ($p<0,05$) больше частиц микропластика в ЖКТ по сравнению с рыбами, выловленными в 2023 г. Это, скорее всего, связано со спуском Мотовилихинского пруда в 2018–2019 гг., в результате чего могло произойти снижение содержания микропластика в водоеме. В других парах сравнения достоверных отличий выявлено не было.

Таблица – Содержание микропластика (МП) в желудочно-кишечных трактах (ЖКТ) окуня и плотвы Мотовилихинского пруда в 2016 и 2023 гг.

Показатель	2016		2023	
Вид рыбы	Окунь	Плотва	Окунь	Плотва
Длина рыб, мм	<u>55-140</u> 78,77	<u>45-94</u> 71,07	<u>90-130</u> 111,89	<u>63-95</u> 85,22
Масса рыб, г	<u>2,83-57,39</u> 13,4	<u>1,81-17,41</u> 6,87	<u>15,57-44,43</u> 28,66	<u>3,41-15,1</u> 11,09
Встречаемость МП в ЖКТ, %	69,2	100	55,6	88,9
Число частиц МП, ед./особь	От 0 до 8	От 1 до 7	От 1 до 3	От 1 до 6
Среднее число (\pm ошибка среднего) МП на особь, шт.	3,38 \pm 0,72	4,13 \pm 0,50	1,0 \pm 0,37	3,11 \pm 0,56
Число особей, экз.	13	15	9	9

Анализ распределения обнаруженных в ЖКТ окуня и плотвы частиц микропластика по цвету показал, что сравниваемые виды рыб отличаются и по этому показателю (рисунок). Почти во всех случаях частицы одного цвета преобладают в выборках плотвы. Исключения составляют только редко встречающиеся цвета (коричневый, голубой), отмеченные по единичным фрагментам лишь у рыб выловленных в 2016 г.

В выборках 2016 г. отмечены частицы восьми цветовых вариантов (у окуня – 6, у плотвы – 7), а в 2023 г. лишь четырех (у окуня – 3, у плотвы – 4). Меньшее число микропластика разных цветов в 2023 г., скорее всего, является следствием общего снижения содержания частиц в ЖКТ рыб, однако, может быть обусловлено и меньшим числом проанализированных особей в данном году. В 2023 г. у окуня в ЖКТ преобладали частицы черного цвета, а у плотвы – прозрачные фрагменты. Несомненно, что различия в цвете микропластика, обнаруженного в ЖКТ сравниваемых видов, в первую очередь определяются распределением частиц в объектах питания рыб, либо в окружающей среде.

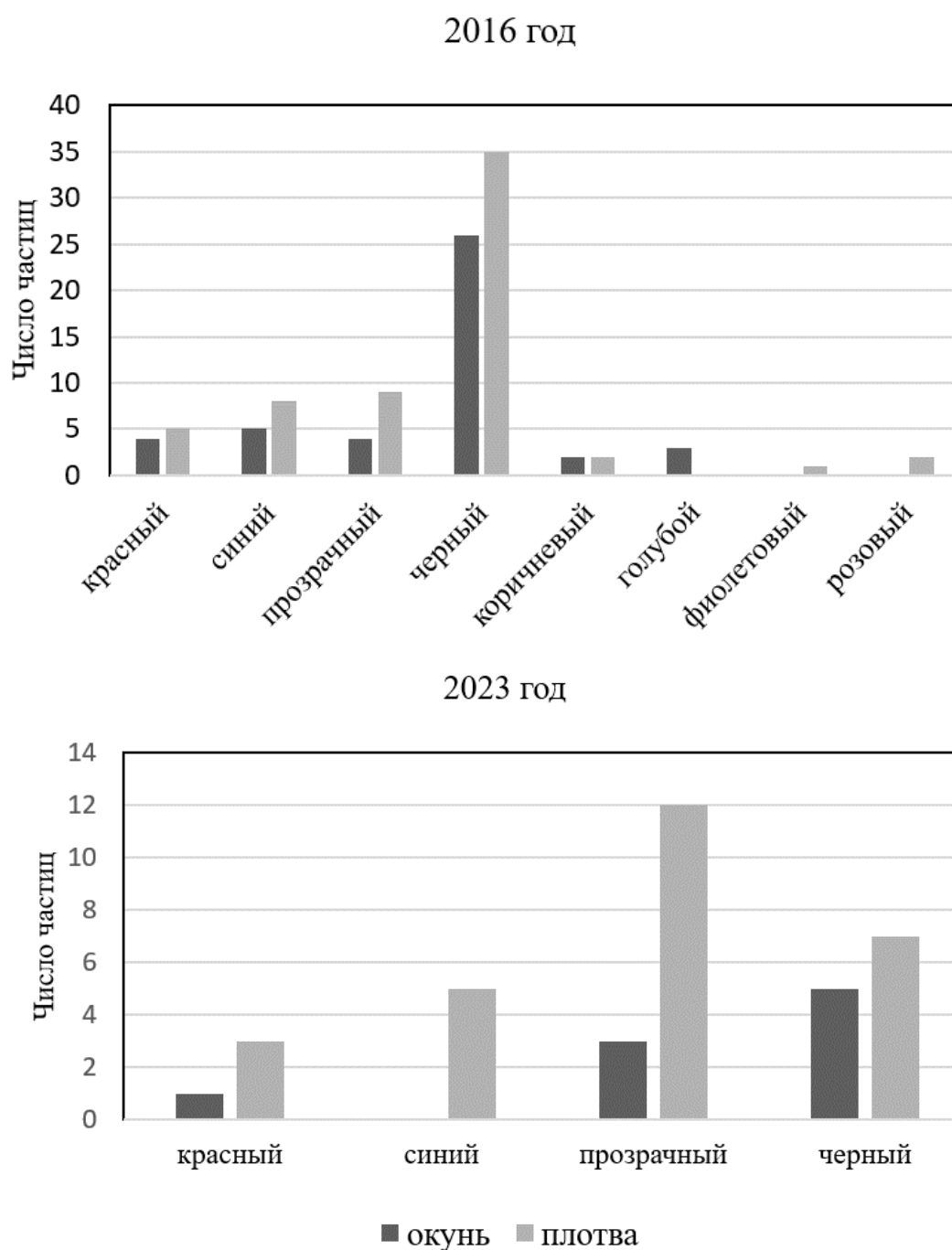


Рисунок – Распределение частиц микропластика по цвету в обобщенных выборках окуня и плотвы Мотовилихинского пруда в 2016 и 2023 гг.

В целом, по содержанию микропластика в ЖКТ у обследованных рыб за два года отмечается, что плотва по сравнению с окунем имеет большую встречаемость частиц пластика, а также более высокое число частиц, приходящихся в среднем на одну особь. Скорее всего, эта разница обусловлена типом питания этих рыб: окунь – эвризоофаг, активно ищущий и преследующий относительно крупных беспозвоночных и молодь рыб, плотва – эврифаг, потребляющий наряду с животной пищей растительную, а также детрит.

Библиографический список

1. Hidalgo-Ruz V., Gutow L., Thompson R.C., Thiel M. Microplastics in the marine environment: a review of the methods used for identification and quantification // *Environ. Sci. Technol.* V. 46. 2012. P. 3060–3075.
2. Казмирук В.Д. Микропластик в окружающей среде. Нарастающая проблема планетарного масштаба. М.: Ленанд. 2020. 432 с.
3. Суворова А.А. Микропластик в океане: обзор проблемы и актуальные направления исследований // *Экология гидросферы.* №1 (6). 2021. С. 1–7. URL: <http://hydrosphere-ecology.ru/245>
4. Auta H.S., Emenike C.U., Fauziah S.H. Distribution and importance of microplastics in the marine environment. A review of the sources, fate, effects, and potential solutions // *Environment International.* 2017. 102. P. 165–176
5. Brennecke D., Duarte B., Paiva F., Caçador I., Canning-Clode J. Microplastics as vector for heavy metal contamination from the marine environment // *Estuar Coast Shelf Sci.* 2016. 178. P. 189–95.
6. Пепеляева А.Д., Бакланов М.А., Михеев П.Б. Подходы к оценке аккумуляции микропластика в рыбах, населяющих водные объекты Пермского Прикамья // *Фундаментальные и прикладные аспекты биологии: Сб. статей Междунар. конф. ученых-биологов, Пермь, 30 октября – 03 ноября 2023 года.* Пермь: Пермский государственный национальный исследовательский университет, 2024. С. 355–358. EDN MMZUBL.

РЕЗУЛЬТАТЫ ОБУЧЕНИЯ СЕРЕБРИСТО-ЧЕРНЫХ ОДОМАШНЕННЫХ ЛИСИЦ

Мухамедшина И.А.¹, Бесогонова К.А.², Румак А.Е.², Костицына Н.В.²

¹ *Федеральное государственное бюджетное учреждение “Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук” (ИЦиГ СО РАН), Новосибирск, Россия*

² *Пермский государственный национальный исследовательский университет, Пермь, Россия*

Аннотация. При обучении одомашненных лисиц возрастом от 2 до 4 месяцев уменьшается время на решение поставленной задачи, а также на контакт с человеком и игры с предметами. Явное влияние индивидуальных особенностей животных на результаты обучения отсутствует.

Ключевые слова: доместикация, обучение, когнитивная деятельность, серебристо-черные лисы

RESULTS OF DOMESTICATED SILVER FOXES TRAINING

Mukhamedshina I.A.¹, Besogonova K.A.², Rumak A.E.², Kostitsyna N.V.²

¹ *Institute of Cytology and Genetics, Siberian Branch, Russian Academy of Sciences, Novosibirsk, Russia*

² *Perm State National Research University, Perm, Russia*

Abstract. As a result of training, domesticated foxes aged 2 to 4 months, have spent less time on solving the task, as well as on contact with humans and playing with objects. There is no influence of individual characteristics of animals on training outcomes.

Key words: domestication, training, cognitive activity, silver fox

Моделирование процесса доместикации животных позволяет всесторонне исследовать данный феномен. Среди многочисленных аспектов «комплекса одомашнивания» особое внимание уделяют изучению когнитивных функций животных, прошедших многолетнюю селекцию по признаку доброжелательности к человеку. Исследование данного аспекта одомашнивания во многом помогает разгадать механизмы эволюции, в том числе может способствовать и изучению эволюции человека, ведь, по мнению ряда ученых, род Homo также был подвергнут процессу самоодомашнивания [1].

Изучение процесса одомашнивания возможно двумя путями:

1. Изучение генотипа диких предковых форм и одомашненных животных.
2. Изучение всего комплекса одомашнивания на лабораторной модели.

Первый вариант имеет сложности, которые заключаются в высокой гетерогенности одомашненных животных (большое количество разнообразных пород), а также в том, что исходные предковые формы (популяции), возможно, уже не существуют. Второй вариант позволяет изучать разные аспекты доместикации в режиме реального времени.

В 1959 г. на зооферме при Институте цитологии и генетики (г. Новосибирск) академиком Дмитрием Константиновичем Беляевым был начат эксперимент по одоместикации серебристо-черных лисиц [2]. С тех пор по настоящее время был проведен ряд экспериментов, позволяющих изучать, в том числе, и поведенческие особенности одомашненных лисиц: их реакции на стресс, внутривидовые отношения, когнитивные способности и т.д. [3].

Данное исследование нескольких форм познавательной деятельности серебристо-черных одомашненных лисиц проходило в рамках эволюционного эксперимента Д.К. Беляева. В качестве объекта были выбраны двухмесячные самцы одомашненных лисиц (*Vulpes vulpes*, (Linnaeus, 1758)).

Цель исследования: изучить разные аспекты поведения при обучении самцов одомашненных серебристо-черных лисиц возрастом от двух до четырех месяцев.

Задачи:

1. Отобрать наиболее стрессоустойчивых, ориентированных на человека особей с выраженным исследовательским поведением.
2. Адаптировать особей к обогащенной среде.
3. Сравнить поведение особей в начале и в конце обучения.

Исследование проводили на экспериментальной базе ИЦиГ СО РАН в период с 26 мая по 18 июля 2023 г. Эксперимент проходил в 3 этапа.

Этап 1 – отбор. Были отобраны 16 самцов, рожденных в конце марта – начале апреля 2023 г. Отбор животных проводили в помещении. Оценивали поведение особей в незнакомой обстановке, их реакцию на звуки (вздрагивания), их взаимодействие с новыми предметами, а именно, пластиковым контейнером и веревкой, с человеком (обнюхивание, избегание, вокализация и прочее). Главными критериями отбора являлись стрессоустойчивость, выраженное исследовательское поведение и ориентированность на человека.

Этап 2 – обучение. Обучение включало в себя 5 занятий, которые были выполнены по одному плану. Особей по одному выпускали в открытый вольер площадью 4 на 4 м, где им предлагали взаимодействие с человеком, игрушками (коробки, мяч, погремушка), а также стимулировали к прохождению дорожки, выложенной из кусочков вареной говяжьей печени. В вольере также были созданы лазы из шифера, скамьи, рулона строительного материала и стремянки. Первые 2 минуты включали в себя адаптацию животного – человек никак не взаимодействовал с лисцей. Далее в течение 6 минут человек привлекал ее внимание к игрушкам. Затем данная особь проходила дорожку из кусочков приманки. Время прохождения дорожки у каждой особи было индивидуальным, этап считался выполненным, когда лисица проходила дорожку полностью. С каждым последующим разом количество предлагаемых игрушек и кусочков приманки увеличивали, а конструкцию лазов усложняли. Средняя длительность занятия – 15 минут.

Этап 3 – тест. Тест проходил в закрытом вольере площадью 6×6 м, и представлял собой вариацию открытого поля. Из подручных материалов была создана полоса препятствий, разделившая вольер на 2 секции. В полосе препятствий находились лазы, через которые можно было перебраться из первой секции во вторую. В ходе следующего опыта оценивали степень ориентированности лис именно на человека, который взаимодействовал со щенком, реакции на эмоции человека и его голос. В первой секции находился человек, который прятался за ширмой, он сохранял молчание, но при этом звенел игрушкой, ранее знакомой лисятам. По

другую сторону находилось 2 человека, которые активно звали животное, не имея при себе игрушек. Сравнивали, сколько раз животное перебегало между стимулами, сколько времени проводило на каждой стороне и какие стимулы дольше удерживают их внимание. Опыт продолжался 3 минуты. Далее щенкам предлагали пройти дорожку из 9 кусочков приманки и фиксировали время, за которое животное выполняло задачу. Задача считалась выполненной в случае съедания особью всех кусочков.

Все этапы эксперимента фиксировали на камеру. Отмечали время, проведенное с человеком, затраченное на взаимодействие с игрушкой, а также время выбора между человеком и игрушкой и длительность прохождения дорожки из кусочков приманки.

Обработку результатов проводили в программе Microsoft Excel. Достоверность отличий оценивали по критерию Манна-Уитни. Между параметрами исследовательской деятельности лисиц вычисляли коэффициент ранговой корреляции Спирмена.

В целом при обучении лисиц наблюдается уменьшение проводимого с человеком времени, в конце пятого этапа эксперимента лисицы проводят рядом с человеком достоверно меньше времени, чем при первом помещении в экспериментальную ситуацию (в начале эксперимента – 41 (с), в конце – 27 (с), минимальное время – 0 (с), максимальное – 139 (с)) (рис. 1, $p < 0.05$). Отмечается так же снижение заинтересованности в игрушке, что выражается в меньшем времени, которое особи проводят за игрой (рис. 2, $p < 0.05$).

В ходе эксперимента использовали несколько разновидностей игрушек, среди которых были звенящие игрушки, тем самым можно было удерживать внимание особей за счет издаваемых игрушкой звуков. Также использовали комплексные игрушки, сделанных из 2 разных элементов, предусматривающие разные виды взаимодействий (игрушки покусывали, катали, тянули и т.д.), однако независимо от вида игрушки, фокусирование внимания на данных предметах в конце эксперимента все-таки снизилось.

Обращает на себя внимание очень большой разброс рассмотренных показателей, что в целом отражает представление о дестабилизирующем отборе, который сопровождает процесс одомашнивания [4]. В других исследованиях также было отмечено это явление: особей условно разделяли на «спокойных» и «возбудимых» [5]. Для того, чтобы выяснить, насколько индивидуальные особенности поведения особей определяют ряд параметров, которые учитывали в процессе обучения лисиц, рассчитали коэффициенты ранговой корреляции для времени, которое отдельные особи проводят с человеком, играя с предметами в начале и конце процесса обучения.

Полученные результаты свидетельствуют о том, что особи, которые изначально были сильнее ориентированы на человека, в конце эксперимента проводят с ним меньше времени, чем животные, которые в начале эксперимента практически не обращали внимания на человека. Коэффициент ранговой корреляции между продолжительностью контакта лисицы с человеком в начале и конце эксперимента – сильно отрицательный ($r = -0,59507$).



Рисунок 1 – Время, затраченное лисицами на контакт с человеком до и после обучения.

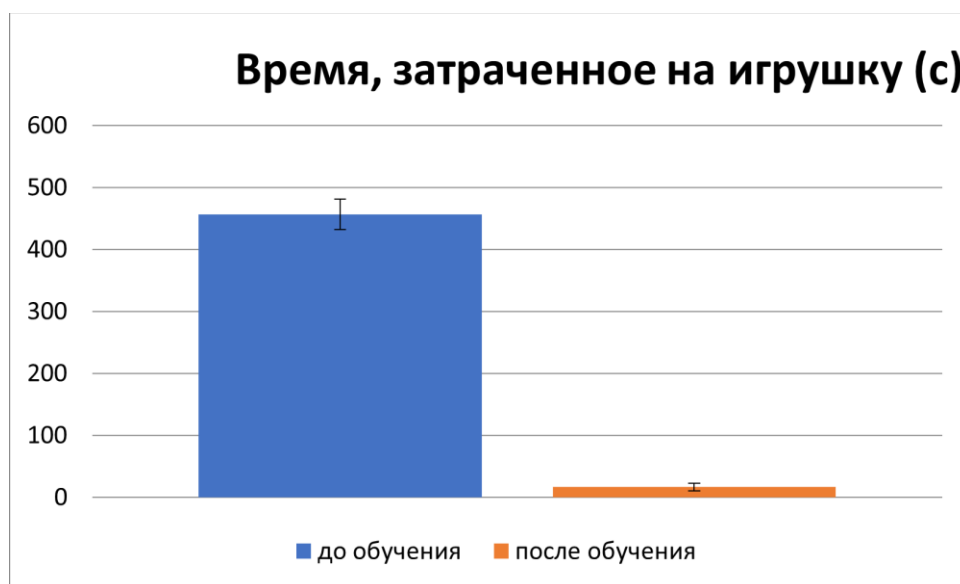


Рисунок 2 – Время, затраченное на предметную игру до и после обучения.

В ходе эксперимента снизилось время, затраченное лисицами на прохождение дорожки из кусочков печенья (рис. 3) и время, которое занимает выбор между человеком и игрушкой (рис.4).

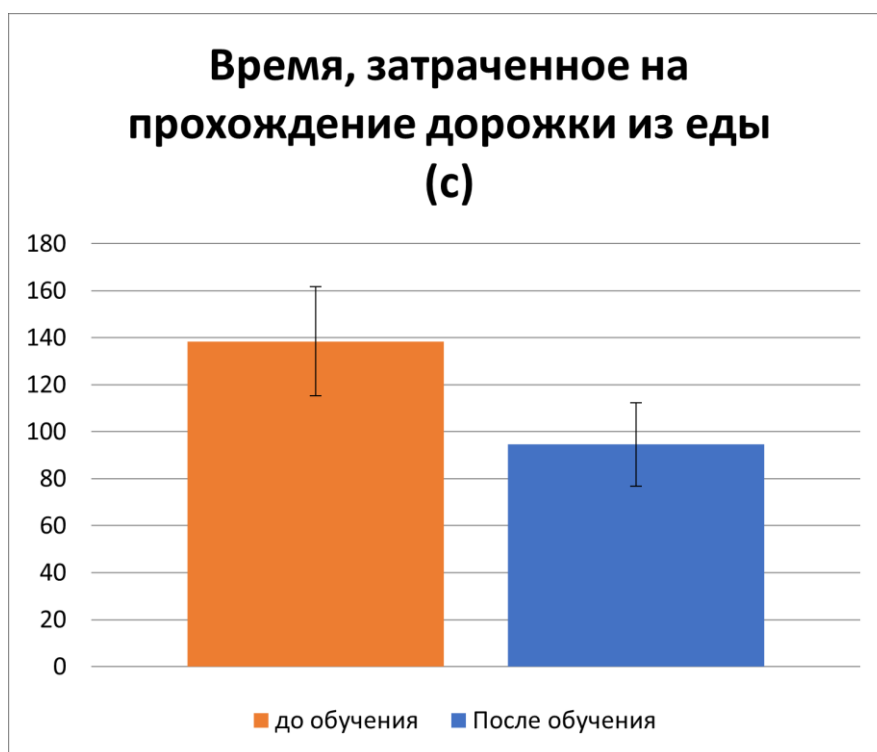


Рисунок 3 – Время, затраченное на прохождение дорожки из кусочков печени.

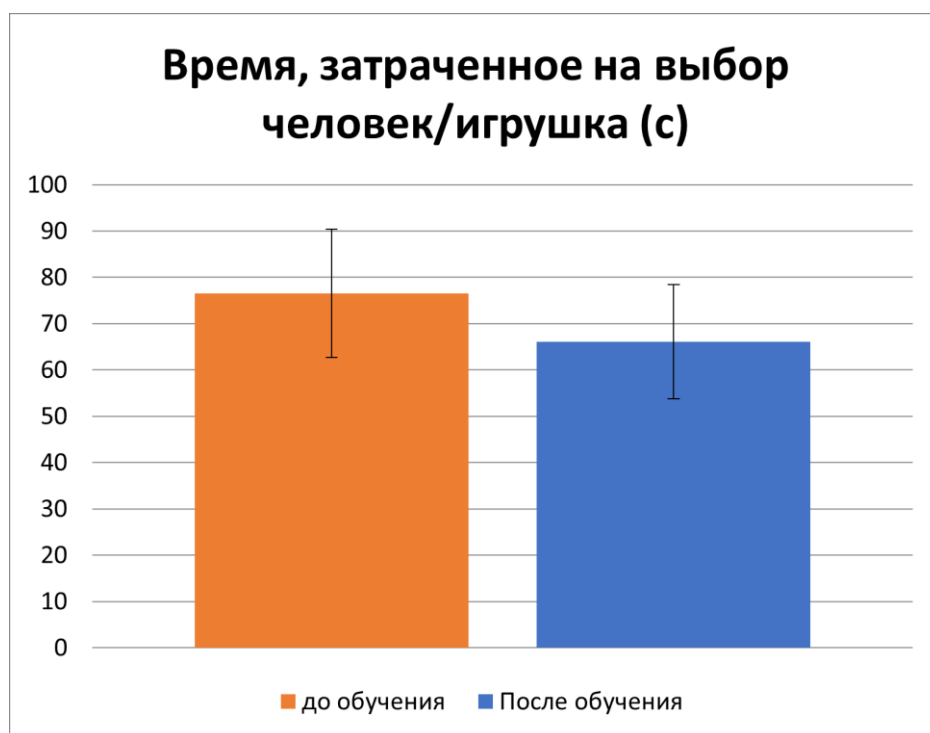


Рисунок 4 – Время, которое занимает выбор между человеком и игрушкой.

Коэффициент корреляции между временем прохождения дорожки из кусочков отдельными особями в начале и конце эксперимента является отрицательным ($r = -0,26573$). Однако в случае рассмотрения такого показателя, как время, которое занимает выбор между человеком и игрушкой, коэффициент корреляции будет положительным ($r = 0,153846$). В обоих случаях связь слабая.

Результаты эксперимента показывают, что развивающие занятия с domesticiруемыми лисами способствуют большей концентрации животных на процессе обучения вне зависимости от индивидуальных особенностей животных, лисицы меньше времени тратят на ориентировочную активность, возможно благодаря снижению общей возбудимости животных, а также подвижности нервных процессов [3], генерализации процессов, связанных с когнитивной деятельностью. Благодаря этому лисицы становятся способны дольше удерживать внимание на предметах, меньше нуждаются в человеке, а также способны более эффективно и быстро справляться с поставленными задачами.

Выводы

1. В результате обучения у лисиц наблюдается снижение времени контакта с человеком (педоморфного поведения) и снижение интереса к игрушке, выше концентрация на решении поставленной задачи.

2. В итоговом тесте у лисиц наблюдается незначительное уменьшение времени выбора между человеком и игрушкой, по сравнению с данным показателем в начале обучения, что может быть результатом снижения общей возбудимости животных.

3. В конце процесса обучения наблюдается снижение времени прохождения дорожки из кусочков приманки, животные концентрируются на поставленной задаче и быстрее решают ее.

4. Высокое значение вариативности полученных результатов говорит об эффектах дестабилизирующего отбора у одомашненных лис, а отсутствие сильных положительных корреляций между показателями ориентации животных на контакт с человеком и времени решения поставленной задачи в начале и конце эксперимента – об отсутствии заметного влияния индивидуальных особенностей животных на результаты обучения.

Выражаем благодарность всем сотрудникам ИЦиГ СО РАН, особенно А.В. Харламовой, поскольку без их помощи проведение данного исследования было бы невозможным.

Библиографический список

1. Розов Н.С. Становление речи и сознания в антропогенезе: эволюционные драйверы и социально-психологические механизмы // Культурно-историческая психология. – 2022. – Т. 18. – № 4. – С. 111–118.
2. Дугаткин Л.А., Трут Л.Н. Как приручить лису (и превратить в собаку): сибирский эволюционный эксперимент. – М.: Альпина нон-фикшн, 2019. – 120 с.
3. Мухамедшина И.А. Эффекты отбора по поведению на некоторые когнитивные способности лисиц и типологические особенности их нервной деятельности: дис. ... канд. биол. наук. – Новосибирск, 2022. – 195 с.
4. Беляев Д.К. Дестабилизирующий отбор как фактор изменчивости при domestикации животных // Природа. – 1979. – №2. – С. 36–45.
5. Мухамедшина И. А., Харламова А. В., Трут Л. Н. Поведение domesticiруемых и агрессивных лисиц в ситуации выбора между разными количествами кусочков пищи // Журн. высш. нерв. деят. – 2019. – Т. 69/ – № 5. – С. 592–603.

ФОЛИДОЗ ЗМЕЙ КАМСКОГО ПРЕДУРАЛЬЯ

Сайкинова Е.Н.¹, Четанов Н.А.^{1,2}

¹ Пермский государственный национальный исследовательский университет, Пермь, Россия

² Пермский государственный гуманитарно-педагогический университет, Пермь, Россия

Аннотация. Представлены результаты исследования фолидоза обыкновенного ужа *Natrix natrix* (Linnaeus, 1758) и обыкновенной гадюки *Vipera berus* (Linnaeus, 1758). Выявлена большая асимметрия заглазничных и височных щитков второго ряда у обыкновенных ужей, для обыкновенных гадюк чаще встречается асимметрия верхнегубных щитков (у особей обоих полов), а также предглазничных щитков у самцов и теменных щитков у самок. Значимых половых различий в частоте встречаемости асимметрии не было выявлено.

Ключевые слова: обыкновенный уж *Natrix natrix* (Linnaeus, 1758), обыкновенная гадюка *Vipera berus* (Linnaeus, 1758), фолидоз, флуктуирующая асимметрия

PHOLIDOSIS OF THE KAMA CIS-URALS SNAKES

Saikinova E.N.¹, Chetanov N.A.^{1,2}

¹ Perm State National Research University, Perm, Russia

² Perm State Humanitarian Pedagogical University, Perm, Russia

Abstract. The results of studies of pholidosis for the grass snake *Natrix natrix* (Linnaeus, 1758) and the common European adder *Vipera berus* (Linnaeus, 1758) are presented. A large asymmetry of the postorbital and temporal scutes of the second row for the grass snake was revealed; for the common European adder, asymmetry of the upper labial scutes (in individuals of both sexes), as well as preorbital scutes in males and parietal scutes in females is more common. There were no significant gender differences in the incidence of asymmetry.

Key words: grass snake *Natrix natrix* (Linnaeus, 1758), common European adder *Vipera berus* (Linnaeus, 1758), pholidosis, fluctuating asymmetry

Фолидоз – характер расположения и количества чешуй и щитков. У каждого вида рептилий щитки на голове расположены определенным образом, они имеют свои названия и их всегда определенное известное количество.

Но в природе найти такую идеальную картину считается удачей, очень часто встречаются отклонения от билатеральной симметрии – асимметрия. Отклонения от нормы возникают в результате воздействий на организм внешних или внутренних факторов в процессе эмбриогенеза [5].

Флуктуирующая асимметрия – незначительные случайные отклонения от билатеральной симметрии. Такое отклонение происходит за счет несовершенства онтогенетических процессов и изменчивости организмов (то есть происходит из-за того, что организм не способен развиваться на 100% точно, по неким определенным путям). Благодаря флуктуирующей асимметрии можно характеризовать условия вида, так уровень

флуктуирующей асимметрии минимален при оптимальных условиях и повышается при стрессовых воздействиях [5,3].

Целью работы является исследование аберраций фолидоза у змей, а именно определение флуктуирующей асимметрии.

Актуальность исследования заключается в том, что в данный момент отклонение от билатеральной симметрии, или флуктуирующая асимметрия змей совместно с другими методами мониторинга используется для оценки состояния популяций. Важно понимать причину и природу отклонений от нормы в морфологических структурах.

Материалы и методы

Материалом исследования стали 50 особей обыкновенной гадюки (30 самок и 20 самцов) и 98 особей обыкновенного ужа (39 самцов и 59 самок), отловленные с 2020 по 2023 гг. в Кунгурском и Кишертском районах Пермского края.

Для выявления аберраций фолидоза головы у всех особей были подсчитаны следующие щитки: *Labrum* – число верхнегубных щитков, *Sublabrum* – число нижнегубных щитков, *Preocularia* – число предглазничных щитков, *Postocularia* – число заглазничных щитков, *Temporalis 1* – число височных щитков в первом ряду с одной стороны головы, *Temporalis 2* – число височных щитков во втором ряду, *Nasalia* – число носовых щитков, *Internasalia* – число межносовых щитков, *Inframaxillaria* – число передних нижнечелюстных щитков, *Submaxillaria* – число задних нижнечелюстных щитков у обыкновенного ужа. У обыкновенной гадюки выбор щитков немного отличался: подсчитывалось число предглазничных, теменных, нижнечелюстных, носовых, верхнегубных, нижнегубных и надглазничных щитков.

Для исследования флуктуирующей асимметрии предпочтительнее использование нескольких признаков, так как использование только одного признака недостаточно для достоверных выводов [7]. Из обобщенных индексов ФА были выбраны индексы с различными методами нормировки.

Нормирование данных нужно в случае обнаружения значимой зависимости размера от асимметрии или когда характеристики имеют различные единицы измерения. Помимо этого, нормировка необходима при наличии значительных расхождений в асимметрии признаков [2]. Чаще всего для достижения этой цели применяется следующий метод [4]:

$$FA_{ij} = \frac{|L_{ij} - R_{ij}|}{(L_{ij} + R_{ij})}. \quad (1)$$

Принципиально иной метод нормировки [6]:

$$FA_{ij} = \frac{|L_{ij} - R_{ij}|}{\text{avg}|L_{ij} - R_{ij}|}, \quad (2)$$

где $\text{avg}|L_{ij} - R_{ij}|$ – усреднение по всем выборкам, рассматриваемым в исследовании.

Данная нормировка предназначена для устранения неоднородности асимметрии между признаками. В результате применения этой нормировки значения асимметрии оказываются равномерно распределенными вокруг единицы [2].

Широко распространенный и при этом самый простой метод свертки заключается в суммировании значений асимметрии всех признаков:

$$FA_i = \sum_{j=1}^n FA_{ij}, \quad (3)$$

где n – число признаков.

В качестве альтернативы этому способу можно рассматривать метод, основанный на алгоритмах современной кристаллографии [1]:

$$FA_i = 1 - \frac{2 \sum L_{ij} \times R_{ij}}{\sum (L_{ij}^2 + R_{ij}^2)}. \quad (4)$$

Отличия последнего метода заключаются в том, что он имеет нелинейную природу, нормировка производится одновременно со сверткой и в комбинации с нормировкой второго типа метод не применяется [2].

Результаты и обсуждение

В ходе работы была исследована частота встречаемости асимметричных признаков у обыкновенного ужа (табл. 1).

Таблица 1 – Обобщённые оценки ФА выборок обыкновенного ужа.

Алгоритм	самки	самцы	самцы+ самки
$FA_1 = \frac{1}{n \times m} \sum_{i=1}^m \sum_{j=1}^n b_{ij}$ [4]	0,2	0,474	0,283
$FA_2 = \frac{1}{n \times m} \sum_{i=1}^m \sum_{j=1}^n \frac{ L_{ij} - R_{ij} }{\text{avg} L_{ij} - R_{ij} }$ [6]	2,640	6,432	3,787
$FA_3 = \frac{1}{n \times m} \sum_{i=1}^m \sum_{j=1}^n \frac{ L_{ij} - R_{ij} }{(L_{ij} + R_{ij})}$ [4]	0,048	0,1	0,064
$FA_4 = 1 - \frac{1}{m} \sum_{i=1}^m \frac{2 \sum L_{ij} \times R_{ij}}{\sum (L_{ij}^2 + R_{ij}^2)}$ [1]	—	0,003	—

Исходя из полученных данных был сделан вывод, что больше всего особей с асимметрией заглазничных щитков, как у самцов, так и у самок, так же часто встречаются особи с девиациями височных щитков второго ряда (чаще всего это проявляется в слиянии щитков). Ни у одной особи не было обнаружено асимметрии в предглазничных щитках вне зависимости от пола. Асимметрия височных щитков второго ряда у 19,4 % всех особей (у 18,6 % самок и у 20,5 % самцов), асимметрия заглазничных щитков у 19,6% особей (у самок 10,3% особей с асимметрией, у самцов 33,3%).

Основываясь на алгоритмах оценки флуктуирующей асимметрии, можно сделать вывод, что половые различия присутствуют: у самцов отклонений от нормы больше. Особенно существенны различия по второму алгоритму.

Результаты исследования фолидоза обыкновенной гадюки: асимметрия билатеральных признаков наблюдается и у самцов, и у самок (табл. 2). Наиболее стабильными щитками оказались надглазничные в общей выборке (то есть у обоих полов). У самцов стабильными так же являются нижнечелюстные щитки и теменные щитки. У самок же одинаковое число носовых щитков с левой и правой сторон, но при этом количество щитков варьирует от особи к особи.

Большее количество особей с асимметрией верхнегубных щитков среди обоих полов (41,7 %), среди самок 43,3 % особей имели асимметрию по данному признаку, среди самцов 38,9 %. Среди самцов на 2 месте по встречаемости асимметрии были предглазничные щитки – у 21 % самцов. Среди самок большее число особей с асимметрией наблюдалось при подсчете теменных щитков – 37,9 % самок.

Таблица 2 – Обобщённые оценки ФА выборки обыкновенной гадюки.

Алгоритм	самки	самцы	самцы+ самки
$FA_1 = \frac{1}{n \times m} \sum_{i=1}^m \sum_{j=1}^n b_{ij}$ [4]	0,620	0,475	0,561
$FA_2 = \frac{1}{n \times m} \sum_{i=1}^m \sum_{j=1}^n \frac{ L_{ij}-R_{ij} }{\text{avg} L_{ij}-R_{ij} }$ [6]	3,320	3,37	3,341
$FA_3 = \frac{1}{n \times m} \sum_{i=1}^m \sum_{j=1}^n \frac{ L_{ij}-R_{ij} }{(L_{ij}+R_{ij})}$ [4]	0,122	0,108	0,116
$FA_4 = 1 - \frac{1}{m} \sum_{i=1}^m \frac{2 \sum L_{ij} \times R_{ij}}{\sum (L_{ij}^2 + R_{ij}^2)}$ [1]	0,005	0,043	0,020

Исходя из полученных значений можно сказать об отсутствии существенных половых различий.

Заключение

1. Полученные результаты по оценке ФА показывают, что стабильными и симметричными признаками у ужей являются предглазничные щитки у обоих полов и верхнегубные щитки у самцов. Самый большой процент особей с асимметрией наблюдалось при исследовании височных щитков второго ряда и заглазничных щитков (у обоих полов).

2. У обыкновенных гадюк стабильными и симметричными оказались надглазничные щитки у обоих полов и нижнечелюстные у самцов. Большее количество особей с девиациями верхнегубных щитков (самцы и самки), предглазничных щитков (самцы) и теменных щитков (самки).

3. Флуктуирующая асимметрия встречается у обыкновенных ужей и обыкновенных гадюк независимо от пола.

Библиографический список

1. Гелашвили Д.Б., Краснов А.К., Логинов В.В. и др. Методологические и методические аспекты мониторинга здоровья среды государственного природного заповедника «Керженский» // Труды ГПЗ «Керженский». – Н. Новгород. – 2001. – Т. 1. – С. 287–325.
2. Гелашвили Д.Б., Якимов В.Н., Логинов В.В., Епланова Г.В. Статистический анализ флуктуирующей асимметрии билатеральных признаков разноцветной ящурки *Eremias arguta* // Актуальные проблемы герпетологии и токсикологии. – Вып. 7. – Тольятти, 2004. – С. 45–59.
3. Захаров В.М. Асимметрия животных (популяционно-феногенетический подход). – М.: Наука, 1987. – 216 с.
4. Захаров В. М., Баранов А. С., Борисов В. И. и др. Здоровье среды: методика оценки. Оценка состояния природных популяций по стабильности развития: методологическое руководство для заповедников. – М.: Центр экологической политики России, 2000. – 66 с.
5. Идрисова Л.А., Хайрутдинов И.З. Асимметрия билатеральных признаков фоллидоза прыткой ящерицы (*Lacerta agilis*, *Reptilia*, *Squamata*) в республике Татарстан // Зоологический журнал. – 2016. – Т. 95. – № 10. – С. 1165–1172.

6. Leung, B., Forbes M. R., Houle D. Fluctuating asymmetry as a bioindicator of stress: Comparing efficacy of analyses involving multiple traits. // *American Naturalist*. – 2000. – V. 155. – P. 101–115.
7. Palmer A.R., Strobeck C. Fluctuating asymmetry analyses revisited // *Developmental instability (DI): causes and consequences* / M.Polak, ed New York: Oxford Univ. Press. –2003. – P. 77.

ВЛИЯНИЕ ФАКТОРОВ СРЕДЫ НА РЫБ РЕКИ АМУР ПО РЕЗУЛЬТАТАМ СЕТНЫХ ОБЛОВОВ

Сухова А.С.¹, Касаткина А.П.², Зеленинская В.Г.¹, Михеев П.Б.^{1,2}

¹Пермский государственный национальный исследовательский университет, Пермь, Россия

²Хабаровский филиал ФГБНУ ВНИРО, г. Хабаровск, Россия

Аннотация. Приводятся результаты анализа влияния глубины, прозрачности, температуры, минерализации и насыщенности кислородом воды на разнообразие и количественные характеристики рыб р. Амур в пределах нижнего и среднего течения реки по результатам сетных обловов в Нанайском районе Хабаровского края и Ленинском районе Еврейской автономной области в мае – июне 2023 г.

Ключевые слова: экология рыб, факторы среды, река Амур, сетные обловы

THE INFLUENCE OF ENVIRONMENTAL FACTORS ON AMUR RIVER FISH BASED ON THE RESULTS OF GILL NET FISHING

Sukhova A.S., Kasatkina A.P., Zelenevskaya V.G., Mikheev P.B.

Abstract. The study aimed to analyze the influence of depth, turbidity, temperature, mineralization, dissolved oxygen on fish abundance and diversity in the lower and middle Amur River based on results of gill net sampling in the Nanai district of the Khabarovsk krai and the Leninsky District of the Jewish Autonomous Region in May – June 2023.

Key words: fish ecology, environmental factors, Amur River, gill net sampling.

Одной из проблем экологии рыб является получение знаний о реакции популяций и сообщества на изменения и нарушения окружающей среды во временном и пространственном масштабе. Реки, имеющие развитую пойменно-русловую систему, очень интересны для изучения, так как они представляют собой сложную связанную экосистему с разницей в условиях обитания для разных видов рыб. Пойменно-русловые экосистемы являются, с одной стороны, экономически ценными и высокопродуктивными, а с другой стороны – экологически уязвимыми [1]. Изучение механизмов формирования структуры рыбных сообществ в реках требует разномасштабного подхода, который отражает иерархию факторов, определяющих распределение гидробионтов в естественных речных системах [2] Эти факторы включают в себя: температурный и уровенный режим, степень зарастания макрофитами, мутность, скорость течения, освещённость, кормовую базу, растворимость кислорода, характер донного субстрата и другие. Факторы, определяющие структуру ихтиоцены различных биотопов в реках с развитой пойменно-русловой системой, в частности р. Амур, изучены не в полном объёме.

Целью данной работы было проведение анализа влияния некоторых из ключевых параметров, определяющих структуру ихтиоцены р. Амур в пределах нижнего и среднего течения реки.

Сбор материала для исследования проводился на территории Хабаровского края в Нанайском районе и в Еврейской автономной области (Ленинский район) в мае и июне 2023 г.,

соответственно. Работы проводились на участке Нижнего Амура в пределах села Искра, Нанайского района, Хабаровского края (рисунок 1) в 5 точках. Также работы проводились на участке Среднего Амура в пределах села Дежнёво, Ленинского района, Еврейской автономной области (ЕАО) в 6 точках (рисунок 2). На всех этих участках были проведены измерения глубины, прозрачности, температуры воды у поверхности, минерализации и содержания кислорода (таблица 1, 2). Измерения прозрачности, минерализации и содержания кислорода проводили с помощью диска Секки и прибора HM Digital AquaPro AP-1. Отлов рыб проводили ставными сетями сечением ячеи 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70 мм. В Нанайском районе Хабаровского края было выловлено 1816 экз. рыб (31 вид). В ЕАО число отловленных рыб составило 1081 экз. (35 видов рыб). Данные были собраны в составе комплексных экспедиций Хабаровского филиала ФГБНУ ВНИРО.

Для выявления роли тех или иных видов в населении сообщества реки Амур был использован количественный состав выловленной рыбы, приведенный к единице рыбопромыслового усилия (стандартной суткосетепостановке). Для оценки экологического доминирования различных видов рыб использован индекс относительной важности или IRI [3]. Для оценки уровня разнообразия сообщества рыб рассчитывали Индекс Шеннона. Кластеризацию мест сбора материала на основе состава уловов выполняли с использованием индекса Чекановского-Сьеренсена. Для выявления влияния абиотических факторов среды на уровень разнообразия рыб, а также численность и биомассу массовых видов Амурских рыб использовали корреляционный анализ Пирсона.

Значимость связи анализируемых параметров оценивали, используя стандартный уровень значимости $p=0,05$.



Рисунок 1 – Карта-схема расположения Хабаровского края с местами сбора материала в Нанайском районе.



Рисунок 2 – Карта-схема расположения ЕАО с местами сбора материала в Ленинском районе.

Как на Нижнем, так и на Среднем Амуре были выявлены ключевые экологические группы рыб. Доминирующим видом в сообществе рыб среди бентофагов стал серебряный карась *Carassius gibelio*, среди хищников – амурская щука *Esox reichertii* (таблица 1, 2).

Таблица 1 – Доминирующие виды в ихтиоценозе, по данным съемки ставными сетями в мае на Нижнем Амуре (Нанайский район Хабаровского края)

Экологическая группа	Вид	IRI
Планктонофаги	Востробрюшка уссурийская <i>Hemiculter lucidus</i>	48,0
	Толстолобик белый <i>Hypophthalmichthys molitrix</i>	163,9
Бентофаги	Горчак колючий <i>Acheilognathus asmussii</i>	31,3
	Карась серебряный <i>Carassius gibelio</i>	531,5
	Конь пятнистый <i>Hemibarbus maculatus</i>	124,5
	Уклей <i>Alburnus alburnus</i>	133,4
Полизоофаги	Косатка-скрипун <i>Pelteobagrus fulvidraco</i>	101,4
Хищники	Ауха <i>Siniperca chuatsi</i>	90,5
	Щука амурская <i>Esox reichertii</i>	447,3

Таблица 2 Доминирующие виды в ихтиоценозе, по данным съемки ставными сетями в мае на Среднем Амуре (Ленинский район ЕАО)

Экологическая группа	Вид	IRI
Планктонофаги	Востробрюшка уссурийская <i>Hemiculter lucidus</i>	45,9
Бентофаги	Горчак Асмусса <i>Rhodeus amurensis</i>	57,2
	Уклей <i>Alburnus alburnus</i>	114,7
Полизоофаги	Косатка-скрипун <i>Pelteobagrus fulvidraco</i>	174,1
Хищники	Верхогляд <i>Chanodichthys erythropterus</i>	157,3
	Щука амурская <i>Esox reichertii</i>	485,2

На дендрограммах (рисунок 3) видно сходство разных биотопов на основе состава ихтиофауны. Отлично видно, что точки в Хабаровском крае и ЕАО различаются по составу ихтиофауны. Отдельно выделяются биотопы с низкой проточностью (озера и заливы).

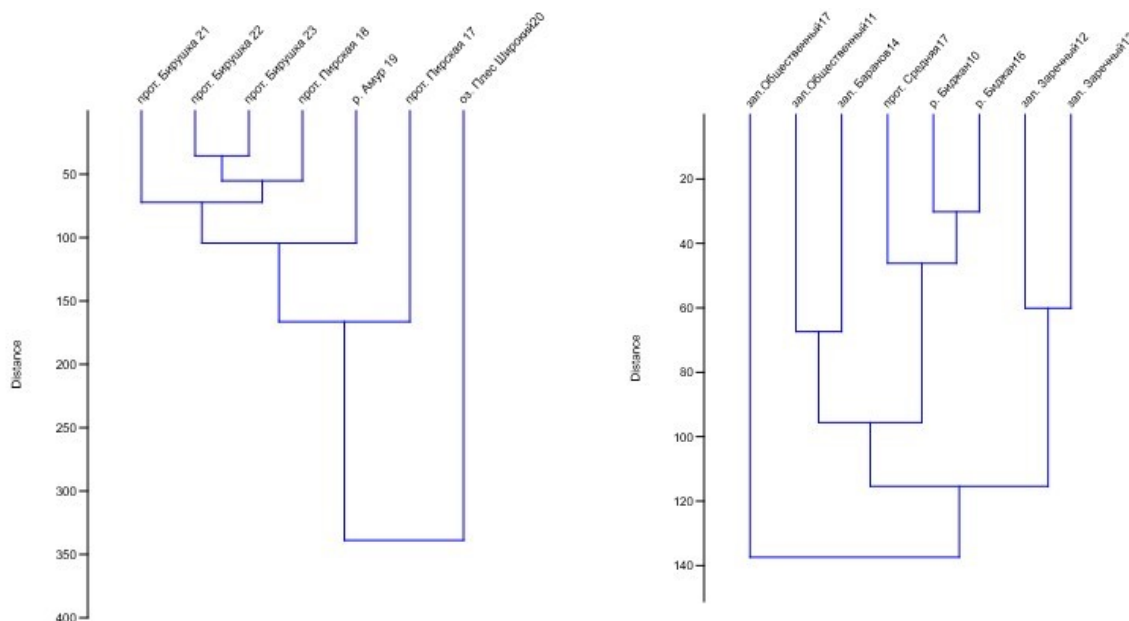


Рисунок 3 – Дендрограммы сходства мест сбора материала на основе состава уловов выполняли с использованием индекса Чекановского-Сьеренсена в Нанайском районе Хабаровского края (слева) и в Ленинском районе ЕАО (справа).

