

Включен в Перечень рецензируемых научных изданий ВАК РФ, в которых должны быть опубликованы основные научные результаты диссертаций на соискание ученых степеней по специальностям:

03.03.03 Иммунология, 1.5.9. Ботаника, 1.5.11. Микробиология, 1.5.12. Зоология, 1.5.7. Генетика, 3.3.8. Клиническая лабораторная диагностика

Учредитель: Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Пермский государственный национальный исследовательский университет»

Редакционный совет

В. С. Артамонова, д.б.н., Институт почвоведения и агрохимии СО РАН, г. Новосибирск, Россия
О. Ю. Баранов, д.б.н., Институт леса НАН Беларуси, г. Гомель, Беларусь
О. Г. Баранова, д.б.н., Ботанический институт им. В.Л. Комарова РАН, г. С.-Петербург, Россия
В. Д. Богданов, д.б.н., чл.-корр. РАН, Институт экологии растений и животных УрО РАН, г. Екатеринбург, Россия
М. В. Винарский, д.б.н., Санкт-Петербургский государственный университет, г. Санкт-Петербург, Россия
О. В. Долгих, д.м.н., Федеральный научный центр медико-профилактических технологий управления рисками здоровью населения Роспотребнадзора, г. Пермь, Россия
С. А. Заморина, д.б.н., Пермский государственный национальный исследовательский университет, г. Пермь, Россия
Е. В. Зиновьев, д.м.н., Институт экологии растений и животных УрО РАН, г. Екатеринбург, Россия
Р. А. Календарь, к.б.н., "National Laboratory Astana", Назарбаев Университет, г. Нур-Султан, Республика Казахстан
Э. А. Коркотян, к.б.н., Научно-исследовательский институт им. Вейцмана, г. Реховот, Израиль
Н. Кристофи, PhD, Единбургский Нэпир университет, г. Единбург, Великобритания
А. И. Литвиненко, д.б.н., Государственный аграрный университет Северного Зауралья, г. Тюмень, Россия
П. Б. Михеев, PhD, доцент, Пермский государственный национальный исследовательский университет, г. Пермь, Россия
Е. Г. Плотникова, д.б.н., Институт экологии и генетики микроорганизмов УрО РАН, г. Пермь, Россия
Д. В. Политов, д.б.н., Институт общей генетики им. Н.И. Вавилова РАН, г. Москва, Россия
А. В. Пузанов, д.б.н., Институт водных и экологических проблем СО РАН, г. Барнаул, Россия
М. Б. Раев, д.б.н., Институт экологии и генетики микроорганизмов УрО РАН, г. Пермь, Россия
Е. В. Рахимова, д.б.н., Институт ботаники и фитоинтродукции Комитета лесного хозяйства и животного мира, г. Алматы, Республика Казахстан
В. П. Середина, д.б.н., профессор, Национальный исследовательский томский государственный университет, г. Томск, Россия
В. А. Черешнев, д.м.н., академик РАН, Институт иммунологии и физиологии УрО РАН, г. Екатеринбург, Россия
А. Г. Ширяев, д.б.н., Институт экологии растений и животных УрО РАН, г. Екатеринбург, Россия