Анализ связи факторов среды с численностью и разнообразием рыб выявил, что значимым фактором, влияющим на численность рыб в мае 2023 г. в Нанайском районе Хабаровского края, является температура. Между ней и численностью таких видов как карась *Carassius gibelio*, косатка-скрипун *Pelteobagrus fulvidraco* и уклей *Culter alburnus*, была обнаружена достоверная положительная связь (рис. 4). С прочими факторами связи установлено не было. Существенной связи между индексом Шеннона и факторами среды также обнаружено не было.

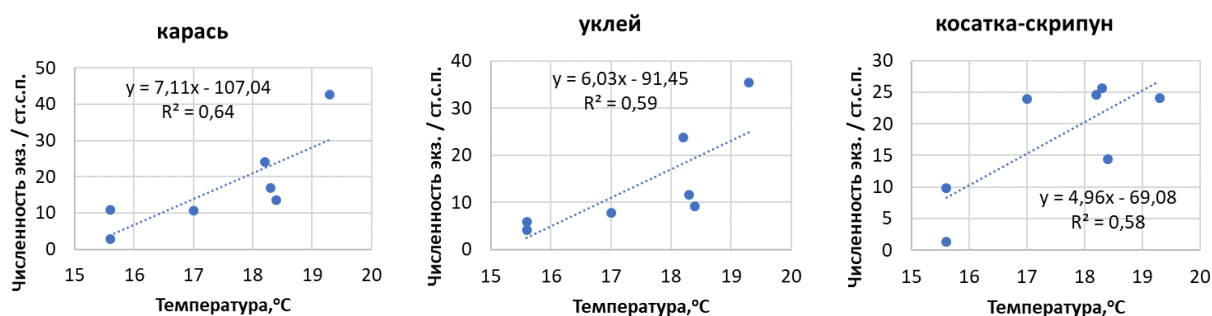


Рисунок 4 – Графики зависимости численности карася, укляя и косатки-скрипуна в сетных уловах от температуры воды.

На Среднем Амуре также достоверной связи между индексом Шеннона, численностью рыб и факторами среды установлено не было.

Выявленная значимая положительная связь температуры с количеством уклея *Culter alburnus*, карася *Carassius gibelio* и косатки-скрипуна *Pelteobagrus fulvidraco* в сетных уловах может быть объяснена не только увеличением абсолютной численности этих видов в обследованных биотопах с прогревом воды, но и одновременным ростом их двигательной активности. Это объясняется тем, что данные виды являются теплолюбивыми: уклея и косатка-скрипун относятся к китайскому равнинному ихтиофаунистическому комплексу, карась к бореальному равнинному комплексу [4]. Нерест уклея и косатки-скрипуна происходит при температуре 23-25°C, карася – при температуре свыше 18°C [5]. Поэтому повышение температуры воды в мае могло привести к росту их численности и двигательной активности в прибрежных биотопах и, следовательно, большей уловистости ставными сетями. Подобная связь была установлена в частности для плотвы *Rutilus rutilus* и окуня *Perca fluviatilis* финских озер [6]. Авторами была выявлена положительная связь между значениями сетных уловов и численностью рыб, а также между величиной уловов и температурой воды. Отметим, что обратное влияние температуры на численность и уловы видов рыб в краевой зоне видового ареала описано в частности для арктического гольца *Salvelinus alpinus* озер Ирландии. Авторами была выявлена достоверная отрицательная связь между температурой и численностью вида, что объясняется его креофильностью – оптимальная для арктического гольца температура находится в пределах от 5,9 до 8,3 [7].

В результате анализа полученных данных были сформулированы следующие выводы:

- Обследованные участки пойменно-русловой системы реки Амур в двух районах, относящихся к среднему и нижнему течению реки, были неоднородны по составу ихтиоценозов.
- Доминирующими видами являлись представители разных экологических групп рыб. В Нанайском районе Хабаровского края наиболее многочисленными были бентофаги. В Ленинском районе ЕАО численно преобладали бентофаги и хищники.
- Достоверной связи между индексом Шеннона и проанализированными факторами среды не установлено. Для этого требуется большее число измерений.
- Выявлена значимая положительная связь температуры с численностью уклея, карася и косатки-скрипуна.
- Выявленные закономерности могут быть использованы для восполнения пробелов в знаниях о влиянии факторов среды, и температуры воды, в частности, на амурских рыб.

Библиографический список

1. Batzer D. P., Noe G. B., Lee L. & Galatowitsch M. A Floodplain Continuum for Atlantic Coast Rivers of the Southeastern US: Predictable Changes in Floodplain Biota along a River's Length // Wetlands. – 2018. – Vol. 38, № 1. – P. 1-13.
2. Герасимов Ю. В., Борисенко Э. С., Базаров М. И., Столбунов И. А., Цветков А. И. Распределение рыб в среднем течении большой равнинной реки под влиянием реки гидрофизических факторов // Биология внутренних вод. – 2019. – № 1. – С. 42-50.
3. Pinkas L., Oliphant M. S. & Iverson I. L. K. Food habits of albacore, blue fin tuna, and bonito in California waters // Fish. Bull. Calif. – 1971. – № 152. – P. 1-105.
4. Никольский Г.В. Основные закономерности формирования и развития речной ихтиофауны // Очерки по общим вопросам ихтиологии. М.: Изд-во АН СССР, 1953. – С. 77–90.

5. Никольский Г.В. Рыбы бассейна Амура. – М.: Изд-во АН СССР, 1956 – 551 с.
6. Linlokken A, Haugen T. O. Density and temperature dependence of gill net catch for perch, *Perca fluviatilis*, and roach, *Rutilus rutilus* // Fish Manag Ecol. – 2006. – № 13. – P. 261–269.
7. Morrissey-McCaffrey *et al.* Non-native species and lake warming negatively affect Arctic char *Salvelinus alpinus* abundance; deep thermal refugia facilitate co-existence // Journal of Fish Biology. – 2019. – № 94. – P. 5–16.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ОЦЕНКА ВОЗДЕЙСТВИЯ ГИПЕРОСМОТИЧЕСКОЙ СРЕДЫ НА МОЛОДЬ СТЕРЛЯДИ *ACIPENSER RUTHENUS*

Михеев П.Б.^{1,2}, Шеина Т.А.¹, Феофилактова Т.К.¹, Васильев А.С.³

¹ Пермский государственный национальный исследовательский университет, Пермь, Россия

² Хабаровск НИРО, Хабаровск, Россия

³ Камско-Волжский филиал Федерального государственного бюджетного учреждения «Главное бассейновое управление по рыболовству и сохранению водных биологических ресурсов», Пермь, Россия

Аннотация. В работе представлены данные по толерантности молоди стерляди к NaCl, приведены иммуно-физиологические изменения рыб в условиях минерализации 5,5-6,3 г/л при экспозиции длительностью 28 дней, а также после пересадки рыб в фоновые условия на 57 дней.

Ключевые слова: осетровые, хлоридные клетки, гематологические показатели, биохимия крови, выживаемость

EXPERIMENTAL ASSESSMENT OF THE IMPACT OF HYPEROSMOTIC MEDIUM ON STERLET *ACIPENSER RUTHENUS* JUVENILES

Mikheev P.B.^{1,2}, Sheina T.A.¹, Feofilaktova T.K.¹, Васильев A.S.³

¹ Perm State National Research University, Perm, Russia

² Khabarovsk NIRO, Khabarovsk, Russia

³ Kamsko-Volzhsy branch of the Federal State Budgetary Institution "Main Basin Department for Fisheries and Conservation of Aquatic Biological Resources", Perm, Russia

Abstract. The paper presents data on the tolerance of juvenile sterlet to NaCl, shows immunophysiological changes in fish under mineralization conditions of 5.5-6.3 g/l with exposure lasting 28 days, as well as after transplanting fish into reference salinity conditions for 57 days.

Key words: acipenserids, chloride cells, hematological parameters, blood biochemistry, survival

Осетровые широко распространены в водах различной солёности: пресных, солоноватых и океанических. Анадромные виды меняют тип осмотической регуляции (гиперосмотический в пресной воде и гипоосмотический в морской среде), обеспечивая тем самым осмотический гомеостаз при смене среды обитания [1]. Стерлядь – широкоареальный пресноводный вид, населяющий реки бассейнов Черного, Азовского, Каспийского, Балтийского, Белого, Баренцева и Карского морей. В Сибири обитает в бассейне Оби и Енисея. Широкое распространение стерляди во всех реках, регулярные миграции ее в реке, а также изучение объемов ядер и цитоплазмы в ооцитах осетровых дали основание сделать вывод о недавнем переходе стерляди от проходного образа жизни к пресноводному [2]. В экспериментах стерлядь показывает высокую солевую толерантность, приспосабливаясь к гиперосмотической среде как осмоконформер [3].

В результате работы Верхнекамского месторождения калийно-магниевых солей в Пермском крае происходит вторичное засоление пресноводных экосистем, что оказывает

значительное влияние на биоту, приводя к уменьшению численности и сокращению видового разнообразия гидробионтов [4–6]. Стерлядь занесена в Красную книгу Пермского края (3 категория редкости). Для восстановления численности вида ежегодно осуществляется выпуск искусственно полученной молоди в водные объекты края [7].

Целью работы являлось исследование молоди стерляди в условиях минерализации NaCl 5,5-6,3 г/л при экспозиции продолжительностью 28 дней, а также после пересадки и содержания подопытных рыб в фоновых условиях минерализации на протяжении 57 дней.

Работы проводились в летне-осенний период 2023 г. В качестве тест-объекта была использована молодь стерляди, выращенная на рыбоводном хозяйстве Камско-Уральского филиала Главрыбвода (г. Добрянка, Пермский край). Экспериментальные работы проводились в три этапа.

Рыбы в количестве 300 экз., были рассажены в стеклопластиковые рыбоводные лотки (ЛПЛ) объемом 1000 л на 28 дней. В одном из лотков были созданы условия минерализации NaCl 5,5-6,3 г/л, в другом поддерживались фоновые условия минерализации. ЛПЛ были оборудованы системами фильтрации и аэрации. Температуру воды измеряли с помощью автоматического регистратора температуры (Термодат-19М6). Контроль над уровнем минерализации *in vivo* проводили с помощью прибора Aquaprobe AP-2000.

На третьем этапе проводились работы для оценки скорости и уровня изменений физиологического состояния рыб после отмены воздействия засоления продолжительностью 57 дней. Для этого рыб пересаживали в условия с фоновой минерализацией.

Сбор данных у рыб из экспериментальных и фоновых условий был произведен на 2, 28, 56 и 85 сутки с начала эксперимента. В данной работе представлены данные от 5 особей в каждой группе.

Для оценки изменения коэффициента относительной упитанности, проводили измерения длины и массы рыб [8]. В ходе эксперимента отмечалось снижение упитанности рыб как подопытной, так и контрольной группы. Значимые ($p < 0,05$) отличия рыб экспериментальной и контрольной группы были отмечены на 85-й день эксперимента: меньшие значения упитанности были характерны для подопытных рыб.

Для анализа иммуно-физиологического ответа у рыб была исследована периферическая кровь. Взятие проб крови осуществляли из хвостовой артерии путем отсечения хвостового стебля у анального плавника не позднее чем через 15–20 секунд после извлечения рыбы из воды согласно методике В. В. Метелева [9]. Биохимический анализ крови проводили в лаборатории освоения агрозоотехнологий Пермского ГАТУ на биохимическом анализаторе Stat Fax 1904+. Общий анализ крови, лейкоцитарную формулу и процентный состав зрелых и незрелых клеток красной крови проводили на базе ПГНИУ. Лейкоцитарную формулу и процентный состав зрелых и незрелых клеток красной крови проводили по мазкам (для фиксации и окраски использовали раствор Лейшмана). Микроскопирование осуществлялось с помощью микроскопа OLYMPUS BX53 при увеличении 40X. При установлении процентного состава клеток эритропоэтического ряда за 100 % было принято 1000 просчитанных эритроцитов и 200 клеток при рассмотрении форм лейкоцитов. Руководствуясь атласами форменных элементов крови рыб, провели идентификацию клеток крови и определяли патоморфологические изменения эритроцитов [10, 11].

Для гистологического анализа были использованы жабры, участвующие в водно-солевом обмене [12]. Окраска жабр производилась гематоксилин-эозином [13].

Было выявлено достоверное ($p < 0.05$) увеличение числа хлоридных клеток на жаберном эпителии молоди стерляди при ее содержании в условиях экспериментально дозированного засоления продолжительностью 28 дней. После пересадки рыб в условия с фоновой минерализацией было отмечено уменьшение числа хлоридных клеток на единицу площади жаберного эпителия, которое достигло фоновых показателей на 85 сутки эксперимента (рисунок 1).

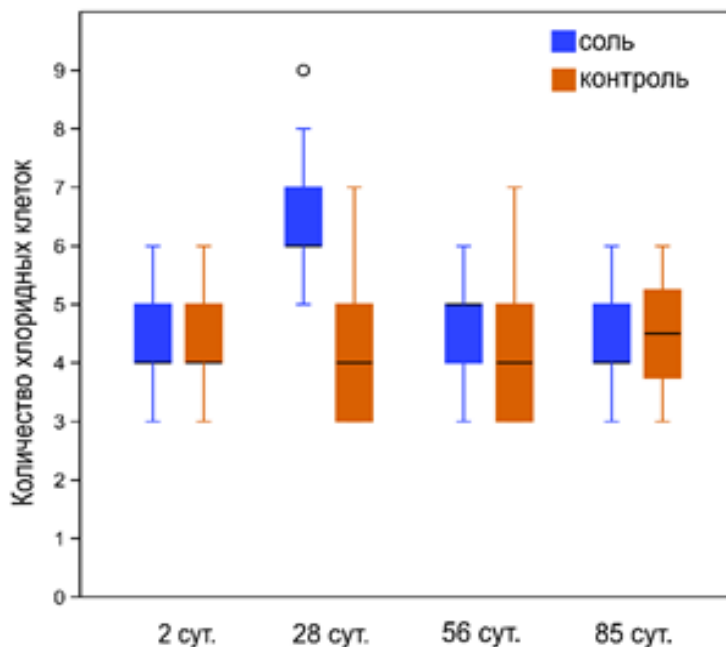


Рисунок 1 – Динамика содержания хлоридных клеток в жабрах стерляди подопытной и контрольной группы в ходе эксперимента.

Динамика значений СОЭ, концентрации лейкоцитов в крови, а также глюкозы в крови представлена на рисунках 2–5. По сравнению с рыбами контрольной группы на 2-й день после пересадки подопытных особей в условия повышенной минерализации, произошло достоверное ($p < 0.05$) снижение концентрации гемоглобина, ионов натрия и повышение содержания глюкозы, хлорид-иона, ионов магния и кальция в крови. Рост концентрации глюкозы является проявлением реакции на стресс, связанный с адаптацией к гиперосмотическим условиям. Рост концентрации ионов свидетельствует о повышении осмоляльности крови, что описано для осетровых при их помещении в условия повышенной солености [14].

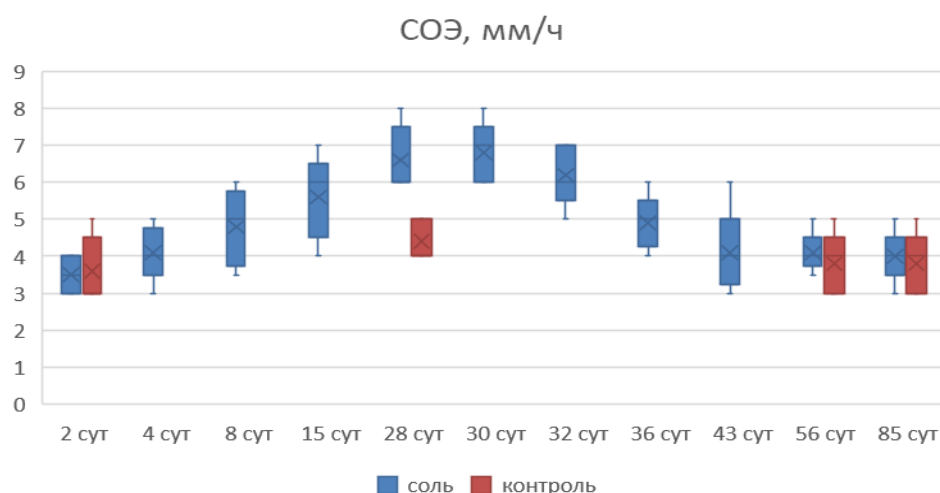


Рисунок 2 – Динамика уровня СОЭ (мм/ч) в крови стерляди подопытной и контрольной группы в ходе эксперимента.

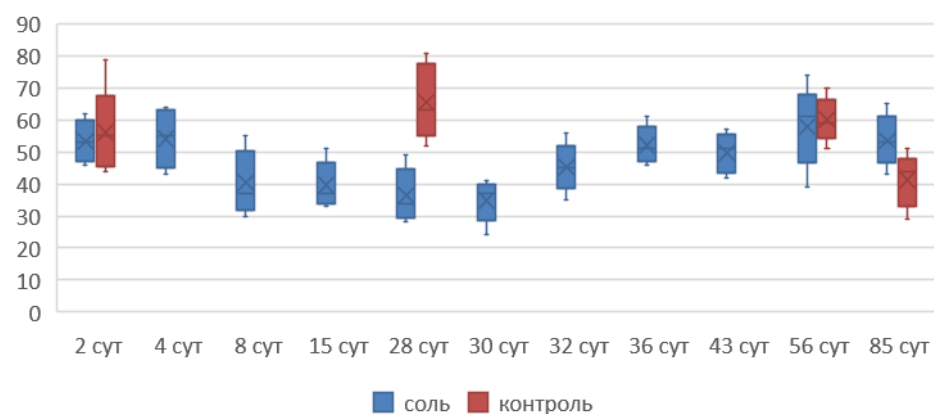


Рисунок 3 – Динамика уровня лейкоцитов (10⁹/л) в крови стерляди подопытной и контрольной группы в ходе эксперимента.

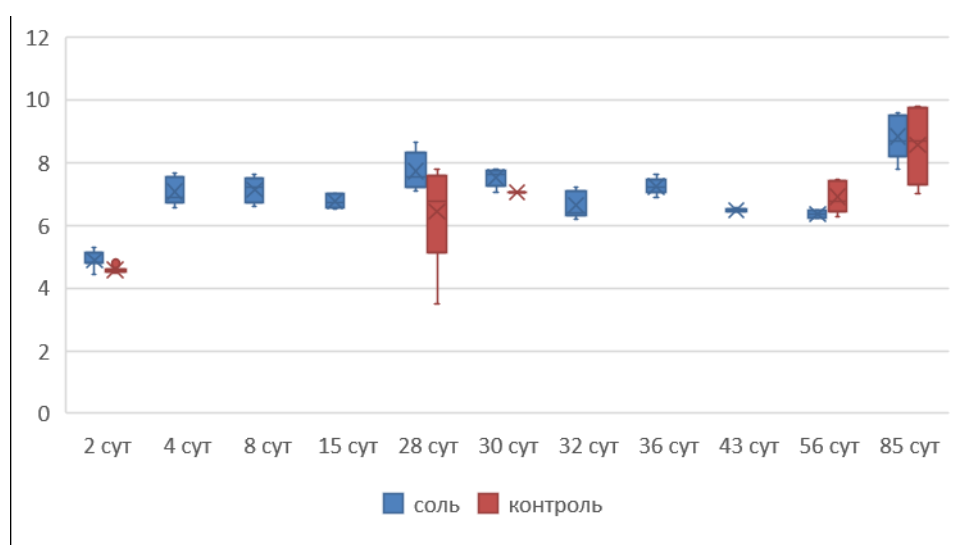


Рисунок 4 – Динамика уровня глюкозы (ммоль/л) в крови стерляди подопытной и контрольной группы в ходе эксперимента.

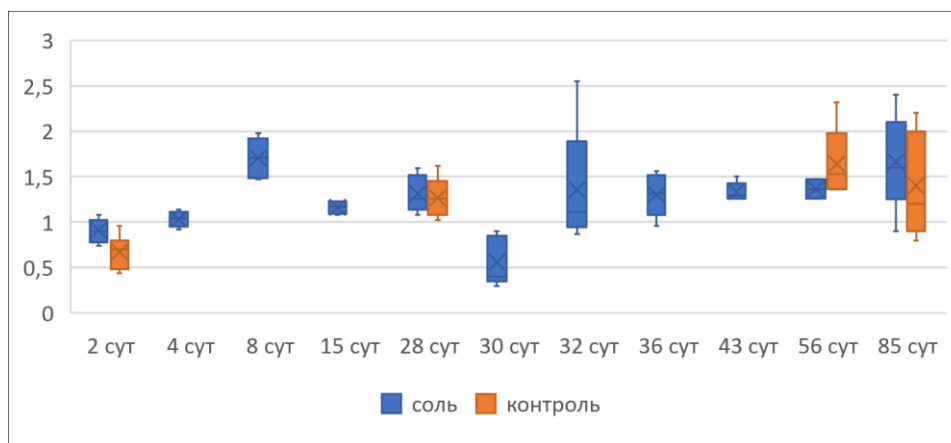


Рисунок 5 – Динамика содержания магния (ммоль/л) в крови стерляди подопытной и контрольной группы в ходе эксперимента.

По сравнению с фоновыми данными на 28-й день после пересадки подопытных особей в условия повышенной минерализации произошло достоверное ($p < 0.05$) снижение уровня гемоглобина, количества лейкоцитов и эритроцитов, увеличилась СОЭ. Повысилось содержание общего белка и хлоридов. Снизилась концентрация ионов калия и натрия, а также уровня мочевины в крови, что свидетельствует о стабилизации процессов обмена в результате адаптации организма рыб к условиям повышенной солености, в том числе за счет увеличения числа хлоридных клеток, выполняющих важную роль в поддержании ионного баланса у рыб [15].

На 56-й день эксперимента или 28-й день после пересадки особей содержавшихся в условиях засоления в условия фоновой минерализации, у экспериментальных рыб по сравнению с контрольной группой было достоверно ($p < 0.05$) ниже содержание гемоглобина, глюкозы, ионов калия и магния в крови. На 85-й день эксперимента или 57-й день после пересадки особей содержавшихся в условиях засоления в условия фоновой минерализации, у экспериментальных рыб по сравнению с контрольной группой было достоверно ($p < 0.05$) выше содержание лейкоцитов, а также ионов натрия и мочевины в крови. То есть окончательное восстановление гомеостаза организма молоди стерляди после ее пребывания в условиях гиперосмотической среды на протяжении месяца не произошло, что подтверждается анализом развития потаморфологических изменений клеток крови.

Анализ патоморфологических изменений эритроцитов в крови стерляди показал, что наибольший уровень различий особей экспериментальной и контрольной групп наблюдался в конце экспериментально дозированного воздействия засоления. Высокая встречаемость патологий клеток крови у рыб экспериментальной группы прослеживалась вплоть до конца эксперимента. Так, на второй день после пересадки стерляди в условия повышенной минерализации, у рыб экспериментальной группы достоверно ($p < 0.05$) увеличилась встречаемость эритроцитов с пойкилоцитозом, чаще отмечались тени эритроцитов и гемолиз. Наиболее яркие отличия стерляди экспериментальной группы от рыб, содержавшихся в фоновых условиях минерализации, отмечались на 28 день после начала эксперимента. У рыб экспериментальной группы значимо ($p < 0.05$) возросла доля незрелых эритроцитов в крови, была выше встречаемость пойкилоцитоза, ацентрического расположения ядра, чаще был отмечен фестончатый контур, тени эритроцитов, гемолиз, агглютинация, гипохромия,

хроматинолиз и анизоцитоз эритроцитов. На 28 день после пересадки подопытных рыб в условия фоновой минерализации, восстановление исследованных показателей эритроцитов до уровня, отмеченного для рыб контрольной группы, не произошло. Отсутствие различий было выявлено только по фестончатому контуру эритроцитов. На 57 день после пересадки восстановление рыб экспериментальной группы было выявлено только по числу зрелых и незрелых эритроцитов, а также уровню встречаемости клеток с хроматолизом (табл.).

Таблица – Количество зрелых и незрелых эритроцитов (из 1000 клеток) а также доля эритроцитов с патоморфологическими изменениями в крови стерляди экспериментальной (соль) и контрольной (кон.) групп по итогам эксперимента продолжительностью 85 суток.

Показатель	2 сут.			28 сут.			56 сут.			85 сут.		
	кон.	соль	p	кон.	соль	p	кон.	соль	p	кон.	соль	p
Зрелые эритроциты	971	965,4	0,064	965,4	952,6	0,007	973	966	0,014	974,4	971,2	0,107
Молодые (незрелые) эритроциты	29	34,6	0,064	34,6	47,4	0,007	27	34	0,014	25,6	28,8	0,107
Пойкилоцитоз, %	1,3	1,96	0,011	5,78	17	0,000	2,18	3,34	0,001	1,76	2,52	0,013
Ацентрическое расположение ядра, %	1	1,12	0,195	2,78	7,48	0,000	1,16	2,5	0,001	1,12	1,9	0,002
Фестончатый контур, %	0	0		0	0,2	0,006	0,24	0,28	0,312	0,06	0,24	0,013
Тени эритроцитов, %	0,18	0,28	0,048	0,36	0,84	0,000	0,3	0,48	0,003	0,18	0,28	0,048
Гемолиз, %	0,2	0,34	0,004	0,36	0,88	0,000	0,32	0,44	0,049	0,2	0,42	0,030
Агглютинация, %	0,32	1,26	0,086	5,68	15,92	0,000	1,84	6,24	0,000	1,1	6,72	0,000
Гипохромазия, %	0,1	0,14	0,231	0,26	2,32	0,000	0,06	0,88	0,000	0,06	0,6	0,000
Хроматинолиз, %	0,1	0,16	0,087	0,1	0,46	0,000	0,14	0,28	0,017	0,1	0,18	0,071
Анизоцитоз, %	2,74	3,24	0,068	4,54	8,64	0,000	3,08	4,8	0,003	2,48	4,06	0,010

Примечание: приводится среднее значение показателей для экспериментальной и контрольной групп, а также уровень значимости p по результатам сравнения с использованием критерия Манна-Уитни.

Таким образом, результаты эксперимента продолжительностью 28 суток свидетельствуют о значительных иммуно-физиологических изменениях в организме молоди стерляди, помещённой в условия повышенной минерализации, не смотря на высокие адаптационные возможности вида к условиям окружающей среды. Повышенное содержание хлорида натрия действует в данном случае как стресс-фактор, который приводит к нарушению гомеостаза у рыб. После пересадки рыб в фоновые условия (56 и 85 сутки наблюдений) выявлено, что подопытные особи отличаются от особей контрольной группы меньшими значениями упитанности, а высокая встречаемость патологий клеток крови у рыб экспериментальной группы свидетельствует о том, что полного восстановления рыб на протяжении 57 дней после 28 дневного воздействия гиперосмотической среды не происходит.

Библиографический список

1. Krayushkina L. S., Semenova O. G., Vyushina A. V., Gerasimov A. A. Morphofunctional remodelling of the osmoregulatory system in starred sturgeon *Acipenser stellatus* (Acipenseridae) during transition from hyperosmotic to hypoosmotic regulation // Journal of Ichthyology. – 2015. – V. 55. – №2. – P. 259–272.
2. Sadov I. A. Changes of nucleus sizes during period of growth and maturation of ovocytes in sturgeon, starred sturgeon and sterlet // Doklady of the USSR Academy of Sciences. – 1957. – V. 112. – №2. P. 359–362.
3. Krayushkina L. S., Semenova O. G., Vyushina A. V. Level of serum cortisol and Na⁺/K⁺ ATPase activity of gills and kidneys in different acipenserids // Journal of Applied Ichthyology. – 2006. – V. 22. – №1. – P. 182–187.
4. Kipriyanova L. M., Yermolaeva N. I., Bezmaternykh D. M., Dvurechenskaya S. Y., Mitrofanova E. Y. **Changes in the biota of Chany Lake along a salinity gradient** // Hydrobiologia. – 2007. – V. 576. – P. 83–93.
5. Arle J., Wagn F. Effects of anthropogenic salinisation on the ecological status of macroinvertebrate assemblages in the Werra River (Thuringia, Germany) // Hydrobiologia. – 2013. – V. 701. – P. 129–148.
6. Baklanov M. A., Pozdeev I. V., Kotelnikova V. S., Ogorodov S. P., Bezmaternykh V. V. Assessment of anthropogenic salinisation impact on the benthic invertebrates and fish in a small river – a tributary of the Kama Reservoir // IOP Conf. Ser.: Earth Environ. Sci. – 2019. – V. 321. – 5 p.
7. Красная книга Пермского края / под общ. ред. М. А. Бакланова. – Пермь: Алдари, 2018. – 232 с.
8. Froese R. Cube law, condition factor and weight- length relationships: history, meta- analysis and recommendations // Journal of Applied Ichthyology. – 2006. – V. 22. – №4. – P. 241–253.
9. Метелев В. В. Методы взятия крови у рыб // Ветеринария. – 1965. – № 8. – С. 80–81.
10. Иванова Н. Т. Атлас клеток крови рыб. М.: Лег. и пищ. пром-сть, 1983. – 184 с.
11. Житенева Л. Д., Полтавцева Т. Г., Рудницкая О. А. Атлас нормальных и патологически измененных клеток крови рыб. Ростов н/Д.: Рост. книж. изд-во, 1989. – 110 с.
12. Пономарева Е. Н., Металлов Г. Ф. Моделирование среды, как экологический способ решения актуальных проблем аквакультуры // Известия Самарского научного центра Российской академии наук. – 2014. – Т. 16. – №. 1-1. – С. 188–192.
13. Есимсиитова З. Б. и др. Гистологическое изучение жабр радужной форели, обитающей в реке Тургень // Международный журнал прикладных и фундаментальных исследований. – 2013. – №. 6. – С. 34–37.
14. Краюшкина Л. С. Функциональная эволюция осморегуляторной системы осетровых. М.: Физматлит, 2022. – 316 с.
15. Jiang Y, Yuan C, Qi M, Liu Q, Hu Z. The Effect of Salinity Stress on Enzyme Activities, Histology, and Transcriptome of Silver Carp (*Hypophthalmichthys molitrix*) // Biology (Basel). – 2022. – V. 27. – P. 1580.

ЭКОЛОГО-ОРНИТОЛОГИЧЕСКАЯ ОБСТАНОВКА НА АЭРОДРОМЕ «АЭРОПОРТА ТУРУХАНСК»

Харин Р.В.^{1,2}, Матвеева Г.К.¹

¹ *Общество с ограниченной ответственностью "Малое инновационное предприятие "Бюро охраны природы", г. Пермь, Россия.*

² *ФГОУ «Пермский государственный национальный исследовательский университет», кафедра зоологии позвоночных и экологии, г. Пермь, Россия.*

Аннотация. Представлены результаты эколого-орнитологического обследования аэродрома «Аэропорт Туруханск» и прилегающей территории в весенний и позднелетний периоды.

Ключевые слова: авиационная орнитология, безопасность полетов, аэропорт, Туруханск

ECOLOGICAL AND ORNITHOLOGICAL SITUATION ON AIRFIELD OF THE AIRPORT TURUKHANSK

Kharin R.V.^{1,2}, Matveeva G.K.¹

¹ *Ltd. MIP Bureau of Conservation of Nature, Perm, 614990, Perm, street Bukireva, 15*

² *Perm State University, 614990, Perm, street Bukireva, 15*

Abstract. Data on the assessment of the ornithological situation at the Turukhansk aerfield in the spring and late summer periods are presented: quantitative characteristics, daily and seasonal activity, species diversity, the nature of the birds' stay and features of the aerodrome that contribute to the accumulation of birds.

Key words: aviation ornithology, flight safety, airport, avifauna, Turukhanask, Krasnoyarsk region.

Обследованный аэродром расположен в 1500 км к северу от Красноярска, вблизи п. Туруханск, на правом берегу р. Енисей при впадении р. Нижней Тунгуски, на 120 км южнее полярного круга. Данная территория относится к западной части Восточной Сибири и к западным предгорьям Среднесибирского плоскогорья.

Весенний этап исследований проводился в период с 24 по 30 мая 2019 г., позднелетние наблюдения – с 24 по 28 июля 2019 г. За это время обследован аэродром и прилегающая территория площадью около 40 км², пройдено около 120 км пеших маршрутов (рис. 1.).

Для формализованной количественной характеристики напряженности орнитологической обстановки на аэродроме использована методика В.А. Юдкина и М.А. Грабовского [1]. Вблизи торцов взлетно-посадочной полосы (ВПП) были заложены два постоянных наблюдательных пункта (ПНП), по одному с каждой стороны ВПП. Регистрировались все птицы, перемещающиеся через ПНП в границах видимости от наблюдателя. Оценивались: видовая принадлежность, высота и направление перемещения, отмечались особенности поведения встреченных птиц, характер пребывания, по возможности, пол и возраст. Регистрировались пересечения ВПП и перемещения птиц вдоль ВПП, кружащие и сидящие на летном поле особи. Учеты проводились три раза в сутки по два часа

– утром, днем, вечером. В качестве характеристики орнитологической обстановки на аэродроме используется величина суммарной биомассы птиц, находящихся в зоне движения воздушных судов, размерность кг/час*км². В данной методике предложены критерии для оценки напряженности орнитологической обстановки в пяти градациях: спокойная (I), удовлетворительная (II), умеренно-напряженная (III), чрезвычайно напряженная (IV), критическая (V). Для выявления мест скоплений, мигрирующих птиц и путей миграции, определения численности и видового состава птиц, характера их пребывания и поведения на аэродроме и прилегающей территории, а также выявления особенностей территории способствующих концентрации птиц, проведены маршрутные учеты и точечные наблюдения. Учитывали рекомендации по проведению маршрутных и точечных учетов птиц, особенности учетов для разных групп птиц и в разные сезоны года [2–7]. При проведении работ руководствовались приказом «Об утверждении руководства по орнитологическому обеспечению полетов в гражданской авиации» [8]. Систематический порядок видов и латинские названия приведены по Е. А. Коблику и В. Ю. Архипову [9].

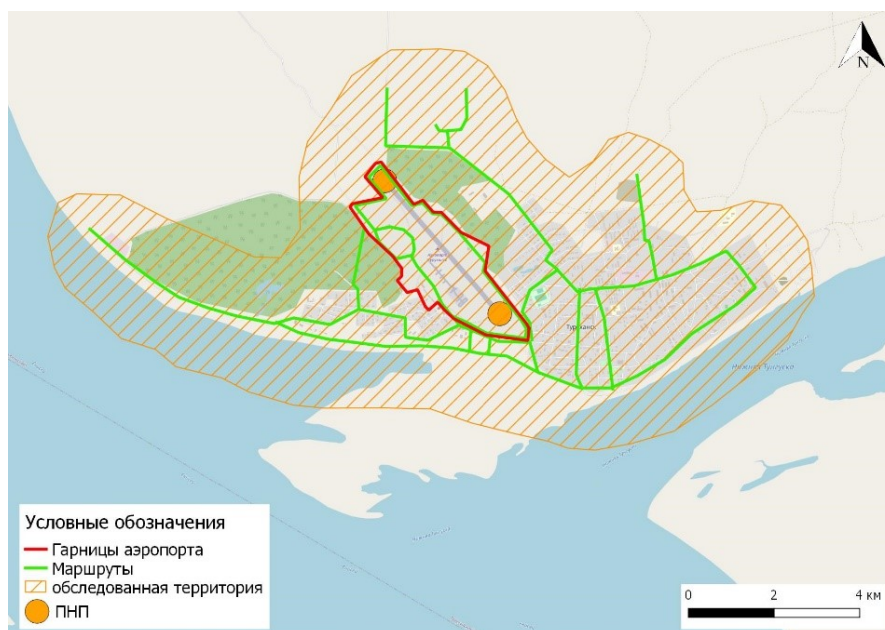


Рисунок 1 – Обследованная территория, расположение постоянных наблюдательных пунктов (ППП) и пеших маршрутов на аэродроме «Аэропорта Туруханск».

Результаты исследований. На аэродроме и прилегающей территории зарегистрировано 69 видов птиц из 7 отрядов и 23 семейств. На территории аэропорта отмечено из них 63 вида (таблица).

Таблица – Видовой состав птиц, зарегистрированных на аэродроме «Аэропорта Туруханск» и прилегающей территории

Таксономическая единица	Отмечался на территории аэродрома	Отмечался на прилегающей территории
Гуменник <i>Anser fabalis</i> *	+	+
Белолобый гусь <i>Anser albifrons</i> *	+	+

Таксономическая единица	Отмечался на территории аэродрома	Отмечался на прилегающей территории
Шилохвость <i>Anas acuta</i> *	+	+
Чирок-свиистунок <i>Anas crecca</i> *	+	+
Хохлатая чернеть <i>Aythya fuligula</i>	-	+
Дербник <i>Falco columbaris</i>	+	+
Черный коршун <i>Milvus migrans</i> *	+	+
Орлан-белохвост <i>Haliaeetus albicilla</i>	-	+
Полевой лунь <i>Circus cyaneus</i> *	+	-
Золотистая ржанка <i>Pluvialis arcticaria</i> *	+	-
Галстучник <i>Charadrius hiaticula</i> *	+	-
Малый зуек <i>Charadrius dubius</i> *	+	+
Бекас <i>Gallinago gallinago</i>	+	+
Кроншнеп <i>Numenius sp.</i>	+	-
Большой улит <i>Tringa nebulosa</i> *	+	+
Фифи <i>Tringa glareola</i>	+	+
Мородунка <i>Xenus cinereus</i> *	+	+
Кулик-воробей <i>Calidris minuta</i> *	+	+
Чернорзобик <i>Calidris alpina</i> *	+	-
Халей <i>Larus heuglini</i> *	+	+
Сизая чайка <i>Larus canus</i> *	+	+
Речная крачка <i>Sterna herundo</i>	-	+
Сизый голубь <i>Columba livia</i>	+	+
Болотная сова <i>Asio flammeus</i> *	+	+
Большой пестрый дятел <i>Dendrocopus major</i>	+	+
Рогатый жаворонок <i>Eremophila alpestris</i> *	+	+
Береговая ласточка <i>Riparia riparia</i>	+	+
Деревенская ласточка <i>Hirundo rustica</i>	+	+
Лесной конек <i>Anthus trivialis</i> *	+	+
Пятнистый конек <i>Anthus hodgsoni</i> *	+	+
Желтая трясогузка <i>Motacilla flava</i> *	+	+
Белая трясогузка <i>Motacilla alba</i> *	+	+
Свиристель <i>Bombycilla garrulus</i> *	+	+

Таксономическая единица	Отмечался на территории аэродрома	Отмечался на прилегающей территории
Оливковый дрозд <i>Turdus obscurus</i>	+	+
Чернозобый дрозд <i>Turdus atrigularis</i> *	+	+
Рябинник <i>Turdus pilaris</i> *	+	+
Белобровик <i>Turdus iliacus</i>	+	+
Пестрый дрозд <i>Zoothera dauma</i>	+	+
Обыкновенная горихвостка <i>Phoenicurus phoenicurus</i>	+	+
Варакушка <i>Luscinia svecica</i>	+	+
Синехвостка <i>Tarsiger cyanurus</i>	-	+
Черноголовый чекан <i>Saxicola torquata</i>	+	+
Обыкновенная каменка <i>Oenanthe oenanthe</i>	+	+
Серая мухоловка <i>Muscicapa striata</i>	+	+
Малая мухоловка <i>Ficedula parva</i>	+	+
Пеночка-весничка <i>Phylloscopus trochilus</i>	+	+
Пеночка-теньковка <i>Phylloscopus collybita</i>	+	+
Пеночка-таловка <i>Phylloscopus borealis</i>	-	+
Серая славка <i>Sylvia communis</i>	-	+
Желтоголовый королек <i>Regulus regulus</i>	-	+
Буроголовая гаичка <i>Parus montanus</i>	+	+
Обыкновенный поползень <i>Sitta europaea</i>	-	+
Сорока <i>Pica pica</i> *	+	+
Кедровка <i>Nucifraga caryocatactes</i> *	+	+
Черная ворона <i>Corvus corone</i> *	+	+
Серая ворона <i>Corvus cornix</i>	+	+
Ворон <i>Corvus corax</i>	+	+
Домовый воробей <i>Passer domesticus</i>	-	+
Полевой воробей <i>Passer montanus</i>	+	+
Зяблик <i>Fringilla coelebs</i>	+	+
Вьюрок <i>Fringilla montifringilla</i> *	+	+
Обыкновенная чечетка <i>Acanthis flammea</i>	+	+
Обыкновенная чечевица <i>Carpodacus erythrinus</i>	+	+
Красноухая овсянка <i>Emberiza cioides</i>	+	+

Таксономическая единица	Отмечался на территории аэродрома	Отмечался на прилегающей территории
Камышовая овсянка <i>Emberiza schoeniclus</i>	+	+
Полярная овсянка <i>Emberiza pallaris</i>	+	+
Овсянка-крошка <i>Emberiza pusilla</i>	+	+
Лапландский подорожник <i>Calcarius lapponicus</i>	+	+
Пуночка <i>Plectrophenax nivalis</i>	+	+

*самолетоопасные виды птиц

К самолетоопасным отнесены не только виды, представляющие непосредственную угрозу целостности летательных аппаратов из-за своих относительно крупных размеров. В этот список так же внесены виды мелких размеров, которые с в определенные периоды образуют скопления и тем самым создают определенные помехи самолетам (таблица).

В весенний период орнитологическая обстановка характеризовалась, как критическая – это наиболее сложная ситуация, согласно критериям использованной методики. Интенсивность перемещений птиц находилась в пределах от 44 до 235 кг/ч*км², в среднем составляла 112 кг/ч*км² (рис. 2). На юго-западном торце интенсивности перемещений птиц была выше, чем на северо-восточном, разница в 1,5 раза (рис. 2). В течение суток наибольшая интенсивность перемещений через ВПП отмечалась вечером на обоих торцах ВПП (рис. 3). Основной вклад в биомассу птиц, перемещающихся через ВПП, внесли: гуси (белолобый, гуменник), утки (шилохвость, чирок-свистунок), кулики (золотистая ржанка, чернозобик, галстучник, кулик-воробей и др.), мелкие воробынообразные (рогатые жаворонки, свиристели и др.).

В позднелетний период орнитологическая обстановка удовлетворительная, ближе к спокойной. Интенсивность перемещений птиц находилась в пределах от 0,2 до 13 кг/ч*км², в среднем составляла 7 кг/ч*км² (рис. 2). В течение суток наибольшая интенсивность перемещений через ВПП отмечалась в утренние и дневные часы на обоих торцах ВПП (рис. 3). Основной вклад в биомассу птиц, перемещающихся через ВПП, внесли вороны (черная ворона), кулики (галстучник), сизые голуби и мелкие воробынообразные (желтая трясогузка, белая трясогузка, черноголовый чекан), а также в отдельные дни – черный коршун.

Наиболее массовые суточные перемещения птиц отмечались для серой и черной ворон, в вечернее время. Наблюдалось массовое перемещение ворон со стороны свалки ТБО в центр и на окраину пос. Туруханск, в юго-восточном направлении. Через территорию аэропорта массовых суточных перемещений птиц не зарегистрировано.

Сезонные перемещения птиц представляют большую опасность для авиации. Даже одиночные особи видов крупного размера могут представлять серьезную угрозу [10,11]. Гуси и утки регистрировались как на территории аэродрома, так и пролетающие рядом. Около ВПП и на подлёте в весенний период отмечены пролетающие и отдыхающие небольшие стаи гусей до 5 особей. Зарегистрированы крупные стаи шилохвосты и чирков-трескунков, которые останавливались отдыхать на территории аэродрома.

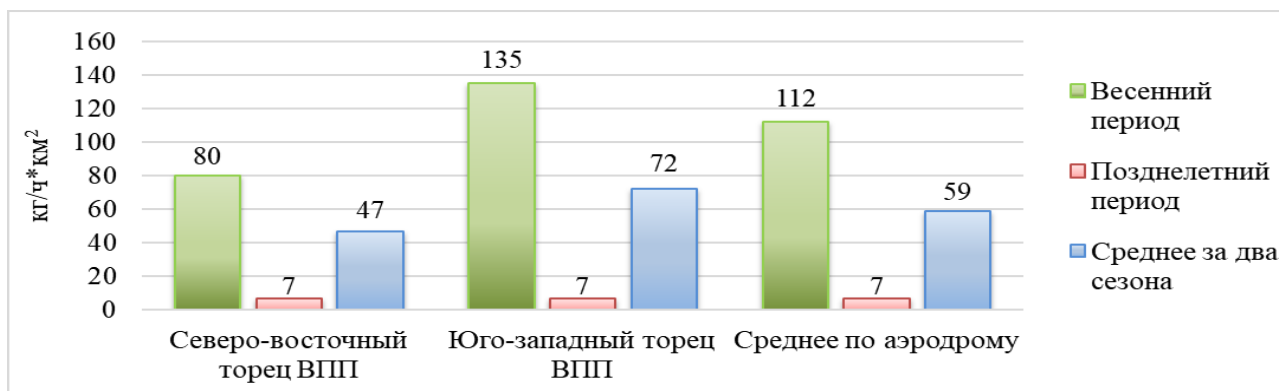


Рисунок 2 – Интенсивность перемещений птиц на разных торцах ВПП по сезонам, кг/час*км².

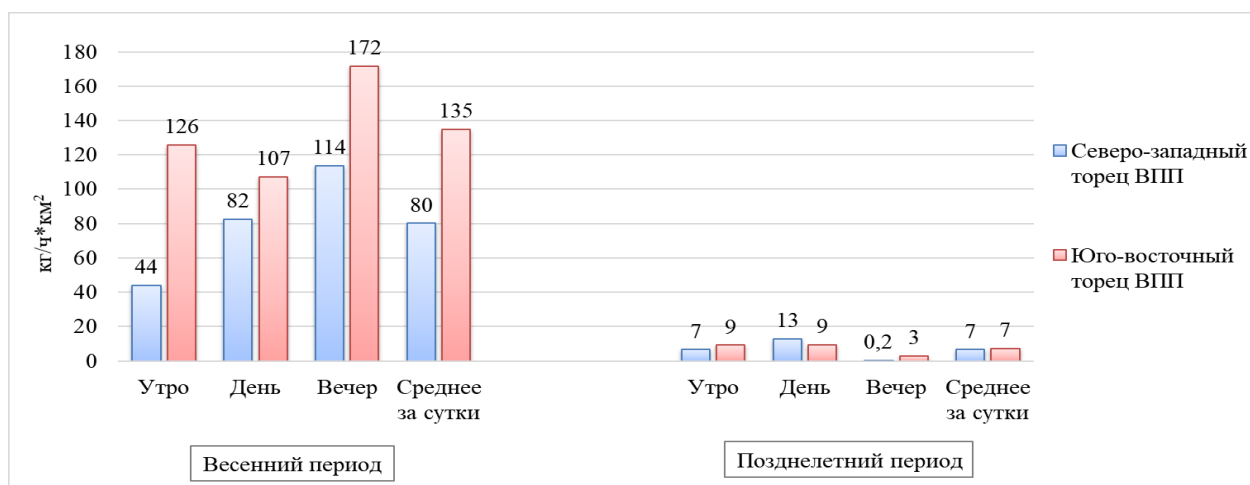


Рисунок 3 – Интенсивность перемещений птиц на разных торцах ВПП в разное время суток в весенний и позднелетний периоды, кг/час*км².

Среди мигрирующих куликов на территории аэропорта отмечены золотистые ржанки, смешанные стаи галстучников и малых зуйков, стайки мородунок, куликов-воробьев, чернозобиков. Из воробьинообразных птиц на территории аэропорта регистрировались стаи рогатых жаворонков и свиристелей. Наибольшие скопления гусей, уток и куликов отмечались в юго-восточной части аэропорта. Основное направление перемещения мигрирующих птиц вблизи аэродрома имело северо-западное направление. В позднелетний период массовых и интенсивных сезонных перемещений в конце июля на территории аэропорта не наблюдалось.

Выявлены условия, способствующие скоплению птиц на территории аэродрома: имеются участки, где скапливается талая вода и образуются временные водоемы; множество сырых участков, мелководий, луж и участков с нарушенным травяной покров; наличие кустарниковой и древесной растительности. Все перечисленные факторы, а также ситуация, когда аэродром является одним из немногих мест в округе с отсутствием снежного покрова весной – способствуют созданию оптимальных условий для привлечения разных групп птиц.

На прилегающей территории массовые скопления птиц отмечены на полигоне твердых бытовых отходов и в пойме р. Енисей.

Заключение. Весной орнитологическая обстановка характеризуется как критическая. В позднелетний период – удовлетворительная. Наибольшую опасность представляют гуси и утки,

кулики и чайки, а также крупные хищники. Критическая орнитологическая обстановка на аэродроме весной связана с массовой миграцией птиц и их остановкой на аэродроме. Основное направление перемещения мигрирующих птиц крупных и средних размеров весной – северо-западное. Отдельные мигрирующие стаи пролетают около аэродрома, останавливаются на его территории. Основные перемещения птиц на территории аэропорта не превышали 60 м. Совокупность факторов, которые способствуют созданию условий скопления птиц на аэродроме: временные водоемы из талых вод, множество сырых участков, луж, мелководий и участков с нарушенным травяной покровом, наличие зарослей кустарников и деревьев, весной это одно из немногих мест в округе с отсутствием снежного покрова.

Некоторые рекомендации. Нужно стремиться сформировать на территории аэродрома сплошной растительный покров с уровнем высоты около 40 см; для большинства отмеченных массовых видов птиц (гуси, утки, кулики, чайки и врановые) это является неблагоприятным фактором, снижается доступность кормов, ухудшаются обзор и возможность общаться (особенно в период миграций). Следует ликвидировать участки с нарушенным почвенно-растительным покровом. Необходимо улучшить дренажную систему для талых вод весной.

Библиографический список

1. Юдкин В.А., Грабовский М.А. Количественный метод оценки орнитологической обстановки на аэродроме // Научный Вестник МГТУ ГА, Том 21, № 04. – М. 2018. – С. 48–59.
2. Новиков Г.А. Полевые исследования по экологии наземных позвоночных. – М.: Сов. наука, 1953. – 503 с.
3. Благосклонов К.Н., Осмоловская В.И., Формозов А.Н. Учет численности воробьиных, дятловых и ракшеобразных птиц // Методы учета численности и географического распределения наземных позвоночных. – М., 1952. – С. 315–328.
4. Исаков А.Ю. Методы количественного учета водоплавающих птиц // Методы учета численности и географического распределения наземных позвоночных. М.: изд-во АН СССР, 1952. – С. 280–294.
5. Рогачева Э.В. Методы учета численности лесных воробьиных птиц // Организация и методы учета птиц и вредных грызунов. – М.: Изд-во АН СССР, 1963. – С. 117–129.
6. Гаврилов Э.И. Методика сбора и обработки материалов по количественной характеристике видимых миграций птиц // Методы изучения миграций птиц. – М.: Наука, 1977. – С. 96–117.
7. Кузякин А.П. Метод учета лесных птиц // География и экология наземных позвоночных Нечерноземья. Птицы. – Владимир, 1981. – С. 38–48.
8. Приказ Министерства Гражданской Авиации СССР от 26.12.1988 № 209 «Об утверждении Руководства по орнитологическому обеспечению полетов в гражданской авиации (РООП ГА-89)».
9. Коблик Е. А., Архипов В. Ю. Фауна птиц Северной Евразии в границах бывшего СССР. – М., 2014. – 171 с.
10. Рогачев А.И., Лебедев А.М. Орнитологическое обеспечение безопасности полетов. – М.: Спорт, 1984. – 126 с.
11. Якоби В.Э. Биологические основы предотвращения столкновений самолетов с птицами. – М.: Наука, 1974. – 166 с.

ВИДОВОЙ СОСТАВ ИХТИОФАУНЫ ПРИУСТЬЕВОГО УЧАСТКА РЕКИ ВОЛИМ В УСЛОВИЯХ АНТРОПОГЕННОГО ЗАСОЛЕНИЯ ВОД

Шадрина И.А.¹, Бакланов М.А.¹, Михеев П.Б.^{1,2}

¹ Пермский государственный национальный исследовательский университет, Пермь, Россия

² Хабаровский филиал ФГБНУ «ВНИРО», Хабаровск, Россия

Аннотация. Представлены данные по видовому составу ихтиофауны на двух участках реки Волим, подверженной техногенному засолению вод. В результате двухлетних наблюдений выявлено, что в весенне-летний период наблюдаются постоянные заходы ряда видов рыб на участок р. Волим с минерализацией воды свыше 10 г/л.

Ключевые слова: ихтиофауна, загрязнение вод, засоление

SPECIES COMPOSITION OF THE ICHTHYOFAUNA OF THE ESTUARY SECTION OF THE VOLIM RIVER IN CONDITIONS UNDER ANTHROPOGENIC SALINIZATION

Shadrina I.A.¹, Baklanov M.A.¹, Mikheev P.B.^{1,2}

¹ Perm State National Research University, Perm, Russia

² Khabarovsk Branch of the All-Russian Scientific Research Institute of Fisheries and Oceanography, Khabarovsk, Russia

Abstract. Data on fish species composition of two sections of the Volim River, exposed to man-made salinization of waters, are presented. As a result of two-year observations, it was revealed that in the spring and summer period, there are constant visits of a number of fish species to the lower reach of Volim River with water mineralization over 10 g/l.

Key words: ichthyofauna, water pollution, salinization

На территории Пермского края находится Верхнекамское месторождение калийно-магниевых солей, которое является одним из крупнейших в мире. Его разработка ведется уже десятки лет, что оказывает существенное влияние на окружающую среду. Наиболее ярко негативное влияние данной деятельности проявляется в засолении подземных и поверхностных вод [1-4]. Существенные преобразования водных сообществ отмечены в первую очередь для малых водотоков. В отношении ихтиофауны они выражаются в полном исчезновении рыб на участках с интенсивным засолением [5].

Однако, многолетние наблюдения показали, что при постепенном разбавлении загрязненных вод в низовьях малых рек вновь появляются отдельные виды рыб. Очевидно, они привлекаются сюда наличием кормовой базы, так как солеустойчивые виды бентосных организмов, при отсутствии конкуренции со стороны других гидробионтов, могут демонстрировать значительный рост численности и биомассы.

Модельным водотоком для изучения влияния засоления вод на ихтиофауну является р. Волим, расположенная в городском округе г. Березники. Это правый приток нижнего течения р. Яйвы. Длина реки составляет 12 км. Площадь водосбора 62 км².

Калийная промышленность располагается в среднем течении р. Волим и представлена двумя крупными предприятиями БКПРУ–3 ПАО «Уралкалий» и ООО "ЕвроХим–Усольский калийный комбинат" (ООО «ЕвроХим–УКК»). Работа комбината ЕвроХима началась только в 2018 г., до этого загрязнение реки происходило только от солеотвала БКПРУ–3. Общая минерализация вод р. Волим в среднем течении в разные годы и сезоны варьирует от 10 до 20 г/л. Наиболее высокие концентрации отмечены для Cl^- , SO_4^{2-} , K^+ , Mg^{2+} и Na^+ [2, 3].

Материалом для данной работы послужили наблюдения, проведенные в мае и июле 2022 и 2023 гг. в приустьевом участке р. Волим. Из-за подпора водами р. Яйвы здесь образуется приустьевой залив реки, в котором более плотные и холодные соленые воды движутся по дну, а сверху находятся пресные яйвинские воды. С помощью многопараметрического прибора AquaRead AP-2000, в каждый период обследования определялся участок нижнего течения р. Волим перед заливом, где имелись только соленые воды и участок в заливе, где слой пресных вод составлял не менее 1-1,5 м. На этих двух участках выставлялись одинаковые наборы ставных сетей сечением ячеи 8, 10, 12, 14, 16, 18, 20, 25, 30, 35, 40, 45, 50, 60 мм, которые выдерживались одинаковый промежуток времени. Таким образом сети выставлялись в условиях высокой солености русловой части нижнего течения реки и в прибрежной части залива, то есть в условиях высоко- и низко-минерализованных вод.

Общая минерализация вод на русловом участке с выраженным засолением в мае 2022 г. равнялась 7–7,5 г/л, а в мае 2023 г. – 10–11 г/л. В июле 2022 г. она составила 9–9,5 г/л, а в июле 2023 г. – 11–12 г/л. В заливе р. Волим в поверхностном слое во все периоды наблюдений минерализация вод варьировала от 300 до 500 мг/л, тогда как в придонном слое этот показатель зависел от глубины конкретного места и мог колебаться от 1 до 9 г/л, достигая максимальных значений в наиболее глубоких местах.

Число видов рыб в уловах на участке с засолением варьировало от 4 до 6, тогда как на участке со слоем пресной воды отмечено от 6 до 14 видов. За исключением данных за июль 2022 г. во всех остальных случаях число видов в пресной воде в два раза превышало видовое разнообразие рыб на соленом участке (рисунок 1).



Рисунок 1 – Число видов рыб на обследованных участках р. Волим в 2022 и 2023 гг.

За два года наблюдений в уловах в опресненном заливе р. Волим отмечены: уклейка, плотва, елец, окунь, ерш, лещ, чехонь, голавль, щука, судак, серебряный карась, синец, язь. Из

них на соленом участке реки выявлено присутствие лишь 7 видов: уклейка, плотва, елец, окунь, ерш, голавль, язь. На обоих участках единичными особями встречены гибриды плотвы с другими представителями карповых. Сравнимые участки существенно отличались не только по числу видов, но и по численности рыб – в условиях засоления суммарное количество рыб в отдельных уловах было от 1,6 до 5 раз ниже, чем на опресненном участке.

В 2022 г. видовая структура уловов на обоих участках была относительно стабильной. На пресном участке как в мае, так и в июле преобладали плотва, уклейка и елец. В соленой воде в оба периода наблюдений более 60% уловов составлял елец, а субдоминантом была уклейка.

В 2023 г. в уловах на пресном участке преобладала плотва, на втором месте по численности в мае оказался ерш, а в июле – окунь; на третьем месте как в мае, так и в июле была уклейка. На соленом участке преобладание ельца было выражено только в майской пробе и, в отличие от уловов за 2022 г., как весной, так и летом в уловах отсутствовала уклейка. В майской пробе относительно высокой численностью обладали ерш и окунь, а в июльской окунь и плотва оказались преобладающими в уловах.

Во всех четырех уловах на соленом участке присутствовали два вида – елец и обыкновенный ерш. По литературным источникам оба вида рассматриваются как типично пресноводные рыбы, способные обитать в солоновато водных условиях речных эстуариев [6, 7].

Рассчитанные значения индекса Шеннона оказались низкими для обоих сравниваемых участков, что указывает на отсутствие выравнивания численности отдельных видов рыб. Так в 2022 г. на пресном участке данный показатель равнялся 1,44 бит/экз. в мае и 1,02 бит/экз. в июле; на соленом участке – 0,76 и 0,65 бит/экз., соответственно. В 2023 г. значения индекса Шеннона на первом участке составили 1,83 бит/экз. в мае и 1,49 бит/экз. в июне; на втором – 0,96 и 1,54 бит/экз., соответственно. Таким образом, на обследованных в 2022 и 2023 гг. участках р. Волим по численности преобладают единичные виды рыб. На участке с выраженным засолением в большинстве случаев преобладающим видом был елец, а с появлением пресных вод в уловах начинает доминировать плотва.

Выводы:

1. В результате проведенных наблюдений выявлено, что в весенне-летний период наблюдаются постоянные заходы ряда видов рыб на участок р. Волим с минерализацией воды свыше 10 г/л.
2. Во всех уловах на соленом участке присутствовали два вида – елец и обыкновенный ерш.
3. Виды, отмеченные в условно пресноводном участке приустьевого залива р. Волим, очевидно, также могут временно заходить в солоноватые воды в поисках кормовых объектов.
4. Рассчитанные значения индекса Шеннона оказались низкими для обоих сравниваемых участков, что связано с преобладанием по численности единичных видов рыб.

Библиографический список

1. Кудряшов А.И. Верхнекамское месторождение солей. Пермь: ГИ УрО РАН, 2001. 429 с.
2. Максимович Н.Г., Хайрулина Е.А., Хмурчик В.Т., Макурова А.Д. Формирование загрязнения поверхностных вод в районе разработки месторождения калийных солей //

Химический состав и качество воды. Геоэкология и водная экология. ПГНИУ. – Пермь. 2015. – С. 120–123.

3. Хайрулина Е.А., Максимович Н.Г. Влияние шламохранилища с солесодержащими отходами на приповерхностную гидросферу // Сергеевские чтения. Геоэкологическая безопасность разработки месторождений полезных ископаемых. РУДН. – Москва. 2017. – С. 429–433.
4. Экологическая безопасность освоения месторождений полезных ископаемых: Монография / Е. А. Хайрулина, Е. А. Меньшикова, П. А. Белкин [и др.]; Под общей ред/ Е.А. Хайрулиной. – Пермь: ПГНИУ, 2022. – 175 с. EDN GNACSV.
5. Baklanov M.A., Pozdeev I.V., Kotelnikova V.S., Ogorodov S.P., Bezmaternykh V.V. Assessment of Anthropogenic Salinisation Impact on the Benthic Invertebrates and Fish in a Small River – a Tributary of the Kama Reservoir // IOP Conference Series: Earth and Environmental Science. – 321 (2019) 012060. DOI: 10.1088/1755-1315/321/1/012060.
6. Maitland P.S. Hamlyn Guide to Freshwater Fishes of Britain and Europe. Octopus Publishing Group. 2000. 124 p.
7. Riede K. Global register of migratory species – from global to regional scales. Final Report of the R&D-Projekt 808 05 081. Federal Agency for Nature Conservation, Bonn, Germany. 2004. 329 p.

ИЗУЧЕНИЕ КОГНИТИВНОЙ ДЕЯТЕЛЬНОСТИ СОБАК МЕТОДОМ ТЕСТИРОВАНИЯ ПО С. КОРЕНУ

Ямандий М.М., Коротаева С.Э.

Пермский государственный национальный исследовательский университет, Пермь, Россия

Аннотация. Знание когнитивных особенностей пород собак и понимание влияния дрессировки на их уровень играют ключевую роль при выращивании и воспитании собак, позволяют оптимизировать управление питомцем, облегчают взаимодействие собаки и человека.

Ключевые слова: когнитивные способности, интеллект, группы пород, дрессировка

STUDYING THE COGNITIVE ACTIVITY OF DOGS USING THE TESTING METHOD ACCORDING TO S. KOREN

Yamandiy M.M., Korotaeva S.E.

Perm State National Research University, Perm, Russia

Abstract. Knowledge of the cognitive characteristics of dog breeds and understanding the influence of training on their level play a key role in raising and educating dogs, allowing to optimize the management of your pet, and facilitate the interaction between the dog and person.

Key words: cognitive ability, intelligence, breed groups, training

Введение

С момента приручения собак (10–15 тыс. лет назад), и до настоящего времени их роль практически не изменилась. Собаки по-прежнему имеют значение для людей, участвуя в различных аспектах их деятельности [1, 2]. При этом для достижения успеха важны когнитивные способности. Наиболее эффективно они проявляются в познавательном научении, основой которого является самостоятельное моделирование поведения на основе воздействия внешних стимулов, сочетание разных реакций в новую для достижения цели в незнакомых условиях, проведение анализа информации о ситуации [3, 4, 5].

С. Корен (1994), изучавший когнитивные способности собак, признавал наличие интеллекта и выделял у собак три его формы. Инстинктивный интеллект объединяет все виды деятельности собаки, заложенные в генетической программе, включая поведение, присущее конкретным породам [2]. Адаптивный интеллект позволяет самостоятельно находить способы применения знаний к конкретным ситуациям и приспосабливаться к условиям среды. Рабочий интеллект выражается в выполнении команд под руководством лидера с учётом его интересов. Способность к обучению заложена генетически, но реализуется постепенно, в результате накопления индивидуального опыта [5], поэтому у разных собак результат может варьировать. Дрессировка является одним из способов реализации способности к обучению, где собака использует когнитивные способности для понимания и решения поставленных перед ней задач [9].

Материал и методы исследования

Для оценки интеллекта собак С. Корен (1994) создал тест из 6 игровых заданий, проверяющих все виды интеллекта. Для исследования оригинальный тест был уменьшен до 5 заданий с сохранением принципа проверки видов интеллекта (табл. 1). В исходном варианте теста баллы за задание (от 1 до 5 баллов) выставались только в зависимости от времени выполнения. Реальная ситуация потребовала разработки таблицы штрафов за помощь владельцев своему питомцу. В систему оценивания введена оценка «0» для объективизации итогового результата, если собака превышала контрольное время для задания или отказывалась его выполнять. Возможный максимум итогового результата – 25 баллов.

Таблица 1 – Описание заданий тестирования

№ задания	Название задания	Краткое описание	Тип интеллекта
1	Быстрота достижения цели	Собака достаёт лакомство из-под пластикового стаканчика	Адаптивный (преимущественно), инстинктивный
2	Воля к свободе	Собака освобождается от полотенца на голове	Инстинктивный
3	Упорство и изобретательность	Собака достаёт лакомство из-под тканевой салфетки	Адаптивный (преимущественно), инстинктивный
4	Проверка сообразительности	Собака достаёт лакомство из-под небольшой табуретки с разными отверстиями	Адаптивный (преимущественно), инстинктивный
5	Понимание интонаций	Собака подходит к хозяину по подзыву на незнакомые ей слова	Рабочий

Для выполнения одного и того же задания использовалось однотипное оборудование разного размера (стаканы, салфетки) в силу различий в комплекции собак. В качестве необычного предмета в задании 4 применялся небольшой складной табурет с отверстиями разного размера. Тестирования проводились на локациях с разными условиями. Обязательными условиями теста был возраст собак более 6 месяцев и проживание с владельцем более 2 месяцев.

В исследовании участвовало 85 собак 34 пород. Генеральная выборка разделена двумя способами. Выделено 3 группы по функциональному назначению пород и 2 группы по наличию или отсутствию дрессировки. Результаты тестирования не подчиняются закону нормального распределения в соответствии с тестом Шапиро-Уилка ($p < 0,05$). Для оценки достоверности разницы результатов были применены непараметрические критерии Краскела-Уоллиса и Манна-Уитни с использованием программы Past.

Результаты и обсуждение

Поведение собак разных пород различно, что связано с целями их создания человеком [6]. Когнитивные способности собак оценивались в зависимости от принадлежности к функциональной группе пород и от наличия дрессировки.

Существует 3 функциональные группы пород, традиционно выделяемых в кинологии: служебные, охотничьи и ездовые, а также декоративные собаки [7]. Служебные породы предназначены для выполнения практических задач в профессиональной деятельности людей и требуют выраженной обучаемости и подчинения хозяину [6, 8]. Охотничьи и ездовые породы – созданы для охоты и передвижения. Они выносливы, имеют сильно развитый охотничий инстинкт, что обеспечивает самостоятельность принятия решений и хорошую обучаемость для применения при охоте [8, 10]. Декоративные породы – разнообразные собаки, которые выполняют эстетическую роль, поэтому хозяева этих собак относятся к ним бережно и даже по-родительски, что приводит к большей ориентации на хозяина и утрате самостоятельности [8, 11].

На первом этапе исследования проверялся уровень когнитивной деятельности функциональных групп пород. Среднее значение баллового показателя в выборке охотничьих и ездовых собак составило $19,5 \pm 0,7$ балла ($n=25$), у служебных собак – $19,4 \pm 0,6$ балла ($n=33$), у декоративных собак – $18,3 \pm 0,6$ балла ($n=24$). Статистический анализ не выявил достоверной разницы между всеми группами ($p > 0,05$).

Поскольку разные задания проверяют разные виды интеллекта, то для выявления когнитивных особенностей разных групп пород проведена дифференцированная оценка успешности по отдельным заданиям. В заданиях № 1, 2, 4 и 5 достоверной разницы между балловыми результатами групп пород не выявлено ($p > 0,05$). При сравнении результатов в задании № 3, проверяющем адаптивный и инстинктивный интеллект, собаки охотничьих и ездовых пород заработали $3,8 \pm 0,3$ балла, служебные собаки получили $3,2 \pm 0,2$ балла, декоративные породы заработали $2,7 \pm 0,4$ балла. Достоверные отличия выявлены между охотничье-ездовыми и декоративными собаками (рис. 1).

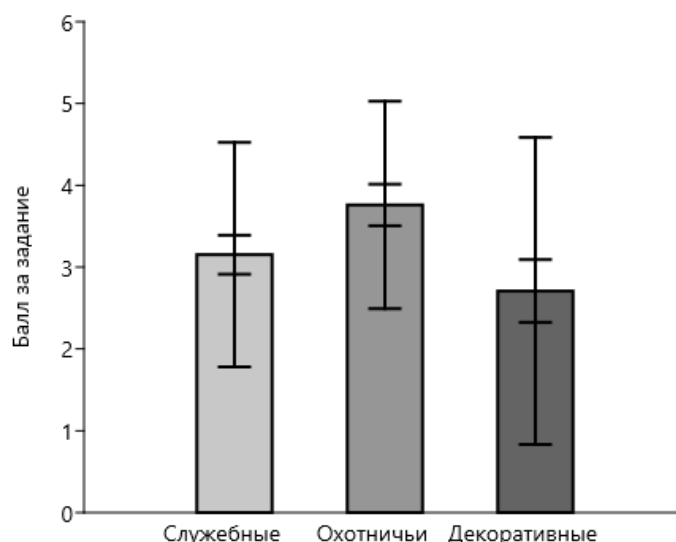


Рисунок 1 – Значения балловых показателей групп пород для задания № 3 с интервалами ошибок среднего и стандартными отклонениями.

На втором этапе анализа полученных при тестировании данных проведена оценка когнитивных способностей собак с наличием и отсутствием дрессировки. По средним итоговым значениям тестирования дрессированных ($n=49$) и недрессированных собак ($n=36$) достоверных отличий не выявлено ($19,1 \pm 0,5$ и $19,0 \pm 0,5$ баллов соответственно; $p > 0,05$).

При дифференцированной оценке интеллекта собак разного уровня дрессировки в заданиях № 2, 3, и 4 достоверно отличающихся результатов не обнаружено ($p > 0,05$). Достоверные отличия успешности для выделенных групп выявлены в заданиях № 1, проверяющем адаптивный (преимущественно) и инстинктивный интеллект, и № 5, оценивающим рабочий интеллект. В задании № 1 дрессированные собаки набрали $3,5 \pm 0,2$ балла, а недрессированные – $2,8 \pm 0,3$ балла (рис. 2). Дрессированные собаки проявили большую целеустремленность.

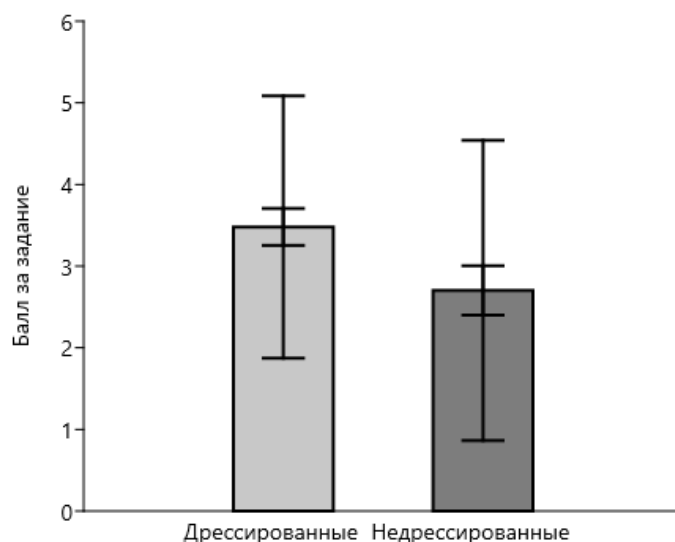


Рисунок 2 – Значения балловых показателей дрессированных и недрессированных собак для задания № 1 с интервалами средних ошибок и стандартным отклонением.

В задании № 5 дрессированные собаки заработали $3,3 \pm 0,2$ балла, недрессированные собаки получили $4,0 \pm 0,2$ балла (рис. 3). Результат может быть связан со стремлением дрессированных собак понять смысл произнесённых хозяином слов, и реакцией недрессированных собак исключительно на интонацию.

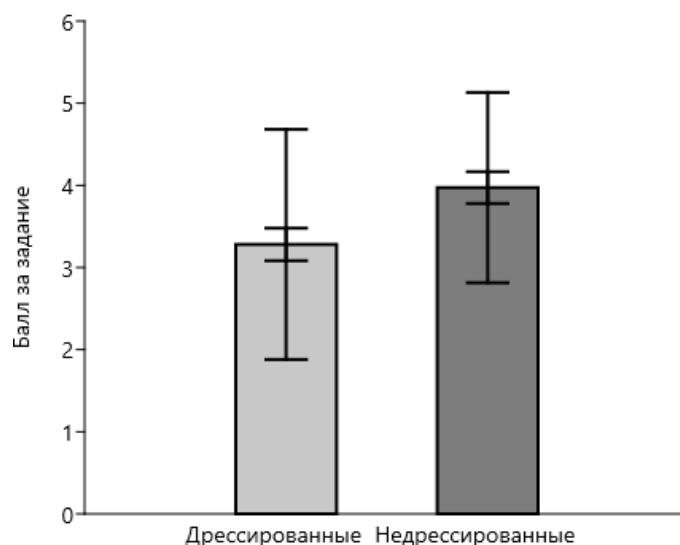


Рисунок 3 – Значения балловых показателей дрессированных и недрессированных собак для задания № 5 с интервалами средних ошибок и стандартными отклонениями.

Закключение

Тест С. Корена является доступным средством для проверки когнитивных способностей собак с использованием таких параметров рассудочной деятельности как экстраполяция и социальное сознание. В конкретных условиях проверки установлено, что при оценке упражнения, кроме времени выполнения, необходим учет дополнительных факторов, штрафы за которые учитывают специфические действия собаки и владельца. Для полноценной проверки форм интеллекта необходимо введение дополнительных заданий, которые изолированно проверяют отдельные формы интеллекта. В ходе исследования установлено, что охотничье-ездовые породы собак проявляют достоверно большее упорство и способности анализировать информацию для достижения цели по сравнению с декоративными породами, что согласуется с логикой использования этих пород. Обнаружено, что дрессированные собаки лучше остальных справляются с задачами, требующими самостоятельности, упорства, интегрирования информации в правильный ход действий, а при выполнении команд хозяина учитывают смысловую нагрузку слов. Полученные результаты помогут более эффективно развивать способности собак в практической деятельности и правильно формировать взаимодействие с хозяином.

Библиографический список

1. Гиниятов Ю.Р., Чемерис Д.А., Яхин О.И., Гарафутдинов Р.Р., Чемерис А.В. Прасобаки, собаки и их будущее // *Biomics*, 2021. Т. 13, №3. С. 288-297.
2. Coren S. *The Intelligence of Dogs*. NewYork: FreePress, 1994. 336 p.
3. Корнилова Е.А., Родимова Е.В., Тихонова Т.В. Этология как основа методологии обучения и дрессировки собак // *Становление системы технического обеспечения в войсках национальной гвардии Российской Федерации во взаимодействии с другими видами обеспечения: межвузовский сборник научно-практических материалов*. Пермь: ФГКВОУ ВО "Пермский военный институт войск национальной гвардии Российской Федерации", 2020. С. 264-269.
4. Гриценко В.В. *Послушание собаки*. М.: Вече, 2007. 272 с.
5. Крушинский Л.В. *Биологические основы рассудочной деятельности*. 2-е изд. М.: Изд-во МГУ, 1986. 270 с.
6. Целлариус А.Ю. *Собака. Полное руководство по дрессировке и уходу*. М.: АСТ, 2022. 550 с.
7. Номенклатура пород, признанных FCI и РКФ, с классификацией по размерам. URL: <https://info.rkf.online/cat/487/art/611/prilozhenie--1-nomenklatura-porod-priznannykh-fci-i-rkf-s-klassifikatsiei-po-razmeram> (дата обращения: 22.04.2024).
8. Першина А.А. Характеристика пород собак по типам высшей нервной деятельности // *Студенческая наука – взгляд в будущее*. Красноярск: Красноярский государственный аграрный университет, 2022. С. 451-464.
9. Ковриженко И.Н., Козлов Н.И. *Выращивание и дрессировка собак*. Киев: Госиздат Сельхозлит УССР, 1956. 186 с.
10. Михайлова С.А., Бакай Ф.Р. Особенности использования собак охотничьих пород в условиях города // *Актуальные проблемы ветеринарной медицины, товароведения и экспертизы сырья и продуктов животного и растительного происхождения, зоотехнии и биотехнологии: материалы X научно-практической конференции в рамках XII*

Всероссийского фестиваля науки: сборник научных трудов студентов и молодых ученых. М.: ФГБОУ ВО «Московская государственная академия ветеринарной медицины и биотехнологии - МВА имени К.И. Скрябина», 2022. С. 227-229.

11. Topál J., Miklósi Á., Csányi V. Dog-Human Relationship Affects Problem Solving Behavior in the Dog // A multidisciplinary journal of the interactions of people and animals, 2015. V. 10, №4. P. 214-224.

ЭКОФИЗИОЛОГИЯ РАСТЕНИЙ И ЭКОЛОГИЯ ПОЧВ

ВЛИЯНИЕ ПОЛИАМИНОВ НА КОНЬЮГАЦИЮ БАКТЕРИЙ

Гельцер Д.В., Нестерова Л.Ю., Ткаченко А.Г.

*Пермский государственный национальный исследовательский университет, Пермь, Россия
Институт экологии и генетики микроорганизмов УрО РАН – филиал ПФИЦ УрО РАН*

Аннотация. В данной работе представлены результаты оценки влияния биогенных полиаминов путресцина, кадаверина, спермидина и спермина на конъюгацию *Escherichia coli*. В ходе исследования было выявлено разнонаправленное влияние полиаминов на частоту конъюгации в планктонной культуре и биоплёнке. Добавка полиаминов приводила к снижению частоты конъюгации в планктонной культуре, при этом наибольший эффект демонстрировали спермидин и спермин. Все исследуемые полиамины значительно увеличивали относительное количество трансконъюгантов в биопленке.

Ключевые слова: конъюгация, биогенные полиамины, плазмиды, биопленка

EFFECT OF POLYAMINES ON BACTERIAL CONJUGATION

Geltser D.V., Nesterova L.Y., Tkachenko A.G.

*Perm State National Research University, Perm, Russia
Institute of Ecology and Genetics of Microorganisms, Ural Branch of the Russian Academy of Sciences - branch of the PFRC, Ural Branch of the Russian Academy of Sciences, Perm, Russia*

Annotation. This paper presents the results of assessing the influence of the biogenic polyamines putrescine, cadaverine, spermidine and spermine on the conjugation of *Escherichia coli*. The study revealed the multidirectional influence of polyamines on the frequency of conjugation in planktonic culture and biofilm. The addition of polyamines led to a decrease in the frequency of conjugation in planktonic culture, with spermidine and spermine demonstrating the greatest effect. All polyamines tested significantly increased the relative amount of transconjugants in the biofilm.

Key words: conjugation, biogenic polyamines, plasmids, biofilms

Полиамины — эволюционно древние биомолекулы, которые унаследованы современными формами жизни от общих предков и присутствуют у всех живых организмов от вирусов и бактерий до человека. Биогенные полиамины представляют собой алифатические углеводороды, состоящие из 4-10 углеродных атомов, которые содержат от 2 до 4 амино- или иминогрупп. В клетках при физиологических значениях pH полиамины заряжены положительно и являются основными биогенными поликатионами, способными электростатически взаимодействовать с отрицательно заряженными биополимерами, такими как нуклеиновые кислоты (ДНК, РНК), элементы мембран (фосфолипиды) и другими клеточными компонентами [1,2]. В эукариотических клетках в больших количествах синтезируются спермин и спермидин, а также в небольших количествах образуется путресцин. Бактериальные клетки преимущественно содержат путресцин, кадаверин и в меньшем количестве спермидин. Небольшое число бактериальных видов обладает способностью к

синтезу спермина и других полиаминов [3,4]. Клетки бактерий имеют специализированные транспортные системы, посредством которых полиамины могут поступать из окружающей среды. Биогенные полиамины в живых клетках принимают участие в регуляции таких жизненно важных процессов, как клеточный рост, пролиферация, дифференцировка, апоптоз и генная экспрессия. Кроме того, поликатионы способны стабилизировать клеточные структуры – мембраны клеток и митохондрий, рибосомы, а также защищать клетки от продуктов перекисного окисления липидов и свободных радикалов [5]. В клетках прокариот полиамины участвуют в адаптации к стрессовым воздействиям, благодаря регуляции экспрессии адаптивных генов и проницаемости мембран. Установлено влияние этих соединений на рост клеток и биоплёнокообразование у микроорганизмов [6]. Ранее показано, что полиамины могут влиять на межклеточные взаимодействия у бактерий, например, работу систем кворум сенсинг (QS) [7].

Известно, что бактерии способны к горизонтальному переносу генов (ГПГ) при котором чужеродная ДНК доставляется и интегрируется в геноме принимающей клетки [8]. Одним из основных механизмов ГПГ является конъюгация – процесс, при котором происходит однонаправленная передача ДНК клетки донора в реципиентную клетку при их непосредственном контакте за счёт функции плазмиды фертильности (F-плазмиды), расположенной в донорской клетке (F^+) [9]. Таким образом, конъюгация представляет собой некое подобие полового процесса, в котором «мужская» особь (F^+), обладающая F-плазмидой, осуществляет однонаправленный частичный или полный перенос копии собственного генома в «женскую» клетку-реципиент (F^-). Межклеточные контакты при конъюгации у грамотрицательных бактерий формируются за счёт половых ворсинок – F-пилей [10]. Конъюгация является одним из способов распространения в бактериальной популяции генов, в том числе обеспечивающих антибиотикорезистентность бактерий [11]. Горизонтальный перенос генов возможен как между бактериями в планктонной культуре, так и клетками в составе биопленки, которые имеют повышенную устойчивость к действию различных неблагоприятных факторов [12].

Цель: Изучить влияние биогенных полиаминов на конъюгацию *Escherichia coli*.

Материалы и методы. Эксперименты по изучению конъюгации проводили на питательной среде LB-бульон («Amresco», США). В качестве донора плазмидной ДНК использовали штамм *E. coli* N4i pOX38 GenrCmr (любезно предоставлен Марьянцей Старич-Эрьявец из Люблянского университета, Словения) с хромосомно-опосредованной устойчивостью к гентамицину (Gen) и плазмид-опосредованной устойчивостью к хлорамфениколу (Cm). В качестве реципиента использовали лабораторный штамм *E. coli* BW (из коллекции лаборатории адаптации микроорганизмов ИЭГМ УрО РАН) и природный штамм *E. coli* K55 (любезно предоставлен профессором Мариной Валентиновной Кузнецовой ИЭГМ УрО РАН). Оба штамма реципиента устойчивы к ампициллину (Amp).

Ночную культуру штамма-реципиента разводили 50-кратно, культуру штамма-донора 25-кратно средой LB. Штаммы дополнительно инкубировали 1 час при 37°C. Конъюгативную смесь формировали из культур реципиента и донора в соотношении 4:1. Затем разливали по 100 мкл в лунки 96-луночного полистиролового плоскодонного планшета (МиниМед, Россия). К конъюгативной смеси добавляли по 100 мкл растворов гидрохлоридов полиаминов путресцина, кадаверина, спермидина, спермина (Sigma, США) в LB-бульоне до конечной концентрации 1 mM и 5 mM. После инкубации при 37°C в течение 3 ч. при использовании в качестве реципиента *E. coli* BW или 6 ч. для *E. coli* K55 делали высевы десятикратных

разведений культуры на селективные агаризованные среды (LB-агар («Sigma», США)), содержащие антибиотики.

Для оценки количества трансконъюгантов в биопленке, лунки планшета двукратно отмывали стерильным физиологическим раствором, затем вносили в лунки по 100 мкл физраствора и подвергали действию ультразвука с помощью ультразвуковой ванны S40 (Elmasonic, Германия) в течение 5 циклов по 1 минуте. Полученную суспензию бактерий разводили десятикратно и высевали на чашки с селективной агаризованной средой содержащей антибиотики. Клетки реципиентов отбирали на среде с Amp (50 мкг/мл), трансконъюгантов – с Cm (50 мкг/мл) и Amp (50 мкг/мл). Для оценки числа клеток в планктоне и биоплёнке подсчитывали число колониеобразующих единиц (КОЕ/мл).

Частоту конъюгации рассчитывали, как отношение количества трансконъюгантов (КОЕ/мл) к числу реципиентов (КОЕ/мл) и выражали в процентах, принимая за 100% контроль (без добавления полиаминов).

Для статистического анализа использовали данные трёх независимых экспериментов. Каждый эксперимент проводился в двух повторностях.

Статистический анализ проводили с использованием программы Microsoft Excel 2010. Различия с контрольной группой считали достоверными при значении $P \leq 0,05$.

Результаты и выводы. Показано, что добавка полиаминов в среду приводила к снижению частоты конъюгации. При использовании для формирования конъюгативной смеси в качестве реципиента лабораторного штамма *E. coli* BW наибольшее действие оказывали спермидин и спермин, которые в концентрации 1 мМ снижали относительное количество трансконъюгантов на 38 % и 39 %, а в концентрации 5 мМ на 28 % и 92 %, соответственно. Путресцин и кадаверин значительного влияния на частоту конъюгации в этом случае не оказывали.

При использовании в качестве реципиента природного штамма *E. coli* K55 внесение в среду полиаминов также сопровождалось снижением частоты конъюгации. При этом наибольший эффект оказывали спермидин и спермин, которые в концентрации 1мМ уменьшали относительное количество трансконъюгантов на 51 % и 61 %, соответственно. При увеличении концентрации спермидина и спермина до 5 мМ наблюдалось снижение количества трансконъюгантов на 65 % и 81 %, соответственно. Путресцин и кадаверин также заметно снижали частоту конъюгации в планктоне (Таблица).

Таблица – Влияние полиаминов на частоту конъюгации *E. coli*

Концентрация ПА	Частота конъюгации, %	
	планктон	биоплёнка
Контроль (без полиаминов)	100 (13,4)	100 (10,2)
Путресцин, 1 мМ	66,7 (15,7)*	223,7 (23,3)*
Путресцин, 5 мМ	69,1 (2,2)	284,5(65,5)
Кадаверин, 1 мМ	54,8 (6,5)*	256,1 (24,3)*
Кадаверин, 5 мМ	68,1 (8,3)*	400,8 (76,3)*
Спермидин, 1 мМ	49,0 (3,9)*	375,1 (67,3)*
Спермидин, 5 мМ	35,4 (13,7)*	236,4 (92,3)
Спермин, 1 мМ	38,5 (3,7)*	236,8 (21,0)*
Спермин, 5 мМ	19,0 (2,5)*	216,4 (36,6)*

*- статистически значимое отличие от контроля ($P \leq 0,05$).

При изучении влияния полиаминов на частоту конъюгации в биоплёнке с использованием в качестве реципиента природного штамма *E. coli* K55 наблюдалось значительное увеличение относительного количества трансконъюгантов. Наибольший эффект в этом случае оказывали спермидин в концентрации 1 мМ и кадаверин в концентрации 5 мМ, которые повышали относительное количество трансконъюгантов в биопленке более, чем в 3 раза.

Хотя механизмы влияния полиаминов на конъюгацию остаются не известными, можно предположить, что полиамины могут оказывать влияние на экспрессию генов, которые участвуют в конъюгации. Кроме того, ранее показано, что под действием полиаминов меняется поверхностный заряд клеток [13], что также может воздействовать на частоту формирования межклеточных контактов.

Обращает на себя внимание разнонаправленное действие полиаминов на частоту конъюгации в планктонной культуре и биопленке. Причины этого явления не ясны, однако, ранее показано, что в присутствии полиаминов возрастает биопленкообразование и стабильность сформированных биопленок *E. coli*. [14]. Возможно, одной из причин большого количества трансконъюгантов в биопленке является повышенное биопленкообразование и увеличенная стабильность биопленок в присутствии биогенных полиаминов. В то же время нельзя исключить влияние полиаминов на генную экспрессию клеток в биопленке. Данный вопрос нуждается в дальнейшем изучении.

Работа выполнена при финансовой поддержке Министерства науки и высшего образования Российской Федерации (124020500028-4).

Библиографический список

1. Tabor C.W. Polyamines in Microorganisms / C.W. Tabor, H. Tabor // Rev. Microbiol. – 1985. – Vol. 49. – No 1. – P. 81–99.
2. Yoshida M. A Unifying Model for the Role of Polyamines in Bacterial Cell Growth, the Polyamine Modulon / M. Yoshida, K. Kashiwagi, A. Shigemasa, S. Taniguchi, K. Yamamoto, H. Makinoshima, A. Ishihama, K. Igarashi, // J. Biol. Chem. – 2004. – Vol. 279. –No 44. – P. 46008–46013.
3. Michael A.J. // J. Biol. Chem. – 2016. – V. 291. – № 29. – P. 14896–14903
4. Herbst E.J., Weaver R.H., Keister D.L. // Arch. Biochem. Biophys. – 1958. – V. 75. – № 1. – P. 171–177.
5. Березов, Т. Т. Полиамины: их роль в норме и при патологии центральной нервной системы / Т. Т. Березов, М. Г. Маклецова, Т. Н. Федорова // Анналы клинической и экспериментальной неврологии. – 2012. – Т. 6, № 2. – С. 38-42.
6. Michael A.J. Polyamine function in archaea and bacteria // J. Biol. Chem. – 2018. – V. 293. – № 48. – P. 18693-18701.
7. Нестерова Л.Ю., Негорелова Е.В., Ткаченко А.Г. Биогенные полиамины как модуляторы активности Quorum sensing системы и биоплёнкообразования *Vibrio harveyi* // Вестн. Перм. Ун-та. – 2019. – №3. С. 300-308.
8. Thomas CM, Nielsen KM. Mechanisms of, and barriers to, horizontal gene transfer between bacteria // Nat. Rev. Microbiol. – 2005. – V. 3. – № 9. – P. 711-21.
9. Pison B, Pia Esposito E, Fichtman B, et al. The Effect of Outer Space and Other Environmental Cues on Bacterial Conjugation // Microbiol. Spectr. – 2023. – V.11. – №3.

10. Giebelhaus LA, Frost L, Lanka E, et al. The Tra2 core of the IncP(alpha) plasmid RP4 is required for intergeneric mating between *Escherichia coli* and *Streptomyces lividans* // J. Bacteriol. – 1996. – V. 178. – № 21. – P. 6378 – 6381.
11. Johnsborg O, Eldholm V, Havarstein LS. Natural genetic transformation: prevalence, mechanisms and function // Res. Microbiol. – 2007. – V. 158. – № 10. – P. 767 – 778.
12. Sørensen SJ, Bailey M, Hansen LH, Kroer N, Wuertz S. Studying plasmid horizontal transfer in situ: a critical review // Nat. Rev. Microbiol. – 2005. – V. 3. – № 9. – P. 700-10.
13. Нестерова, Л.Ю. Влияние биогенных полиаминов на антибиотикочувствительность и поверхностные свойства клеток *Micobacterium smegmatis* / Цыганов, И.В. Ткаченко, А.Г // Прикладная биохимия и микробиология. – 2020. – Т. 56. – №4. – С. 342-351.
14. Нестерова, Л. Ю. Полиамины как регуляторы биоплёнкообразования природных изолятов *Escherichia coli* с разной степенью устойчивости к фторхинолонам / Л. Ю. Нестерова, Е. А. Караваева, А. Г. Ткаченко // Вестн. Пермск. Ун-та. Серия: Биология. – 2011. – № 2. – С. 32-37.

ПРОДУКЦИЯ СЕРОВОДОРОДА У БАКТЕРИЙ *ESCHERICHIA COLI*, МУТАНТНЫХ ПО СИНТЕЗУ ГЛУТАТИОНА, ПРИ ДОБАВЛЕНИИ ЦИСТИНА В СРЕДУ КУЛЬТИВИРОВАНИЯ

Егорова В.В.¹, Ушаков В.Ю.^{1,2}, Смирнова Г.В.², Октябрьский О.Н.²

¹Пермский национальный государственный исследовательский университет, Пермь

²Институт экологии и генетики микроорганизмов УрО РАН – филиал ПФИЦ УрО РАН

Аннотация. Ранее было показано, что большая часть цистина в клетках бактерий *E. coli* используется для синтеза главного редокс-буфера клетки глутатиона. В работе приводится исследование ответа у грамотрицательных бактерий *E. Coli*, лишенных синтеза глутатиона.

Ключевые слова: H₂S, цистин, среда LB, минимальная среда M9

HYDROGEN SULFIDE PRODUCTION IN *ESCHERICHIA COLI* BACTERIA MUTANT IN GLUTATHIONE SYNTHESIS WHEN CYSTINE IS ADDED TO THE CULTIVATION MEDIUM

Egorova V.V.¹, Ushakov V.Yu.^{1,2}, Smirnova G.V.², Oktyabrsky O.N.²

¹Federal State Autonomous Educational Institution of Higher Education "Perm State National Research University"

²Institute of Ecology and Genetics of Microorganisms, Ural Branch of the Russian Academy of Sciences - branch of the PFRC, Ural Branch of the Russian Academy of Sciences, Perm, Russia

Abstract. It has been shown previously that most of the cystine in *E. coli* cells is used for the synthesis of the main redox buffer of the cell, glutathione. The paper presents a study of the response in gram-negative *E. coli* bacteria deprived of glutathione.

Key words: H₂S, cystine, LB medium, minimal M9 medium

В последнее время все большее внимание уделяется исследованию роли низкомолекулярных серосодержащих соединений в метаболизме бактериальных и эукариотических клеток. Особый интерес представляет действие сульфида водорода (H₂S), продуцируемого клетками. Было доложено, что H₂S способен защищать бактерии от повреждений, вызванных антибиотиками [1], и окислительного стресса [2], а также его включение в механизм защиты бактерий от иммунного ответа хозяина [3].

Одним из источников H₂S может быть цистеин (или его окисленная форма – цистин), который содержится богатых питательных средах, либо синтезируется *de novo* из сульфата, входящего в состав минеральных сред. Известно, что повышенные концентрации внутриклеточного цистеина являются токсичными, поскольку могут потенцировать реакцию Фентона через восстановление Fe³⁺ до Fe²⁺ [4]. Образующий гидроксильный радикал может повреждать все важнейшие биомолекулы, такие как ДНК, белки и мембраны. Вследствие этого бактерии строго контролируют уровень свободного внутриклеточного цистеина. У грамотрицательных бактерий *E. coli* остановка роста, вызванная обработкой рядом антибиотиков, сопровождается увеличением цистеина. Одним из способов снижения

внутриклеточной концентрации цистеина до безопасного уровня является его десульфуривание, приводящее к накоплению сульфида в среде культивирования [5].

Цель данной работы: исследовать продукцию H_2S при резком повышении концентрации внеклеточного цистина ($30 \mu M$) у грамотрицательных бактерий *E. coli* BW25113 (родительский тип) и *E. coli* JW2663 ($\Delta gshA$, мутант, лишенный глутатиона), растущих на различных средах.

Исследуемые штаммы *E. coli* BW25113 и *E. coli* JW2663 культивировались в орбитальном шейкере при $37^\circ C$ и 110 об/мин на минеральной среде М9 + глюкоза (1%) или богатой среде LB (Sigma). Детекцию газообразной формы сульфида водорода проводили полуколичественным методом, измеряя его концентрацию в воздушной среде над бактериальной культурой с помощью бумажных полосок, пропитанных ацетатом свинца как описано в работе *Shatalin et al* [2]. Количественно изменение окраски определяли по гистограмме цвета в программе ImageJ, интенсивность окраски выражали в процентах.