Редакционная коллегия

С. В. Боронникова, д.б.н., Пермский государственный национальный исследовательский университет, г. Пермь, Россия
С. В. Гейн, д.м.н., Институт экологии и генетики микроорганизмов УрО РАН, г. Пермь, Россия
А. А. Елькин, к.б.н., Пермский государственный национальный исследовательский университет, г. Пермь, Россия
О. З. Ермченко, д.б.н., Пермский государственный национальный исследовательский университет, г. Пермь, Россия
С. Л. Есюнин, д.б.н., Пермский государственный национальный исследовательский университет, г. Пермь, Россия
Е. Г. Ефимик (секретарь редколлегии), к.б.н., Пермский государственный национальный исследовательский университет, г. Пермь, Россия
Н. В. Зайцева, д.м.н., академик РАН, Федеральный научный центр медико-профилактических технологий управления рисками здоровью населения Роспотребнадзора, г. Пермь, Россия
И. Б. Ившина, д.б.н., академик РАН, Институт экологии и генетики микроорганизмов УрО РАН, г. Пермь, Россия
А. Р. Ишбирдин, д-р биол. наук, профессор, Башкирский государственный университет, г. Уфа, Россия
М. С. Куякина (гл. редактор), д.б.н., Пермский государственный национальный исследовательский университет, г. Пермь, Россия
С. А. Овеснов, д.б.н., Пермский государственный национальный исследовательский университет, г. Пермь, Россия
Л. Г. Переведенцева, д.б.н., Пермский государственный национальный исследовательский университет, г. Пермь, Россия
О. Ю. Устинова, д.м.н., Федеральный научный центр медико-профилактических технологий управления рисками здоровью населения Роспотребнадзора, г. Пермь, Россия

Ответственный редактор выпуска **С. А. Овеснов**

© Редакционная коллегия, 2022

Адрес учредителя и издателя:
614068, г. Пермь, ул. Букирева, 15;
Тел.: 8 (342)2396435; E-mail: info@psu.ru
Подписка на журнал осуществляется онлайн на сайте «Пресса России. Объединенный каталог» <https://www.pressa-rf.ru/cat/1/edition/e41000/>. Подписной индекс 41000
Адрес редакции: 614068, г. Пермь, ул. Букирева, 15;
Тел.: 8 (342)2396233
E-mail: vestnik_psu_bio@mail.ru
Сайт: press.psu.ru/index.php/bio

Журнал зарегистрирован в Федеральной службе по надзору в сфере связи, информационных технологий и массовых коммуникаций. Свид. о регистрации средства масс. информации ПИ № ФС 77-66484 от 14 июля 2016 г.

Editorial Board

- V. S. Artamonova**, Dr. Biol. Sc., Institute of Soil Science and Agrochemistry of the SB RAS, Novosibirsk, Russia
O. Yu. Baranov, Dr. Biol. Sc., Institute of Forest of the NAS of Belarus, Gomel, Belarus
O. G. Baranova, Dr. Biol. Sc., Botanical Institute of the RAS, St. Petersburg, Russia
V. D. Bogdanov, Dr. Biol. Sc., Corresponding Member of the RAS, Institute of Plant and Animal Ecology of UB RAS, Ekaterinburg, Russia
M. V. Vinarski, Dr. Biol. Sc., St. Petersburg State University, St. Petersburg, Russia
O. V. Dolgikh, Dr. Med. Sc., Federal Scientific Center for Medical and Preventive Health Risk Management Technologies, Perm, Russia
S. A. Zamorina, Dr. Biol. Sc., Perm State University, Perm, Russia
E. V. Zinoviev, Dr. Med. Sc., Institute of Plant and Animal Ecology of UB RAS, Ekaterinburg, Russia
R. A. Kalendar, Cand. Biol. Sc. "National Laboratory Astana", Nazarbaev University, Nur-Sultan, Kazakhstan
E. A. Korkotyan, Cand. Biol. Sc. Weizmann Institute of Science, Rehovot, Israel
N. Christofi, PhD, Edinburgh Napier University, Edinburgh, Great Britain
A. I. Litvinenko, Dr. Biol. Sc., State agrarian University of Northern TRANS-Urals, Tyumen, Russia
P. B. Mikheev, PhD, Perm State University, Perm, Russia
E. G. Plotnikova, Dr. Biol. Sc., Institute of Ecology and Genetics of Microorganisms of the UB RAS, Perm, Russia
D. V. Politov, Dr. Biol. Sc., Vavilov Institute of General Genetics of the RAS, Moscow, Russia
A. V. Puzanov, Dr. Biol. Sc., Institute for Water and Environmental Problems of the SB RAS, Barnaul, Russia
M. B. Raev, Dr. Biol. Sc., Institute of Ecology and Genetics of Microorganisms of the UB RAS, Perm, Russia
E. V. Rachimova, Dr. Biol. Sc., Institute of Botany and Phytointroduction of the Committee for Forestry and Wildlife, Almaty, Kazakhstan
V. P. Serezhina, Dr. Biol. Sc., Tomsk State University, Tomsk, Russia
V. A. Cheshnev, Dr. Med. Sc., Full Member of the RAS, Institute of Immunology and Physiology of UB RAS, Ekaterinburg, Russia
A. G. Shiryaev, Dr. Biol. Sc., Institute of Plant and Animal Ecology of the UB RAS, Ekaterinburg, Russia