Добавление цистина к бактериям *E. coli* родительского типа и $\Delta gshA$ мутантам, стимулировало продукцию H_2S . Максимальные уровни экстраклеточного сероводорода при росте на среде М9 регистрировались через 20 мин после добавления цистина у обоих штаммов, но у мутанта $\Delta gshA$ продукция H_2S длилась на 20 минут дольше (Рис. 3А, 4А). Значительные различия в кинетике накопления H_2S между двумя штаммами наблюдались при росте на среде LB. У *E. coli* родительского типа общее количество внеклеточного H_2S после внесения цистина было на 100% выше, чем у мутанта (Рис. 3Б, 4Б). У *E. coli* JW2663 накопление H_2S имело неравномерный, скачкообразный характер, максимальные значения наблюдались на 60 и 100 мин эксперимента. Результаты свидетельствуют о том, что продукция H_2S при добавлении цистина в растущие культуры *E. coli* BW25113 и *E. coli* JW2663 в значительной мере зависит как от состава инкубационной среды, так и от наличия мутации $\Delta gshA$.

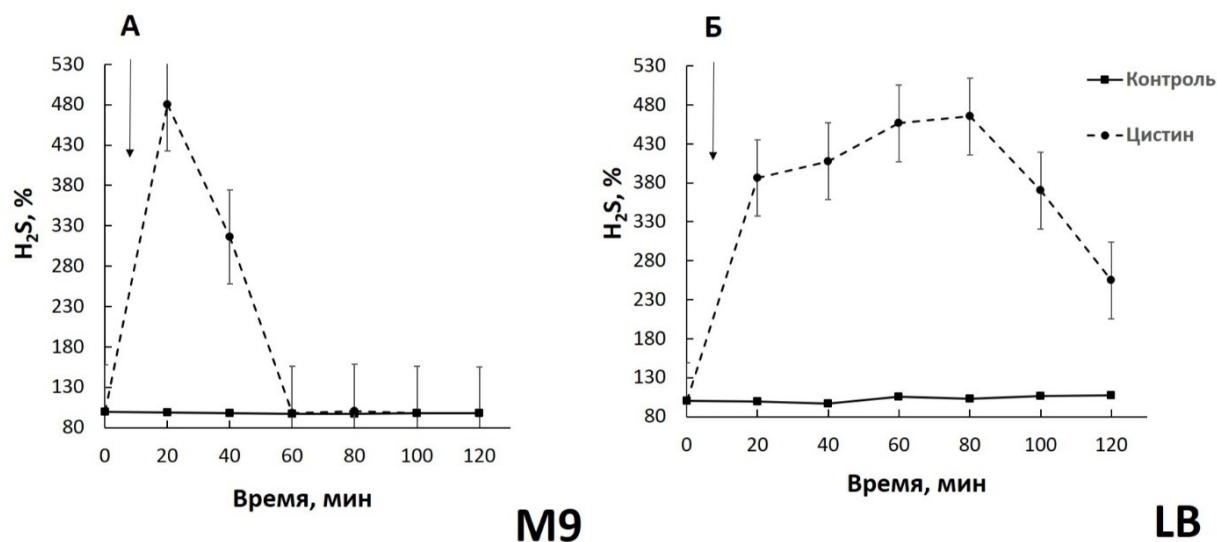


Рисунок 3 – Продукция H_2S бактериями *E. coli* BW25113 (родительский тип) при добавлении цистина. А - глюкозо-минеральная среда М9; Б – богатая среда LB.

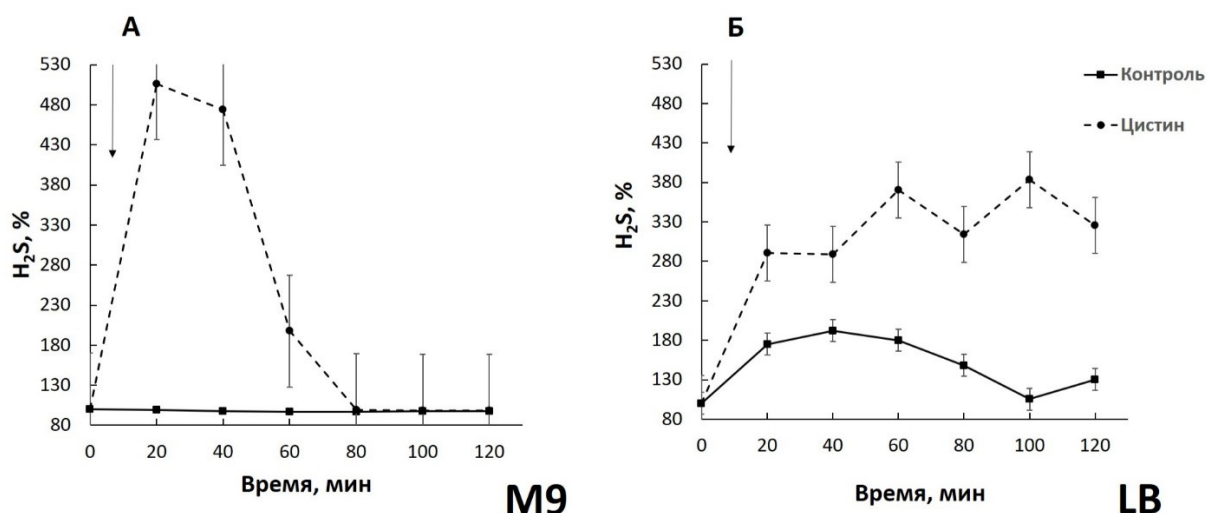


Рис. 4. Продукция H_2S бактериями *E. coli* JW2663 (мутант по синтезу глутатиона) при добавлении цистина. А - глюкозо-минеральная среда М9; Б – богатая среда LB.

Работа выполнена при поддержке гранта РНФ № 22-14-00093.

Библиографический список

1. Mustafa A.K., Gadalla M.M., Sen N., Kim S., Mu W., Gazi S.K., Barrow R.K., Yang G., Wang R., Snyder S.H. H_2S signals through protein S-sulfhydration. // Sci. Signal. – 2009. – V.2(96) – P.72.
2. Shatalin K., Shatalina E., Mironov A., Nudler E. H_2S : a universal defense against antibiotics in bacteria // Science. – 2011. – V. 334. – P. 986-990.
3. Mironov A., Seregina T., Nagornyykh S. et al. Mechanism of H_2S -mediated protection against oxidative stress in *Escherichia coli* // PNAS – 2017 – V. 114 – P.23
4. Park S., Imlay J.A. High levels of intracellular cysteine promote oxidative DNA damage by driving the Fenton reaction. // J. Bacteriol. – 2003 - V.185 – P.1942–1950.
5. Smirnova G.V., Tyulenev A.V., Bezmaternyykh K.V., Muzyka N.G., Ushakov V.Y., Oktyabrsky O.N. Cysteine homeostasis under inhibition of protein synthesis in *Escherichia coli* cells // Amino Acids. – 2019. – V.51(10-12). – P. 1577-1592.

ВЛИЯНИЕ ЭКЗОГЕННОГО ПРОЛИНА НА НЕКОТОРЫЕ ПОКАЗАТЕЛИ СОЛЕУСТОЙЧИВОСТИ ПРОРОСТКОВ ГОРОХА

Еловикова А.Е., Кайгородов Р.В.

Пермский государственный национальный исследовательский университет, Пермь

Аннотация. Изучение солеустойчивости растений является актуальной проблемой, т.к. увеличивается число засоленных земель из-за активной деятельности человека. В статье изучено влияние NaCl засоления и действие экзогенного пролина на некоторые показатели солеустойчивости гороха.

Ключевые слова: экзогенный пролин, пролин, хлорид натрия, засоление

EFFECT OF EXOGENOUS PROLINE ON SOME INDICATORS OF SALT TOLERANCE OF PEAS SEEDLINGS

Elovikova A.E., Kaigorodov R.V.

Perm State National Research University, Perm, Russia

Annotation. The study of the salt resistance of plants is an urgent problem, since the number of saline lands is increasing due to human activity. The article examines the effect of NaCl salinization and the effect of exogenous proline on some indicators of salt resistance of peas.

Key words: exogenous proline, proline, sodium chloride, salinity

Введение. На сегодняшний день все более значимым становится вопрос о стрессоустойчивости растений к различным абиотическим факторам. В связи с активной хозяйственной деятельностью человека, негативное влияние окружающей среды на фитоценозы увеличивается, что приводит к угнетению роста и развития растений, снижению их продуктивности и даже к гибели [1]. К числу наиболее масштабных факторов относится засоление почв. Засоленные почвы занимают около 25% поверхности суши, половину которых составляют орошаемые земли. К сожалению, площадь таких территорий постепенно растет. Поскольку орошаемые районы находятся в условиях сухого климата, где вся поливная воды испаряется, содержание солей в почве медленно увеличивается, и в результате достигает такого значения концентраций, при котором наносится вред растениям. С другой стороны, на засоление влияет неумелое орошение почв и внесение повышенных доз минеральных удобрений. Повышенное содержание солей в почве наносит гораздо больший вред сельскому хозяйству, чем засуха или морозы, так как действует постоянно, а не периодически. Из-за засоленности ежегодно теряются миллионы тон сельскохозяйственной продукции [2].

Различают несколько видов почв по степени засоления. Так, если содержание суммы неорганических ионов в почве в расчете на ее сухую массу составляет от 0,4 до 0,7 %, то такие почвы считаются средnezасоленными, а от 0,7 до 1,0% — сильнозасоленными [2]. Что касается токсичности солей, то наибольший вред растениям наносит хлоридное засоление. Преобладающий катион в таких почвах — натрий, но встречаются карбонатно-магниевое и

хлоридно-магниевое засоление [6]. В связи с тем, что засоление является доминирующим стрессорным фактором сельскохозяйственных культур, научный мир активно занимается изучением адаптационных механизмов растений, а именно рассматривается синтез и аккумуляция совместимых осмолитов, в частности пролина [3]. Пролин является самой распространённой аминокислотой среди совместимых осмолитов. Свободный пролин и пролин в составе белковой молекулы – обязательные компоненты растительной клетки. В стрессовых условиях, способствующих понижению водного потенциала клетки, содержание свободного пролина многократно возрастает [4]. Данная аминокислота обладает мультифункциональным защитным действием, и его накопление растениями является универсальной ответной реакцией организма на неблагоприятные условия выращивания [5], поэтому изучение механизмов ее действия в условиях стресса так актуально.

Цель работы – оценить влияние NaCl засоления и действие экзогенного пролина на некоторые показатели солеустойчивости гороха. В рамках исследования были поставлены следующие задачи: оценить влияние засоления хлоридом натрия на биомассу побегов и корней проростков гороха, а также содержание пролина в них. Проанализировать влияние экзогенного пролина на устойчивость проростков гороха к засолению.

Объекты и методы. В качестве объекта исследования был использован *Pisum sativum* L. – горох посевной (сорт Красноуфимский). Семена гороха стерилизовали 30 мин в 1-4% растворе перманганата калия (KMnO₄), после тщательно промыли проточной, а затем дистиллированной водой и выращивали 14 сут. в контейнерах с вермикулитом при комнатной температуре (20-23 °C) в условиях естественного освещения.

14-ти дневные проростки подвергали действию стресс-фактора – 0,5% NaCl, 1% NaCl, 1% NaCl с добавлением 0,5М экзогенного пролина в течение 4, 10 суток.

Реакцию растений на стресс оценивали на основе двух показателей: физиологических (сырая масса побегов и корней в 20-ти кратной повторности) и биохимических, а именно, определяли количество пролина по модифицированному методу L.S. Bates et al.

Результаты и обсуждение. Полученные результаты демонстрируют, что увеличение концентрации хлорида натрия в почве приводит к снижению биомассы побегов и корней проростков гороха (рис.1).

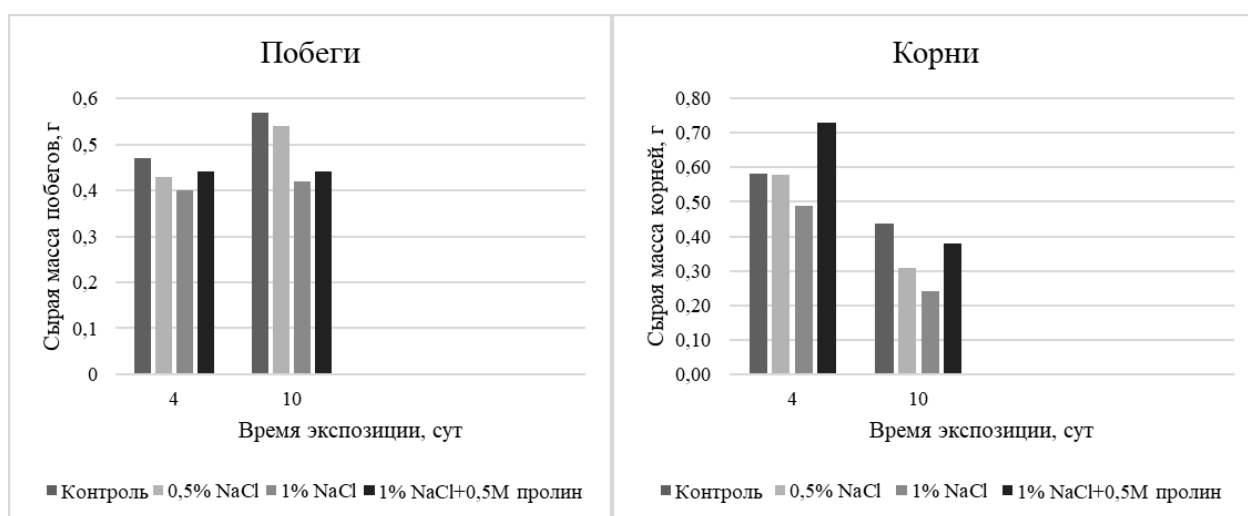


Рисунок 1 – Влияние NaCl засоления на биомассу побегов и корней проростков гороха,

Г.

Самые низкие показатели отмечены при 1% NaCl засолении в побегах и корнях за 4-е и 10-е сутки. В опытном варианте с экзогенным пролином ростовые показатели побегов увеличиваются по сравнению с 3 вариантом (1% NaCl), но не превышают контрольных значений. Биомасса корней также увеличилась, во время 4-х дневной экспозиции показатели превысили даже контрольные значения.

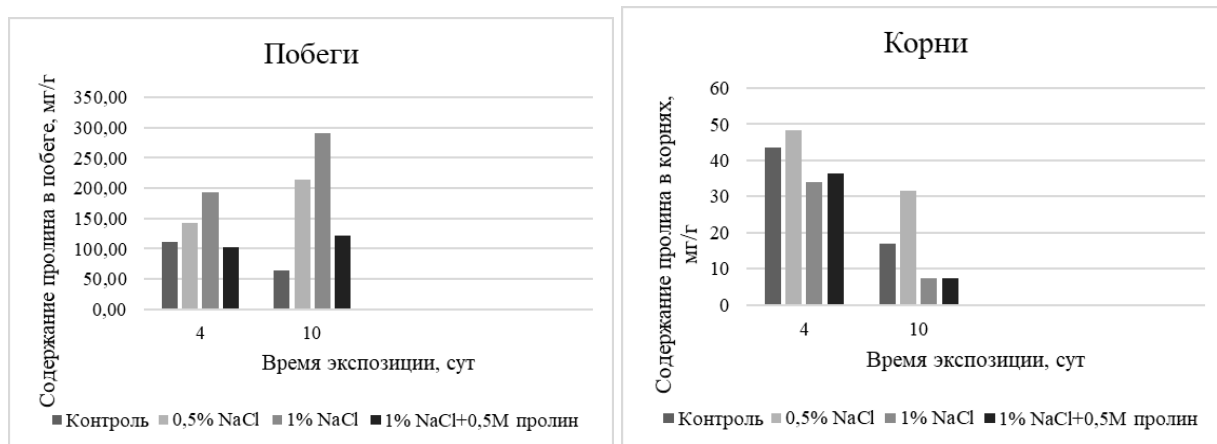


Рисунок 2 – Влияние NaCl засоление на содержание пролина в побегах и корнях проростков гороха, мг/г.

Данные графики указывают на неодинаковый характер накопления пролина в разных частях гороха. Так, в побегах содержание пролина во 2 (0,5% NaCl) и 3 (1% NaCl) опытных вариантах увеличивается по сравнению с контрольными значениями. Однако в вариантах с экзогенным пролином показатели снижаются. Своего максимального значения пролин достигает в вариантах с сильным засолением.

Содержание пролина в корнях на 4-е и 10-е сутки максимально во втором опытном варианте (0,5% NaCl) и превышает контрольные значения. В вариантах с сильным засолением и экзогенным пролином показатели ниже контрольных на 4-е сутки, при 10-дневной экспозиции значения сравнялись между собой.

Заключение. Анализируя полученные данные, нами было отмечено, что биомасса побегов и корней при засолении снизилась. Это объясняется тем, что у гороха произошла перестройка метаболизма. Те ресурсы, которые могли пойти на увеличение роста растения, были использованы для формирования защитных механизмов, в частности, синтез пролина в условиях стресса.

Содержание пролина в побегах увеличивается с повышением концентрации хлорида натрия. Чем сильнее засоление, тем больше синтезируются эндогенного пролина в надземных частях растения, поскольку он является стресс-протектором и помогает бороться с токсическим действием, оказываемым солью. При добавлении экзогенного пролина содержание пролина в побегах приблизилось к контрольным значениям в случае кратковременного засоления, и увеличилось при его длительном действии. Растение со временем начало аккумулировать экзогенный пролин.

Содержание пролина в корнях превысило контрольные показатели при слабом засолении, что может говорить о способности растения синтезировать пролин в подземной части в условиях несильного засоления. Однако, при увеличении концентрации соли, содержание пролина резко снизилось в корнях и увеличилось в побегах. Это характерная динамика в условиях стресса, так как данная аминокислота аккумулируется главным образом

в надземных частях растений. Прямой контакт экзогенного пролина с корнями привел к значительному увеличению их биомассы в условиях кратковременной экспозиции.

Все полученные результаты указывают на негативное влияние засоления хлоридом натрия в отношении роста гороха и его физиологических показателей. Действие экзогенного пролина в условиях стресса и его дальнейшее использование в работах требует дальнейшего изучения.

Библиографический список

1. Аверина Н.Г., Грицкевич Е.Р., Вершиловская И.В и др. Механизмы формирования устойчивости растений ячменя к солевому стрессу под действием 5-аминолевулиновой кислоты // Физиология растений. 2010. Т.57, № 6. С. 849-856.
2. Алехина Н.Д., Балнокин Ю.В., Гавриленко В.Ф. и др. Физиология растений: Учебник. М.: Издательский центр «Академия», 2005. 640 с.
3. Ефимова М.В., Коломейчук Л.В., Бойко Е.В., Малофий М.К. и др. Физиологические механизмы устойчивости растений *Solanum tuberosum* L. к хлоридному засолению // Физиология растений. 2018. Т.65, № 3. С.196-206.
4. Кузнецов Вл.В., Шевякова Н.И. Пролин при стрессе: биологическая роль, метаболизм и регуляция // Физиол.раст. 1999. Т. 46, № 2. С. 305 – 320.
5. Радюкина Н.Л., Шашукова А.В., Шевякова Н.И., Кузнецов Вл.В. Участие пролина в системе антиоксидантной защиты у шалфея при действии NaCl и параквата // Физиология растений. 2008. Т.55. № 5. С. 721-730.
6. Растение и стресс. Курс лекций. Уральский государственный ун-т., Екатеринбург, 2008. С.215-232// http://elar.urfu.ru/bitstream/10995/1580/4/1333214_lectures.pdf

ИЗМЕНЕНИЕ НЕКОТОРЫХ МОРФО-ФИЗИОЛОГИЧЕСКИХ ПАРАМЕТРОВ У ПШЕНИЦЫ И КРЕСС-САЛАТА ПРИ ВНЕСЕНИИ В ПОЧВУ КОРМОВЫХ ДРОЖЖЕЙ

Ермолаев В.Л., Нестерова Л.Ю.

Пермский национальный государственный исследовательский университет, Пермь, Россия

Аннотация. Увеличение продуктивности сельскохозяйственных культур является одной из актуальных задач современной биологии. Кормовые дрожжи используются в качестве питательных добавок для сельскохозяйственных животных, однако, малоизученным остается вопрос о влиянии дрожжей на рост и развитие растительных организмов. В данной статье приводятся результаты изучения морфометрических параметров, а также содержания хлорофиллов пшеницы мягкой и кресс-салата посевного, при выращивании на почве с внесением кормовых дрожжей.

Ключевые слова: Кормовые дрожжи, морфометрические показатели, почва, хлорофилл

CHANGES IN SOME MORPHOPHYSIOLOGICAL PARAMETERS IN WHEAT AND WATERCRESS WHEN INTRODUCING FEED YEAST INTO THE SOIL

Ermolaev V.L., Nesterova L.Yu.

Perm State National Research University, Perm, Russia

Annotation. Increasing the productivity of agricultural crops is one of the urgent tasks of modern biology. Feeder yeast is used as nutritional supplements for farm animals, however, the question of the effect of yeast on the growth and development of plant organisms remains poorly understood. This article presents the results of a study of morphometric parameters, as well as the chlorophyll content of soft wheat and watercress, when grown on soil with the addition of fodder yeast.

Key words: Feed yeast, morphometric indicators, soil, chlorophyll

Наряду с увеличением урожайности, особую актуальность в современном земледелии приобретает производство экологически безопасного, биологически полноценного продовольственного сырья [1]. Речь идет о получении сельскохозяйственной продукции высокого качества с сохранением окружающей среды и активизацией некоторых естественных механизмов биотических циклов вместо фактического уничтожения локальной экосистемы при интенсивном хозяйствовании [2].

Основным методом, позволяющим увеличить продуктивность растений, является внесение в почву различных биологических препаратов, компонентов минерального питания, которые стимулируют метаболические процессы.

Известно, что клетки дрожжей содержат незаменимые аминокислоты, витамины группы В (В1, В2, В3, В4, В6, В12, Вс), витамин Е и Д, никотиновую кислоту, микро- и макроэлементы. Доказано, что в результате деятельности дрожжей синтезируются и выделяются в почву вещества подобные фитогормонам и ферментам, стимулирующих точки роста растений, в том числе корней. Это способствует активному питанию растений при одновременном увеличении

биомассы надземных органов и корней, следовательно, повышению продуктивности растений [3].

Кормовые дрожжи – это сухая концентрированная биомасса дрожжевых клеток, специально выращиваемая на корм сельскохозяйственным животным, птице, пушным зверям, рыбе. Вид кормовых дрожжей определяется штаммом гриба продуцента и средой, на которой выращены дрожжи конкретных штаммов [4]. Данная добавка является источником белка и аминокислот, витаминов, микро- и макроэлементов, за счет чего дрожжи служат стимулятором общего действия [5].

Цель работы: Определить влияние внесения в почву кормовых дрожжей на морфометрические показатели и содержание хлорофиллов в надземной части пшеницы и кресс-салата.

Материалы и методы. В качестве объектов исследования были выбраны представители разных классов растений: однодольные - пшеница мягкая *Triticum aestivum* L., сорт «Ирень»; двудольные - кресс-салат *Lepidium sativum* L, сорт «Престиж».

Для исследования были взяты два коммерческих препарата кормовых дрожжей разных производителей:

№1 - Коричневый цвет, чешуйчатая структура с включениями кристаллов. Имеют запах ржаного хлеба.

№2 - Коричневый цвет, порошкообразная, мелкодисперсная структура. Имеют рыбный запах.

В дерново-подзолистую почву с pH 7,24 вносили инактивированные кормовые дрожжи 20 г на 400 г почвы и оставляли в контейнерах на разные сроки: 3 месяца, 1 месяц, 1 неделя. Контролем служила почва без внесения добавок. В процессе инкубации почву с добавками обрабатывали фунгицидом (Фитоспорин-М, Россия), согласно инструкции производителя и регулярно перемешивали.

Семена кресс-салата и предварительно замоченные семена пшеницы высаживали в подготовленную дерново-подзолистую почву. Выращивали при температуре 23°C и длине светового дня – 18 ч, пшеницу – в течение 7-ми дней, кресс-салат также в течение 7-ми дней. Полив при посадке осуществлялся дистиллированной водой в объеме 100 мл.

Измерение высоты и массы надземной части растений проводили у растений пшеницы на 7-е сутки после посадки, на стадии 1 листа, у кресс-салата на седьмой день. Площадь листовой пластины измеряли лишь у пшеницы. В надземной части растений определяли содержание хлорофиллов а и b. Фотосинтетические пигменты экстрагировали 80 %-м ацетоном, количество хлорофиллов а и b, определяли при длине волны 665, 649, нм соответственно на спектрофотометре («СФ-2000», Россия). Содержание хлорофиллов рассчитывали по формулам L.P. Vernon (1960) на единицу сырой массы листьев [6].

Рост растения и его биологическая продуктивность – результат, прежде всего, фотосинтетической деятельности, в ходе которой образуется до 95 % органических соединений. Лист как орган фотосинтеза является центром образования первичных продуктов, их метаболизации и эвакуации в органы запаса [7].

Во всех вариантах почвы с внесенным препаратом дрожжевых клеток отмечена тенденция к увеличению морфометрических показателей пшеницы. Наибольшие ростовые показатели наблюдались у растений в варианте с почвой, экспозиция дрожжей в которой составила 1 месяц.

Площадь надземной части пшеницы была также увеличена в сравнении с контролем во всех трех вариантах экспозиции почвы с дрожжами. Изменение площади листовой пластинки является одним из основных показателей фотосинтетической активности растения [8]. Особенностью пшеницы, наряду с другими злаковыми растениями является способность к увеличению площади листовой пластинки и ростовых показателей в целом, при благоприятных условиях выращивания [9].

Длина надземной части кресс-салата при выращивании на почве с добавками дрожжей была достоверно ниже контрольного варианта, что может свидетельствовать об угнетении растений и негативном влиянии веществ, содержащихся в дрожжевых клетках на развитие растений данного вида. Другой причиной изменения ростовых показателей, возможно, является изменение химического и гранулометрического состава почвы.

При использовании препарата дрожжей №2 у обоих объектов исследования на всех 3 вариантах опытной почвы масса растений оставалась на уровне контрольного варианта, либо была ниже. Большие ростовые показатели отмечены лишь в одном варианте – при внесении в почву дрожжей №1 и экспозиции 3 месяца у пшеницы мягкой. В остальных вариантах при внесении дрожжей №1 также наблюдалось снижение данного показателя.

Большим, в сравнении с контрольным вариантом, уровнем суммарного содержания пигментов отличался кресс-салат во все сроки экспозиции препаратов дрожжей в почве и в обоих вариантах препарата. Для пшеницы мягкой также отмечено увеличение содержания хлорофиллов а и в, во все сроки экспозиции, но лишь при внесении в почву препарата №2. Суммарное содержание хлорофиллов в растениях пшеницы выращенных на почве с внесенным препаратом №1, было либо ниже (вариант с экспозицией 3 мес), либо не отличалось (вариант с экспозицией 1 нед и 1 мес) контрольного варианта.

Увеличение содержания хлорофиллов является одним из важнейших фактов, поскольку он в значительной степени определяет рост и продуктивность растения [10].

Таким образом, внесение в почву препаратов кормовых дрожжей оказывает влияние на морфометрические показатели пшеницы и кресс-салата, а также на суммарное содержание в растениях хлорофиллов а и в. Положительный эффект зафиксирован при внесении обеих добавок в отношении длины и площади надземной части, а также при внесении добавки №2 в отношении концентрации хлорофиллов у пшеницы мягкой. У кресс-салата наблюдалось увеличение содержания хлорофиллов при внесении в почву обеих добавок и отсутствие эффекта или небольшое снижение в отношении других показателей.

Библиографический список

1. Кадырова Ф.З. Гречиха в биологическом земледелии/ Ф.З. Кадырова, Л.Р. Кадырова, А.Т. Хуснутдинова // Актуальные проблемы современного земледелия и роль аграрной науки в его развитии: Казанский ГАУ. – Казань, 2018. – С. 56–60
2. Горбунова С.Ю., Лукьянов В.А. Потенциальная продуктивность микроводоросли *Chlorella vulgaris* на темно-серых лесных почвах центрального Черноземья // Pontus Euxinus 2015. Тез. IX Всерос. научн.-практ. конф. молод. ученых (с международным участием) по проблемам водных экосистем, посвящ. 100-летию со дня рожд. В.Н. Гресе. Севастополь, 2015. С. 48–49
3. ЗЛукьянов В.А. Влияние микроводорослей на микробиологическую активность серых лесных почв // Агропромышленный комплекс: контуры будущего (мат-лы Междунаро.

научн.-практ. конф. студентов, аспирантов и молодых ученых). Курск: КурскГСХА, 2013. Ч. 1. С. 6–7

4. Подоедов Л.И. Кормовые дрожжи - сравнительные характеристики питательной и биологической ценности. 2007г (URL: http://podobed.org/kormovye_drozhzhi_-_sравnitelnye_harakteristiki_pitatelnoy_i_biologicheskoy_tsennosti.html дата обращения: 15.02.2023)
5. Л. М. Дармограй, М. Е. Шевченко Использование биомассы дрожжей в комбикормах кроликов при интенсивной технологии выращивания // Актуальные проблемы интенсивного развития животноводства. 2016.
6. Гавриленко В.Ф., Жигалова Т.В. Большой практикум по фотосинтезу. М.: Академия, 2003. — 256 с.
7. Кефели В.И. Физиологические основы конструирования габитуса растений. - М.: Наука, 1994. - 270 с., Никитин С.Н. Оценка эффективности применения биопрепаратов в Среднем Поволжье. - Ульяновск: Изд-во ИПК "Венец" УлГТУ, 2014. - 135 с.
8. Никитин С. Н. Фотосинтетическая деятельность растений в посевах и динамика ростовых процессов при применении биологических препаратов //Успехи современного естествознания. – 2017. – №. 1. – С. 33-38.
9. Ничипорович А.А. Реализация регуляторной функции света и жизнедеятельности растений как целого и в его продуктивности. / А.А. Ничипорович. Фоторегуляция метаболизма и морфогенеза растений. – М., 1975. – 275 с
10. Кефели В.И. Физиологические основы конструирования габитуса растений. – М.: Наука, 1994. – 270 с.

АКТИВНОСТЬ ФЕРМЕНТОВ АНТИОКСИДАНТНОЙ СИСТЕМЫ У ОВСА ПОСЕВНОГО В РАЗЛИЧНЫХ УСЛОВИЯХ ЗАСОЛЕНИЯ И pH ПОЧВЫ

Жуланова Н.С., Четина О.А.

Пермский государственный национальный исследовательский университет, Пермь, Россия

Аннотация. Представлены результаты исследований по содержанию пероксида водорода, активности каталазы и пероксидазной функции в листьях овса посевного при различных условиях засоления и pH почвы. Максимальное проявление окислительного стресса отмечено в вариантах опыта при pH 5,0, как с засолением, так и без него, и при pH почвы 7,3 с засолением. Повышенная активность каталазы отмечена в вариантах опыта сочетающих засоление с разными уровнями pH, а также на щелочном фоне без засоления. Максимальная активность пероксидазы отмечена в вариантах опыта с засолением, особенно в сочетании со щелочной реакцией среды.

Ключевые слова: засоление, адаптация, окислительный стресс, каталаза, пероксидазы

ACTIVITY OF ENZYMES OF THE ANTIOXIDANT SYSTEM IN OATS UNDER DIFFERENT CONDITIONS OF SALINIZATION AND SOIL pH

Zhulanova N.S., Chetina O.A.

Perm State National Research University, Perm, Russia

Abstract. The results of studies on the content of hydrogen peroxide, catalase activity and peroxidase function in oat leaves under various salinization conditions and soil pH are presented. The maximum manifestation of oxidative stress was noted in the experimental variants at pH 5.0, both with and without salinity, and at soil pH 7.3 with salinity. Increased catalase activity was noted in experimental variants combining salinization with different pH levels, as well as on an alkaline background without salinization. The maximum activity of peroxidase was noted in the variants of the experiment with salinity, especially in combination with the alkaline reaction of the medium.

Key words: salinization, adaptation, oxidative stress, catalase, peroxidases

Засоление почв является одним из важных абиотических факторов окружающей среды, который ограничивает рост и продуктивность растений. В природных и техногенных ландшафтах засоление почв может сопровождаться как повышением pH до щелочных значений, так и понижением – до сильнокислых [1]. При этом растения испытывают комплексный солевой и кислотно-щелочной стресс, а адаптивные механизмы направлены на осморегуляцию, защиту от избытка засоряющих ионов, окислительных радикалов и pH-регуляцию. Важную роль в поддержании определенного безопасного уровня активных форм кислорода (АФК) играют антиоксидантные ферменты [2]. Таким образом, актуальность изучения механизмов адаптации растений к совместному воздействию засоления и кислотности / щелочности корневой среды, обусловлена тем, что эти факторы сочетаются в природных и техногенных почвах.

В качестве объекта исследования использовали овес посевной *Avena sativa* L., сорт Стайер. Растения выращивались в условиях модельного опыта в контейнерах с дерново-

подзолистой почвой в различных сочетаниях pH-уровня и засоления. Исходная реакция почвы – 5,0 pH. Нейтральная среда (pH 7,3) создавалась добавлением CaCO_3 (доза извести рассчитана по результатам гидролитической кислотности), щелочная (pH 8,8) – добавлением Na_2CO_3 . Засоление NaCl 0,5 % создавалось в %-ом отношении к сухому весу почвы. Контролем являлся вариант без засоления с pH 7,3. В течение эксперимента влажность почвы поддерживалась на уровне 60% от полной влагоемкости в каждом варианте опыта.

Таблица – Варианты опыта

без засоления	с засолением
pH 5,0	pH 5,0+0,5% NaCl
pH 7,3	pH 7,3+0,5% NaCl
pH 8,8	pH 8,8+0,5% NaCl

Через 4 и 8 дней после появления всходов снимали растительный материал, который использовали для определения содержания перекиси водорода, активности каталазы и пероксидазной функции. Общее содержание перекиси в листьях растений определяли по ферротитриметрическому методу [3], активность каталазы – титриметрическим методом [4], пероксидазную функцию – методом А. Н. Бояркина [5]. Опыты проводили в трёхкратной биологической повторности, аналитическая повторность определения – трёхкратная. Полученные данные статистически обработаны с применением методов описательной статистики, критериев сдвига/положения для определения достоверности различий между вариантами. Значимыми считали различия между сравниваемыми величинами с доверительной вероятностью 95% и выше ($P \leq 0.05$).

Воздействие неблагоприятных факторов внешней среды может приводить к интенсивному образованию АФК. В условиях кислой реакции почвенной среды без засоления нами зафиксировано увеличение уровня перекиси в листьях овса на треть через 4 дня и на 70 % через 8 суток по сравнению с контролем (рис. 1). На щелочном фоне через 4 дня значимых отличий с контролем не обнаружено, а через 8 дней отмечено снижение на 30%.

В условиях засоления при разных уровнях pH достоверные различия с контролем по содержанию перекиси были обнаружены только во второй срок наблюдения: на нейтральном и кислом фоне выше на 60%, а на щелочном – ниже в 2 раза. В первый срок эксперимента, вероятно, усилена антиоксидантная защита растений, что препятствует повышению содержания перекиси. Повышение содержания АФК в растительных клетках может быть связано, как с активацией генерирующих их ферментативных систем, так и со снижением активности соответствующих антиоксидантных ферментов.

В связи с тем, что солевой стресс сопряжён с образованием АФК, происходит изменение активности основных ферментов антиоксидантной защиты, прежде всего, каталазы и пероксидаз. Каталазы являются основными ферментами, катализирующими дисмутацию H_2O_2 на H_2O и O_2 . Они играют важную роль не только в метаболизме и защите растений, но также и в восприятии сигналов [6].

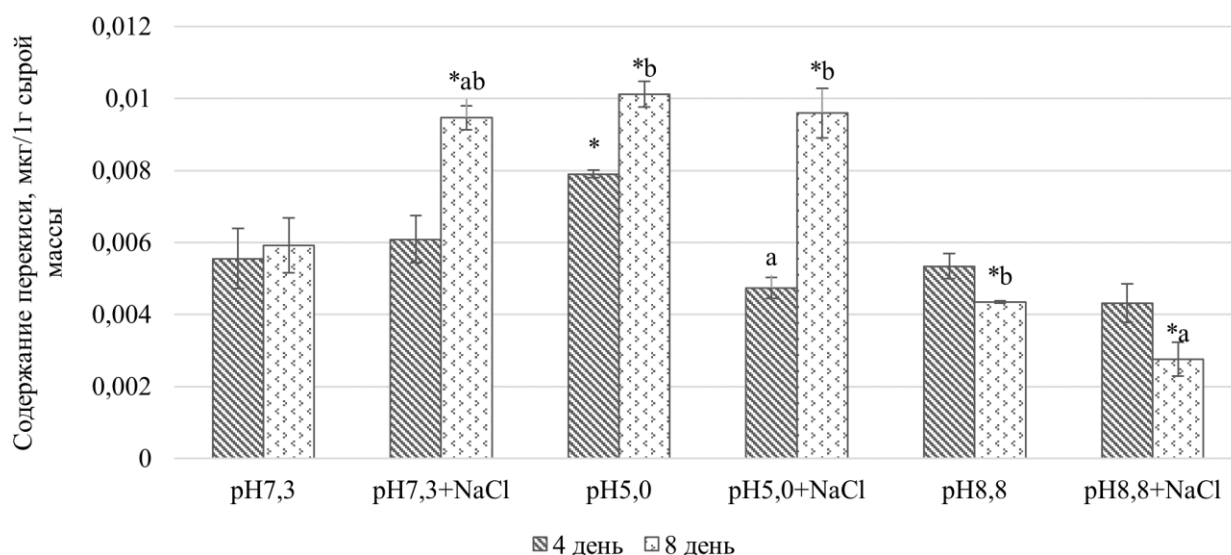


Рисунок 1 – Содержание перекиси в листьях овса посевного в условиях засоления и разного уровня pH почвы. Звездочкой отмечены значимые различия с контролем (pH 7,3) в каждый временной промежуток, а – значимые различия между засоленным и незасоленным вариантами при каждой pH в каждый временной промежуток, b – значимые различия между 4 и 8 сутками эксперимента в каждом варианте опыта.

В варианте опыта с кислой почвой активность каталазы была снижена примерно на 20% в оба срока (рис. 2). На щелочной почве активность каталазы увеличивалась на 30% в первый срок и незначительно снижалась (на 6%) во второй срок наблюдений. В комбинированных условиях засоления с разными уровнями pH достоверные различия были обнаружены почти во всех вариантах опыта. На нейтральном и кислом фоне активность фермента увеличивалась на 10% на 4-е сутки и на 25-30 % – на 8-е. На щелочном фоне активность каталазы незначительно возрастала на 4-й день и не имела достоверных различий с контролем ко второму сроку эксперимента.

В нашем эксперименте активность каталазы в первый срок наблюдений была выше, чем во второй, во всех вариантах опыта, особенно в вариантах с засолением. Полученные результаты согласуются с литературными данными об участии фермента в реакциях нейтрализации АФК на начальных этапах стрессового воздействия. Каталаза разлагает пероксид без участия каких-либо вспомогательных субстратов (восстановителей) и активна при относительно высоких концентрациях. Кроме того, каталаза имеет самую высокую скорость оборота среди всех антиоксидантных ферментов [6].

Пероксидазы включают группу ферментов, которые используют в качестве акцептора пероксид водорода и катализируют окисление различных веществ (аскорбат, нитриты и др.). Пероксидазы, в отличие от каталазы, не окисляют перекись [7, 8]. В ходе нашего эксперимента в условиях кислой реакции среды без засоления нами зафиксировано увеличение активности пероксидаз как на 4-е, так и на 8-е сутки, в 1,4-1,5 раз по сравнению с контролем (рис. 3). На незасоленной почве с щелочной реакцией среды пероксидазная функция возрастала в 1,5 раза как на 4-е, так и на 8-е сутки.

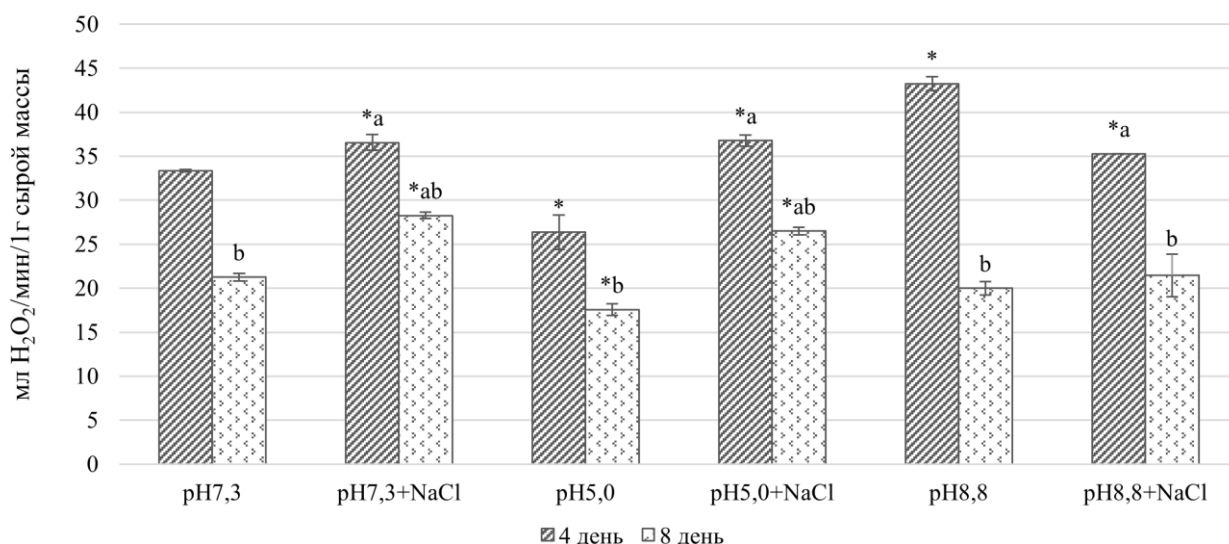


Рисунок 2 – Активность каталазы в листьях овса посевного в условиях засоления и разного уровня pH почвы. Звездочкой отмечены значимые различия с контролем (pH 7,3) в каждый временной промежуток, а – значимые различия между засоленным и незасоленным вариантами при каждой pH в каждый временной промежуток, b – значимые различия между 4 и 8 сутками эксперимента в каждом варианте опыта.

В условиях засоления при разных уровнях pH пероксидазная функция была достоверно выше как на 4-е, так и на 8-е сутки по сравнению с контролем. На нейтральном фоне активность возрастала почти в 2 раза в оба срока наблюдений. В сочетании с кислой реакцией среды – на 20% на 4-е и на 70% на 8-е сутки. На щелочном фоне пероксидазная функция возрастала более, чем в 2 раза, в оба срока эксперимента.

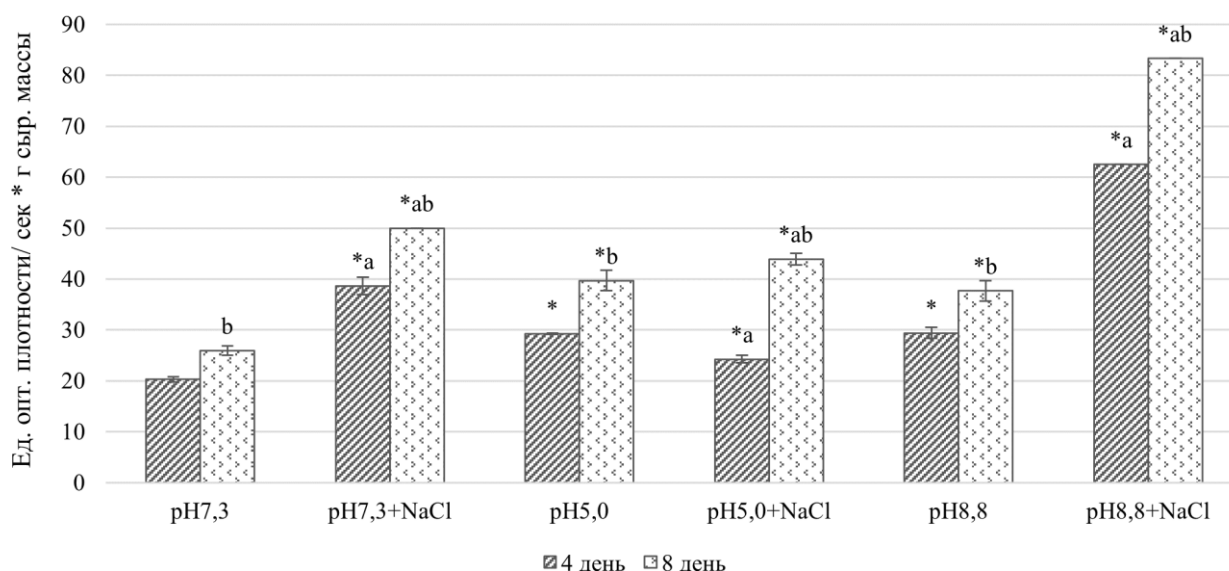


Рисунок 3 – Пероксидазная функция в листьях овса посевного в условиях засоления и разного уровня pH почвы. Звездочкой отмечены значимые различия с контролем (pH 7,3) в каждый временной промежуток, а – значимые различия между засоленным и незасоленным вариантами при каждой pH в каждый временной промежуток, b – значимые различия между 4 и 8 сутками эксперимента в каждом варианте опыта.

Полученные результаты могут указывать на усиление функциональной роли пероксидаз, как одного из компонентов ферментной антиоксидантной системы [7, 8]. Во второй срок исследований активность пероксидаз во всех вариантах опыта была выражена сильнее, чем в первый срок, что компенсировало снижение активности каталазы.

Таким образом, как засоление, так и реакция корневой среды (рН) оказывают влияние на формирование окислительного стресса. Максимальное его проявление по уровню пероксида в листьях овса отмечено на фоне кислой реакции корневой среды, как в сочетании с засолением, так и без него на 8-й день эксперимента (в 1,6 – 1,7 раз выше контроля). Повышенная активность каталазы отмечена в вариантах опыта сочетающих засоление с разными уровнями рН, а также на щелочном фоне без засоления (на 10–35% выше контроля). Активность этого фермента в первый срок наблюдений была выше, чем во второй, во всех вариантах опыта, что, вероятно, связано с его значимой ролью в реакциях нейтрализации АФК на начальных этапах стрессового воздействия. Максимальная активность пероксидаз отмечена в вариантах опыта с засолением, особенно в сочетании со щелочной реакцией среды (в 3–3,2 раза выше контроля). Во второй срок исследований активность пероксидаз во всех вариантах опыта была выражена сильнее, чем в первый срок, что компенсировало снижение активности каталазы.

В целом, судя по уровню перекиси водорода и активности ферментов, лучше всего со стрессом справляются растения на щелочном фоне, как с засолением, так и без него, и на почве с засолением и нейтральной реакцией среды. Наибольшее количество перекиси и наименьшая активность антиоксидантных ферментов у растений на кислой почве без засоления.