Editors

- S. V. Boronnikova**, Dr. Biol. Sc., Perm State University, Perm, Russia
S. V. Gein, Dr. Med. Sc., Institute of Ecology and Genetics of Microorganisms of the UB RAS, Perm, Russia
A. A. Elkin, Cand. Biol. Sc., Perm State University, Perm, Russia
O. Z. Eremchenko, Dr. Biol. Sc., Perm State University, Perm, Russia
S. L. Eshyulin, Dr. Biol. Sc., Perm State University, Perm, Russia
E. G. Efimik (secretary of the editorial board), Cand. Biol. Sc., Perm State University, Perm, Russia
N. V. Zaitseva, Dr. Med. Sc., Full Member of the RAS, Federal Scientific Center for Medical and Preventive Health Risk Management Technologies, Perm, Russia
I. B. Ivshina, Dr. Biol. Sc., Full Member of the RAS, Institute of Ecology and Genetics of Microorganisms of the UB RAS, Perm, Russia
A. R. Ishbirdin, Dr. Biol. Sc., Bashkir State University, Ufa, Russia
M. S. Kuyukina (editor in chief), Dr. Biol. Sc., Perm State University, Perm, Russia
S. A. Ovesnov, Dr. Biol. Sc., Perm State University, Perm, Russia
L. G. Perevedenceva, Dr. Biol. Sc., Perm State University, Perm, Russia
O. Yu. Ustinova, Dr. Med. Sc., Federal Scientific Center for Medical and Preventive Health Risk Management Technologies, Perm, Russia

Contributed editor of the issue **S. A. Ovesnov**

© Editorial Board, 2022

Founder and Publisher Address:

614068, Perm, Bukireva, 15;

Tel: 8 (342) 2396435; E-mail: info@psu.ru

For subscription, visit the United catalog of Press of Russia:

<https://www.pressa-ru/cat/1/edition/e41000/>. Index 41000

The journal is registered with the Federal Service for Supervision of Communications, Information Technology and Mass Media. Certificate of registration of mass media PI No. FS 77-66484 dated July 14, 2016.

Editorial office address: 614068, Perm, Bukireva, 15;

Tel.: 8 (342) 2396233

E-mail: vestnik_psu_bio@mail.ru

Website: press.psu.ru/index.php/bio

Содержание

Ботаника

<i>Баранова О. Г.</i> Флора ГПБЗ «Кокманский» (Удмуртская Республика)	87
<i>Молганова Н. А., Овеснов С. А.</i> Особенности микроморфологии и анатомии листа <i>Populus tremula</i> L. (sect. <i>Populus</i>) и <i>P. nigra</i> L. (sect. <i>Aigeiros</i> Duby, <i>Salicaceae</i>)	93
<i>Филиппова Т. А., Худогова Е. Г.</i> Биоморфологические особенности виргинильных растений рода <i>Euonymus</i> L.	101

Зоология

<i>Поспелова А. Д.</i> Степень зараженности самок <i>Lasius</i> (Hymenoptera: Formicidae) тахиной <i>Strongygaster globula</i> (Diptera: Tachinidae)	107
<i>Семенов А. С., Попцова О. С.</i> Влияние возраста самок немецкой овчарки на репродуктивные показатели	112
<i>Четанов Н. А., Литвинов Н. А., Ганищук С. В., Галиулин Д. М.</i> Изучение терморегуляционного поведения рептилий при подкожной имплантации терморегистраторов	119

Микробиология

<i>Афанасьевская Е. В., Мельникова Т. А., Горовиц Э. С., Николаева Н. В.</i> Состояние микробиома нижних отделов репродуктивного тракта у беременных, инфицированных <i>Ureaplasma urealyticum</i> , в зависимости от степени колонизации	125
<i>Макимова Ю. Г., Быкова Я. Е.</i> Влияние одностенных углеродных нанотрубок на биопленкообразование актинобактерий рода <i>Rhodococcus</i> и протеобактерий активного ила	131
<i>Николаева Н. В., Афанасьевская Е. В., Горовиц Э. С., Перевалов А. Я.</i> Состояние микробиоценоза кишечника как критерий оценки качества питания	137
<i>Шипко Е. С., Дуванова О. В.</i> Влияние температурного стресса на спектр жирных кислот штаммов <i>Vibrio cholerae</i>	143

Почвоведение

<i>Артамонова В. С., Бортникова С. Б.</i> Биогеохимическая характеристика корнеобитаемого слоя травянистых растений на рекультивированных участках техногенных отходов	155
--	-----

Персоналии

<i>Новоселова Л. В.</i> Памяти Валентины Александровны Верещагиной (22.02.1937–24.01.2020)	164
Правила оформления статей в Вестник Пермского университета. Серия Биология	168

Contents

Botany

Baranova O. G. Flora of the Kokmansky Nature Reserve (Udmurt Republic)	87
Molganova N. A., Ovesnov S. A. Features of the micromorphology and anatomy of the leaf <i>Populus tremula</i> L. (sect. <i>Populus</i>) and <i>P. nigra</i> L. (sect. <i>Aigeiros</i> Duby, <i>Salicaceae</i>)	93
Filippova T. A., Khudonogova E. G. Biomorphological features of virginal plants of the genus <i>Euonymus</i> L.	101

Zoology

Pospelova A. D. Degree of infestation of <i>Lasius</i> queens (Hymenoptera: Formicidae) by Tachinid flies <i>Strongygaster globula</i> (Diptera: Tachinidae) in the town of Kungur (Perm Province)	107
Semenov A. S., Poptsova O. S. Influence of the age of german shepherd female on reproductive indicators	112
Chetanov N. A., Litvinov N. A., Ganshchuk S. V., Galiulin D. M. The study of the thermoregulatory behavior of reptiles during subcutaneous implantation of thermorecorders	119

Microbiology

Afanasievskaya E. V., Melnikova T. A., Gorovitz E. S., Nikolaeva N. V. The microbiome state of lower parts of pregnant women reproductive tract infected with <i>Ureaplasma urealyticum</i> depending on the colonization degree	125
Maksimova Yu. G., Bykova Ya. E. Influence of single-walled carbon nanotubes on the biofilm formation of actinobacteria of the <i>Rhodococcus</i> genus and proteobacteria of activated sludge	131
Nikolaeva N. V., Afanasevskaja E. V., Gorovitz E. S., Perevalov A. Ja. Intestinal microbiocinosis status as a criterion for nutritional quality assessment	137
Shipko E. S., Duvanova O. V. Influence of temperature stress on the spectrum of fatty acids of <i>Vibrio cholerae</i> strains	143

Soil science

Artamonova V. S., Bortnikova S. B. Biogeochemical characteristics of the root layer of herbaceous plants in recultivated areas of man-made waste	155
---	-----

Personalities

Novoselova L. V. The memory of Valentina A. Vereshchagina (22.02.1937-24.01.2020)	164
--	-----

БОТАНИКА

Научная статья

УДК 581.9 (471.51)

doi: 10.17072/1994-9952-2022-2-87-92.