Библиографический список

1. Еремченко О.З., Митракова Н.В., Шестаков И.Е. Природно-техногенная организация почвенного покрова территории воздействия солеотвалов и шламохранилищ в Соликамско-Березниковском экономическом районе // Вестник Пермского университета. Сер. Биология. 2017. Вып. 3. С. 311–320.
2. Гарифзянов А.Р., Жуков Н.Н., Иванищев В.В. Образование и физиологические реакции активных форм кислорода клетках растений // Современные проблемы науки и образования. 2011. №2.
3. Sagisaka S. The occurrence of peroxide in a perennial plant *Populus gelrica* // Plant Physiol. 1976. Vol. 57. P. 308.
4. Воскресенская О.Л. Большой практикум по биоэкологии // Ч. 1: учеб. пособие / Мар. гос. ун-т; О.Л. Воскресенская, Е.А. Алябышева, М.Г. Половникова. – Йошкар-Ола, 2006. С. 107.
5. Ермаков А.И., Арасимович В.В., Ярош Н.П. Методы биохимического исследования растений / под ред. Ермакова А.И. 3 изд., Ленинградское отделение. – 1987. – 430с.
6. Anjum N.A., Sharma P., Gill S.S., Hasanuzzaman M., Khan E.A., Kachhap K., Mohamed A.A., Thangavel P., Devi G.D., Vasudhevan P., Sofo A., Khan N.A., Misra A.N., Lukatkin A.S., Singh H.P., Pereira E., Tuteja N. Catalase and ascorbate peroxidase-representative H₂O₂-detoxifying heme enzymes in plants // Environ Sci Pollut Res. 2016. Vol. 23. P. 19002–19029. <https://doi.org/10.1007/s11356-016-7309-6>

7. Минибаева Ф.В., Гордон Л.Х. Продукция супероксида и активность внеклеточной пероксидазы в растительных тканях при стрессе // Физиология растений. 2003. Т. 50, № 3. С. 459–464.
8. Kawano T. Roles of the reactive oxygen species-generating peroxidase reactions in plant defense and growth induction // Plant Cell. 2003. Vol. 21. P. 829–837. <https://doi.org/10.1007/s00299-003-0591-z>

НАКОПЛЕНИЕ ЗАСОЛЯЮЩИХ ИОНОВ И ОСМОПРОТЕКТОРОВ У ГАЛОФИТОВ В УСЛОВИЯХ МОРСКОГО ЗАСОЛЕНИЯ

Зайдуллина Р.Ф., Кайгородов Р.В.

Пермский государственный национальный исследовательский университет, Пермь, Россия

Аннотация. Около 10% поверхности континентов покрыто засоленными почвами. Моря – один из источников засоления. Перенос солей ветром в прибрежные зоны обуславливает засоление побережий. В условиях морского засоления формируются специфическая галофитная флора.

Ключевые слова: морское засоление, галофиты

ACCUMULATION OF SALINE IONS AND OSMOPROTECTORS IN HALOPHYTES UNDER CONDITIONS OF MARINE SALINIZATION

Zaidullina R.F., Kaigorodov R.V.

Perm State National Research University, Perm, Russia

Annotation. About 10% of the continents' surface is covered with saline soils. The seas are one of the sources of salinity. The transfer of salts by wind to coastal zones causes salinization of the coasts. Under conditions of marine salinization, a specific halophytic flora is formed.

Key words: marine salinization, halophytes

Введение. Засоление ландшафтов – это сложный процесс, при котором в почве накапливаются сульфаты, хлориды и карбонаты, количество которых превышает норму. В результате этого грунт теряет свои экологические свойства. Растения, которые произрастают на засоленных почвах, испытывают осмотическое и токсическое воздействие солей в почвенном растворе. Помимо этого, избыточное количество соли в почвах приводит еще к ряду негативных последствий. Дальнейшее использование такого грунта не представляется возможным [1].

Засоление приводит к снижению плодородия почвы, ограничивая ресурсное использование, и оказывает глубокое воздействие на все стороны жизнедеятельности растений [2]. При этом происходит изменение, как структуры растений, так и функций в целом. Также известно, что повышенное содержание ионов, в течение продолжительного времени, в почве оказывает негативное воздействие на многие физиологические процессы растений [3].

Солеустойчивость растений – это их способность противостоять засолению, не снижая интенсивности течения основных физиологических процессов [4]. Соль отрицательно влияет на растительность, в результате воздействия соли на растения, появляются симптомы продолжительного токсического эффекта – пережженные или коричневые листья. Воздействие хлоридов нарушает нормальные процессы дыхания и фотосинтеза растений.

Небольшое количество соли, поглощенное корнями растений может привести к преждевременному пожелтению листьев, а также к раннему опадению листвы осенью [5].

Целью данной работы являлось изучение биохимических особенностей растений в условиях морского засоления. В рамках исследования были поставлены следующие задачи: определить содержание ионов хлора, кальция и магния в надземной части исследуемых растений, определить общую кислотность и щелочность, а также определить содержание водорастворимых белков и карбоновых кислот, таких как щавелевая, яблочная, лимонная, янтарная.

Объекты и методы. В качестве объектов исследования нами были выбраны представители разных видов растений, произрастающих на морских побережьях – Колосняк мягкий (*Leymus mollis*), Лигустикум шотландский (*Ligusticum scoticum*), Гонкения продолговатолистная (*Honckenya oblongifolia*).

Содержание общей щелочности, хлорид ионов, кальция и магния, общей щелочности и кислотности определялись методами титрования. Содержание водорастворимых белков определяли методом спектрофотометрии, содержание карбоновых кислот методом высокоэффективной жидкостной хроматографии.

Результаты и обсуждение. В таблице 1 представлены данные по общей щелочности надземных частей исследуемых растений.

Таблица 1 – Общая щелочность надземных частей исследуемых растений

Растения (место отбора)	НСО ₃ ⁻ мг-экв/100г
<i>Leymus mollis</i> (10 км от р.Яна, восточнее от переправы)	61,63
<i>Leymus mollis</i> (окрестность п.Ола)	51,79
<i>Leymus mollis</i> (устье р.Магаданка)	54,35
<i>Leymus mollis</i> (устье ручья "Холодный")	47,62
<i>Honckenya oblongifolia</i> (окрестность п.Ола)	49,5
<i>Honckenya oblongifolia</i> (10 км от р.Яна, восточнее от переправы)	47,61
<i>Honckenya oblongifolia</i> (вдоль устья р.Дубча)	51,9
<i>Honckenya oblongifolia</i> (устье р.Магаданка)	50,7
<i>Ligusticum scolicum</i> (устье р.Магаданка)	41,42
<i>Ligusticum scolicum</i> (устье ручья "Холодный")	45,36
<i>Ligusticum scolicum</i> (10 км от р.Яна, восточнее переправы)	47,8
<i>Ligusticum scolicum</i> (200 м. от устья р.Дубча)	50,8
<i>Ligusticum scolicum</i> (окрестность поселка Ола)	41,67

Исследуемые виды отличаются по накоплению гидрокарбонатов, у *Leymus mollis* наблюдается повышенное содержание ионов, а минимальное у *Ligusticum scoticum*.

В таблице 2 представлено содержание хлорид ионов.

Таблица 2 – Содержание хлорид ионов в надземных частях исследуемых растений

Растения (место отбора)	Cl ⁻ мг-экв/100г
<i>Leymus mollis</i> (10 км от р.Яна, восточнее от переправы)	39,76
<i>Leymus mollis</i> (окрестность п.Ола)	32,67
<i>Leymus mollis</i> (устье р.Магаданка)	41,5
<i>Leymus mollis</i> (устье ручья "Холодный")	38,49
<i>Honckenya oblogipholia</i> (окрестность п.Ола)	46,34
<i>Honckenya oblogipholia</i> (10 км от р.Яна, восточнее от переправы)	55,56
<i>Honckenya oblogipholia</i> (вдоль устья р.Дубча)	51,9
<i>Honckenya oblogipholia</i> (устье р.Магаданка)	42,94
<i>Ligusticum scolicum</i> (устье р.Магаданка)	53,65
<i>Ligusticum scolicum</i> (устье ручья "Холодный")	45,36
<i>Ligusticum scolicum</i> (10 км от р.Яна, восточнее переправы)	55,38
<i>Ligusticum scolicum</i> (200 м. от устья р.Дубча)	51,51
<i>Ligusticum scolicum</i> (окрестность поселка Ола)	45,24

У растений вида *Ligusticum scoticum*, *Honckenya oblongifolia* приблизительно одинаковое содержание хлорид ионов, а у *Leymus mollis* минимальное.

В таблице 3 представлены данные о содержании ионов кальция магния.

Таблица 3 – Содержание ионов кальция и магния в надземных частях исследуемых растений

Растения (место отбора)	Ca ⁺² мг-экв/100г	Mg ⁺² мг-экв/100г
<i>Leymus mollis</i> (10 км от р.Яна, восточнее от переправы)	29,82	23,86
<i>Leymus mollis</i> (окрестность п.Ола)	31,87	19,92
<i>Leymus mollis</i> (устье р.Магаданка)	27,67	21,74
<i>Leymus mollis</i> (устье ручья "Холодный")	33,73	13,89
<i>Honckenya oblogipholia</i> (окрестность п.Ола)	19,8	9,9
<i>Honckenya oblogipholia</i> (10 км от р.Яна, восточнее от переправы)	23,81	9,92
<i>Honckenya oblogipholia</i> (вдоль устья р.Дубча)	23,95	11,98
<i>Honckenya oblogipholia</i> (устье р.Магаданка)	15,9	15,9
<i>Ligusticum scolicum</i> (устье р.Магаданка)	29,59	11,83
<i>Ligusticum scolicum</i> (устье ручья "Холодный")	25,64	13,81
<i>Ligusticum scolicum</i> (10 км от р.Яна, восточнее переправы)	25,9	9,96
<i>Ligusticum scolicum</i> (200 м. от устья р.Дубча)	33,86	15,94
<i>Ligusticum scolicum</i> (окрестность поселка Ола)	17,86	17,86

У *Honckenya oblongifolia* при высоком содержании хлорида установлено низкое накопление кальция и магния, в отличии от *Ligusticum scoticum*. Накопление хлорид ионов рассматриваем как маркер уровня засоления.

В таблице 4 представлены данные по содержанию карбоновых кислот.

Таблица 4 – Содержание карбоновых кислот, мг/100 г.

Растения (место отбора)	Содержание Щавелевой кислоты, мг/100 г.	Содержание Яблочной кислоты, мг/100 г.	Содержание лимонной кислоты, мг/100 г.	Содержание янтарной кислоты, мг/100 г.
<i>Leymus mollis</i> (10 км от р.Яна, восточнее от переправы)	3,9	18,55	3,47	9,84
<i>Leymus mollis</i> (окрестность п.Ола)	1,81	2,96	16,41	1,25
<i>Leymus mollis</i> (устье р.Магаданка)	2,54	17,46	28,81	2,67
<i>Leymus mollis</i> (устье ручья «Холодный»)	1,4	21,76	19,29	3,62
<i>Honckenya oblogipholia</i> (окрестность п.Ола)	2,13	15,75	1,92	2,56
<i>Honckenya oblogipholia</i> (10 км от р.Яна, восточнее от переправы)	17,56	20,41	13,4	4,95
<i>Honckenya oblogipholia</i> (вдоль устья р.Дубча)	54,73	12,85	5,33	2,73
<i>Honckenya oblogipholia</i> (устье р.Магаданка)	10,85	19,92	8,88	5,32
<i>Ligusticum scolicum</i> (устье р.Магаданка)	1,75	5,77	2,92	1,44
<i>Ligusticum scolicum</i> (устье ручья «Холодный»)	3,79	20,7	16,36	3,83
<i>Ligusticum scolicum</i> (10 км от р.Яна, восточнее переправы)	2,79	12,78	6,31	2,72
<i>Ligusticum scolicum</i> (200 м. От устья р.Дубча)	1,16	8,86	3,16	2,61
<i>Ligusticum scolicum</i> (окрестность поселка Ола)	1,17	9,31	4,8	1,71

У *Honckenya oblongifolia* наблюдается более высокое содержание карбоновых кислот, особенно щавелевой, что можно считать фактором осмопротекции. Далее в таблице 5 указаны данные по общей кислотности.

Таблица 5 – Общая кислотность надземных частей исследуемых растений

<i>Leymus mollis</i> (10 км от р.Яна, восточнее от переправы)	544
<i>Leymus mollis</i> (окрестность п.Ола)	464
<i>Leymus mollis</i> (устье р.Магаданка)	576
<i>Leymus mollis</i> (устье ручья "Холодный")	448
<i>Honckenya oblogipholia</i> (окрестность п.Ола)	448
<i>Honckenya oblogipholia</i> (10 км от р.Яна, восточнее от переправы)	480

Таблица 5 – Продолжение

<i>Honckenya oblogipholia</i> (вдоль устья р.Дубча)	520
<i>Honckenya oblogipholia</i> (устье р.Магаданка)	552
Растения (место отбора)	мг-экв/100г
<i>Ligusticum scolicum</i> (устье р.Магаданка)	288
<i>Ligusticum scolicum</i> (устье ручья "Холодный")	720
<i>Ligusticum scolicum</i> (10 км от р.Яна, восточнее переправы)	640
<i>Ligusticum scolicum</i> (200 м. от устья р.Дубча)	672

При сравнении данных по карбоновым кислотам и общей кислотности, представленной в таблице 5 установлено, что у *Ligusticum scoticum* кислотность связана с другими кислотами, такими как щавелево-уксусная, фумаровая, изолимонная и др.

В таблице 6 указано содержание водорастворимых белков.

Таблица 6 – Содержание водорастворимых белков в надземных частях исследуемых растений, мг/100 г.

Растения(место отбора)	Содержание водорастворимых белков	t _{оп.}	t _{ст.}
<i>Leymus mollis</i> (10 км от р.Яна, восточнее от переправы)	5,17 ± 0,007	712,3	4,3
<i>Leymus mollis</i> (окрестность п.Ола)	5,03 ± 0,005	712,3	
<i>Leymus mollis</i> (устье р.Магаданка)	5,85 ± 0,003	712,3	
<i>Leymus mollis</i> (устье ручья "Холодный")	4,46 ± 0,62	712,3	
<i>Honckenya oblogipholia</i> (окрестность п.Ола)	5,55 ± 0,003	712,3	
<i>Honckenya oblogipholia</i> (10 км от р.Яна, восточнее от переправы)	5,47 ± 0,005	712,3	
<i>Honckenya oblogipholia</i> (вдоль устья р.Дубча)	8,3 ± 0,006	712,3	
<i>Honckenya oblogipholia</i> (устье р.Магаданка)	8,9 ± 0,005	712,3	
<i>Ligusticum scolicum</i> (устье р.Магаданка)	9 ± 0,023	712,3	
<i>Ligusticum scolicum</i> (устье ручья "Холодный")	8,11 ± 0,01	712,3	
<i>Ligusticum scolicum</i> (10 км от р.Яна, восточнее переправы)	8,34 ± 0,012	712,3	
<i>Ligusticum scolicum</i> (200 м. от устья р.Дубча)	8,34 ± 0,005	712,3	
F _{оп.}	93,5		
F _{ст.}	1,79		
НСР	1,1		

По содержанию белков *Honckenya oblongifolia* и *Ligusticum scoticum* отличаются повышенным накоплением в отличии от *Leymus mollis* что также является осмопротекторной функцией.

Закключение. Исследуемые виды отличались накоплением хлорид ионов, кальция, магния и общей щелочностью. Также содержание ионов варьировало в зависимости от места произрастания растения. Карбоновые кислоты и водорастворимые белки выполняют роль осмопротекторов, поскольку в наибольших концентрациях накапливаются у видов с повышенным содержанием хлоридов.

Библиографический список

1. Ковда В.А., Розанов Б.Г. Кислотность и щелочность почв// Почва и почвообразование. - М., 1988. - С. 194-203.
2. Иванов В.В, Евграшкина Т.Н., Бойкова О.И., Жуков Н.Н. Засоление почвы и его влияние на растения // Известия Тульского государственного университета. - Науки о Земле. - 2020, №3. - С. 28-42
3. Заславская Н.В. Экологическая характеристика галофитов// Флора и растительность засоленных приморских экотопов западного побережья белого моря. - П., 2007. - С. 10-13.
4. Иванов В.В, Евграшкина Т.Н., Бойкова О.И., Жуков Н.Н. Засоление почвы и его влияние на растения//Известия Тульского государственного университета. Науки о Земле. - 2020, №3. - С. 28-42
5. Якушкина Н.И. Физиология растений. - М.: Изд-во Просвещение, 1980. - 154 С.

ВЛИЯНИЕ КОРО-ДРЕВЕСНЫХ ОТХОДОВ НА АГРОХИМИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА РЕКУЛЬТИВАЦИОННЫХ ГРУНТОВ

Зубова Г.С., Кайгородов Р.В.

Пермский государственный национальный исследовательский университет, Пермь, Россия

Аннотация. Одной из главных экологических проблем, связанных с коро-древесными отходами (КДО) является их накопление, при котором образуются огромные короотвалы, негативно воздействующие на окружающую среду. В данной статье исследовано, как коро-древесные отходы влияют на агрохимические свойства рекультивационных грунтов.

Ключевые слова: коро-древесные отходы, кислотность, биологическая активность почв

THE EFFECT OF BARK AND WOOD WASTE ON THE AGROCHEMICAL PROPERTIES OF RECLAMATION SOILS

Zubova G.S., Kaigorodov R.V.

Perm State National Research University, Perm, Russia

Annotation. One of the main environmental problems associated with bark and wood waste is their accumulation, which forms huge bark dumps that negatively affect the environment. This article examines how bark and wood waste affect the agrochemical properties of reclamation soils.

Key words: bark-wood waste, acidity, biological activity of soils

Введение. Одним из мало использующихся отходов деревообрабатывающей промышленности является кора. Химический состав коры существенно отличается от состава древесины. В ней содержится гораздо меньше целлюлозы и значительно больше экстрактивных и минеральных веществ [1].

Кородревесные отходы (сокращённо КДО) представляют собой древесные остатки разного размера, характера и степени разложения в сочетании с перегноем, формирующимся за счет естественных процессов разложения органических остатков растительного происхождения [2].

Проблема утилизации коры и ликвидации отвалов КДО актуальна практически для всех лесоперерабатывающих предприятий. Сегодня основным методом утилизации коры в больших количествах при сравнительно простом процессе является её сжигание с целью получения тепловой энергии [3]. Накопление больших объемов КДО, оказывающих негативное влияние на объекты окружающей среды (грунтовые воды, почвенный покров), требует разработки способов их безопасной утилизации, переработки и рационального использования [4]. Одним из основных направлений использования КДО является их применение в качестве почво-грунтов или в производстве органических и органоминеральных удобрений [5].

Актуальность данной работы связана с разработкой рекультивационных грунтов на основе КДО и грунтов различного происхождения и оценкой агрохимических свойств, получаемых грунтов.

Целью являлось изучение влияния кородревестных отходов на агрохимические свойства и биологическую активность грунтов. В ходе исследования были поставлены следующие задачи: подготовить грунты на основе КДО и глины с разными соотношениями, дозами извести и азотно-калийных удобрений; провести анализ показателей кислотности полученных грунтов; определить содержание нитратов в исследованных грунтах и провести оценку способов оптимизации агрохимических свойств грунтов на основе КДО.

Объекты и методы. В качестве объектов исследования использовались грунты состоящие из коро-древесных отходов 10% и 40% и глины – 90% и 60%. Образцы КДО взяты из недействующего короотвала г.Краснокамск. При определении актуальной и обменной кислотности, а также содержания нитратов в грунте использовали иономер-универсальный. В работе использовались методы по определению биологической активности почв. Обработку данных проводили в программе Past 3.16 с использованием методов описательной статистики и дисперсионного анализа.

Результаты и обсуждения. Кислотность изменялась от слабокислой до нейтральной. Нейтральную кислотность имеют варианты с известкованием, а слабокислую кислотность имеют варианты с содержанием КДО 40% (т.к. кислые). При определении обменной кислотности можно отметить, что кислотность также изменялась от слабокислой до нейтральной. В образцах с известкованием (CaCO_3) наблюдается нейтральный уровень. А в вариантах с содержанием КДО 40% (11, 13, 15) слабокислый уровень, слабая потребность в известковании. Результаты представлены в таблице 1.

Таблица 1 – Показатели кислотности исследуемых грунтов

Варианты	Актуальная кислотность, $pH_{\text{вод}}$	Обменная кислотность, $pH_{\text{сол}}$
0 - Контроль глина 100 г	7,35	5,71
1 - Контроль КДО (10%) + глина	6,64	5,75
2 - КДО 10% - CaCO_3 (210 мг)	7,22	6,31
3 - КДО 10% - CaCO_3 (420 мг)	7,25	6,40
4 - КДО 10% - CaCO_3 (840 мг)	7,41	6,56
5 - КДО 10% - KNO_3 (60 мг)	6,63	5,79
6 - КДО 10% - KNO_3 (120 мг)	6,49	5,73
7 - КДО 10% - KNO_3 (180 мг)	6,63	5,89
8 - КДО 10% - CaCO_3 + KNO_3 (240-60 мг)	7,10	6,24
9 - КДО 10% - CaCO_3 + KNO_3 (420-120 мг)	6,92	6,37
10 - КДО 10% - CaCO_3 + KNO_3 (840-180 мг)	7,17	6,64

Таблица 1 – Продолжение

Варианты	Актуальная кислотность, $pH_{\text{вод}}$	Обменная кислотность, $pH_{\text{сол}}$
11 - КДО (30%)	5,64	5,21
12 - КДО (40%)	5,48	4,95
13 -КДО (40%) - CaCO_3 (420 мг)	5,67	5,19
14 -КДО (40%) - KNO_3 (120 мг)	5,26	4,94
15 - КДО (40%) - $\text{CaCO}_3 + \text{KNO}_3$ (420-120 мг)	5,85	5,1

Наибольшее содержание нитратов наблюдается в вариантах с наибольшей дозировкой нитрата калия, это варианты 7, 10, 14 и 15 (Чем ниже значение, тем выше содержание нитратов в образце, т.к. содержание нитратов это отрицательный логарифм от концентрации). Внесение (известии) удобрений увеличивает содержание нитратов (это связано с улучшением микробиологической активности азотфиксации и нитрификации). Результаты представлены в таблице 2.

Таблица 2 – Содержание нитратов в исследуемых грунтах

Варианты	Содержание нитратов ($p\text{NO}_3$)
0 - Контроль глина 100 г	4,60
1 - Контроль КДО (10%) + глина	4,19
2 - КДО 10% - CaCO_3 (210 мг)	3,80
3 - КДО 10% - CaCO_3 (420 мг)	3,90
4 - КДО 10% - CaCO_3 (840 мг)	3,74
5 - КДО 10% - KNO_3 (60 мг)	3,66
6 - КДО 10% - KNO_3 (120 мг)	3,12
7 - КДО 10% - KNO_3 (180 мг)	2,7
8 - КДО 10% - $\text{CaCO}_3 + \text{KNO}_3$ (240-60 мг)	3,3
9 - КДО 10% - $\text{CaCO}_3 + \text{KNO}_3$ (420-120 мг)	3,0
10 - КДО 10% - $\text{CaCO}_3 + \text{KNO}_3$ (840-180 мг)	2,7
11 - КДО (30%)	3,5
12 - КДО (40%)	3,43

Таблица 2 – Продолжение

Варианты	Содержание нитратов (pNO3)
13 -КДО (40%) CaCO ₃ (420 мг)	3,25
14 -КДО (40%) KNO ₃ (120 мг)	2,60
15 - КДО (40%) CaCO ₃ + KNO ₃ (420-120 мг)	2,60

В таблице 3 представлены результаты по биологической активности исследуемых грунтов. Наибольшее количество углекислого газа, выделившегося с единицы массы почвы за определенный промежуток времени наблюдается в вариантах контроль, т.к. глина карбонатная и в ходе анализа, происходит разрушение карбонатов. В вариантах с КДО на фоне внесения извести и нитрата калия эмиссия CO₂ обусловлена биологическими процессами. По активности каталазы наибольшее содержание наблюдается в вариантах контроль. Внесение извести и удобрений позитивно отразилось на показателях биологической активности.

Таблица 3 – Показатели биологической активности исследуемых грунтов

Варианты	Выделение CO ₂ , мл/г час	Активность каталазы, мл O ₂ /мин
0 - Контроль глина 100 г	4,86	4,4
1 - Контроль КДО (10%) + глина	4,64	4
2 - КДО 10% - CaCO ₃ (210 мг)	4,48	1,8
3 - КДО 10% - CaCO ₃ (420 мг)	4,68	3,6
4 - КДО 10% - CaCO ₃ (840 мг)	4,16	2,8
5 - КДО 10% - KNO ₃ (60 мг)	4,40	-
6 - КДО 10% - KNO ₃ (120 мг)	4,42	2,7
7 - КДО 10% - KNO ₃ (180 мг)	4,70	2,8
8 - КДО 10% - CaCO ₃ + KNO ₃ (240-60 мг)	1,42	2,7
9 - КДО 10% - CaCO ₃ + KNO ₃ (420-120 мг)	4,12	3,6
10 - КДО 10% - CaCO ₃ + KNO ₃ (840-180 мг)	4,62	3
11 - КДО (30%)	3,92	2,7
12 - КДО (40%)	2,98	3,9
13 -КДО (40%) CaCO ₃ (420 мг)	3,80	2,4

Таблица 3 – Продолжение

Варианты	Выделение CO ₂ , мл/г час	Активность каталазы, мл O ₂ /мин
14 -КДО (40%) KNO ₃ (120 мг)	3,88	1,5
15 - КДО (40%) CaCO ₃ + KNO ₃ (420-120 мг)	4,18	1,8

Выводы.

1. Внесение извести приводит к созданию нейтральной кислотности в грунтах
2. За счет известкования улучшаются микробиологические процессы, участвующие в балансе азота
3. Внесение азотно-калийных удобрений приводит к повышению уровня нитратов в грунте
4. Внесение КДО в дозировке 40% в грунт без извести и удобрений приводит к повышению уровня нитратов
5. Внесение извести и удобрений негативно отразился на интенсивности дыхания и активности каталазы

Библиографический список

1. Воробьева Д.Н. Оценка потенциального плодородия субстратов из твердых отходов целлюлозно бумажной промышленности для использования в лесовыращивании: дис. ...канд.биол.наук.М. – 2015. – С.202.
2. Ерунцова Е. Р., Анчугова Е. М. Кордревесные отходы: накопление и пути утилизации // Актуальные проблемы биологии и экологии: Материалы докладов XXVII Всероссийской молодежной научной конференции (с элементами научной школы), Сыктывкар, 16–20 марта 2020 года / Отв. редактор С. В. Дегтева. Сыктывкар: Институт биологии Коми научного центра Уральского отделения РАН. – 2020. – С. 106-108.
3. Карманова А. В., Кочева Л. С. Направления использования кордревесных отходов различного срока хранения // Утилизация отходов производства и потребления: инновационные подходы и технологии: Материалы Всероссийской научно-практической конференции с международным участием, Киров, 04 декабря 2019 года. Киров: Вятский государственный университет. – 2019. – С. 176-179.
4. Кайгородов Р. В. Влияние кордревесных отходов на биологическую активность техногенных поверхностных образований придорожных пространств // Успехи современного естествознания. – 2019. – № 11. – С. 83-88.
5. Кайгородов Р. В., Чудинова Л. А., Москвина Н. В. Спецглавы физических и химических наук: инструментальные методы исследований // Учебное пособие. – Перм. гос. нац. исслед. ун-т.– Пермь. – 2015. – С.81.

ОЦЕНКА СОСТОЯНИЯ НЕФТЕЗАГРЯЗНЕННОЙ РЕКУЛЬТИВИРОВАННОЙ СЕРОГУМУСОВОЙ ПОЧВЫ МЕТОДОМ ФИТОТЕСТИРОВАНИЯ

Ильина В.Я.¹, Сапцын Р.В.²

¹ ПГНИУ, Лицей с углублённым изучением отдельных предметов

² Пермский государственный национальный исследовательский университет, Пермь

Аннотация. В работе путём экспериментов выявлено, что почва после нефтеразлива и последовавших за ним рекультивационных работ оптимальна для поддержания растительной жизни. Методы включают в себя фитотестирование кресс-салатом и измерение его редокс-активности.

Ключевые слова: фитотестирование, почва, нефтеразлив, рекультивация, редокс-активность

ASSESSMENT OF OIL CONTAMINATED REMEDIATED GRAY-HUMUS SOIL BY PHYTOTESTING METHOD

Irina V.Y.¹, Saptsyn R.V.²

¹ Perm State University Lyceum with enhanced education of particular subjects

² Perm State National Research University

Abstract. The work revealed through experiments that the soil after the oil spill and subsequent reclamation work is optimal for supporting plant life. Methods include phytotesting with watercress and measuring its redox activity.

Key words: phytotesting, soil, oil spill, remediation, redox potential

В связи с недобросовестным отношением работников нефтедобывающих предприятий, несоблюдением техники безопасности и аварийными ситуациями случаются повреждения в нефтепроводах и трубах, провоцирующие аварийные разливы нефти и нефтепродуктов в почвенные слои. Под действием химико-физических свойств вылитой нефти в негативную сторону изменяется состояние почвы, а за ними и здоровье биологических систем и экосистем. Фракции аккумулируются в почвенных горизонтах, вызывая нарушение воздушно-водного режима, накопление и увеличение почвенных структурных отдельностей, изменение гумусного состава, что влияет на питание, рост и жизнедеятельность различных организмов. [1] Согласно принятому национальному стандарту для поврежденных нефтеразливом земель проводится их техническая рекультивация. [2] Однако порой эффективность рекультивации неочевидна; в таком случае она доказывается биотестированием. Одно из актуальных и наиболее точных для определения токсичности почвы направлений этого метода – фитотестирование кресс-салатом (*Lepidium sativum*).

Нами была поставлена цель – определить экологическое состояние нефтезагрязнённой рекультивированной серогумусовой почвы методом фитотестирования.

Объектом исследования служит почва, подвергнутая рекультивации вследствие несанкционированной врезки в провод на предприятии около п. Мулянка в 2020 году, предметом – ее экологическое состояние. По «Классификации и диагностике почв России»

2004 года почвенный горизонт был определен как серогумусовый (дерново-подзолистый). [3] Уточнено, что в «Классификации почв СССР» ему соответствует оподзоленный подтип дерново-карбонатных почв. [4]

В октябре 2023 года для тестирования были отобраны 14 проб почв: с двух разных глубин на семи участках (0-20 и 20-40 см). Помимо этого, взято было также 5 проб с фоновых участков, не затронутых нефтяным загрязнением и, следовательно, рекультивацией. Пробы были высушены, просеяны через сито с отверстиями 5 мм и перемешаны.

На навесках по 100 грамм от проб, помещенных в полистироловые контейнеры, были посажены семена кресс-салата. По реакциям надземной части, измерению массы и высоты стебельков проводилась оценка состояния почвы. Исследования фитотестированием и редокс-активности проводились трёхкратно для каждой пробы для воспроизводимости результатов. В качестве субстрата для тест-контроля был применен вермикулит с питательным раствором Кнопа.

Замеры высоты и массы 7-дневных проростков кресс-салата проводились в 25-кратной повторности. Значимость различий в замерах была оценена по t-критерию Стьюдента.

Редокс-активность растительных вытяжек изучали по методу Петта в модификации Прокашева в трехкратной повторности, значимость различий была проверена с помощью H-критерия Краскела — Уоллиса, уровень значимости $P < 0,05$.

Остаточность нефтепродуктов после их трансформации оценивалась по ПНД Ф 16.1:2.2.3.3.64-10. Относительное содержание нефтепродуктов сравнили с региональным нормативом допустимого остаточного содержания нефтепродуктов для исследуемого типа почвы. [6]

4 года спустя после рекультивационных работ на разных точках участка остаётся небольшой уровень нефтепродуктов, в общем не превышающий 140 мг/кг (рис. 1) и, как следствие, норматив допустимого остаточного содержания (2400 мг/кг)

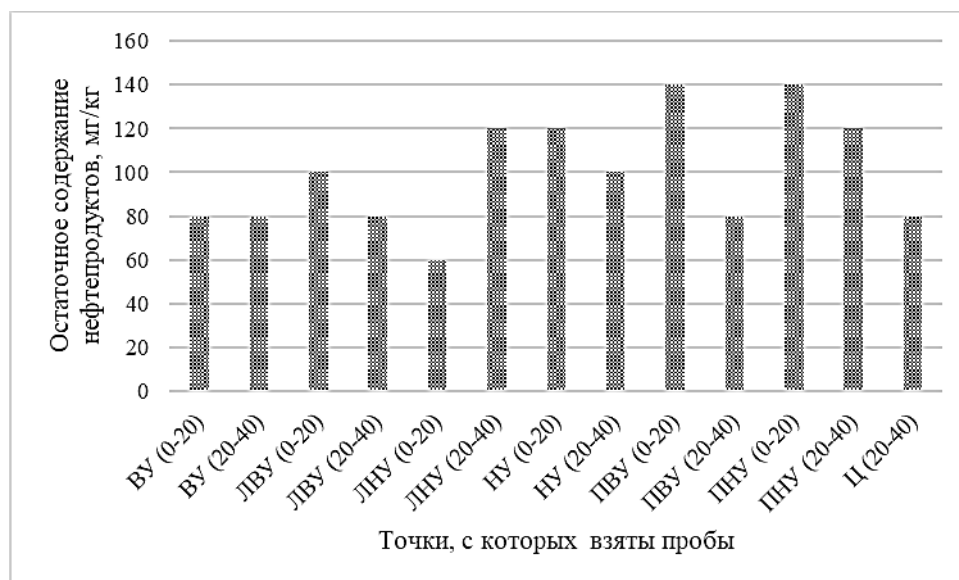


Рисунок 1 – Остаточное содержание нефтепродуктов.

Масса выращенных на рекультивированном участке ростков кресс-салата по-разному сравнивается с контрольной пробой в зависимости от точки (рис. 2). Чем ниже взята проба,

тем лучше набирают массу растения у левой нижней и верхней, верхней, правой нижней и верхней точек, а у центральной и нижней точек растения лучше растут на пробах, взятых выше. Большинство выращенных проб показывает значения на уровне контроля, либо выше его, такие пробы, как центр 20-40, левый верхний 20-40, правый нижний 0-20 и нижний 20-40 показывают массу ростков незначительно ниже. Поскольку масса не понижается на больше, чем 30 процентов от контроля, то на основе этой характеристики почву можно считать экологически безопасной. [5]

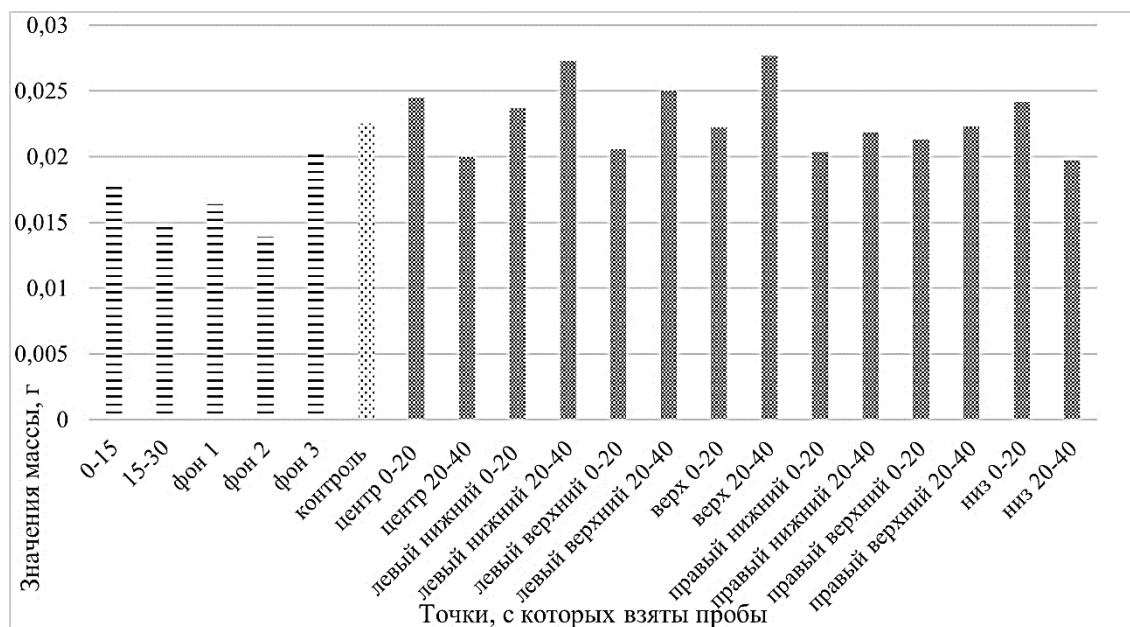


Рисунок 2 – Масса ростков кресс-салата, г.

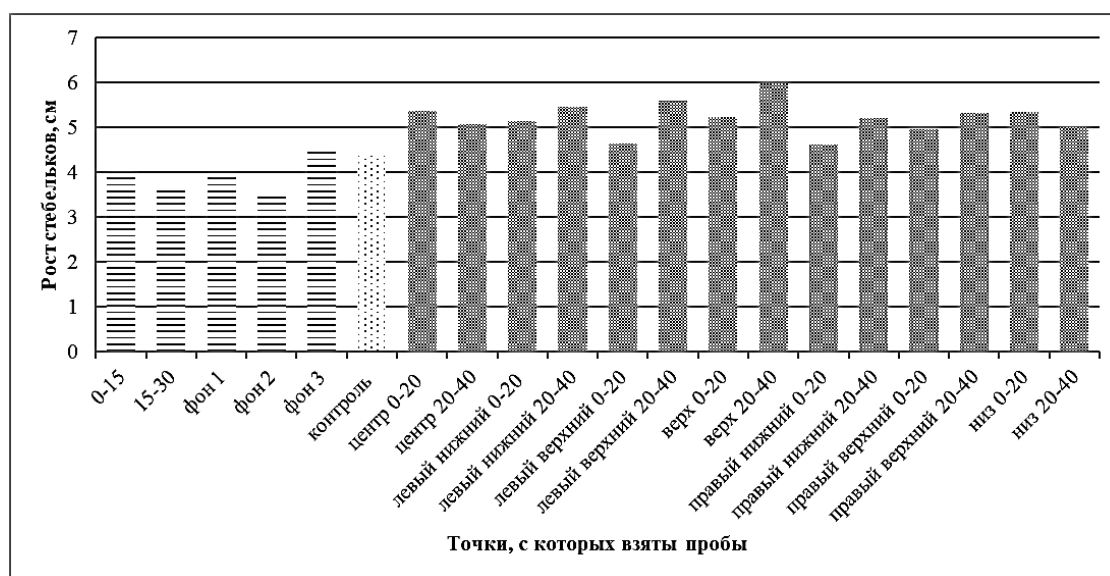


Рисунок 3 – Рост стебельков кресс-салата, см.

Рост стебельков кресс-салата на нефтезагрязнённом грунте показывает данные лучше, чем контроль (рис. 3). Ни одна проба не показала результат ниже контрольной тест-культуры. Это также говорит об отсутствии токсичности оставшихся в почве нефтепродуктов.

Редокс-активность кресс-салата на рекультивированном участке заметно увеличилась, что обуславливается наличием содержания остаточных нефтепродуктов (рис. 4). Однако, по

сравнению с контрольной величиной, она увеличилась не на более, чем 29,15 % (нижняя точка, 0-20 см). Согласно критериям методики, увеличение показателей редокс-активности на 10-30 % свидетельствует об умеренной токсичности почвы.

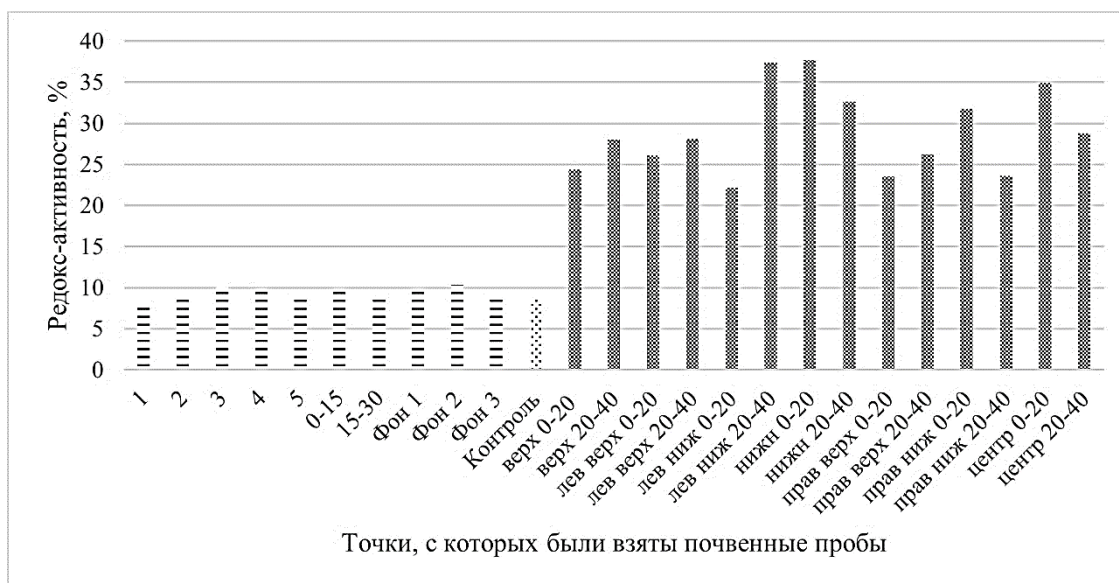


Рисунок 4 – Редокс-активность стебельков кресс-салата, %.

Таким образом, на основе гравиметрического метода, экспериментов с ростками и стебельками кресс-салата, можно сказать, что 4 года спустя после рекультивационных работ растения показывают нормальные и даже выше нормального значения роста и массы; их редокс-активность говорит об умеренной токсичности почвы; остаточное содержание нефтепродуктов не превышает региональной нормы. Экологическое состояние нефтезагрязнённой рекультивированной серогумусовой почвы может считаться удовлетворительным.

Библиографический список

1. Шамраев А. В., Шорина Т. С. Влияние нефти и нефтепродуктов на различные компоненты окружающей среды // Вестник ОГУ. 2009. №6.
2. ГОСТ Р 57447-2017. Наилучшие доступные технологии. Рекультивация земель и земельных участков, загрязненных нефтью и нефтепродуктами.
3. Классификация и диагностика почв России / Шишов, Тонконогов, Лебедева, Герасимова М. И. и др.; под ред. Г. В. Добровольского. 2 изд. Смоленск: Ойкумена, 2004. 342 с.
4. Классификация и диагностика почв СССР. – М.: Колос, 1977. – 224 с
5. Еремченко О.З., Митракова Н.В. Способ оценки биологической активности и токсичности почв и техногенных почвогрунтов: патент РФ № 2620555. – 2017.
6. Постановление Правительства Пермского края №813-п от 20.12.2018 (с изменениями на 23 декабря 2020 года) «Об утверждении региональных нормативов допустимого остаточного содержания нефти и продуктов ее трансформации в почвах Пермского края и Порядка их применения»

ЭКОЛОГИЧЕСКОЕ СОСТОЯНИЕ ПОЧВ ЖИЛЫХ РАЙОНОВ ГОРОДА ЧАЙКОВСКИЙ

Коровина Е.А., Еремченко О.З.

Пермский государственный национальный исследовательский университет, Пермь

Аннотация. Городские почвы – это изменённые или нарушенные человеком почвы, выполняющие важнейшие экологические функции. Установлено, что в районах многоэтажной застройки г. Чайковский на поверхности залегают органоминеральные или минеральные субстраты, выполняющие функции почв. Они характеризуются преимущественно легким гранулометрическим составом, нейтральной реакцией среды и низкой подвижностью Zn.

Ключевые слова: городские почвы, свойства, фитотестирование

THE ECOLOGICAL STATE OF THE SOILS OF RESIDENTIAL AREAS IN TCHAIKOVSKY

Korovina E.A., Eremchenko O.Z.

Perm State National Research University, Perm, Russia

Abstract. Urban soils are soils modified or disturbed by humans that perform the most important ecological functions. It has been established that in the areas of multi-storey buildings in Tchaikovsky, organomineral or mineral substrates that perform the functions of soils lie on the surface. They are characterized mainly by a light granulometric composition, neutral reaction of the medium and low mobility of Zn.

Key words: urban soils, properties, phytotesting

Городские почвы – это изменённые или нарушенные человеком почвы, выполняющие важнейшие экологические функции по формированию городской среды обитания. Как неотъемлемый компонент наземных экосистем почва обеспечивает условия для всех организмов (растений, животных, микроорганизмов), связанных с ней. Изучение свойств почвы позволяет более глубоко и всесторонне оценить её значение в сохранении экологического благополучия города. Здоровье людей, живущих в городах, напрямую зависит от качества городской среды, в том числе, от состояния почвенного покрова [1,2,3].

Город Чайковский находится на юго-западе Пермского края и построен в 1962 году вблизи Воткинской гидроэлектростанции. Город существует уже более полувека, однако остаются не исследованными биогеохимические составляющие среды обитания жителей, в том числе, городские почвы.

Цель данной работы – описать морфологическое разнообразие и основные свойства (гранулометрический состав, pH, органический углерод, присутствие карбонатов, подвижность цинка (Zn), обеспечение условий для растений) почв районов жилой многоэтажной застройки г. Чайковский.

В 2023 г. на 30-ти участках многоэтажной застройки г. Чайковский были описаны городские почвы. В почвенных пробах определили содержание органического углерода по

методу Тюриня, водородный показатель – потенциометрическим методом, гранулометрический состав – органолептическим методом, присутствие карбонатов – методом вскипания от соляной кислоты, подвижность цинка – с помощью ионоселективного электрода на иономере. Фитотестирование кресс-салатом провели по методике О.З. Еремченко, Н.В. Митраковой [4]. На основе морфологического строения почв определили их положение в современной классификации городских почв [2].

В районах многоэтажной застройки города преобладали урбостратозёмы (рис.1, А). Эти почвы характеризуются отсутствием генетических горизонтов до глубины 0,5 м, обычно представлены культурными отложениями, состоящими из своеобразного пылевато-гумусного субстрата разной мощности и качества с примесью городского мусора [2].

В меньшей степени распространены насыпные минеральные грунты на выравненных грунтовых площадках, созданных при строительстве зданий, сооружений, дорог. В соответствии с классификацией почвоподобных образований они относятся к литостратам [5]. Участие квазизёмов в почвенном покрове – наименьшее; эти почвоподобные гумусированные грунты сформированы путем отсыпки на поверхность торфокомпоста [2,3]. Органо-минеральный слой квазизёмов мощностью в несколько см подстилался негумусированным или слабогумусированным минеральным субстратом.

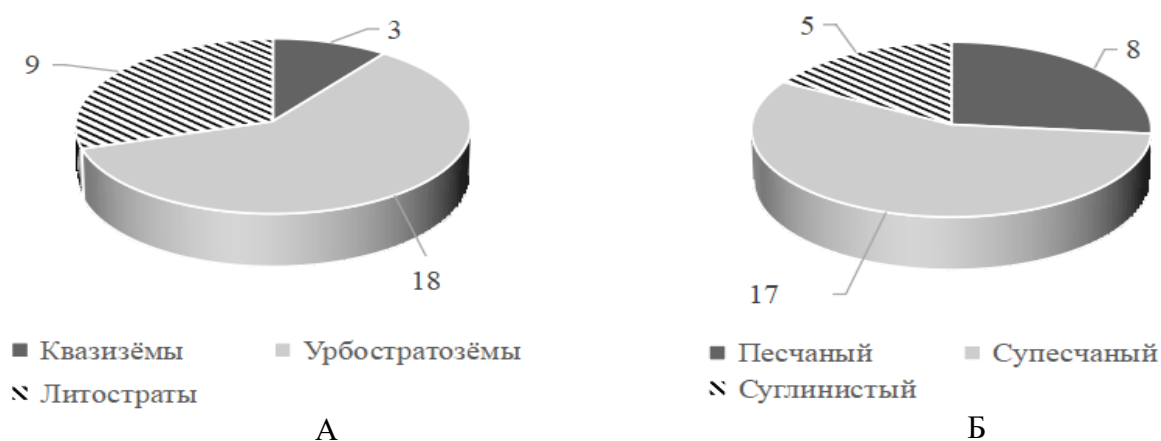


Рисунок 1 – Разнообразие почв (А) и их гранулометрический состав (Б) в районах многоэтажной застройки г. Чайковский.

В районах многоэтажной застройки г. Чайковский преобладали почвы с супесчаным гранулометрическим составом (рис. 2, Б). Значительно реже встречались почвы с суглинистым и песчаным гранулометрическим составом. Песчаные и супесчаные почвы обладают высокой водо- и воздухопроницаемостью, быстро оттаивают и прогреваются весной. Они бесструктурные, бедны гумусом и элементами минерального питания. Преобладание почв с легким гранулометрическим составом обусловлено расположением города на древнеаллювиальных песчаных отложениях террасы р. Камы [3]. Суглинистый гранулометрический состав обеспечивает более благоприятный тепловой и питательный режимы [6]. Суглинистый состав почв г. Чайковский обусловлен, по-видимому, выносом на поверхность подстилающих пород.

Среди исследованных почв преобладали почвы с нейтральной реакцией среды (6,5-7,5 рН), благоприятной для развития растений. Отмечено присутствие почв со слабокислой (6,0 – 6,4 рН) и слабощелочной (7,5 – 8,2 рН) реакцией среды (рис. 2, А).

Большинство почв не содержали карбонаты. В некоторых почвах отмечено слабое вскипание от соляной кислоты; в отдельных пробах наблюдали сильное вскипание, что указывает на значительное содержание карбонатов. Появление карбонатов в городских почвах связывают с карбонатностью строительных материалов и отсыпкой карбонатной щебенки на поверхности почвогрунтов [3].

В верхних слоях почв содержание органического углерода сильно варьирует, в пересчете на гумус эти колебания составили от 0,5% до 12,9%. В равной степени представлены сильно-, средне- и малогумусированные почвы, реже встречались очень мало- и слабогумусированные почвы (рис. 2, Б). Наименее гумусированными были «свежие» литостраты. Максимальное количество гумуса содержали квазизёмы, рекультивированные низинным торфом.

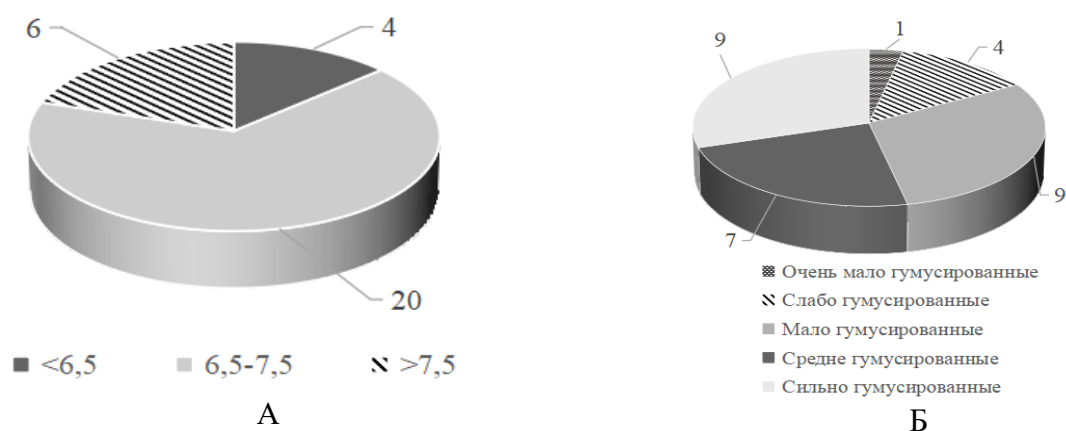


Рисунок 2 – Величина рН (А) и содержание гумуса (Б) в почвах районов многоэтажной застройки г. Чайковский.

Результаты фитотестирования городских почв кресс-салатом показали, что высота и особенно масса растений увеличивались с ростом содержания органического углерода. Согласно полученному уравнению регрессии, масса кресс-салата на 54% обусловлена количеством углерода гумуса (рис. 3, А). Известно, что от количества гумуса в почвах зависит минеральное питание растений, с ним связаны благоприятные водный и воздушный режимы.

Цинк – важнейший биогенный элемент и содержится почти во всех важных ферментах растительной клетки. Цинк повышает засухо-, жаро- и холодостойкость растений. Источниками загрязнения почв цинком являются предприятия цветной металлургии. Органо-минеральные соединения цинка подвижны в почвах и доступны растениям. Большинство видов растений обладает высокой толерантностью к избыточным количествам цинка в почве.

По данным наших исследований подвижность цинка в почвах положительно повлияла на рост и развитие тест-культуры, показатели состояния тест-культуры на 31-37% зависели от доступности растениям цинка.

В почвах подвижность цинка и содержание органического углерода связаны прямой регрессией $y = 5,87 - 0,092 x$; $R^2 = 0,20$; $F = 7,2$; $P = 4,8 \cdot 10^{-6}$ (рис. 3, А). При содержании 0,3% органического углерода подвижность была на порядок ниже, чем при содержании 7,5 % $C_{орг}$. По-видимому, с увеличением количества органического вещества в почве больше

удерживается цинка, в минеральных песках цинк не поглощается, а промывается атмосферными осадками.

По данным наших исследований подвижность цинка положительно повлияла на рост и развитие тест-культуры. Известно, что песчаные почвы бедны микроэлементами, в том числе, цинком (Рис. 3, Б).

Условия для роста тест-культуры на городских почвах были разными. По высоте тест-культуры 7 проб почв имело хорошее состояние, 20 удовлетворительное и 3 неудовлетворительное (вывод сделан относительно тест-контроля). По редокс-активности все городские почвы были не токсичными, т.к. редокс-активность растений на двух почвах не отличалась от тест-контроля, а на остальных – была ниже контрольных значений.

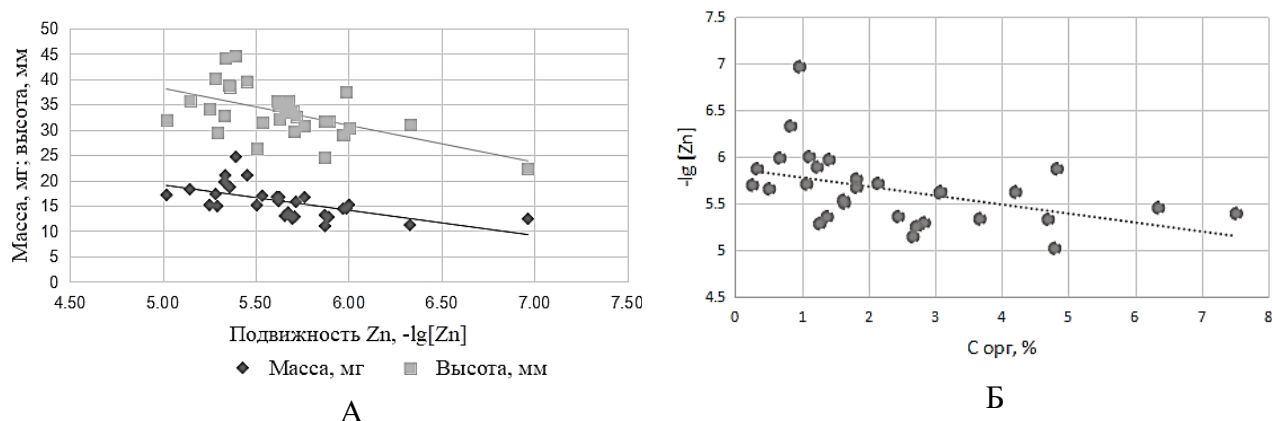


Рисунок 3 – Зависимость массы и высоты растений от подвижности цинка (А) и зависимость между содержанием органического углерода в пробах и подвижностью цинка (Б).

На основании проведенных исследований можно утверждать, что в районах многоэтажной застройки г. Чайковский на поверхности залегают органо-минеральные и минеральные субстраты преимущественно супесчаного и песчаного гранулометрического состава, выполняющие функции почв. По современным классификациям они относятся к урбостратозёмам, квазизёмам и литостратам. Они в основном некарбонатные или слабокарбонатные, реакция почвенной среды варьировала в пределах 6,0–8,2 pH, преобладала нейтральная среда. Встречались как почти негумусированные литостраты, так и сильногумусированные почвы (до 12% гумуса); содержание органического углерода в верхних слоях резко повышалось вследствие рекультивации торфокомпостом. Фитотестирование почв показало, что высота и масса тест-культуры увеличивались с ростом содержания органического углерода и усилением подвижности цинка в городских почвах.

Библиографический список

1. Ковалева Г.В., Старожилов В.Т., Дербенцева А.М., Назаркина А.В., Майорова Л.П., Матвеев Т.И., Семаль В.А., Морозова Г.Ю. Почвы и техногенные поверхностные образования в городских ландшафтах. – Владивосток: Изд-во Дальнаука, 2012. – 159 с.
2. Прокофьева Т.В., Герасимова М.И., Безуглова О.С., Бахматова К.А., Гольева А.А., Горбов С.Н., Жарикова Е.А., Матинян Н.Н., Наквасина Е.Н., Сивцева Н.Е. Введение почв и

почвоподобных образований в классификацию почв России // Почвоведение. – 2014. – № 10. – С. 1155–1164.

3. Еремченко О.З., Шестаков И.Е., Москвина Н.В. Почвы и техногенные поверхностные образования урбанизированных территорий Пермского Прикамья. – Пермь. – 2016. – 252 с.
4. Еремченко О.З., Митракова Н.В. Способ оценки биологической активности и токсичности почв и техногенных почвогрунтов: патент РФ № 2620555. – 2017.
5. Классификация и диагностика почв России. – Смоленск: Ойкумена. – 2004. – 342 с.
6. Агрофизические и агрохимические методы исследования почв: учебно-методическое пособие. – Краснодар. – 2016. – 65 с.

ВЛИЯНИЕ КИСЛОТНОГО И ЩЕЛОЧНОГО СТРЕССА НА КАТАЛАЗНУЮ АКТИВНОСТЬ В *HORDEUM VULGARE* L.

Котельникова О.А., Копысова С.С., Боталова К.И.

Пермский государственный национальный исследовательский университет, Пермь, Россия

Аннотация. Проблема устойчивости растений к изменению pH корневой среды приобретает особую актуальность в контексте широкого влияния человеческой деятельности на окружающую среду. Любое отклонение факторов окружающей среды от нормы приводит к увеличению активных форм кислорода, которые провоцируют развитие окислительного стресса. Изучено изменение динамики каталазной активности у *Hordeum vulgare* L. в ответ на кислотный и щелочной стресс, вызванный изменением pH корневой среды.

Ключевые слова: каталаза, антиоксиданты, щелочной стресс, кислотный стресс

THE EFFECT OF ACID AND ALKALINE STRESS ON CATALASE ACTIVITY IN *HORDEUM VULGARE* L.

Kotelnikova O.A., Kopysova S.S., Botalova K.I.

Perm State National Research University, Perm, Russia

Abstract. The problem of plant resistance to changes in the pH of the root environment is becoming particularly relevant in the context of the widespread impact of human activity on the environment. Any deviation of environmental factors from the norm leads to an increase in reactive oxygen species, which provoke the development of oxidative stress. A change in the dynamics of catalase activity in *Hordeum vulgare* L. has been studied. in response to acid and alkaline stress caused by changes in the pH of the root environment.

Key words: catalase, antioxidants, alkaline stress, acid stress

Введение. Прикрепленный образ жизни растений и быстро изменяющиеся условия внешней среды предполагают эволюцию метаболических процессов, лежащих в основе их роста и развития [1,2]. Щелочная и кислая корневая среда – неблагоприятный фактор для роста и развития растений [3]. Актуальность проблемы устойчивости растений к изменению pH корневой среды связана с распространенным последствие агрогенной и техногенной деятельности человека.

Отклонение любого фактора окружающей среды от оптимума приводит к образованию избыточного количества активных форм кислорода (АФК), что, в свою очередь, ведет к развитию окислительного стресса (ОС) [4]. В процессе эволюции растения сформировали различные регуляторные пути преодоления ОС [5].

Образование АФК генетически запрограммировано. В обычных условиях АФК образуются и взаимопревращаются в реакциях основного метаболизма, а в стрессовых условиях происходит накопление АФК и переориентация растения на более интенсивный вторичный метаболизм [6,7,8,9]. В то же время АФК выполняют дополнительные сигнальные роли в адаптации растений к стрессу. Изучение механизмов этого процесса позволяет

разработать новые способы защиты организмов, в частности, сельскохозяйственных растений, от негативного стрессового воздействия [10].

Для вовлечения АФК в метаболизм, их превращений, а также их нейтрализации при ОС существуют высокомолекулярные антиоксиданты – ферменты антиоксидантной системы (АОС) [11,12,13].

Одним из ключевых ферментов антиоксидантной системы растений является каталаза с широким изоферментным спектром. Из всех белков пероксисом каталаза изучена лучше всего. Одна молекула каталазы способна гидролизовать более 440000 молекул субстрата в секунду. Тот факт, что такая высокая активность фермента присуща всем организмам растительного и животного мира, указывает на значимость катализируемой им реакции для функционирования клеток [14].

Цель нашей работы – изучить изменение активности каталазы в листьях *Hordeum vulgare* L. в ответ на действие щелочного и кислотного стресса, вызванного изменением pH корневой среды. В задачи исследований входило изучить морфометрические показатели растений, определить динамику уровня каталазной активности в течении 48ч после внесения щелочного (pH=10) и кислого (pH=3,5) раствора в корневую среду.

Объекты и методы. В качестве объекта исследования использовали ячмень обыкновенный (*Hordeum Vulgare* L.) сорта Родник Прикамья. Растения выращивали на вермикулите в течение 7-ми дней, затем поливали боратным буфером (pH=10) и ацетатным буфером (pH=3,5), изменяя pH корневой среды.

Высоту и массу растений измеряли в 30-кратной повторности; значимость различий между вариантами оценивали с помощью критерия Стьюдента ($P < 0,05$).

Активность каталазы измеряли через 1, 6, 24 и 48 ч после воздействия стресс-фактора. Каталазную активность определили методом титрования [15]. Метод основан на определении количества пероксида водорода, расщепленного в процессе инкубации с ферментом. Количество H_2O_2 в реакционной смеси определяют титрованием в кислой среде раствором перманганата калия.

Результаты и обсуждение. Спустя 24 ч и 48 ч после внесения кислотного стресса отмечено достоверное снижение высоты растений (Рис.1). В варианте со щелочным стрессом снижение высоты отмечается только через 48 ч после внесения раствора в корневую среду.

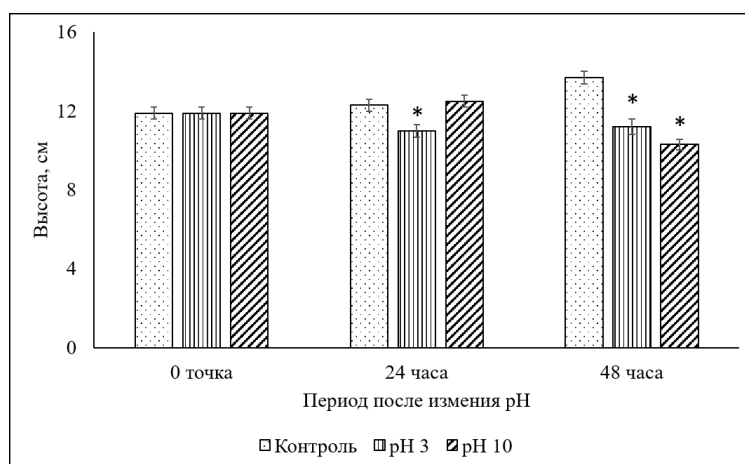


Рисунок 1- Изменение высоты надземной части ячменя при щелочном и кислотном воздействии на корневую среду, * – значимые различия с растениями на нейтральной корневой среды, выявленные с помощью критерия Стьюдента при уровне $P < 0.05$.

Также отмечено достоверное уменьшение массы растений после внесения кислого буферного раствора в корневую среду во все сроки измерения (Рис. 2). При внесении щелочного раствора в корневую среду снижение массы зафиксировано лишь спустя 48 ч.

Данные изменения показателей высоты и массы при щелочном и кислотном воздействии могут быть связаны с нарушением функции поглощения воды корнями. Таким образом, результаты исследования показали, что в условиях кислотного стресса ячмень испытывает угнетение уже спустя 24 ч, после внесения в корневую среду буферного раствора. При воздействии щелочного стресса отмечено снижение морфометрических показателей только через 48 ч после внесения буферного раствора.

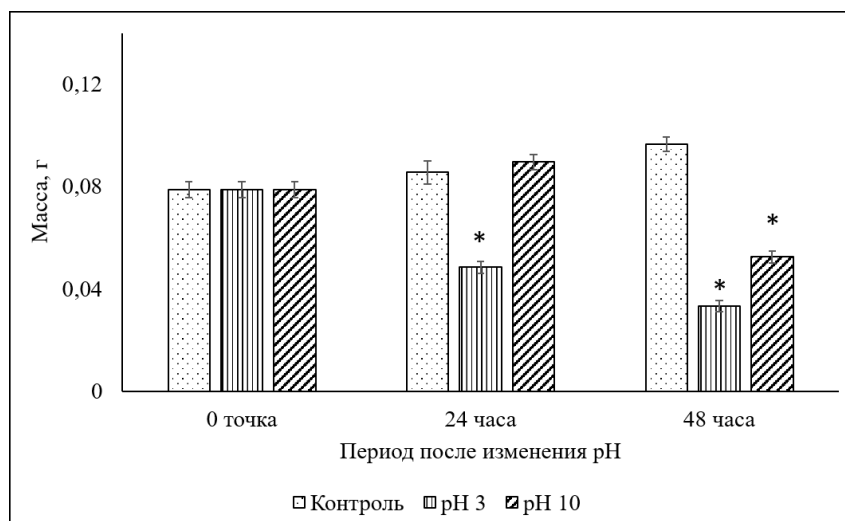


Рисунок 2- Изменение массы надземной части ячменя при щелочном и кислотном воздействии на корневую среду, * – значимые различия с растениями нейтральной корневой среды, выявленные с помощью критерия Стьюдента при уровне $P < 0.05$.

Большое количество имеющихся на данный момент исследований показывают, как ферменты АОС, АО реагируют на изменения условий окружающей среды [16].

К основным ферментам-антиоксидантам клеточных защитных систем относятся супероксиддисмутазы, каталаза и пероксидазы. Каталаза – гемсодержащий фермент, присутствует практически во всех клетках аэробных организмов. Каталаза – маркерный фермент всех типов пероксисом [17]. Пероксид водорода, образующийся при дисмутации супероксида, нейтрализуется либо другими пероксидами, либо ферментом каталазой. Каталаза разлагает пероксид до воды, однако этот фермент в основном активен в пероксисомах, содержание фермента в митохондриях, хлоропластах, эндоплазматическом ретикулуме незначительно, поэтому в других частях клетки пероксид водорода чаще всего нейтрализуется глутатионпероксидазой [18; 19].

Каталаза является одним из наиболее важных антиоксидантных ферментов, изменение активности которого может рассматриваться как ответная реакция растений на действие стрессовых факторов окружающей среды [20].

Нами отмечено снижение каталазной активности при воздействии щелочного раствора на корневую среду в первые сроки измерения, спустя 24 ч и 48ч достоверных отличий от контрольного варианта не выявлено (Рис 3). При воздействии на корневую среду кислым раствором снижение каталазной активности отмечается через 1ч и 48 ч после внесения стрессового фактора, незначительное усиление активности каталазы выявлено лишь спустя 6

ч после внесения раствора в корневую среду. Таким образом при воздействии кислотного и щелочного стрессов не наблюдается усиление активности каталазы в исследуемые нами сроки. Возможно, в эти периоды, для адаптации растений имели значения другие антиоксиданты.

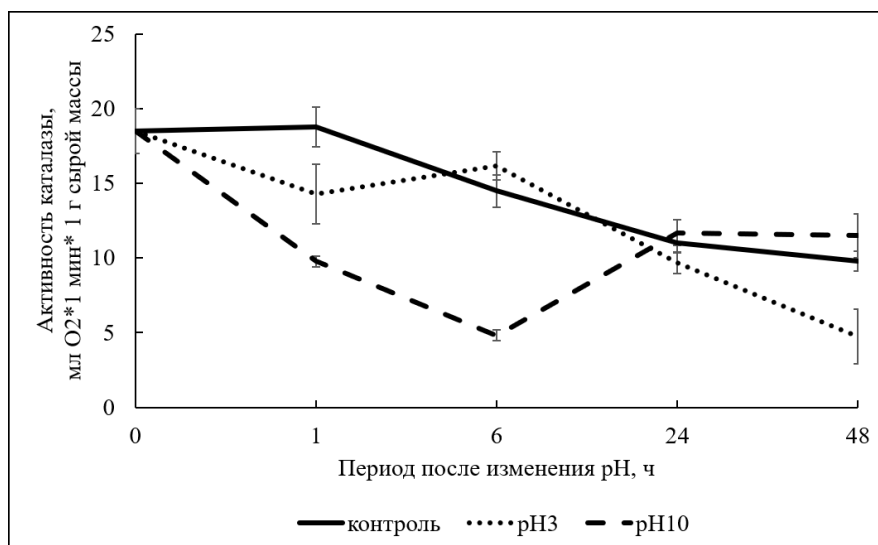


Рисунок 3- Динамика активности каталазы в листьях ячменя, мл O₂*мин*1 г сырой массы.

Закключение. Полученные экспериментальные данные свидетельствуют об угнетении растений ячменя под влиянием щелочного и ксилотного стресса, что проявлялось в снижении массы и длины надземных органов. Активность каталазы незначительно усиливалась лишь в варианте с кислотным стрессом спустя 6 ч после внесения раствора в корневую среду, в остальных вариантах наблюдалось снижение активности данного фермента либо достижение им значений как в контрольном варианте.

Библиографический список

1. Chinnusamy V., Schumaker K., Zhu J. K. Molecular genetic perspectives on cross-talk and specificity in abiotic stress signalling in plants // *Journal Experimental Botany* – 2004. V. 55. – №. 395. P. 225–236.
2. Pitzschke A., Hirt H. Mitogen-activated protein kinases and reactive oxygen species signaling in plants // *Plant Physiol.* – 2006. Vol. 141, – №. 2. P. 351–356.
3. Merry R.H. Acidity and alkalinity of soils // *In Environmental and Ecological Chemistry.* – 2009. V. 2. P. 115–131.
4. Mittler R. ROS are good // *Trends in Plant Science.* – 2017. V. 22. – No. 1. P. 11–19.
5. Креславский В. Д., Лось Д. А., Аллахвердиев С. И., Кузнецов Вл. В. Сигнальная роль активных форм O₂ при стрессе у растений // *Физиология растений.* – 2012. Т. 59. – №. 2. С. 163– 178.
6. Rouhier N., Vlamis-Gardikas A., Lillig C. H., Berndt C., Schwenn J. D., Holmgren A., Jacquot J. P. Characterization of the redox properties of poplar glutaredoxin // *Antioxid. Redox Signal.* – 2003. Vol. 5. – №. 1. P. 15–22.
7. Schürmann P. Redox signaling in the chloroplast: the ferredoxin/thioredoxin system // *Antioxid. Redox Signal.* 2003. Vol. 5. – №. 1. P. 69–78.

8. Колупаев Ю. Е. Активные формы кислорода в растениях при действии стрессоров: образование и возможные функции // Вестник ХНАУ. Сер. Биология. – 2007. Вып. 3. С. 6–26.
9. Khan M. I. R., Khan N. A. Reactive oxygen species and antioxidant systems in plants: role and regulation under abiotic stress // Springer. – 2017.
10. Хозеева Е.В., Зимина Ю.А., Срослова Г.А. Окислительный стресс растений: химия, физиология, механизмы защиты // Природные системы и ресурсы. – 2020. Т.10. – № 4, С. 30-43.
11. Mittler R., Vanderauwera S., Suzuki N., Miller G., Tognetti V. B., Vandepoele K., Gollery M., Shulaev V., Van Breusegem F. ROS signaling: the new wave?// Trends Plant Sci. – 2011. Vol. 16. –№. 6. P. 300–309.
12. Halliwell B., Gutteridge J. M. Free radicals in biology and medicine. USA: Oxford Univer. Press. 2015. 905 p.
13. Akram N. A., Shafiq F., Ashraf M. Ascorbic acid-A potential oxidant scavenger and its role in plant development and abiotic stress tolerance // Front. Plant Sci. – 2017. Vol. 8.
14. Herrero E., Ros J., Belli G., Cabisco E. Redox control and oxidative stress in yeast cells // Biochim. Biophys. Acta. – 2008. Vol. 1780. P. 1217-1235.
15. Королук М.А., Иванова Л.И., Майорова И.Г., Токарев В.Е. Метод определения активности каталазы. // Лабораторное дело. – 1988. – № 1. С. 16-19.
16. Головки Т.К., Силина Е.В., Лашманова Е.А., Козловская А.В. Активные формы кислорода и антиоксиданты в живых системах: интегрирующий обзор // Теоретические проблемы экологии. – 2022. – № 1. С. 17-26.
17. Реунов А.В. Пероксисомы растений: роль в метаболизме активных форм кислорода и опосредованных ими процессах. //Успехи современной биологии. – 2014. – С. 48-60.
18. Гудков С. В., Брусков В. И., Куликов А. В. Биоантиоксиданты (часть 1) // Альманах клинической медицины. – 2014. – № 31. С. 61–65
19. Еникеев, А. Р., Усманов И.Ю., Рахманкулова З.В Протекторная и регуляторная роль аскорбиновой кислоты при действии тяжелых металлов на растения пшеницы // Вестник Башкирского университета. – 2013. – № 1. С. 63–66.
20. Mhamdi A., Queval G., Chaouch S., Vanderauwera S., Van Breusegem F., Noctor G. Catalase function in plants: a focus on Arabidopsis mutants as stress-mimic models // Journal of Experimental Botany. – 2010. Vol. 61. – № 15. P. 4197–4220.

ИЗМЕНЕНИЕ ФИЗИОЛОГО-БИОХИМИЧЕСКИХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ У ПШЕНИЦЫ МЯГКОЙ ПРИ ВОЗДЕЙСТВИИ АЭРОЗОЛЯ ЭЛЕКТРОННЫХ СИГАРЕТ

Мазур А.А., Четина О.А.

Пермский государственный национальный исследовательский университет, Пермь

Аннотация. Представлены результаты исследований по влиянию аэрозоля электронных сигарет на растения *Triticum aestivum* L.. Отмечено угнетение роста растений, снижение количества пигментов в листьях, накопление активных форм кислорода. Адаптационные процессы проявились в усилении активности пероксидаз, что компенсировало снижение активности каталазы.

Ключевые слова: адаптация, окислительный стресс, активные формы кислорода

CHANGES IN PHYSIOLOGICAL AND BIOCHEMICAL PARAMETERS OF SOFT WHEAT WHEN EXPOSED TO AEROSOL FROM ELECTRONIC CIGARETTES

Mazur A.A., Chetina O.A.

Perm State National Research University, Perm, Russia

Abstract. The results of studies on the effect of e-cigarette aerosol on *Triticum aestivum* L. plants are presented. The inhibition of plant growth, a decrease in the amount of pigments in the leaves, and the accumulation of reactive oxygen species were noted. Adaptive processes manifested themselves in an increase in peroxidase activity, which compensated for a decrease in catalase activity.

Key words: adaptation, oxidative stress, reactive oxygen species

В последние годы электронные сигареты (ЭС) завоевали популярность во всем мире как альтернатива сигаретам на основе табака. Аэрозоль при курении ЭС образуется, когда жидкость вступает в контакт со спиралью, нагретой до температуры примерно 100-250°C внутри камеры, что вызывает пиролиз жидкости для ЭС. Раствор для ЭС, как правило, содержит растительный глицерин, пропиленгликоль, ароматизаторы и иногда воду и никотин. После нагревания и распыления ингредиенты проходят через химические реакции, в результате которых образуются новые соединения, ранее не присутствующие в жидкости. Поэтому, кроме основных компонентов жидкости, в аэрозоле обнаруживаются ряд токсичных веществ: летучих органических соединений, формальдегид, ацетальдегид, глиоксаль, акролеин и др. Металлические части ЭС, контактирующие с жидкостью, могут загрязнять ее металлами [1-4]. Разброс размера частиц аэрозоля (120–165 нм) такой же, как и в табачном дыме стандартных сигарет, при этом количество частиц в аэрозоле больше [5, 6].

В ходе курения ЭС часть аэрозольных частиц выдыхается во внешнюю среду и оседает на находящихся там предметах, в частности на растениях. В результате многократного осаждения это не может не сказываться на состоянии растений. В растение вредные вещества могут проникать при газообмене через устьица, оседать на поверхности побегов. Наиболее сильно газообразные вещества действуют на листья. Попадая внутрь, они влияют на обмен веществ, повреждают клетки губчатой и палисадной паренхимы, в клетках разрушается

хлорофилл, изменяется рН, активность ферментов, накапливаются тяжелые металлы, увеличивается проницаемость мембран. Оседая на поверхности листьев аэрозоль может закупоривать устьица, что затрудняет газообмен, транспирацию, мешает поглощению света. Все эти повреждения тормозят рост растений и ускоряют старение. Способность противостоять повреждающему действию газообразных веществ основывается на механизмах устойчивости к другим неблагоприятным факторам [7].

Таким образом, целью нашей работы явилось изучение некоторых физиолого-биохимических показателей у пшеницы мягкой при воздействии аэрозоля электронных сигарет.

В качестве объекта исследования использовали пшеницу мягкую *Triticum aestivum* L. сорт Горноуральская. Растения выращивались в условиях модельного опыта при температуре 25°C и длине светового дня – 16 часов в увлажненном вермикулите в прозрачных пластиковых закрытых контейнерах объемом 1,6 л. Контейнеры с контрольным и опытным вариантами открывались на 1 час 2 раза в день для газообмена. Опытный вариант подвергался воздействию аэрозоля электронных сигарет через небольшое отверстие в контейнере 1 раз в день начиная с 3 дня после посева: в первый день обработки на образование аэрозоля было потрачено 0,5 мл жидкости для курения, во второй – 0,75 мл, в третий и последующий дни – по 1 мл. В эксперименте использовали безникотиновую жидкость для курения (содержание никотина 0 мг), которая имела в составе пищевой глицерин, пропиленгликоль (соотношение глицерин/ пропиленгликоль 70/30), пищевые ароматизаторы.

На 10 день после посадки у растений контрольного и опытного вариантов фиксировали морфометрические показатели (длину надземной части и вес), в надземной части определяли содержание воды по разнице сырой и сухой массы после высушивания при 60°C, количество пигментов определяли спектрофотометрическим методом при длинах волн 665, 649 и 440 нм в ацетоновой вытяжке, перекись водорода – ферротитриметрическим методом, скорость генерации супероксидного анион-радикала (СОР) спектрофотометрически по восстановлению адреналина в адренохром, активность пероксидаз – по методу А.Н. Бояркина, активность каталазы – перманганатометрически. Морфометрические показатели растений (длина надземной части и вес) измерены в 30-ти кратной повторности, у остальных показателей биологическая и аналитическая повторность определения трехкратная. Данные статистически обработаны с применением методов описательной статистики, критериев Стьюдента и сдвига/положения для определения достоверности различий между вариантами.

Важными биологическими параметрами, которые позволяют получить представления об уровне устойчивости растений к действию стрессовых факторов, являются показатели, отражающие рост и развитие растений на начальных этапах онтогенеза. В результате проведенного эксперимента по воздействию аэрозоля ЭС отмечено угнетение роста растений. Длина надземной части пшеницы в опытном варианте была снижена на 16% относительно контрольного (рис., а). Масса вегетативной части растений была ниже на треть, чем в контроле (рис., б), при этом по содержанию воды в листьях различия между контрольным и опытным вариантами были не столь значительными и составили 3% (рис., в). В опытах некоторых исследователей [8] так же отмечается ингибирование морфометрических показателей у растения *Lemna minor* при действии жидкости ЭС.

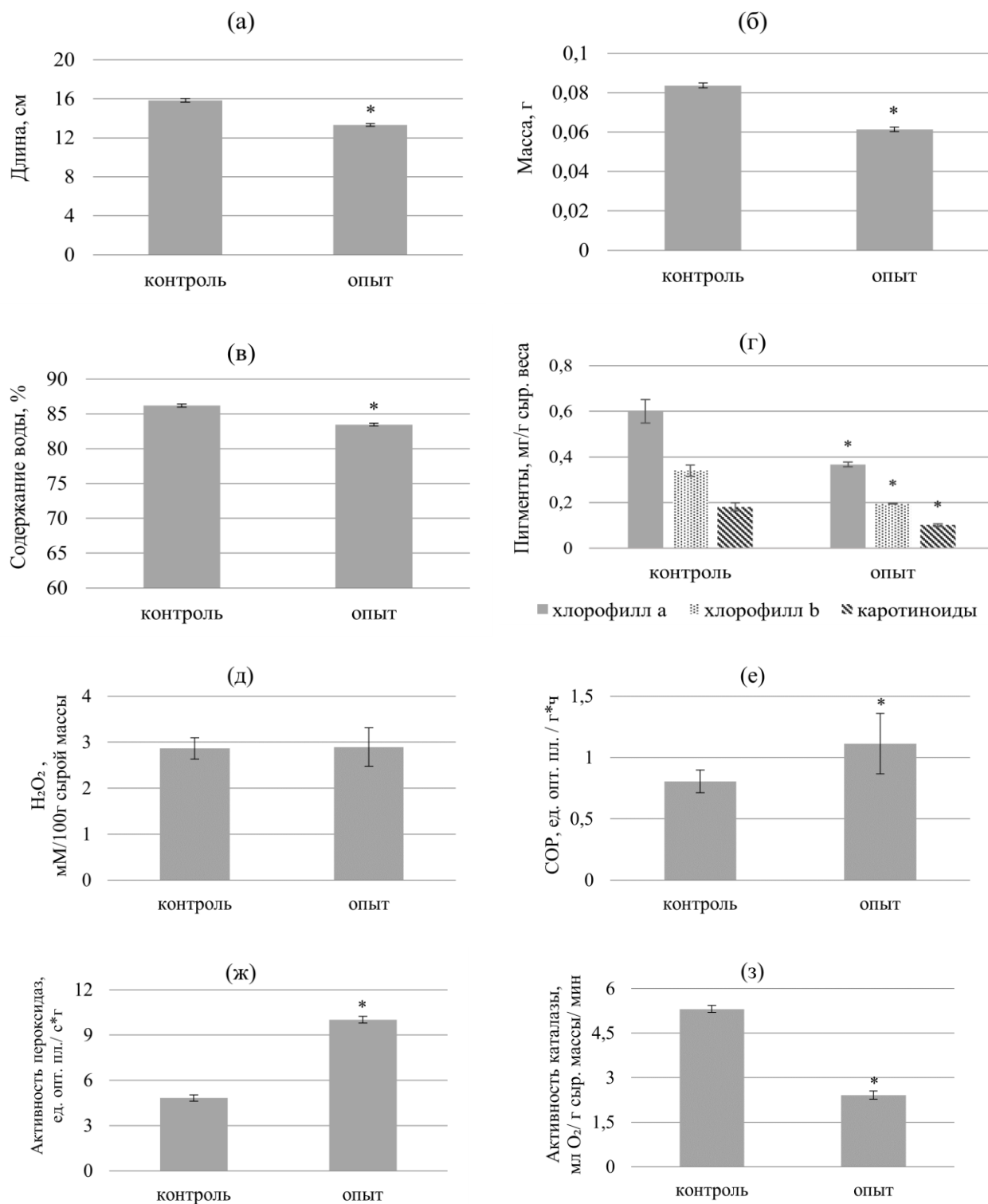


Рисунок – Физиолого-биохимические показатели в надземной части пшеницы мягкой при обработке аэрозолем электронных сигарет. (а) – длина надземной части растений, (б) – вес, (в) – содержание воды, (г) – количество пигментов, (д) – количество перекиси водорода, (е) – скорость генерации супероксидного анион-радикала, (ж) – активность пероксидаз, (з) – активность каталазы. Над столбцами звездочкой отмечены значимые различия с контрольным вариантом.

Исследование состояния пигментного аппарата имеет важное значение для понимания механизмов адаптации растительных организмов к действию стрессовых факторов. Хлорофиллы а и б являются основными фотосинтетически деятельными компонентами листьев растений. Содержание и соотношение разных форм пигментов в хлоропластах может служить одним из показателей их фотохимической активности [9]. При воздействии аэрозоля ЭС отмечено снижение количества всех исследуемых пигментов относительно контрольного варианта: хлорофилла а – на 40%, хлорофилла b – на 43%, каротиноидов – на 44% (рис., г). Из-за повреждения мембран хлоропластов под действием токсичных газообразных веществ на свету происходит разрушение хлорофиллов а и b, каротиноидов [7].

Воздействие неблагоприятных факторов внешней среды может приводить к интенсивному образованию активных форм кислорода (АФК). По содержанию перекиси водорода в надземной части растений нами не было обнаружено достоверных различий между контрольным и опытным вариантами (рис., д), в то время как уровень супероксидного анион-радикала при воздействии аэрозоля ЭС повышался почти в 1,5 раза (рис., е). В исследованиях, проведенных на клетках животных [10], установлено, что жидкость для ЭС и пары от нее вызывают окислительный стресс, а безникотиновая жидкость усугубляет накопление АФК в клетках. Нормальный уровень H_2O_2 в клетках растений в условиях стресса может быть связан с эффективной работой антиоксидантной системы.

В основе адаптации растений к неблагоприятным условиям находится эффективное функционирование антиоксидантной защитной системы. Активизация системы антиоксидантной защиты выражена в мобилизации ферментов и низкомолекулярных антиоксидантов, роль которых заключается в «гашении» избытка АФК и прерывании процессов свободно радикального окисления [11]. Так, в ходе нашего эксперимента активность пероксидаз в листьях растений опытного варианта была выше более, чем в 2 раза относительно контроля (рис., ж), что компенсировало снижение активности каталазы (рис., з). Подобное изменение активности пероксидаз и каталазы объясняется тем, что их функционирование связано с одним веществом – H_2O_2 , содержание которого контролируют оба фермента [12].

Таким образом, аэрозоль электронных сигарет при использовании безникотиновой жидкости оказал негативное влияние на морфометрические параметры пшеницы мягкой. Количество пигментов в листьях, хлорофилла а, b и каротиноидов, снизилось в 1,6 – 1,8 раз. В растениях отмечалось развитие окислительного стресса по увеличению продукции АФК. Адаптационные процессы проявились в усилении активности пероксидаз, что компенсировало снижение активности каталазы.

Библиографический список

1. Антонов Н.С., Сахарова Г.М., Донитова В.В., Котов А.А., Бережнова И.А., Латиф Э. Электронные сигареты: оценка безопасности и рисков для здоровья // Пульмонология. 2014. № 3. С. 122-127. <https://doi.org/10.18093/0869-0189-2014-0-3-122-127>
2. Farsalinos K.E., Voudris V., Poulas K. E-cigarettes generate high levels of aldehydes only in 'dry puff' conditions // Addiction. 2015. Vol. 110. P. 1352–1358. <https://doi.org/10.1111/add.12942>
3. Lerner C.A., Sundar I.K., Watson R.M., Elder A., Jones R., Done D., Kurtzman R., Ossip D.J., Robinson R., McIntosh S., Rahman I. Environmental health hazards of e-cigarettes and their

- components: oxidants and copper in e-cigarette aerosols// Environ. Pollut. 2015. Vol. 198. P. 100–107. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2014.12.033>
4. Nitzkin J.L., Farsalinos K., Siegel M. More on hidden formaldehyde in e-cigarette aerosols// The New-England Medical Review and Journal. 2015. Vol. 372. P. 1575. <https://doi.org/10.1056/NEJMc1502242>
 5. Schripp T., Markewitz D., Uhde E., Salthammer T. Does e-cigarette consumption cause passive vaping? // Indoor Air. 2013. Vol. 23. P. 25–31.
 6. Ingebrethsen B.J., Cole S.K., Alderman S.L. Electronic cigarette aerosol particle size distribution measurements // Inhal. Toxicol. 2012. Vol. 24. P. 976–984.
 7. Кузнецов В.В., Дмитриева Г.А. Физиология растений. М.: Высш. Шк., 2006. 742 с
 8. Green D.S., Boots B., Olah-Kovacs B., Palma-Diogo D. Disposable e-cigarettes and cigarette butts alter the physiology of an aquatic plant *Lemna minor* (Lemnaceae) // Science of The Total Environment. 2023. Vol. 892. P. 164457. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2023.164457>.
 9. Астахова Н.В., Демин И.Н., Нарайкина Н.В., Трунова Т.И. Влияние гена desA 12- ацил-липидной деструктазы на структуру хлоропластов и устойчивость к гипотермии растений картофеля // Физиология растений. 2011. Т.58, №1. С.21-27.
 10. Blackham-Hayward E., Kertesz Zs., Chichger H. Electronic vape fluid activates the pulmonary endothelium and disrupts vascular integrity in vitro through an ARF6-dependent pathway //Microvascular Research. 2024. Vol. 153. P. 104653. <https://doi.org/10.1016/j.mvr.2024.104653>
 11. Четина О.А., Боталова К.И., Кайгородов Р.В. Влияние щелочности и кислотности корневой среды на состояние защитных систем *Triticum aestivum* L. и *Secale cereale* L. // Физиология растений. 2020. Т. 67, № 2. С. 177-187.
 12. Рахманкулова З.Ф., Федяев В.В., Абдуллина О.А., Усманов И. Ю. Формирование адаптационных механизмов у пшеницы и кукурузы к повышенному содержанию цинка // Вестник Башкирского университета. 2008. Т. 13, №1. С. 43-46.

ВЛИЯНИЕ ЭКЗОГЕННОГО КАЛЬЦИЯ НА НЕКОТОРЫЕ ПОКАЗАТЕЛИ МЕТАЛЛОУСТОЙЧИВОСТИ ПРОРОСТКОВ ГОРОХА

Никитина А.Н., Кайгородов Р.В.

Пермский государственный национальный исследовательский университет, Пермь, Россия

Аннотация. Проблема металлоустойчивости растений имеет актуальность вследствие различных форм загрязнения почвы металлами, вызванных антропогенными и промышленными деятельностью. В данной статье исследовано влияние экзогенного кальция на показатели металлоустойчивости проростков гороха.

Ключевые слова: экзогенный кальций, пролин, растворимые белки, сульфат кадмия

EFFECT OF EXOGENOUS CALCIUM ON SOME INDICES OF METAL RESISTANCE OF PEA SEEDLINGS

Nikitina A.N., Kaigorodov R.V.

Perm State National Research University, Perm, Russia

Annotation. The problem of metal resistance of plants is relevant due to various forms of soil metal pollution caused by anthropogenic and industrial activities. In this article the effect of exogenous calcium on metal tolerance indices of pea seedlings was investigated.

Key words: exogenous calcium, proline, soluble proteins, cadmium sulfate

Введение. Внимание ученых многих стран в настоящее время сосредоточено на изучении воздействия тяжелых металлов на растения. Это обусловлено значительным увеличением загрязнения окружающей среды этими химическими элементами в связи с ростом промышленности, транспорта, увеличением количества вносимых минеральных удобрений в почву [1].

Тяжелые металлы относятся к стойким загрязнителям, но многие из них крайне необходимы живым организмам. Являясь «микроэлементами», они активно участвуют в биохимических процессах. В естественных условиях и почвы, и растения обязательно содержат определенное количество тяжелых металлов [2].

По ряду причин растения не могут не поглощать большинство тяжелых металлов, они способны накапливать их в больших количествах. Именно поэтому проблема компартментации тяжелых металлов в растениях является определяющей при изучении их токсического действия и механизмов устойчивости [3]. Благодаря широкому спектру адаптационных механизмов растения способны существовать даже в условиях сильного техногенного загрязнения. Опасность заключается не только в снижении жизненного потенциала растений, но и в значительном изменении жизнеспособности и качества потомства семян [4].

Проблеме устойчивости и адаптации растений к действию тяжелых металлов уделяют большое внимание во всем мире. Активно исследуются поглощение, транспорт и аккумуляция тяжелых металлов в тканях и органах растений, влияние токсичных ионов на основные

физиологические процессы [5]. В последние годы достигнут значительный прогресс в решении этой проблемы, однако многие вопросы еще недостаточно изучены.

Цель работы – оценить влияние экзогенного кальция на некоторые показатели металлоустойчивости проростков гороха. В рамках исследования были поставлены следующие задачи: изучить влияние сульфата кадмия на биомассу побегов и корней проростков гороха, а также на содержание пролина и растворимых белков в них. Провести анализ влияния экзогенного кальция на устойчивость проростков гороха к кадмию.

Объект и методы. В качестве объекта исследования в работе был использован горох посевной (*Pisum sativum* L.), сорт Красноуфимский. Семена гороха стерилизовали, а затем выращивали 14 сут. в контейнерах с вермикулитом. 14-ти дневные проростки подвергали действию стресс-фактора – 0,5 мМ CdSO₄, 1 мМ CdSO₄, 1 мМ CdSO₄ + 40 мМ CaCl₂ в течение 4, 10 суток.

Реакцию растений на стресс оценивали на основе двух показателей. Физиологические показатели: сырая масса побегов и корней в 20-ти кратной повторности. Биохимические показатели: определение количества растворимых белков с помощью метода основанном на взаимодействии амино-группы белка с сульфогруппой красителя -амидо-черного 10В и содержания пролина по модифицированному методу L.S. Bates et al.

Результаты и обсуждение. Полученные результаты демонстрируют, что увеличение концентрации сульфата кадмия приводит к снижению биомассы побегов и корней (Рис. 1).

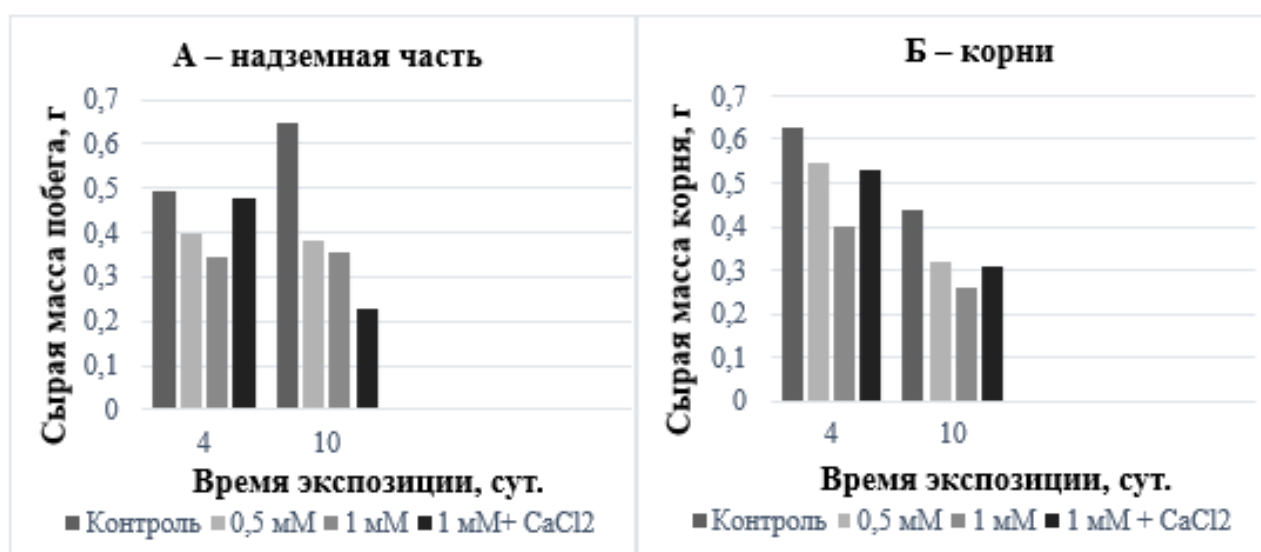


Рисунок 1 – Влияние сульфата кадмия на биомассу побегов (А) и корней (В) проростков гороха.