Флора ГПБЗ «Кокманский» (Удмуртская Республика)

Ольга Германовна Баранова¹

¹ Ботанический институт им. В. Л. Комарова РАН, Санкт-Петербург, Россия, OBaranova@binran.ru,
<https://orcid.org/0000-0002-2964-0832>

Аннотация. Подводятся итоги многолетнего изучения аборигенной флоры заказника «Кокманский». Большая часть его территории покрыта лесными сообществами, преимущественно сосновыми, поэтому флора не богата и насчитывает 408 аборигенных видов сосудистых растений, относящихся к 220 родам и 74 семействам. На территории Кокманского заказника был обнаружен 41 редкий вид сосудистых растений, часть из которых включена в региональную Красную книгу (18 видов) и один вид – *Dactylorhiza traunsteineri* (Saut.) Soó – занесен в Красную книгу РФ. Кроме того, нами к редким отнесены виды, включенные в Приложение к региональной Красной книге (14 видов) и редко встречающиеся на территории республики.

Ключевые слова: флора ООПТ; Кокманский заказник; Удмуртская Республика, Красная книга

Для цитирования: Баранова О. Г. Флора ГПБЗ «Кокманский» (Удмуртская Республика) // Вестник Пермского университета. Сер. Биология. 2022. Вып. 2. С. 87–92. <http://dx.doi.org/10.17072/1994-9952-2022-2-87-92>.

Благодарности: работа частично выполнена в рамках реализации государственного задания по теме: «Сосудистые растения Евразии: систематика, флора, растительные ресурсы» (AAAA-A19-119031290052-1). Особо хотелось бы отметить большую помощь в проведении различного рода работ со стороны бывшего инспектора Комитета по охране окружающей среды Красногорского района А.М. Дубовцева, за что ему очень признательны все исследователи заказника, а за большую просветительскую работу и сохранность его объектов хочется сказать спасибо экологу А.И. Перминову. Помощь в исследовании растительного покрова заказника и его окрестностей оказали к.б.н. А.Н. Пузырев, к.б.н. Н.Р. Веселкова, Е.М. Маркова и студенты Удмуртского государственного университета во время полевых практик, за что их хочется поблагодарить.

BOTANY

Original article

Flora of the Kokmansky Nature Reserve (Udmurt Republic)

Olga G. Baranova¹

¹ Komarov Botanical Institute of the RAS, St. Petersburg, Russia, OBaranova@binran.ru, <https://orcid.org/0000-0002-2964-0832>

Abstract. The article summarizes the results of a long-term study of the aboriginal flora in the Kokmansky Nature Reserve. Most of its territory is covered with forest communities, mainly pine ones. Its flora is not rich and has 408 native species of vascular plants belonging to 220 genera and 74 families. 41 rare species of vascular plants were found in the territory of the Kokmansky Reserve, some of them are included in the regional Red Book (18 species) and one species – *Dactylorhiza traunsteineri* – is listed in the Red Book of the Russian Federation. In addition, we have classified as rare the species included in the Appendix in the regional Red Book (14 species) and rarely found in the territory of the republic.

Keywords: flora of protected areas; Kokmansky Nature Reserve; Udmurt Republic, Red Book

For citation: Baranova O. G. [Flora of the Kokmansky Nature Reserve (Udmurt Republic)]. *Bulletin of Perm University. Biology*. Iss. 2 (2022): pp. 87-92. (In Russ.). <http://dx.doi.org/10.17072/1994-9952-2022-2-87-92>.

Acknowledgments: the work was partially carried out as part of the implementation of the government assignment on the topic "Vascular plants of Eurasia: systematics, flora, plant resources" (AAAAA-A19-119031290052-1). The author would especially like to acknowledge the great help in carrying out various kinds of work from A.M. Dubovtsev, the former inspector of the Committee for Environmental Protection of Kras-

nogorsk district, for which all the researchers of the reserve are very grateful to him. The author also highly appreciates A.I. Perminov, the ecologist, for the great educational work and the safety of objects in the district. A.N. Puzyrev, Ph.D. in Biology, N.R. Veselkova, Ph.D. in Biology, and E.M. Markova and students of Udmurt State University greatly contributed to the study of the vegetation cover of the reserve and its surroundings during field practices.

Создание особо охраняемых природных территорий и охрана на них всего природного комплекса – крайне важная задача для естественного функционирования экосистем и, в первую очередь, его автотрофных организмов. Локальная сеть ООПТ должна состоять из больших по площади природных комплексов, имеющих мало нарушенный под действием антропогенного фактора растительный покров и небольших по площади территорий, включающих изолированные местообитания растений и животных. Такие территории должны выполнять основные функции по сохранению биоразнообразия и быть узловыми точками экологического каркаса.

В начале 1990-х гг. в ходе рекогносцировочных исследований флоры и растительности Красногорского и сопредельных р-нов УР в окрестностях пос. Кокман были выявлены местонахождения многих редких видов растений и их сообществ, а также растительные сообщества, выделяющиеся среди прочих территорий лучшей сохранностью. В Удмуртии на границе южной и широколиственно-хвойной подзон таежной зоны участки со столь хорошо сохранившейся флорой и растительностью являются редкостью. Отсюда появилась идея создания сначала Кокманского ботанического памятника природы, а затем перевода его в ранг заказника с тем, чтобы не только сохранить его уникальность, но и сделать его объектом постоянного наблюдения за сохранностью имеющегося здесь природного комплекса. Мою инициативу по созданию Кокманского ботанического заказника поддержал Красногорский Совет депутатов, и данная территория получила охранный статус на уровне административного района его решением 23.02.1995 г.; 2005 г. ознаменовался созданием двух ботанических заказников, единственных на территории Удмуртской Республики в настоящее время – «Андреевский сосновый бор» и «Кокманский», расположенных в Красногорском р-не. Они появились по постановлению Правительства Удмуртской Республики №142 от 10 октября 2005 г. и стали в западной части республики узловыми точками экологического каркаса, так как значительная часть территории заказников занята лесными ландшафтами.

Красногорский р-н располагается в северо-западной части республики в лесной зоне. По ботанико-географическому районированию европейской части России территория Удмуртии входит в состав Камско-Печерско-Западноуральской подпровинции Урало-Западносибирской таежной провинции Евразийской таежной области [Исаченко, Лавренко, 1980]. По схеме геоботанического районирования Нечерноземья [Геоботаническое..., 1989] он находится в пределах Кильмезско-Левобережноякского геоботанического округа, по геоботаническому районированию Удмуртии расположен в северо-западном геоботаническом районе [Ефимова и др., 1972]. По схеме флористического районирования Восточной Европы Р.В. Камелина [2004] территория заказника находится в пределах Североевропейско-Уральской подпровинции Североевропейско-Уралосибирской провинции Евросибирской подобласти Циркумбореальной области Голарктического царства. По флористическому районированию Удмуртии его территория входит в Кильмезско-Закамский флористический район [Баранова, 2019].

Территория заказника «Кокманский» богата уникальными по своему разнообразию природными комплексами. В первую очередь, к ним относятся эталонные участки реликтовых плейстоценовых материковых дюн, находящихся на крайнем восточном пределе их географического распространения. Материковые дюны, являющиеся реликтовыми элементами ландшафта на востоке Русской равнины, определили создание своеобразного комплекса растительного покрова, сочетающего как лесные, так и болотные сообщества, что стало возможным благодаря интенсивному расчленению мезо- и микрорельефа и наличию разнообразных эдафических условий. Основными типами почвообразующих пород на данной территории являются повсеместно распространенные пески и супеси эолового генезиса, залегающие по пологим и слабо покатым склонам увалов, водораздельным поверхностям [Бутаков, 1986].