В экспериментальном варианте, содержащем 1 мМ сульфата кадмия и 40 мМ CaCl₂ (4х дневная экспозиция), отмечается повышение ростовых показателей побегов по сравнению с вариантом 2 (0,5 мМ сульфата кадмия) и 3 (1 мМ сульфата кадмия), однако эти показатели все равно остались ниже контрольных значений. Во время 10 экспозиции, вариант, содержащий CaCl₂, оказался ниже в ростовых показателях по сравнению с другими вариантами. В корнях, данный вариант показал повышение ростовых показателей как на 4, так и на 10 сутках.

Так же отмечено повышение содержания растворимых белков в побегах при увеличении концентрации сульфата кадмия (Рис. 2).

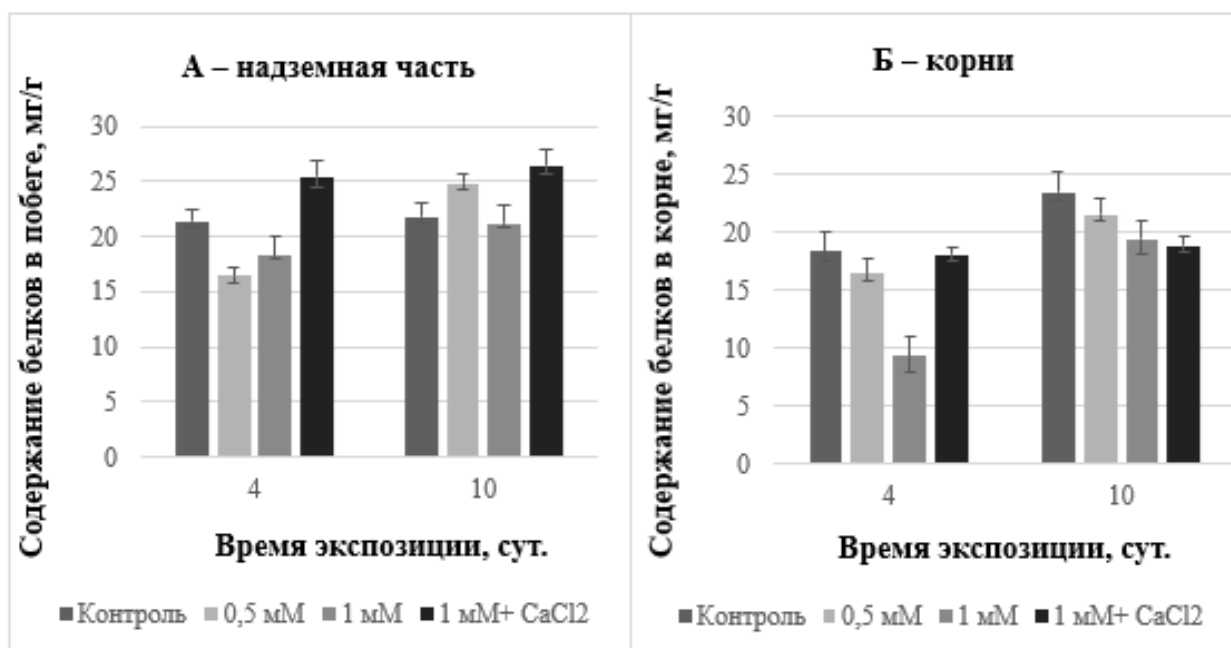


Рисунок 2 – Влияние сульфата кадмия на содержание растворимых белков в побегах (А) и корнях (Б) проростков гороха.

Однако, варианты с концентрациями 0,5 мМ и 1 мМ не превышают уровня контрольного варианта. В то время как в варианте с 1 мМ сульфата кадмия и CaCl₂, значение содержания растворимых белков превышает контрольный уровень. На 10-е сутки эксперимента, варианты с концентрациями 0,5 мМ и 1 мМ демонстрируют превышение контроля в содержании растворимых белков. Содержание растворимых белков в корнях на 4 день экспозиции, в варианте с концентрацией 1 мМ сульфата кадмия, заметно снижается. В то же время, вариант с добавлением CaCl₂ практически достигает уровня контроля. По результатам 10-дневной экспозиции, наблюдается снижение содержания растворимых белков во всех вариантах с увеличением концентрации металла.

Заключение. Анализируя полученные данные, мы обнаружили, что при увеличении концентрации сульфата кадмия, наблюдается увеличение содержания растворимых белков в побегах растения. Наилучшие результаты достигнуты в вариантах, содержащих CaCl₂. Растения могут увеличивать свою активность синтеза белков, включая ферменты, которые участвуют в различных метаболических путях, с целью справиться с неблагоприятными условиями. Повышение содержания растворимых белков может служить как защитный механизм растения для снижения негативных эффектов токсичности сульфата кадмия и поддержания нормального функционирования клеток и тканей. Снижение биомассы растений может быть объяснено изменением их метаболизма, при котором они перенаправляют свои ресурсы от роста к биосинтезу защитных механизмов, включая пролин и белок.

Все полученные результаты указывают на то, что сульфат кадмия оказывает отрицательное влияние на рост растений, но добавление CaCl₂ может иметь разнонаправленный эффект в зависимости от измеряемого показателя.

Библиографический список

1. Васильев Д.В. Загрязнение окружающей среды тяжелыми металлами и качество семенного потомства растений // Природные ресурсы земли и охрана окружающей среды. 2020. Т. 1, № 2. С. 4-11.
2. Прошкина О.Б., Шебзухова Л.Г., Чернякова Д.А. Содержание тяжелых металлов в растениях зоны объектов размещения отходов // Теория и технология металлургического производства. 2011, № 11. С. 161-165.
3. Серегин И.В., Иванов В.Б. Физиологические аспекты токсического действия кадмия и свинца на высшие растения // Физиология растений. 2001. Т. 48, № 4. С. 606-630.
4. Титов А.Ф., Казнина Н.М., Таланова В.В. Тяжелые металлы и растения. Петрозаводск: Карельский научный центр РАН, 2014. 194 с.
5. Титов А.Ф., Таланова В.В., Казнина Н.М. Физиологические основы устойчивости растений к тяжелым металлам: Учеб. пособие. Петрозаводск: Карельский научный центр РАН, 2011. 77 с.

ВЛИЯНИЕ КИСЛОТНОГО И ЩЕЛОЧНОГО СТРЕССА НА СОДЕРЖАНИЕ ПИГМЕНТОВ И ПРОЛИНА В *TRITICOSECALE* WITTM. & A.CAMUS

Пестренин В.В., Боталова К.И., Белогубкин А.А.

Пермский государственный национальный исследовательский университет, Пермь, Россия

Аннотация. Актуальность проблемы устойчивости растений к кислотной и щелочной реакции корневой среды связана с распространенным последствие агрогенной и техногенной деятельности человека. Изучены ответные реакции *Triticosecale* на кислотный и щелочной стресс, вызванный изменением pH корневой среды, изменение содержания пигментов и пролина.

Ключевые слова: пролин, пигменты, антиоксиданты, щелочной стресс, кислотный стресс

THE INFLUENCE OF ACIDIC AND ALKALINE STRESS ON THE CONTENT OF PIGMENTS AND PROLINE IN *TRITICOSECALE* WITTM. & A. CAMUS

Pestrenin V.V., Botalova K.I., Belogubkin A.A.

Perm State National Research University, Perm, Russia

Abstract. The problem of plant resistance to acidic and alkaline reaction of the root environment is associated with a widespread consequence of agrogenic and technogenic human activities. The responses of *Triticosecale* to acidic and alkaline stress caused by changes in the pH of the root environment, as well as alterations in pigment content and proline, have been studied.

Key words: proline, pigments, antioxidants, alkaline stress, acidic stress

Введение. Изменение pH корневой среды является распространённым последствием антропогенной деятельности, щелочная и кислая почвенная среда – неблагоприятный фактор для роста и развития растений. Изменение pH корневой среды приводит к образованию активных форм кислорода (АФК), снижает продуктивность растений. Изменение реакции почвенной среды может привести к снижению урожаев, что служит причиной обеднения почв элементами. В результате этого, изучение механизмов устойчивости растений к щелочному и кислотному стрессу находится в центре внимания научных исследований [1].

В ходе метаболизма в клетках и тканях растений образуются активные формы кислорода, защита от которых осуществляется высокоактивной антиоксидантной системой.

Избыточное производство АФК вызывает окислительное повреждение нуклеиновых кислот (ДНК и РНК), белков и липидов, тогда как при низкой концентрации АФК не являются вредными и оказывают положительное влияние, действуя в качестве вторичного посредника на пути передачи сигналов в клетках растений [2]. Возникшие в ходе эволюции антиоксиданты и ферменты антиоксидантной ингибируют зарождение цепей окисления путем нейтрализации супероксидного радикала и перекисных продуктов и ограничивают дальнейшее развитие цепных реакций, уменьшают цитотоксические эффекты АФК в клетках [3]. Одним из низкомолекулярных антиоксидантов является гетероциклическая аминокислота – пролин. Ее

присутствие имеет стабилизирующий эффект на мембраны, снижает осмотический стресс, предотвращает денатурацию белков, участвует в передаче сигналов стресса, и регулирует редокс-потенциал внутри клеток. Также существуют данные, свидетельствующие о ее участии в инактивации свободных радикалов путем образования стойких соединений с ними [4].

Цель работы – определить влияние щелочной и кислой реакции корневой среды на содержание пролина и пигментов в листьях *Triticosecale* Wittm. & A.camus. В задачи исследований входило изучить морфометрические показатели (длина и масса проростков), определить содержание пролина и пигментов при внесении кислого (pH=3) и щелочного (pH=10) раствора в корневую среду, измерить концентрацию супероксидного анион-радикала в течении 24 ч после стрессового воздействия на растение.

Объекты и методы. В качестве объекта исследования использовали тритикале (*Triticosecale* Wittm. & A.Camus) сорта Цикад 90. Кислую среду (pH=3) создавали глицин-HCl буфером, щелочную (pH=10) – боратным буфером. Реакцию среды в вермикулите контролировали путем измерения на иономере «Экотест-120» в течение суток; через 24 ч она оставалась устойчивой.

Высоту и массу растений измеряли в 30-кратной повторности; значимость различий между вариантами оценивали с помощью критерия Стьюдента ($P < 0,05$).

Содержание супероксидного анион-радикала, пролина и пигментов измеряли через 0.5, 1, 4 и 24 ч после воздействия стресс-фактора. Содержание супероксидного анион-радикала определили методом, основанным на восстановлении адреналина в адренохром.

Фотосинтетические пигменты экстрагировали 80% ацетоном, количество хлорофиллов а и b определяли при длине волны 665, 649 нм соответственно на спектрофотометре («СФ-2000», Россия). Содержание хлорофиллов рассчитывали по формулам L.P. Vernon (1960) [5] на единицу сырой массы листьев. Количество пролина определили по методу Bates et al. [6] на спектрофотометре при длине волны 520 нм.

Результаты и обсуждение. Во все сроки измерения, после внесения кислого и щелочного буфера в корневую среду высота тритикале снижалась, относительно растений в контрольном варианте спустя 24 ч, после внесения стрессового раствора (Рис.1).

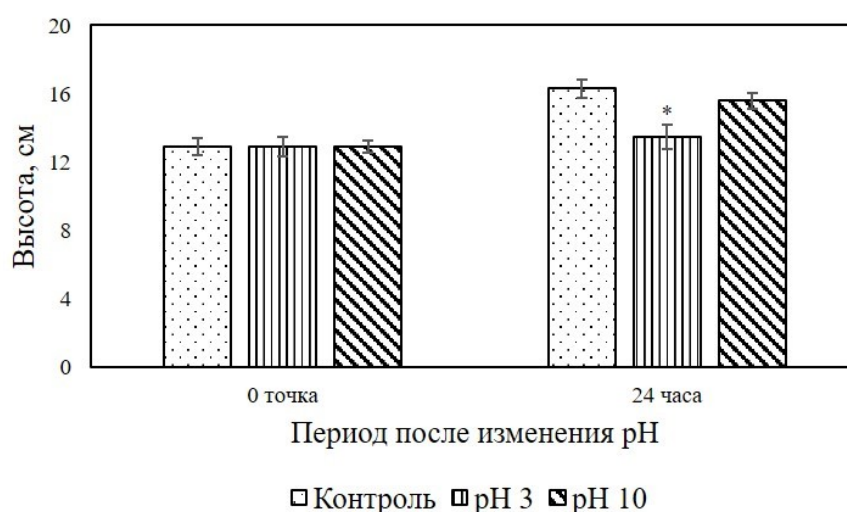


Рисунок 1 – Изменение высоты надземной части тритикале при кислотном и щелочном воздействии на корневую среду, * – значимые различия с контрольным вариантом, выявленные с помощью критерия Стьюдента при уровне $P < 0.05$.

Также отмечено снижение массы после изменения pH корневой среды во все сроки измерения (Рис. 2).

Данные изменения показателей высоты и массы при кислом и щелочном воздействии могут быть связаны с нарушением функции поглощения воды. Таким образом, результаты исследования показали, что в условиях окислительного стресса тритикале испытывает угнетение, которое выражается в уменьшении показателей длины и массы рассматриваемого объекта, в особенности у растений, испытывающий кислотный стресс.

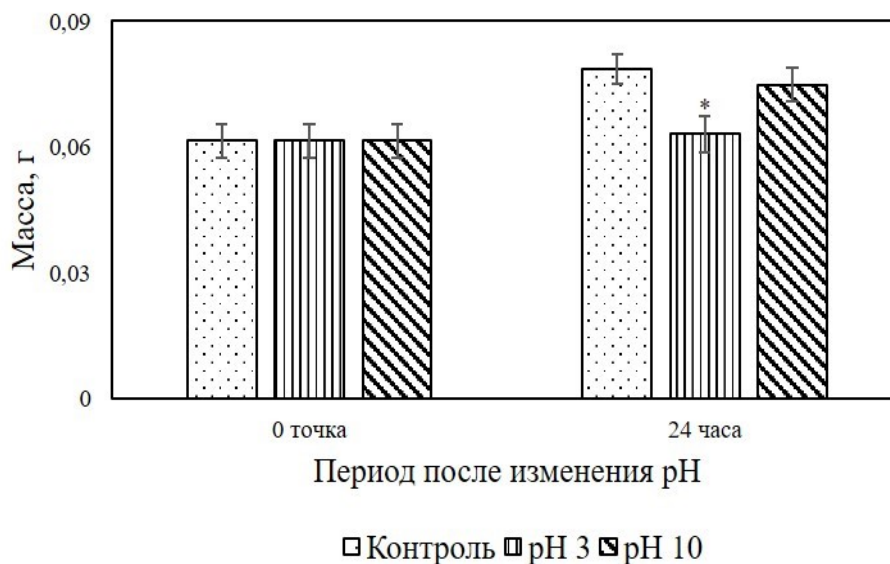


Рисунок 2 – Изменение массы надземной части тритикале при щелочном и кислотном воздействии на корневую среду, * – значимые различия с растениями нейтральной корневой среды, выявленные с помощью критерия Стьюдента при уровне $P < 0.05$.

В первые полчаса наблюдения в условиях низкой и высокой pH корневой среды в листьях тритикале было отмечено увеличение концентрации супероксидного анион-радикала по сравнению с контролем (Рис. 3). Через 1 ч и 4 ч после воздействия стрессоров содержание супероксидного анион-радикала в условиях щелочной корневой среды не отличалось от контрольного варианта, а в кислой среде – осталось выше. Спустя сутки показатели контрольного и опытного варианта не отличались. Повышенное содержание супероксидного анион-радикала в первых часах опыта не только отражает окислительный стресс, но может иметь сигнальное значение [7]. Последующее понижение содержания АФК можно объяснить активной деятельностью антиоксидантной системы растения.

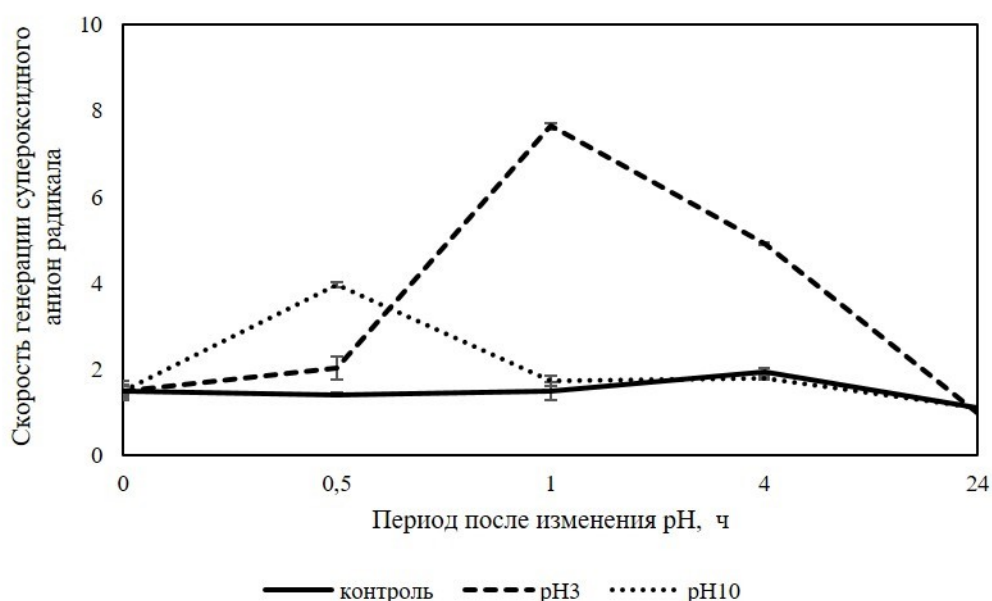


Рисунок 3 – Изменение содержания супероксидного анион-радикала в листьях тритикале при изменении pH корневой среды, мМ/г сырой массы.

Аминокислота пролин является универсальным совместимым осмолитом высших растений. Защитное действие пролина на растение связано с его способностью выступать в роли осмолита, антиоксиданта, протектора структуры белковых молекул и мембран [8]. Также в настоящее время считается, что помимо известной функции совместимого осмолита, пролин выполняет антиоксидантные функции. Структурные особенности пролина позволяют рассматривать возможность прямой инактивации его молекулами радикальных форм кислорода. Так, эта аминокислота может образовывать устойчивый радикал, поскольку содержит третичный углеродный атом. Образование такого устойчивого радикала приводит к «гашению» или обрыву каскада свободнорадикальных реакций, запускаемых супероксидрадикалом, пероксид-радикалом или гидроксил-радикалом [9]. Интенсивное накопление пролина помогает сохранить равновесие давления между различными клеточными компартментами и защитить функционально активные макромолекулы и клеточные мембраны.

Нами отмечено увеличение содержания пролина в варианте с кислой pH спустя 30 мин, 1 ч и 24 ч.; у варианта со щелочной pH достоверное увеличение содержания также отмечалось спустя 30 мин, 4 ч и 24 ч по сравнению с контрольным вариантом.

Во многих исследованиях сообщается о повышении содержания пролина в растениях в ответ на действие стрессоров различной природы [10,11]. В наших опытах подтвердилось возможное участие пролина в адаптации растений в условиях окислительного стресса. По-видимому, данная аминокислота принимает активное участие в защитных реакциях у тритикале при щелочном стрессе на корневую среду.

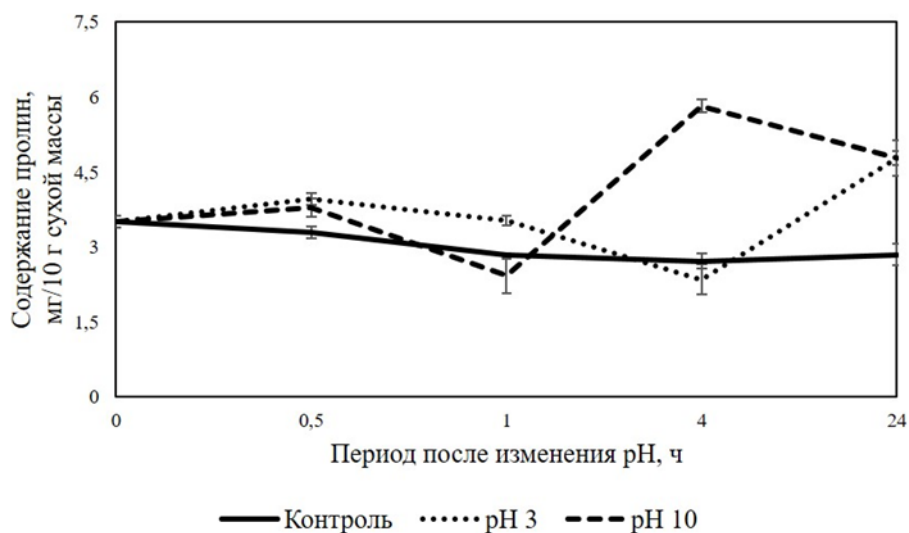


Рисунок 4 – Динамика изменения содержания пролина в листьях тритикале при изменении pH корневой среды, мг/10 г сухой массы.

Хлорофилл, основной пигмент, отвечающий за фотосинтез, который также может играть роль антиоксиданта в растениях. Хлорофилл имеет структурные и функциональные характеристики, которые позволяют ему действовать как антиоксидант в растениях. Он может донорствовать электроны свободным радикалам, тем самым нейтрализуя их [10]. В нашем эксперименте в листьях тритикале наблюдали увеличение содержания хлорофиллов при кислотном стрессе в первые сроки наблюдений (0,5 ч; 1 ч; 4 ч), через 24 ч отмечено снижение содержания хлорофиллов по сравнению с контрольным вариантом. При воздействии щелочного раствора на корневую среду суммарное содержание хлорофиллов а и b в первые 4 часа имело тенденцию к снижению в равнении с контролем, но спустя сутки наблюдали значительное увеличение этого показателя (рис.5.). Пигменты рассматривают в качестве важного компонента антиоксидантной системы растений, так как они могут обезвреживать синглетный кислород и некоторые радикальные АФК [12].

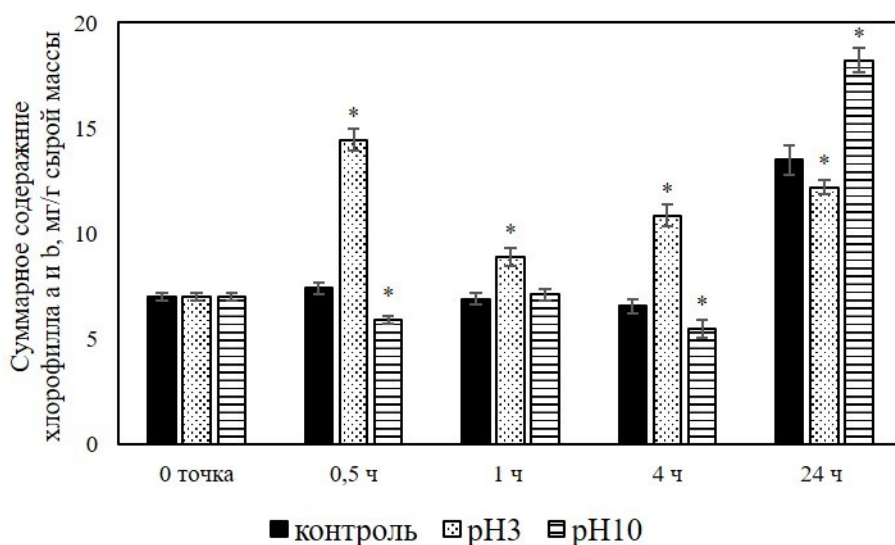


Рисунок 5 – Изменение суммарного содержания хлорофилла а и b, в листьях тритикале при изменении pH корневой среды, мг/г сырой массы.

Заключение. Полученные экспериментальные данные свидетельствуют об угнетении ростовых показателей *Triticosecale* под влиянием кислотного стресса, в большей степени, чем щелочного, что проявлялось в снижении массы и длины надземных органов тритикале. При изменении pH корневой среды растения испытывали окислительный стресс, было отмечено увеличение концентрации супероксидного анион-радикала в некоторые сроки измерения, наибольшее увеличение содержания отмечено при воздействии кислотного стресса. Увеличение содержания пролина в листьях растений спустя 24 часа после изменения pH корневой среды свидетельствует о его активном участии в антиоксидантной защите, вероятно благодаря усилению его синтеза при воздействии щелочного раствора на корневую среду тритикале, при сравнении массы и высоты не отмечалось значимых различий с контрольным вариантом. Хлорофиллы а и b участвовали в процессе адаптации к кислотному стрессу в первые сроки измерения, что подтверждается увеличением их содержания, при влиянии щелочного стресса, напротив, отмечалось снижение суммарного содержания хлорофиллов в сравнении с контролем. Через 24 ч после стресс-воздействия отмечалось увеличение суммарного содержания пигментов в надземной части растений при внесении щелочной pH в корневую среду, а при кислой pH - снижение. Полученные данные могут свидетельствовать о адаптации тритикале к щелочному стрессу, возможно благодаря работе пролина.

Библиографический список

1. Сабинин Д.А., Колотова С.С. Характер поступления зольных элементов в растение // Результаты работ агрохимического отдела Пермской опытной сельскохозяйственной станции. Пермь, 1927. Вып. 1. С. 91–113.
2. Halliwell B., Gutteridge J.M.C. Free Radicals in Biology and Medicine. Free Radical Biology and Medicine // -2007. -Vol. 73(4). - P. 30-79
3. Загоскина Н. В., Назаренко Л. В. Активные формы кислорода и антиоксидантная система растений // Вестник МГПУ. Сер. Естественные науки. - 2016. - № 22. - С. 9–23.
4. Liang, X., Zhang, L., Natarajan, S. K., & Becker, D. F. (2013). Proline Mechanisms of Stress Survival. *Antioxidants & Redox Signaling*, 19(9), 998–1011.
5. Гавриленко В.Ф., Жигалова Т.В. Большой практикум по фотосинтезу. М.: Академия, 2003. 254 с.
6. Bates L.S, Waldren R.P., Teare I.J.P. // Plant Soil. 1973. Vol. 39, pp. 205–207.
7. Прадедова Е.В, Нимаева О.Д., Саляев Р.К. // Физиология растений. 2017. Т. 64. №6. С. 433–445.
8. Кузнецов Вл.В., Дмитриева Г.А Физиология растений: учебник. М.: Высш. шк., 2005. 736 с.
9. Szabados L., Savoure A. Proline: a multifunctional amino acid // Trends Plant Sci. 2009. – 15, № 2. – P. 89- 97.
10. Колупаева Ю.Е., Вайнер А.А., Ястреб Т.О. Проллин: физиологические функции и регуляция содержания в растениях в стрессовых условиях // Вісн. Харків. нац. аграрн. ун-ту. Сер. Біологія. – 2014. – Вип. 2 (32). – С. 6-22.
11. Hossain M.A., Hoque M.A., Burritt D.J., Fujita M. Proline protects plants against abiotic oxidative stress: biochemical and molecular mechanisms // *Oxidative Damage to Plants Antioxidant Networks and Signaling* / Ed. P. Ahmad. - Academic Press is an imprint of Elsevier, 2014. – P. 477-521.

12. Прадедова Е.В., Ишеева О.Д., Саляев Р.К. Классификация системы антиоксидантной защиты как основа рациональной организации экспериментального исследования окислительного стресса у растений // Физиология растений. 2011. Т. 58. № 2. С. 177–185.

ВЛИЯНИЕ НЕФТЕЗАГРЯЗНЕНИЯ НА ФЕРМЕНТАТИВНУЮ АКТИВНОСТЬ РЕКУЛЬТИВИРОВАННОЙ СЕРОГУМУСОВОЙ ПОЧВЫ

Сидоренко Т.С., Сапцын Р.В.

*Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Пермский государственный национальный исследовательский университет»
Лицей с углубленным изучением отдельных учебных предметов, Пермь, Россия*

Аннотация. Проведено исследование активности ферментов в серогумусовой почве после нефтезагрязнения и рекультивации. Выявлена прямая зависимость между ферментативной активностью почвы и уровнем её нефтезагрязнения.

Ключевые слова: почва, нефтезагрязнение, рекультивация, ферменты

INFLUENCE OF OIL POLLUTION ON ENZYMATIC ACTIVITY OF RECULTIVATED SULFUR HUMUS SOIL

Sidorenko T.S., Saptsyn R.V.

Federal State Budgetary Educational Institution of Higher Education "Perm State National Research University" Lyceum with Advanced Study of Selected Academic Subjects, Perm, Russia

Abstract. A study of enzyme activity in gray-humus soil after oil pollution and reclamation was carried out. A direct relationship has been revealed between the enzymatic activity of the soil and the level of its oil pollution.

Key words: soil, oil pollution, remediation, enzymes

Оценка степени загрязненности почв нефтепродуктами в современном мире представляет собой важную часть экологического мониторинга. Аварийные разливы и технологические утечки происходят на протяжении всего жизненного цикла нефтепродуктов, начиная с добычи углеводородного сырья и заканчивая непосредственной эксплуатацией готовых нефтепродуктов потребителем. Поэтому важно следить за степенью эффективности рекультивации почв.

Нефть является одним из тех техногенных загрязнителей, при разливах которой на длительное время нарушается нормальное функционирование почвенной экосистемы, ухудшается почвенное плодородие и резко меняется интенсивность и направленность окислительно-восстановительных процессов. Формирование и функционирование ферментативной активности почвы - сложный и многофакторный процесс. Согласно системно-экологической концепции он представляет собой единство экологически обусловленных процессов поступления, стабилизации и проявления активности ферментов в почве [1]. Ферментативную активность почвы можно использовать в качестве диагностического показателя почв, потому что активность ферментов отражает не только биологические свойства почвы, но и их изменения под влиянием агроэкологических факторов [2]. Наиболее хорошо изученными ферментами в почве являются гидролазы, которые осуществляют реакции гидролиза разнообразных сложных органических соединений. К

этому классу относятся ферменты уреазы (амидаза), инвертазы (карбогидраза), фосфатазы (фосфогидролаза) и др., активность которых является важнейшим показателем биологической активности почв [3].

Цель настоящей работы - определить активность ферментов (каталазы, уреазы, инвертазы) в серогумусовой почве, рекультивируемой после нефтезагрязнения.

Методы. В почвенных образцах в трехкратной повторности определяли рН - потенциометрическим методом (подвижные соединения фосфора и калия по Кирсанову). Активность уреазы оценивали по методам, описанным Ф.Х. Хазиевым [4]. Кatalазу исследовали методом Джонсона и Темпле (Jonson, Temple, 1964). β -фруктофуранозидазу (инвертазу) определяли методом А.Ш. Галстяна (1957). Уровень нефтезагрязнения оценивали по методике измерений массовой доли нефтепродуктов в образцах почв, грунтов, донных отложений, илов, осадков сточных вод, отходов производства и потребления гравиметрическим методом.

Материал. Образцы серогумусовой почвы, загрязненной в результате аварийного разлива нефти в 2018 г. После нефтезагрязнения был удален верхний слой почвы и участок оставлен на саморекультивацию. Образцы почвы для исследования забирали в нескольких точках участка на глубинах 0-20 см и 20-40 см.

Результаты. В ходе исследований было выяснено, что наблюдается обратная зависимость уровня нефтезагрязнения от мощности почвенного горизонта.

Таблица – Показатели нефтезагрязнения, ферментативной активности и рН в образцах почвы

Образец (точка забора)	НП, мг/кг	Каталаза, мл 0,1 KMnO ₄ на 1 г почвы за 20 мин	Уреазы, мг N-NH ₄ на 1 г почвы за 24 ч	Инвертаза, мг глюкозы на 1 г почвы за 24 ч	рН сол	рН вод
центр 0-20	100	1,239	0,705	9,620	6,73	7,48
центр 20-40	80	1,257	1,978	10,020	7,10	7,56
прав верх 0-20	140	1,281	0,657	9,460	7,02	7,73
прав верх 20-40	80	1,287	2,038	9,160	6,80	7,73
лев верх 0-20	100	1,281	1,518	11,400	6,84	7,64
лев верх 20-40	80	1,278	1,943	10,360	7,06	7,82
лев ниж 0-20	60	1,242	1,193	7,680	7,41	7,65
лев ниж 20-40	120	1,254	3,350	9,300	6,72	7,81
прав ниж 0-20	140	1,289	1,605	10,060	7,12	7,73
прав ниж 20-40	120	1,280	1,138	8,720	7,31	7,80
верх 0-20	80	1,287	0,845	8,420	7,12	7,75
верх 20-40	80	1,260	0,540	7,080	7,28	7,90
нижн 0-20	120	1,269	2,575	9,900	6,99	7,61
нижн 20-40	100	1,257	1,193	10,200	6,82	7,71

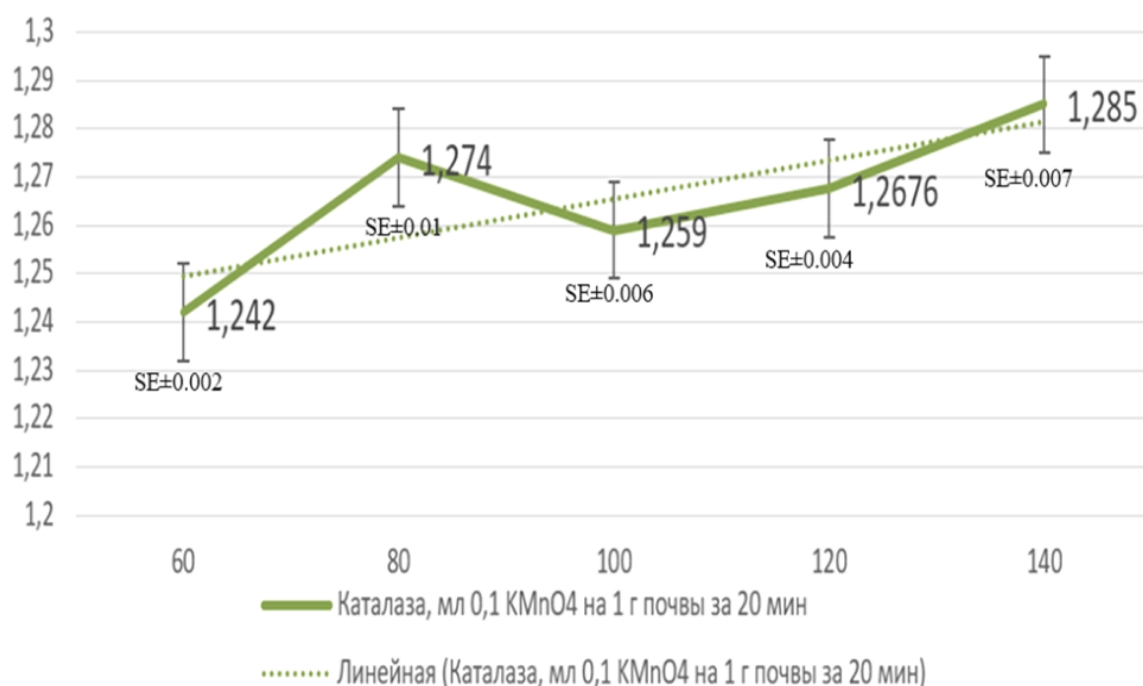


Рисунок 1 – Зависимость активности каталазы от показателя нефтезагрязнения почвы.

Полученный результат можно объяснить фильтрационной способностью почвы, на большую мощность она не пропускает достаточное количество нефтепродуктов, и они задерживаются в верхних слоях почвы. На пропускную способность оказывает влияние также структура горизонтов. Верхний слой АУ-АУС имеет комковато-зернистую структуру, легкосуглинистый, корни по всей глубине. Это позволяет ему максимально задержать в себе нефтепродукты. А нижний слой С тяжелосуглинистый, со слабо выраженной комковатой структурой, корней нет.

В наших исследованиях установлена прямая зависимость между содержанием остаточных нефтепродуктов и активностью каталазы в почве (рис. 1). Она изменяется в пределах 1,242-1,285 мл 0,1 KMnO₄ на 1 г. Чем выше уровень загрязнения, тем выше активность каталазы. При 80 мг/100 г наблюдалась самая высокая активность каталазы. Минимальная активность выявлена при нефтезагрязнении 60 мг/100 г и составила 1,242 мл 0,1 KMnO₄ на 1 г. Активность каталазы постоянно росла на протяжении опыта и достигала максимальных величин при уровне нефтезагрязнения 80 мг/100 г (1,285 мл 0,1 KMnO₄ на 1 г).

В серогумусовой почве активность уреазы колебалась в пределах 0,540-6,350 мг N-NH₄ на 1 г почвы за 24 ч, что по шкале Д.Г. Звягинцева характеризует ее как богатую этим ферментом [5]. Прослежена прямая зависимость между содержанием остаточных нефтепродуктов и активностью уреазы (рис. 2). При нефтезагрязнении 80 мг/100 г активность фермента возрастала. При уровне нефтезагрязнения 100 мг/100 г отмечено снижение уреазной активности до 1,1386 мг N-NH₄ на 1 г почвы. Самая высокая уреазная активность наблюдалась при 120 мг/100 г. Она составляла 3,350 мг N-NH₄ на 1 г почвы. При дальнейшем увеличении нефтезагрязнения активность фермента падала.

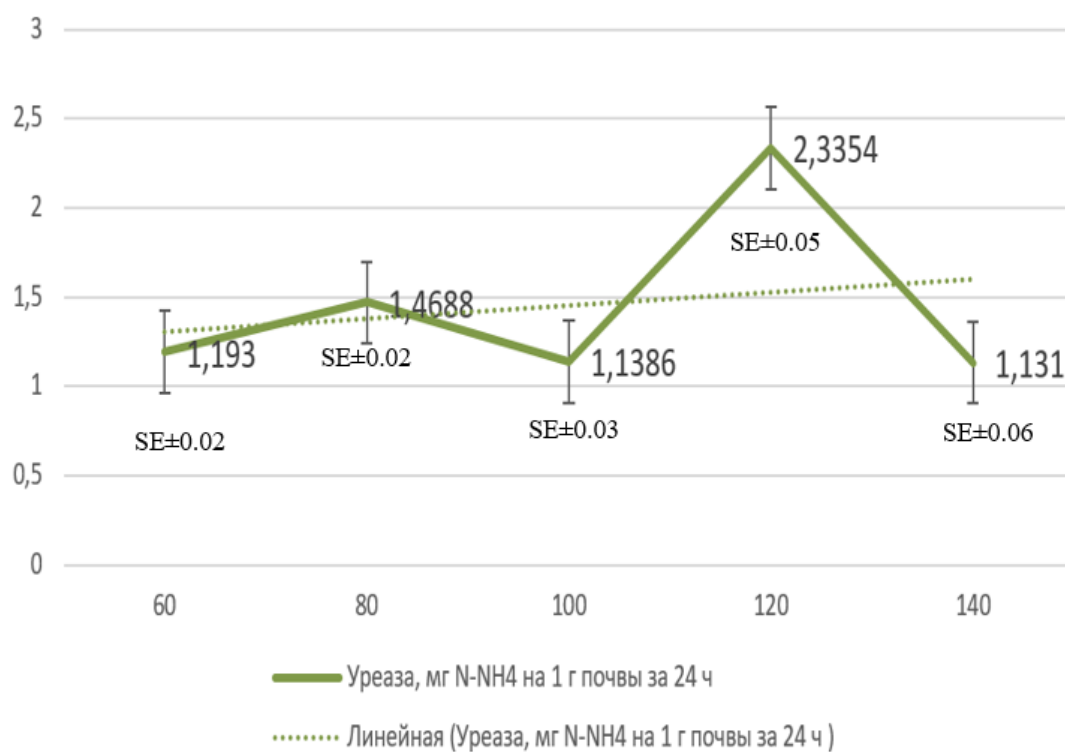


Рисунок 2 – Влияние нефтезагрязнения почвы на активность уреазы.

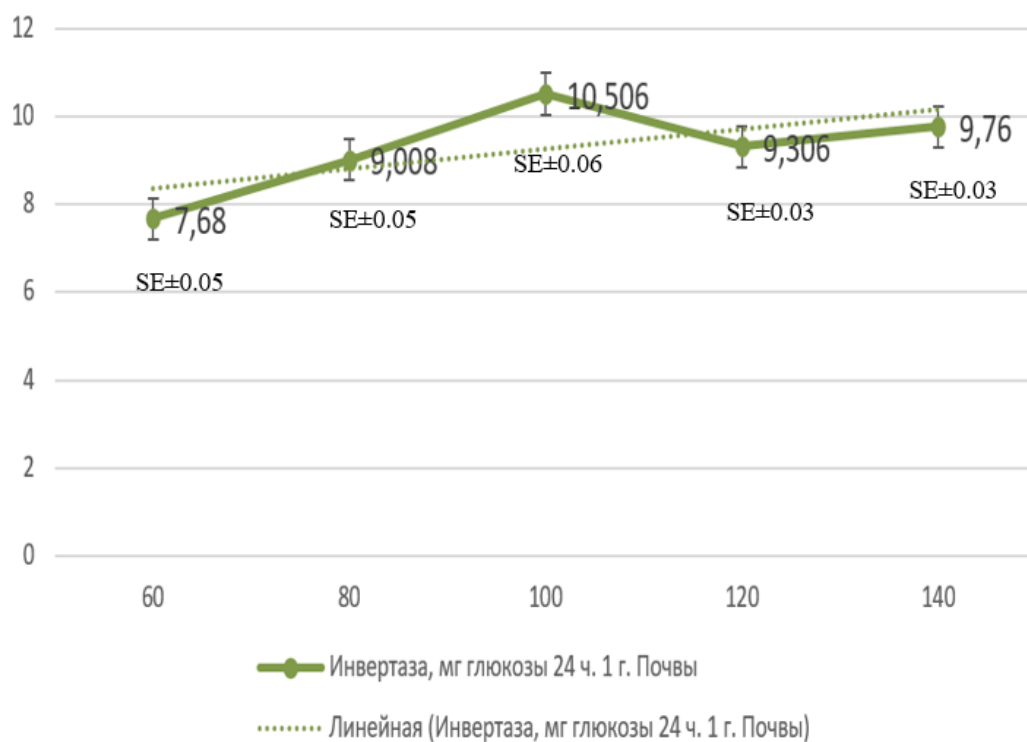


Рисунок 3 – Зависимость активности инвертазы от показателя нефтезагрязнения почвы.

Активность инвертазы колебалась в пределах 7,68 – 10,596 мг глюкозы на 1 г почвы за 24 ч (рис. 3). По шкале Д.Г. Звягинцева [5] серогумусовая почва богата этим ферментом. В

серогумусовой почве остаточные нефтепродукты положительно повлияли на активность инвертазы, на что указывает выявленная прямая зависимость между их содержанием и активностью фермента. Самый высокий показатель активности инвертазы прослеживался при уровне нефтезагрязнения 100 мг/100 г. Он составлял 10,506 мг глюкозы на 1 г почвы за 24 ч. Самые низкие показатели активности инвертазы наблюдались при нефтезагрязнении 60 мг/100 г (7,68 мг глюкозы на 1 г почвы за 24 ч). Выявлено положительное влияние уровня нефтезагрязнения на активность инвертазы. Однако при уровне нефтезагрязнения 120 мг/100 г активность фермента немного снижалась.



Рисунок 4 – Зависимость pH вод и pH сол от показателей нефтезагрязнения почвы.

На рисунке 4 представлена зависимость pH вод и pH сол от уровня нефтезагрязнения почвы. Наблюдалась прямая зависимость pH вод от показателей нефтезагрязнения. А у pH сол обратная пропорциональная зависимость от степени нефтезагрязнения.

Обсуждение. На основании полученных данных можно предположить, что содержание остаточных нефтепродуктов в серогумусовой почве способствует повышению активности каталазы, уреазы и инвертазы. При общей положительной зависимости прослеживаются уровни нефтезагрязнения, при которых резко снижается активность того или иного фермента. Содержание остаточных нефтепродуктов в серогумусовой почве способствует повышению pH вод. Одновременно нефтепродукты отрицательно влияли на pH сол.

Закключение. Остаточное нефтезагрязнение рекультивированной серогумусовой почвы продолжает положительно воздействовать на её биохимическую активность, что улучшает процессы трансформации органического вещества. Содержание остаточной нефти в серогумусовой почве находится в пределах нормы. Результаты наших исследований показали, что серогумусовая почва спустя 5 лет после нефтезагрязнения характеризуется хорошим экологическим состоянием. Следовательно, была проведена эффективная рекультивация данного участка почвы после нефтезагрязнения.

Библиографический список

1. Полонский, В.И. Реакция растений на низкие уровни нефтезагрязнения почвы / В.И. Полонский, Д.Е. Полонская // Сиб. вестн. с.-х. науки. - 2009. - № 8. - С. 18-22.
2. Изменение комплекса почвенных микроорганизмов при загрязнении чернозема обыкновенного нефтью и нефтепродуктами / С.И. Колесников, К.Ш. Казеев, Н.В. Велигонова [и др.] //Агрохимия. - 2007. - № 12. - С. 44-48.
3. Чундерова, А.И. Активность полифенолоксидазы и пероксидазы в дерново-подзолистых почвах / А.И. Чундерова. - Почвоведение. – 1970. - №7. - С. 22-28.
4. Хазеев, Ф.Х. Ферментативная активность почв агроценозов и перспективы её изучения / Ф.Х. Хазеев, А.Е. Гулько // Почвоведение. - 1991. - №8. - С. 88-103.
5. Звягинцев, Д.Г. Биология почв: учебник / Д.Г. Звягинцев, И.Л. Бабьева, Г.М. Зенова. - Москва: МГУ. - 2005. – 445 с.

ЭКОЛОГО-БИОЛОГИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА ТЕХНОГЕННЫХ ПОВЕРХНОСТНЫХ ОБРАЗОВАНИЙ РЕКУЛЬТИВИРОВАННЫХ ОТВАЛОВ

Султанова Н.С., Митракова Н.В.

Пермский государственный национальный исследовательский университет, Пермь, Россия

Аннотация. Исследованы ТПО рекультивированных отвалов КУБа. Литостраты слабокислые, эмбриозём щелочной, содержание Сорг в литостратах 1-3%, в эмбриозёме 12%. Подвижность Cd, Zn, Cu низкая. ТПО глинистые. Фитотестирование указывает на удовлетворительное состояние ТПО.

Ключевые слова: техногенное поверхностное образование, литострат, эмбриозём, угольный отвал, рекультивация

ECOLOGICAL AND BIOLOGICAL PROPERTIES OF TSF OF RECULTIVATED DUMPS OF THE KIZELOVSKY COAL BASIN

Sultanova N.S., Mitrakova N.V.

Perm State University, Perm, Russia

Abstract. The technogenic surface formations (TSF) of KCB's recultivated dumps were investigated. Lithostrats are weakly acidic, the embryonic soil is alkaline, the content of organic matter in lithostrats is low 1-3%, the embryonic soil contains 12% Corg. The mobility of Cd, Zn, Cu is low. TSF have a clay granulometric composition. Phytotesting showed a satisfactory state of TSF.

Key words: technogenic surface formations, lithostrat, embryonic soil, coal dump, recultivation

Угольная промышленность оказывает значительное негативное воздействие на экосистемы. Происходит изъятие земель под карьеры и хранилища отходов добычи [1], загрязнение компонентов окружающей среды [2, 3]. Помимо того, что отвалы занимают значительные площади, они также являются источниками загрязнения атмосферного воздуха продуктами горения [4], почвенного покрова на прилегающих территориях тяжелыми металлами и микроэлементами [5].

Рекультивация отвалов, как и динамика восстановления растительности и почв на них, является актуальной проблемой в связи с необходимостью сохранения окружающей природной среды и минимизации негативных последствий горнодобывающей деятельности.

Цель работы – исследование экологического состояния техногенных поверхностных образований на рекультивированных угольных отвалах. Задачами является изучение химических и физических свойства ТПО, оценка их экологического состояния по результатам фитотестирования.