Государственный природный ботанический заказник «Кокманский» регионального значения находится на землях лесного фонда Красногорского лесничества, Кокманского участкового лесничества в кварталах 54 (выделы 2–44), 55, 56, 69 (выделы 2–5, 8, 9), 70 (выделы 1–7), 71, 72, 87, 88, занимая площадь в 16,5 км². Указанные земли не изъяты полностью из хозяйственной эксплуатации и остаются в ведении Красногорского лесничества.

Материалы и методы исследований

Флористические описания и гербарные сборы на территории заказника были проведены в разные годы (1990, 1993–1995, 1998, 2004, 2005, 2020), но основная работа по описанию природных достопримечательностей была осуществлена в 1998 г. в рамках договора между Комитетом по экологии и охране

окружающей среды УР и Удмуртским государственным университетом по теме «Исследование Кокманского природного феномена с целью создания системы сохранения его фитогеофлоры (Красногорский район) Удмуртской Республики».

Большая часть гербарного материала была собрана в 1993 г. в окрестностях пос. Кокман студентами-биологами УдГУ под руководством О.Г. Барановой, во время полевой практики по ботанике. Гербарные материалы хранятся в Гербарии Удмуртского университета (UDU). Информация о редких видах растений, встречающихся на территории заказника, дана в ряде публикаций [Баранова, Тарасова, 1995; Баранова и др., 1999; Баранова, Пузырев, 2012; Красная..., 2012; Редкие..., 2016; Баранова, 2020].

Результаты и их обсуждение

Территория заказника почти сплошь покрыта лесами, причем преобладающим типом являются сосновые леса. Здесь встречаются следующие группы сосновых лесов: сосняки-зеленомошники, сосняки лишайниковые и сосняки сфагновые. Большая часть исследованной территории занята сосняками-зеленомошниками. Они приурочены преимущественно к слабохолмистым местоположениям с песчаными почвами слабой степени оподзоленности и относительно неглубоким залеганием грунтовых вод. На территории заказника они представлены преимущественно сосняками бруснично-зеленомошными и сосняками чернично-зеленомошными. В заболоченных низинах встречаются сосняки пушицево-сфагновые.

Сравнительно небольшие площади во всех кварталах заказника заняты еловыми лесами. Среди них встречаются ельники-долгомошники, ельники сфагновые и ельники сложные. Ельники сложные представлены ельниками липовыми с доминированием сныти в травяно-кустарничковом ярусе.

Лиственные леса на территории заказника занимают относительно небольшие площади, но встречаются во всех кварталах и состоят преимущественно из мелколиственных пород – *Betula pendula*, *Populus tremula*, *Alnus incana*. Березняки и осинники представляют собой преимущественно вторичные леса (произрастают на месте вырубленных сосновых и еловых лесов). Из коренных типов лиственных лесов отмечены ольшаники, встречающиеся как правило, вдоль ручьев, на заболоченных почвах, в понижениях рельефа.

На повышенных участках рельефа с хорошо дренированными почвами небольшими массивами располагаются широколиственные леса с преобладанием в древостое *Tilia cordata*. Как правило, липовые леса образовались в результате проведения сплошных или выборочных рубок в елово-липовых лесах.

В заказнике до его создания неоднократно производились рубки леса, поэтому сохранились не занятые лесом пространства; довольно большие площади занимают посадки лесных культур, чаще всего *Pinus sylvestris*, реже *Picea obovata*.

На исследуемой территории встречаются различные типы болот, но доминирующими являются сфагновые болота. Они располагаются в небольших понижениях рельефа среди сосняков-зеленомошников, имеют овальную или округлую форму. Распространены во всех кварталах, но особенно большие массивы их можно найти в 54, 55, 72 кв. Их происхождение связано с ледниковым периодом, когда здесь плескались небольшие озера, которые затем заросли, сформировав сфагновые болота. На территории заказника имеется лишь один водоем, еще полностью не заросший, со сплавиной в центральной части, имеющий местное название «Романовы озера».