Кизеловский угольный бассейн (КУБ) расположен в восточной части Пермского края. Площадь бассейна около 1500 км². Добыча велась подземным способом на протяжении 200 лет, КУБ ликвидирован в начале 2000-х годов. На его территории насчитывается несколько десятков отвалов вскрышных пород.

Объекты исследования – техногенные поверхностные образования (ТПО) отвалов КУБа. Возраст ТПО отвалов отличается, варьирует от 4 до 25 лет. Литостраты образованы в результате отсыпки глинистого материала мощностью до 0,5 м на поверхность предварительно разровненного отвала. Эмбриозём дерновый образован в результате 25-летнего периода почвообразования на отвале, рекультивированного путем измельчения вскрышных пород и добавления в них гашенной извести для снижения кислотности. ТПО отобраны по слоям с шагом 10 см, глубина прикопок около 30 см.

В ТПО определены рН водный и солевой, активность Cd, Zn и Cu методом ионоселективных электродов на рН-метре. Гранулометрический состав – по методу пипетки Н. А. Качинского: фракции диаметром более 1 см были выявлены ситовым методом, а фракции менее 1 см – ареометрическим. Плотность твердой фазы и гигроскопическую влажность определяли для изучения гранулометрического состава. Содержание органического углерода определено по И.В. Тюрину с фотометрическим окончанием. Микроэлементный состав определен методом спектрометрии с индуктивно связанной плазмой на масс-спектрометре Elan 900. Фитотестирование поверхностных слоев выполнено с использованием кресс-салата в качестве тест-культуры, раствора Кнопа и контроля на вермикулите [6]. Для статистического анализа использовали программное обеспечение STATISTICA 7 (Statsoft, США), MS Excel (Microsoft, США) и Past 4.03. Для статистической обработки полученных данных использовали регрессионный и корреляционный анализ при доверительной вероятности 95%.

Кислотность почвенной среды литостратов варьировала от сильнокислой до слабокислой, рН_{вод} не превышал 6,8, рН_{сол} – 5,3. Следует отметить, что кислотность ТПО с глубиной увеличивалась. Это связано с наличием в нижнем слое литостратов включений вскрышных пород отвала, имеющих очень кислую реакцию. Верхние слои эмбриозема – слабощелочные (рН_{вод}=7,8), с глубиной кислотность также возрастала.

Изученные литостраты характеризовались легким и тяжелым глинистым гранулометрическим составом в основном крупнопылевато-иловатым, соотношение физической глины и физического песка составило в среднем 60:40. Эмбриозём имел суглинистый состав крупнопылевато-мелкопесчаный, соотношение физической глины и физического песка 40:60. Следует отметить наличие большого количества включений в нижних слоях литостратов в виде угля, гальки и других минералов. В эмбриозёме преобладала песчаная фракция, представленная мелко размельчённым материалом породного отвала и углями. В эмбриозёмах Кузбасса также преобладает песчаная фракция [7], что связано с большим количеством песчаника в объеме вскрышных пород. Плотность твёрдой фазы исследованных ТПО соответствует гумусовым суглинистым и глинистым горизонтам. Гигроскопическая влажность варьирует от 1,62 до 5,41 %.

Содержание органического углерода в литостратах невысокое, варьирует от 1% до 3% в верхних слоях (рис. 1). Максимально содержание органического углерода в литостратах обнаружено в слоях ТПО над породным отвалом, что также связано с включениями пород отвала. В эмбриозёме содержание органического углерода около 12%, что связано с наличием углистых частиц.

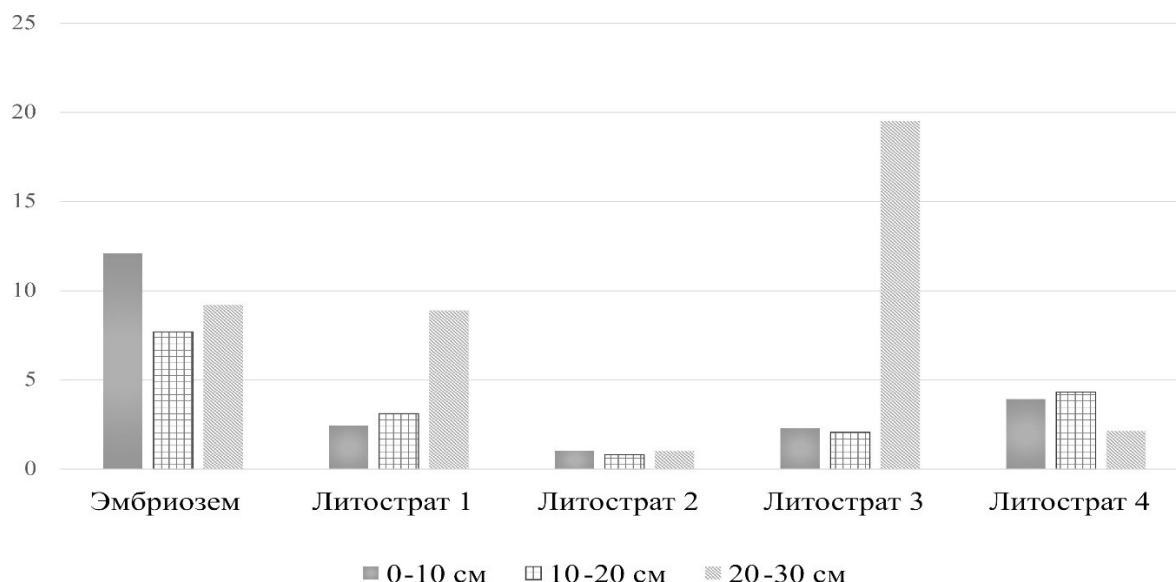


Рисунок 1 – Содержание органического углерода, %.

Подвижность тяжелых металлов (Cd, Zn, Cu) в ТПО низкая, но с глубиной увеличивается в 1,5-3 раза. Увеличение подвижности связано с увеличением кислотности в нижних слоях ТПО. Между активностью металлов и pH вод выявлена сильная регрессионная связь, для активности меди коэффициент регрессии с pH вод составил 0,94; для цинка – 0,72; для кадмия – 0,86. Содержание Cd во всех пробах выше кларка почв по Виноградову в несколько десятков раз, в большинстве проб также выявлено превышение Zn и Cu в 1,5-5 раз.

Высота растений, выращенных на верхнем слое эмбриозема, достоверно превышала высоту растений на контроле. Это может быть связано низкой кислотностью среды, относительно рыхлой структурой, высоким содержанием органического вещества. Показатели массы и высоты кресс-салата литостратов 3 и 3 ниже по сравнению с контролем, это связано с высокой плотностью и низким содержанием органического вещества. В целом фитотестирование показало эффективность проведенных рекультивационных мероприятий, однако необходимо проводить дополнительные мелиоративные мероприятия при рекультивации.

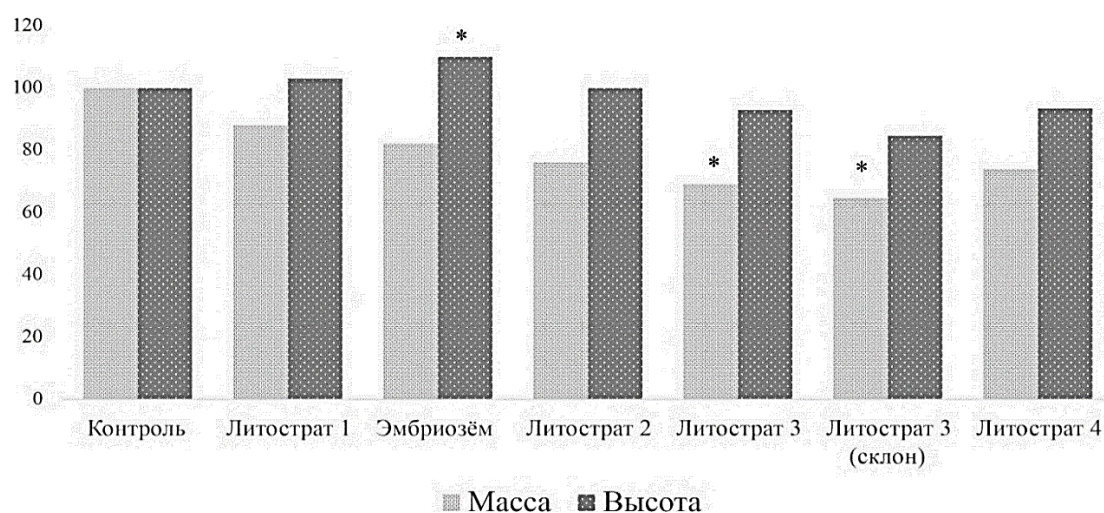


Рисунок 2 – Высота и масса тест-культуры (примечание: *- достоверные отличия от контроля).

Корреляционный анализ показал наличие положительной связи между высотой растений с кислотностью ТПО. Активность Cu коррелирует с рНвод. Также обнаружена отрицательная связь между содержанием органического углерода и физической глиной.

Выводы

Исследованные литостраты характеризовались слабокислой реакцией, эмбриозём – слабощелочной. С глубиной кислотность ТПО увеличивалась. Литостраты имели глинистый гранулометрический состав, эмбриозём – суглинистый. Литостраты характеризуются низким содержанием органического углерода, тогда как в эмбриозема его содержание в несколько раз выше, чем в литостратах. Активность тяжелых металлов в верхних слоях ТПО низкая, но увеличивалась с глубиной. Регрессионная связь между рНвод и активностью тяжелых металлов сильная, более 0,7. Содержание Cd во всех пробах выше кларка почв по Виноградову, в большинстве проб также выявлено превышение Zn и Cu. Показатели высоты и массы тест-культуры показали, что поверхностные слои изученных техногенных поверхностных образований находятся в удовлетворительном состоянии.

«Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда № 24-27-00324, <https://rscf.ru/project/24-27-00324/>».

Библиографический список

1. Кутепов Ю.И., Кутепова Н.А., Мухина А.С., Мосейкин В.В. Инженерно-геологические и геоэкологические проблемы восстановления нарушенных земель при отвалообразовании на открытой угледобыче в Кузбассе // ГИАБ. Горный информационно-аналитический бюллетень. – 2022. – №5. – С. 5-24. DOI: 10.25018/0236_1493_2022_5_0_5
2. Xiaoyang Liu et al. Heavy metal concentrations of soils near the large opencast coal mine pits in China // Chemosphere. – 2020. – V.244. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2019.125360>
3. Arefieva O., Nazarkina A.V., Gruschakova N.V., Skurikhina J.E., Kolycheva V.B. Impact of mine waters on chemical composition of soil in the Partizansk Coal Basin, Russia // International Soil and Water Conservation Research. – 2019. – V.7. – No.1. – P. 57–63. doi: 10.1016/j.iswcr.2019.01.001
4. Bragina P.S., Tsibart A.S., Zavadskaya M.P., Sharapova A.V. Soils on Overburden Dumps in the Forest_Steppe and Mountain Taiga Zones of the Kuzbass. Eurasian Soil Science. – 2014. – 47. – P. 723-733. DOI: 10.1134/S1064229314050032.
5. Tozsın G. Hazardous elements in soil and coal from the Oltu coal mine district, Turkey // International Journal of Coal Geology. – 2014. – V.131. – P. 1–6. doi: 10.1016/j.coal.2014.05.011
6. Способ оценки биологической активности и токсичности почв и техногенных почвогрунтов: пат. 2620555 Рос. Федерация. № 2016113050 / Еремченко О.З., Митракова Н.В ; заявл. 05.04.2016 ; опубл. 26.05.2017, Бюл. № 15.
7. Госсен И.Н., Беланов Н.П. Гранулометрический состав эмбриозёмов в техногенных ландшафтах лесостепной зоны Кузбасса // Сибирский экологический журнал. – 2011. – №5. – С. 713-718.

ВЛИЯНИЕ КОРО-ДРЕВЕСНЫХ ОТХОДОВ НА БИОЛОГИЧЕСКУЮ АКТИВНОСТЬ ГРУНТОВ

Шистерова М.Ф., Кайгородов Р.В.

Пермский государственный национальный исследовательский университет, Пермь, Россия

Аннотация. Проблема утилизации КДО заключается в весьма трудоемком и ресурсозатратном процессе. В данной статье будет дана оценка эффективности использования кородревесных отходов в качестве сырья для рекультивационных материалов на основе наших исследований.

Ключевые слова: кородревесные отходы, фитотестирование промышленных отходов

INFLUENCE OF WOOD BARK WASTE ON THE BIOLOGICAL ACTIVITY OF SOILS

Shisterova M.F., Kaigorodov R.V.

Perm State National Research University, Perm, Russia

Annotation. The problem of recycling BWW is a very labor-intensive and resource-intensive process. This article will assess the effectiveness of using bark waste as a raw material for reclamation materials based on our research.

Key words: bark waste, phytotesting of industrial waste

Введение. В процессе деятельности целлюлозно-бумажной промышленности образуется большое количество кородревесных отходов (КДО), которые представляют собой древесные остатки разного размера, характера и степени разложения [3]. На долю отходов, представленных корой, опилом, древесными кусковыми отходами, приходится до 70 % от общего потока твердых отходов целлюлозно-бумажного предприятия [5]. Часть кородревесных отходов используется в качестве топлива или производства строительных материалов, но большая часть отходов свозится на хранение. Данные склады заполняют большие площади, создавая короотвалы, которые представляют собой смесь древесной коры разного размера с примесью грунта. Продолжительное хранение КДО приводит к постепенному загрязнению близлежащих водоемов, к нарушению биоценозов и ухудшению санитарных условий соседних территорий, а также нарушает внешний вид местности.

На данный момент существуют различные проекты по утилизации кородревесных отходов и по их вторичному использованию. Например, компостирование, сжигание, анаэробное/аэробное сбраживание, влажное окисление, пиролиз, в качестве топливных брикетов и удобрений, строительных материалов, корма для животных. Некоторые технологии применяются на практике, однако большая их часть требует больших затрат ресурсов и высокой стоимости [2].

Кородревесные отходы обладают таким важными свойствами, как способность удерживать влагу, обладание высокой поглотительной способностью, высоким содержанием органических соединений, которые выступают в качестве источника питания для растений. В

результате чего обработка КДО путем компостирования создает материал, обладающий удобрительными свойствами. При этом скорость разрушения смол, входящих в состав кородревесных отходов, увеличивается, что благоприятно сказывается на развитии растений при внесении отходов в почву [1].

Содержание азота показывает степень разложения органических остатков в грунтах и определяет их агрохимическую ценность. Высокое содержание азота характерно для верхних слоев большинства исследованных короотвалов. Однако необходимо отметить, что КДО характеризуется низкими показателями содержания кальция и магния, необходимых для нормального роста и развития растений. Нормальный уровень содержания кальция в почве составляет 420–750 мг/ кг [4].

Целью данной работы является исследование биологической активности рекультивационных грунтов, полученных на основе КДО и глины, с различными вариантами агрохимического воздействия.

Объекты и методы. В качестве объектов исследования выступили грунты, состоящие из смеси глины с кородревесными отходами (КДО) диаметром менее 2 мм, взятых с недействующего короотвала г. Краснокамск с глубины 3-9 м. Пробы кородревесных отходов (КДО) были взяты из разных точек отбора и глубины короотвала и впоследствии перемешаны. Для эксперимента использовали фракцию КДО диаметром менее 2мм, которую получали путем просеивания через сито. В качестве тест-растений использовали проростки овса посевного (*Avena sativa*), сорт «Стайер».

Всего в эксперименте было 16 вариантов. В качестве контроля использовали грунт, представленный только глиной в количестве 100г. В остальных вариантах использовали разное соотношение КДО и глины, и разные дозы извести и удобрений. Дозу извести и удобрений определяли путем агрохимических расчетов со стандартными параметрами: глубина грунта 0,2 м (20см) и плотность грунта 1200 кг/м³ (1,2 г/см³).

В работе использовали такие методы как лабораторная всхожесть, фитотестирование и статистические методы, которые проводили в программе Past 3.16.

Результаты и обсуждение. В таблице 1 представлены данные по лабораторной всхожести овса посевного (*Avena sativa*).

Таблица 1 – Лабораторная всхожесть тест-культуры

№ Вариант	Лабораторная всхожесть, кол-во проростков, шт.	Доля всхожести, %
0 - Контроль глина 100 г	13	32,5
1 - КДО 10%	32	80,0
2 - КДО 10% + CaCO ₃ (210 мг)	37	92,5
3 - КДО 10% + CaCO ₃ (420 мг)	34	85,0
4 - КДО 10% + CaCO ₃ (840 мг)	26	65,0
5 - КДО 10% + KNO ₃ (60 мг)	37	92,5
6 - КДО 10% + KNO ₃ (120 мг)	38	95,0
7 - КДО 10% + KNO ₃ (180 мг)	38	95,0
8 - КДО 10% + CaCO ₃ + KNO ₃ (210 мг – 60 мг)	38	95,0
9 - КДО 10% + CaCO ₃ + KNO ₃ (420 мг - 120 мг)	40	100,0

Таблица 1 – Продолжение

№ Вариант	Лабораторная всхожесть, кол-во проростков, шт.	Доля всхожести, %
10 - КДО 10% + CaCO ₃ + KNO ₃ (840 мг – 180 мг)	33	82,5
11 - КДО 30%	35	87,5
12 - КДО 40%	26	65,0
13 - КДО 40% + CaCO ₃ (420 мг)	32	80,0
14 - КДО 40% + KNO ₃ (120 мг)	36	90,0
15 - КДО 40% + CaCO ₃ + KNO ₃ (420 мг - 120 мг)	37	92,5

Наилучшие показатели лабораторной всхожести (более 90%) были отмечены в вариантах: 2 - CaCO₃ (210 мг), 5 - KNO₃ (60 мг), 6- KNO₃ (120 мг), 7 - KNO₃ (180 мг), 8 - CaCO₃ + KNO₃ (210-60) , 9 - CaCO₃ + KNO₃ (420 мг - 120 мг), 14 - КДО (40%) KNO₃ (120 мг), 15 - КДО (40%) CaCO₃ + KNO₃ (420 мг - 120 мг). Наихудшие результаты (менее 30%) наблюдаются в варианте 0 - контроль глина 100 г.

Таблица 2 – Длина проростков овса посевного

№ Вариант	l, см	t _{оп}	t _{ст}
0 - Контроль глина 100 г	7,95±0,71	11,2	2,04
1 - КДО 10%	6,69±0,23	28,92	
2 - КДО 10% + CaCO ₃ (210 мг)	6,36±0,31	20,21	
3 - КДО 10% + CaCO ₃ (420 мг)	5,68±0,21	27,25	
4 - КДО 10% + CaCO ₃ (840 мг)	3,31±0,24	13,98	
5 - КДО 10% + KNO ₃ (60 мг)	7,75±0,23	33,82	
6 - КДО 10% + KNO ₃ (120 мг)	8,51±0,25	33,42	
7 - КДО 10% + KNO ₃ (180 мг)	6,74±0,38	17,62	
8 - КДО 10% + CaCO ₃ + KNO ₃ (210 мг – 60 мг)	5,27±0,22	23,76	
9 - КДО 10% + CaCO ₃ + KNO ₃ (420 мг - 120 мг)	8,37±0,26	32,32	
10 - КДО 10% + CaCO ₃ + KNO ₃ (840 мг – 180 мг)	7,44±0,28	26,11	
11 - КДО 30%	7,91±0,47	16,94	
12 - КДО 40%	9,08±0,64	14,1	
13 - КДО 40% + CaCO ₃ (420 мг)	7,39±0,18	40,62	
14 - КДО 40% + KNO ₃ (120 мг)	9,96±0,39	25,05	
15 - КДО 40% + CaCO ₃ + KNO ₃ (420 мг - 120 мг)	9,28±0,39	23,96	
F _{оп}	23,06		-
F _{ст}	1,15		-
НСР	1,03		-

Таким образом, можно сделать вывод о том, что оптимальным составом грунта для начальных стадий развития растений являлось соотношение КДО:глина 40:60%, на фоне внесения извести и нитрата калия в средних дозах.

В таблице 2 представлена длина проростков овса посевного (*Avena sativa*).

На основании полученных данных о длине проростков, приведенных в таблице 2, максимальные значения (более 9 см) наблюдаются в вариантах 12 - (КДО 40%), 14 – (КДО 40% + KNO₃ 120 мг), 15 – (КДО 40% + CaCO₃ + KNO₃ 420 мг - 120 мг). Это варианты с долей КДО 40% на фоне внесения извести и удобрений в средних навесках.

В таблице 3 приведена сырая биомасса проростков овса посевного (*Avena sativa*).

Таблица 3 – Сырая биомасса проростков

№ Вариант	m, г	t _{оп}	t _{ст}
0 - Контроль глина 100 г	0,0371±0,004	7,88	2,04
1 - КДО 10%	0,0363±0,002	17,47	
2 - КДО 10% + (210 мг)	0,0377±0,002	13,01	
3 - КДО 10% + CaCO ₃ (420 мг)	0,0333±0,001	21,96	
4 - КДО 10% + CaCO ₃ (840 мг)	0,0181±0,004	4,9	
5 - КДО 10% + KNO ₃ (60 мг)	0,0504±0,002	22,31	
6 - КДО 10% + KNO ₃ (120 мг)	0,0638±0,018	3,47	
7 - КДО 10% + KNO ₃ (180 мг)	0,0348±0,003	10,73	
8 - КДО 10% + CaCO ₃ + KNO ₃ (210 мг – 60 мг)	0,0203±0,001	15,42	
9 - КДО 10% + CaCO ₃ + KNO ₃ (420 мг - 120 мг)	0,0569±0,002	21,28	
10 - КДО 10% + CaCO ₃ + KNO ₃ (840 мг – 180 мг)	0,0367±0,002	15,72	
11 - КДО 30%	0,0491±0,003	14,47	
12 - КДО 40%	0,0911±0,036	2,49	
13 - КДО 40% + CaCO ₃ (420 мг)	0,0442±0,001	26,66	
14 - КДО 40% + KNO ₃ (120 мг)	0,0768±0,003	20,66	
15 - КДО 40% + CaCO ₃ + KNO ₃ (420 мг - 120 мг)	0,0652±0,004	15,14	
F _{оп}	3,38		-
F _{ст}	1,15		-
НСР	0,032		-

Исходя из полученных данных, максимальные значения по биомассе (более 0,06 г) установлены в вариантах 6 - KNO₃ (120 мг), 12 - (КДО 40%), 14 – (КДО 40% + KNO₃ 120 мг), 15 – (КДО 40% + CaCO₃ + KNO₃ 420 мг - 120 мг).

Заключение. Результаты проведенной нами работы позволяют сделать вывод о том, что известкование оказало негативное воздействие на биологическую активность и рост тест-культуры, а внесение удобрения в виде KNO₃ оказало позитивный эффект на биологическую активность и рост тест-культуры. Оптимальной долей КДО в грунте являлось 40% на фоне

внесения удобрений KNO_3 (120мг). Оптимальной дозировкой удобрений KNO_3 послужило 40 кг/га N и 112 кг/га K.

Библиографический список

1. Васянина Е.А., Ширинкина Е. С. Оценка фитотоксичности кородревесных отходов длительного срока хранения // Химия. Экология. Урбанистика. - 2018. Т. 2018. - С. 55-58.
2. Воробьева Д.Н. Оценка потенциального плодородия субстратов из твердых отходов целлюлозно бумажной промышленности для использования в лесовыращивании: дис. ... канд. биол. наук. М., - 2015. - 202 с.
3. Ерунцова Е. Р., Анчугова Е. М. Кородревесные отходы: накопление и пути утилизации // Актуальные проблемы биологии и экологии: Материалы докладов XXVII Всероссийской молодежной научной конференции (с элементами научной школы), Сыктывкар, 16–20 марта 2020 года / Отв. редактор С. В. Дегтева. Сыктывкар: Институт биологии Коми научного центра Уральского отделения РАН, - 2020. - С. 106-108.
4. Каменщикова В.И., Еремченко О.З., Шестаков И.Е. Биохимическая активность почв г. Перми // Вестник Пермского университета. Серия: Биология. - 2011. № 2. - С. 38–40.
5. Курило О.Н. Ширинкина Е.С., Вайсман Я.И. Снижение негативного воздействия короотвала целлюлозно-бумажного предприятия на окружающую среду путем использования кородревесных отходов длительного срока хранения // Ecology and Industry of Russia, - 2015. Vol.19. № 1. - P. 45–49.

СОДЕРЖАНИЕ

МИКРОБИОЛОГИЯ, ИММУНОЛОГИЯ И ФУНДАМЕНТАЛЬНАЯ МЕДИЦИНА

Енич К.М., Щелкунова В.Д., Якина Т.А., Елькин А.А., Нестерова Л.Ю.

ОПРЕДЕЛЕНИЕ ТОКСИЧНОСТИ КОММЕРЧЕСКИХ БИОСТИМУЛЯТОРОВ РОСТА РАСТЕНИЙ 3

Баяндина Е.А., Поздеева А.В., Куюкина М.С.

ОСОБЕННОСТИ БИОПЛЕНК РОДОКОККОВ ПРИ ВОЗДЕЙСТВИИ ВЫЗВАННОГО ЭКОТОКСИКАНТАМИ ОКИСЛИТЕЛЬНОГО СТРЕССА 7

Горват Е.В., Криворучко А.В.

РАЗНООБРАЗИЕ ДНК-ГИРАЗ У АКТИНОМИЦЕТОВ РОДА *RHODOCOCCLUS* 14

Тян С.М., Тюмина Е.А., Ившина И.Б.

МЕХАНИЗМЫ БАКТЕРИАЛЬНОЙ ДЕГРАДАЦИИ ФАРМПОЛЛЮТАНТА МЕЛОКСИКАМА 18

Бутолин Д.Н., Комарова Л.П., Криворучко А.В.

ПРОПАНОКИСЛЯЮЩАЯ АКТИВНОСТЬ КОЛЛЕКЦИОННЫХ ШТАММОВ РОДОКОККОВ 23

Колпаков К.И., Гейн С.В.

РОЛЬ ЭНДОМОРФИНОВ В РЕГУЛЯЦИИ ФУНКЦИЙ КЛЕТОК ИММУННОЙ СИСТЕМЫ ПРИ СТРЕССЕ 28

Лазарев С.С., Раев М.Б.

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ПЛАЗМЫ ЖЕЛТКА КУРИНОГО ЯЙЦА В КАЧЕСТВЕ СТИМУЛЯТОРА ПРОЛИФЕРАЦИИ ГИБРИДОМНЫХ КЛЕТОК 34

Орлова Е.Г., Логинова О.А., Горбунова О.Л., Баянгулова А.Р., Ширшев С.В.

ВЛИЯНИЕ ГРЕЛИНА НА СУБПОПУЛЯЦИОННЫЙ СОСТАВ И ЭКСПРЕССИЮ ТИМ-3 МОЛЕКУЛ НА НАТУРАЛЬНЫХ КИЛЛЕРАХ *IN VITRO* 39

Елькина Е.Б., Устинова О.Ю.

ВЛИЯНИЕ АНТРОПОГЕННОГО ЗАГРЯЗНЕНИЯ ОБЪЕКТОВ ОКРУЖАЮЩЕЙ СРЕДЫ ТЯЖЕЛЫМИ МЕТАЛЛАМИ НА НЕЙРОПСИХИЧЕСКОЕ РАЗВИТИЕ ДЕТЕЙ 45

Макарова В.А., Устинова О.Ю.

СТРУКТУРНО-ДИНАМИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ ОНКОЛОГИЧЕСКОЙ ЗАБОЛЕВАЕМОСТИ ВЗРОСЛОГО НАСЕЛЕНИЯ ГОРОДА ЧУСОВОЙ В УСЛОВИЯХ ВОЗДЕЙСТВИЯ ХИМИЧЕСКИХ ТЕХНОГЕННЫХ ФАКТОРОВ 52

Бекк С.А., Бойко А. А., Махмудов Р.Р.

АНАЛЬГЕТИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ ЗАМЕЩЕННЫХ ЭФИРОВ ПРОИЗВОДНЫХ ПИРРОЛ-3-КАРБОНОВЫХ КИСЛОТ, СОДЕРЖАЩИХ В СВОЕЙ СТРУКТУРЕ ФАРМАКОФОРНЫЙ ФРАГМЕНТ 2-АМИНОТИОФЕНА ГЕВАЛЬДА 59

Орлова Е.Г., Логинова О.А., Горбунова О.Л., Кирьянова В.Ю., Ширшев С.В. ВЛИЯНИЕ ЛЕПТИНА НА СУБПОПУЛЯЦИОННЫЙ СОСТАВ И ЭКСПРЕССИЮ МОЛЕКУЛЫ ТІМ-3 НАТУРАЛЬНЫМИ КИЛЛЕРАМИ <i>IN VITRO</i>	63
Коноплева М.А., Нестерова Л.Ю., Кузнецова М.В. ВЛИЯНИЕ СУПЕРНАТАНТОВ ПОТЕНЦИАЛЬНЫХ ПРОБИОТИЧЕСКИХ ШТАММОВ <i>ESCHERICHIA COLI</i> ЛЭГМ-18 И ZP НА ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТЬ К АНТИБИОТИКАМ И АДГЕЗИЮ И БАКТЕРИЙ.....	70
БОТАНИКА, ГЕНЕТИКА И ЭКОЛОГИЯ РАСТЕНИЙ	
Корякова А.С., Сорокина А.В., Левина Д.Р., Боронникова С.В. МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ АЛЛЕЛЬНЫХ ВАРИАНТОВ ГЕНОВ <i>ADRB2</i> , <i>NOS3</i> , <i>PPARGC1A</i> , АССОЦИИРОВАННЫХ С ФОРМИРОВАНИЕМ ВЫНОСЛИВОСТИ У ДЗЮДОИСТОВ ИЗ СПОРТИВНОЙ ШКОЛЫ ПО САМБО И ДЗЮДО «ВИТЯЗЬ» Г. ПЕРМИ	75
Журавлева М. М., Данилова М.А. ПОДБОР ЭФФЕКТИВНЫХ ПРАЙМЕРОВ ДЛЯ ВИДА <i>SORBUS AUCUPARIA</i> L.	80
Кокшарова А. Н., Данилова М. А. МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ <i>FRAGARIA VIRIDIS</i> DUCH. В ПЕРМСКОМ КРАЕ	84
Колесникова Е.А., Валеева А.О. , Комарова Л.В. МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ ЕСТЕСТВЕННЫХ ПОПУЛЯЦИЙ СТЕРЛЯДИ (<i>ACIPENCER RUTHENUS</i>) РЕКИ ВЯТКА.....	89
Краева А.В., Нечаева Ю.И., Пьянкова А.А., Плотникова Е.Г. БАКТЕРИИ-ДЕСТРУКТОРЫ ФТАЛАТОВ ИЗ РИЗОСФЕРЫ РАСТЕНИЙ, ПРОИЗРАСТАЮЩИХ В РАЙОНЕ СОЛЕРАЗРАБОТОК (ПЕРМСКИЙ КРАЙ)	96
Левина Д.Р., Сорокина А.В., Корякова А.С., Боронникова С.В. МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ АЛЛЕЛЬНЫХ ВАРИАНТОВ ГЕНОВ <i>PPARG</i> , <i>PPARGC1A</i> , <i>NOS3</i> , АССОЦИИРОВАННЫХ С ФОРМИРОВАНИЕМ ВЫНОСЛИВОСТИ И СКОРОСТНО-СИЛОВЫХ КАЧЕСТВ У ЕДИНОБОРЦЕВ ГОРОДА ПЕРМИ.....	102
Носков А.С., Боронникова С.В. ГЕНЕТИЧЕСКОЕ РАЗНООБРАЗИЕ ПОПУЛЯЦИЙ <i>PINUS SYLVESTRIS</i> L. НА СРЕДНЕМ УРАЛЕ.....	108
Сорокина А.В., Корякова А.С., Левина Д.Р., Боронникова С.В. АЛЛЕЛЬНЫЕ ВАРИАНТЫ ГЕНОВ <i>ADRB2</i> , <i>REN</i> И <i>PPARG</i> , АССОЦИИРОВАННЫЕ С РАЗВИТИЕМ АРТЕРИАЛЬНОЙ ГИПЕРТЕНЗИИ.....	114
Сырвачева Д.Н., Данилова М.А. ISSR АНАЛИЗ ОЗИМЫХ СОРТОВ ТРИТИКАЛЕ ЦЕКАД 90, СИБАРД, ФОРТЕ	120
Щербинина К.Э., Боронникова С.В. ПОСЕВНЫЕ КАЧЕСТВА СЕМЯН ЗЕРНОВЫХ КУЛЬТУР ПОСЛЕ ПРЕДПОСЕВНОЙ ЛАЗЕРНОЙ ОБРАБОТКИ	125

Белоногова А. Г., Шибанова Н. Л.	
ВВЕДЕНИЕ В КУЛЬТУРУ <i>IN VITRO</i> НЕКОТОРЫХ СОРТОВ СЕНПОЛИИ.....	131
Кадыко В.В., Овеснов С.А.	
ФИТОИНВАЗИИ: ОПАСНОСТЬ И ВРЕД.....	136
Лузина Н.А., Новоселова Л.В.	
БОТАНИЧЕСКИЕ СПЕКТРЫ МЕДОВ ЧАСТИНСКОГО РАЙОНА ПЕРМСКОГО КРАЯ.	141
Лунёва Н.А., Шибанова Н.Л.	
ВВЕДЕНИЕ В КУЛЬТУРУ <i>IN VITRO</i> НЕКОТОРЫХ ПРЕДСТАВИТЕЛЕЙ РОДА <i>RHODODENDRON</i> L.	145
Орлова Е.М., Шумиловских Л.С., Новоселова Л.В.	
ГЛЯДЕНОВСКОЕ ГОРОДИЩЕ-КОСТИЩЕ В КОНТЕКСТЕ КАРПОЛОГИЧЕСКИХ ИССЛЕДОВАНИЙ	151
Смирнова А.С., Шибанова Н.Л.	
ВЫХОД СТЕРИЛЬНОЙ КУЛЬТУРЫ НЕКОТОРЫХ ПРЕДСТАВИТЕЛЕЙ РОДА ГОРТЕНЗИЯ (<i>HYDRANGEA</i> L.)	156
Фазиуллина К.А., Шибанова Н.Л.	
ВВЕДЕНИЕ В КУЛЬТУРУ <i>IN VITRO</i> СИРЕНИ (<i>SYRINGA</i> L.) ФРАНЦУЗСКОЙ СЕЛЕКЦИИ	161
ЗООЛОГИЯ БЕСПОЗВОНОЧНЫХ, ГИДРОБИОЛОГИЯ И ЭКОЛОГИЯ БЕСПОЗВОНОЧНЫХ	
Григорьева Т.А., Тиунов А.В.	
НОВЫЕ ДАННЫЕ О СТРУКТУРЕ ЛОВЧИХ СЕТЕЙ ПАУКОВ-КРУГОПРЯДОВ <i>CYCLOSA CONICA</i> (PALLAS, 1772) И <i>MANGORA ACALYPHA</i> (WALCKENAER, 1802)	166
Делидов Д.В.	
ПРЕДСТАВИТЕЛИ СЕМЕЙСТВА LYCOSIDAE (ARANEI) НЕКОТОРЫХ ОКРЕСТНОСТЕЙ Д.КОРЧЕВНЯ (КУДЫМКАРСКИЙ РАЙОН).....	171
Ермакова Т.В., Паньков Н.Н.	
ДОННЫЕ БЕСПОЗВОНОЧНЫЕ НЕКОТОРЫХ ВОДОТОКОВ ОЛЬСКОГО ПЛАТО (КОЛЫМСКОЕ НАГОРЬЕ)	174
Жуланова В.И., Лямин М.Я.	
БИОТОПИЧЕСКОЕ РАСПРЕДЕЛЕНИЕ И СЕЗОННАЯ ДИНАМИКА ПОПАДАЕМОСТИ ДНЕВНЫХ ЧЕШУЕКРЫЛЫХ ЗАКАЗНИКА ПРЕДУРАЛЬЕ	178
Манина М.Ю., Власов С.В.	
РУЧЕЙНИКИ (TRICHOPTERA: INSECTA) БАССЕЙНА РЕКИ ОЧЁР	183
Шутова Е.Н., Новикова У.Д.	
ПРИМЕНЕНИЕ ЛОВУШЕК МЕРИКЕ ПРИ ИЗУЧЕНИИ ЛОКАЛЬНОЙ ФАУНЫ ЧЛЕНИСТОНОГИХ	187

Плакхина Е.В., Есюнин С.Л.	
ЖУЖЕЛИЦЫ (COLEOPTERA, CARABIDAE) В ОРАНЖЕРЕЙНОМ КОМПЛЕКСЕ БОТАНИЧЕСКОГО САДА ПГНИУ (ПЕРМЬ).....	193
Устинова А.Л., Есюнин С.Л.	
СУТОЧНАЯ И СЕЗОННАЯ ДИНАМИКА НАСЕЛЕНИЯ ПАУКОВ-ХОРТОБИОНТОВ СТЕПЕЙ ТРОИЦКОГО ЗАКАЗНИКА	200
Крашенинников А.Б., Мухина Я.В.	
МАКРОЗООБЕНТОС НЕЗАМЕРЗАЮЩИХ ВОДОТОКОВ МАГАДАНСКОЙ ОБЛАСТИ	205
ЗООЛОГИЯ ПОЗВОНОЧНЫХ, ЭКОЛОГИЯ ПОЗВОНОЧНЫХ	
Варушкина Т.С., Голубова Е.Ю., Матвеева Г.К.	
ПИТАНИЕ ПТЕНЦОВ ТОПОРКА (<i>FRATERCULA CIRRHATA</i>) И ИПАТКИ (<i>FRATERCULA CORNICULATA</i>) НА ОСТРОВЕ ТАЛАН (ОХОТСКОЕ МОРЕ)	209
Вяткина Ю.В., Костицына Н.В.	
ФАКТОРЫ, ВЛИЯЮЩИЕ НА ФОРМИРОВАНИЕ БЮДЖЕТОВ ЭНЕРГИИ У СЕВЕРНЫХ МОРСКИХ КОТИКОВ <i>CALLORHINUS URSINUS</i> В УСЛОВИЯХ НЕВОЛИ.....	216
Еловикова К.Н., Колбин В.А., Костицына Н.В.	
СРАВНЕНИЕ СООБЩЕСТВ ПТИЦ ДВУХ ООПТ Г.ПЕРМИ: «ЛИПОВАЯ ГОРА» И «ЧЕРНЯЕВСКИЙ ЛЕС» И КАМНЯ ВЕТЛАН (ОКРЕСТНОСТИ Г.КРАСНОВИШЕРСКА).....	220
Каралаш А.А., Житлухина В.Н., Токарев А.В., Бакланов М.А.	
НАБЛЮДЕНИЯ ЗА ИХТИОФАУНОЙ НИЖНЕГО УЧАСТКА РЕКИ БЕЛАЯ В НЕРЕСТОВЫЙ ПЕРИОД 2023 ГОДА.....	226
Каширская В.В., Воронов Л.Н.	
ИЗУЧЕНИЕ СТРУКТУР МОЗЖЕЧКА СЕРОЙ ВОРОНЫ НА РАЗНЫХ СТАДИЯХ ПОСТНАТАЛЬНОГО РАЗВИТИЯ	229
Мурзыев А.Р., Казаринов С.Н., Комарова Л.В., Бакланов М.А., Михеев П.Б.	
ВЛИЯНИЕ ЗЯГРЯЗНЕНИЯ РЕК ГОРОДА БЕРЕЗНИКИ НА БИОЛОГИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ РЫБ	234
Пепеляева А.Д., Бакланов М.А., Михеев П.Б.	
СОДЕРЖАНИЕ МИКРОПЛАСТИКА В ЖЕЛУДОЧНО-КИШЕЧНЫХ ТРАКТАХ ПЛОТВЫ И ОКУНЯ МОТОВИЛИХИНСКОГО ПРУДА (ПЕРМСКИЙ КРАЙ).....	242
Мухамедшина И.А., Бесогонова К.А., Румак А.Е., Костицына Н.В.	
РЕЗУЛЬТАТЫ ОБУЧЕНИЯ СЕРЕБРИСТО-ЧЕРНЫХ ОДОМАШНЕННЫХ ЛИСИЦ.....	247
Сайкинова Е.Н., Четанов Н.А.	
ФОЛИДОЗ ЗМЕЙ КАМСКОГО ПРЕДУРАЛЬЯ	253
Сухова А.С., Касаткина А.П., Зеленинская В.Г., Михеев П.Б.	
ВЛИЯНИЕ ФАКТОРОВ СРЕДЫ НА РЫБ РЕКИ АМУР ПО РЕЗУЛЬТАТАМ СЕТНЫХ ОБЛОВОВ.....	258

Михеев П.Б., Шеина Т.А., Феофилактова Т.К., Васильев А.С.	
ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ОЦЕНКА ВОЗДЕЙСТВИЯ ГИПЕРОСМОТИЧЕСКОЙ СРЕДЫ НА МОЛОДЬ СТЕРЛЯДИ <i>ACIPENSER RUTHENUS</i>	264
Харин Р.В., Матвеева Г.К.	
ЭКОЛОГО-ОРНИТОЛОГИЧЕСКАЯ ОБСТАНОВКА НА АЭРОДРОМЕ «АЭРОПОРТА ТУРУХАНСК»	271
Шадрина И.А., Бакланов М.А., Михеев П.Б.	
ВИДОВОЙ СОСТАВ ИХТИОФАУНЫ ПРИУСТЬЕВОГО УЧАСТКА РЕКИ ВОЛИМ В УСЛОВИЯХ АНТРОПОГЕННОГО ЗАСОЛЕНИЯ ВОД	278
Ямандий М.М., Коротаева С.Э.	
ИЗУЧЕНИЕ КОГНИТИВНОЙ ДЕЯТЕЛЬНОСТИ СОБАК МЕТОДОМ ТЕСТИРОВАНИЯ ПО С. КОРЕНУ	282
ЭКОФИЗИОЛОГИЯ РАСТЕНИЙ И ЭКОЛОГИЯ ПОЧВ	
Гельцер Д.В., Нестерова Л.Ю., Ткаченко А.Г.	
ВЛИЯНИЕ ПОЛИАМИНОВ НА КОНЬЮГАЦИЮ БАКТЕРИЙ	288
Егорова В.В., Ушаков В.Ю., Смирнова Г.В., Октябрьский О.Н.	
ПРОДУКЦИЯ СЕРОВОДОРОДА У БАКТЕРИЙ <i>ESCHERICHIA COLI</i> , МУТАНТНЫХ ПО СИНТЕЗУ ГЛУТАТИОНА, ПРИ ДОБАВЛЕНИИ ЦИСТИНА В СРЕДУ КУЛЬТИВИРОВАНИЯ	293
Еловикова А.Е., Кайгородов Р.В.	
ВЛИЯНИЕ ЭКЗОГЕННОГО ПРОЛИНА НА НЕКОТОРЫЕ ПОКАЗАТЕЛИ СОЛЕУСТОЙЧИВОСТИ ПРОРОСТКОВ ГОРОХА.....	296
Ермолаев В.Л., Нестерова Л.Ю.	
ИЗМЕНЕНИЕ НЕКОТОРЫХ МОРФО-ФИЗИОЛОГИЧЕСКИХ ПАРАМЕТРОВ У ПШЕНИЦЫ И КРЕСС-САЛАТА ПРИ ВНЕСЕНИИ В ПОЧВУ КОРМОВЫХ ДРОЖЖЕЙ.	300
Жуланова Н.С., Четина О.А.	
АКТИВНОСТЬ ФЕРМЕНТОВ АНТИОКСИДАНТНОЙ СИСТЕМЫ У ОВСА ПОСЕВНОГО В РАЗЛИЧНЫХ УСЛОВИЯХ ЗАСОЛЕНИЯ И pH ПОЧВЫ.....	304
Зайдуллина Р.Ф., Кайгородов Р.В.	
НАКОПЛЕНИЕ ЗАСОЛЯЮЩИХ ИОНОВ И ОСМОПРОТЕКТОРОВ У ГАЛОФИТОВ В УСЛОВИЯХ МОРСКОГО ЗАСОЛЕНИЯ	310
Зубова Г.С., Кайгородов Р.В.	
ВЛИЯНИЕ КОРО-ДРЕВЕСНЫХ ОТХОДОВ НА АГРОХИМИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА РЕКУЛЬТИВАЦИОННЫХ ГРУНТОВ	316
Ильина В.Я., Сапцын Р.В.	
ОЦЕНКА СОСТОЯНИЯ НЕФТЕЗАГРЯЗНЕННОЙ РЕКУЛЬТИВИРОВАННОЙ СЕРОГУМУСОВОЙ ПОЧВЫ МЕТОДОМ ФИТОТЕСТИРОВАНИЯ	321

Коровина Е.А., Еремченко О.З.	
ЭКОЛОГИЧЕСКОЕ СОСТОЯНИЕ ПОЧВ ЖИЛЫХ РАЙОНОВ ГОРОДА ЧАЙКОВСКИЙ	325
Котельникова О.А., Копысова С.С., Боталова К.И.	
ВЛИЯНИЕ КИСЛОТНОГО И ЩЕЛОЧНОГО СТРЕССА НА КАТАЛАЗНУЮ АКТИВНОСТЬ В <i>HORDEUM VULGARE</i> L.	330
Мазур А.А., Четина О.А.	
ИЗМЕНЕНИЕ ФИЗИОЛОГО-БИОХИМИЧЕСКИХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ У ПШЕНИЦЫ МЯГКОЙ ПРИ ВОЗДЕЙСТВИИ АЭРОЗОЛЯ ЭЛЕКТРОННЫХ СИГАРЕТ.....	335
Никитина А.Н., Кайгородов Р.В.	
ВЛИЯНИЕ ЭКЗОГЕННОГО КАЛЬЦИЯ НА НЕКОТОРЫЕ ПОКАЗАТЕЛИ МЕТАЛЛОУСТОЙЧИВОСТИ ПРОРОСТКОВ ГОРОХА.....	340
Пестренин В.В., Боталова К.И., Белогубкин А.А.	
ВЛИЯНИЕ КИСЛОТНОГО И ЩЕЛОЧНОГО СТРЕССА НА СОДЕРЖАНИЕ ПИГМЕНТОВ И ПРОЛИНА В <i>TRITICOSECALE</i> WITTM. & A.CAMUS.....	344
Сидоренко Т.С., Сапцын Р.В.	
ВЛИЯНИЕ НЕФТЕЗАГРЯЗНЕНИЯ НА ФЕРМЕНТАТИВНУЮ АКТИВНОСТЬ РЕКУЛЬТИВИРОВАННОЙ СЕРОГУМУСОВОЙ ПОЧВЫ	351
Султанова Н.С., Митракова Н.В.	
ЭКОЛОГО-БИОЛОГИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА ТЕХНОГЕННЫХ ПОВЕРХНОСТНЫХ ОБРАЗОВАНИЙ РЕКУЛЬТИВИРОВАННЫХ ОТВАЛОВ	357
Шистерова М.Ф., Кайгородов Р.В.	
ВЛИЯНИЕ КОРО-ДРЕВЕСНЫХ ОТХОДОВ НА БИОЛОГИЧЕСКУЮ АКТИВНОСТЬ ГРУНТОВ	361

Научное издание

Фундаментальные и прикладные исследования в биологии и экологии

*Материалы региональной научной конференции
(г. Пермь, ПГНИУ, 15–19 апреля 2024 г.)*

Издается в авторской редакции
Компьютерная верстка: *М. Я. Лямин*

Объем данных 30,3 Мб
Подписано к использованию 21.11.2024

Размещено в открытом доступе на сайте www.psu.ru
в разделе НАУКА / Электронные публикации
и в электронной мультимедийной библиотеке ELiS

Управление издательской деятельности
Пермского государственного
национального исследовательского университета
614068, г. Пермь, ул. Букирева, 15