В пределах заповедника в настоящее время выявлено произрастание 408 аборигенных видов сосудистых растений, относящихся к 220 родам и 74 семействам. В это число не включены микровиды из родов *Alchemilla*, *Hieracium*, *Pilosella*, *Taraxacum*, *Ranunculus*, внешне очень слабо отличающиеся друг от друга. Их выявление требует особого, критического изучения. В это число не вошли и чужеродные виды, преимущественно североамериканского происхождения (*Conyza canadensis* (L.) Cronquist, *Epilobium adenocaulon* Hausskn., *E. pseudorubescens* A. Skvorts., *Elodea canadensis* Michx. и др.). Небольшое количество чужеродных видов связано с удаленностью территории от крупных железных и автомобильных дорог, относительно небольшой нарушенностью растительного покрова. Узкоколейная железная дорога Игра – Валамаз, еще недавно проходившая по территории заказника, носила местный характер и, по видимому, не играла какой-либо заметной роли в миграции чужеродных растений.

В целом показатели флористического богатства заказника не столь высоки, что можно объяснить однообразием лесных сообществ на его территории. Флористическое богатство и всего Красногорского района в целом невелико, на его площади 1 860 км² отмечен всего 601 вид аборигенных растений из 295 родов и 88 семейств [Баранова, 2020].

Порядок расположения семейств в головной части семейственно-видовых спектров флор заказника и Красногорского р-на в целом представлен в табл. 1.

Стоит отметить, что в сравниваемых флорах в целом набор ведущих по числу видов семейств одинаков, как и почти сходное расположение семи семейств в семейственно-видовых спектрах. По сравнению с флорой всего района во флоре заказника повышена роль семейства *Cyperaceae*, но это вполне объяснимо тем, что в его пределах заболоченные сообщества занимают значительные площади. Семейство *Brassicaceae* в исследованной флоре вообще отсутствует в десятке семейств, что определяется отсутствием открытых нарушенных участков с рудеральными и сорными растениями. В десятку ведущих се-

мейств во флоре заказника вошло семейство *Salicaceae*, которое не имеется ни во флоре Красногорского р-на, ни во флоре Удмуртии в целом [Баранова, Пузырев, 2012; Баранова, 2020].

Таблица 1

Ведущие по числу видов семейства во флоре Красногорского района и заказника «Кокманский»
[Families leading by the number of species in the Kokmansky Nature Reserve flora]

Семейство	Красногорский р-н		Кокманский заказник	
	Число видов	Ранг	Число видов	Ранг
<i>Asteraceae</i>	52	1	38	1
<i>Poaceae</i>	51	2	36	3
<i>Cyperaceae</i>	50	3	37	2
<i>Rosaceae</i>	30	4	21	4
<i>Caryophyllaceae</i>	27	5-6	18	5
<i>Ranunculaceae</i>	27	5-6	15	6
<i>Fabaceae</i>	24	7	13	10
<i>Polygonaceae</i>	19	8-9	8	(11-12)
<i>Lamiaceae</i>	19	8-9	14	7-9
<i>Scrophulariaceae</i>	18	10-11	14	7-9
<i>Apiaceae</i>	18	10-11	8	(11-12)
<i>Salicaceae</i>	16	(12)	14	7-9
% в 10 ведущих семействах	52.7		53.8	

На долю 10 ведущих семейств во флорах Красногорского р-на и заказника приходится менее 54% всех представителей флоры, что достаточно типично для природных бореальных флор.

В ходе исследований территории Кокманского заказника было обнаружен 41 редкий вид сосудистых растений, часть из них включена в Красную книгу УР (18 видов) [Красная..., 2012] и один вид – *Dactylorhiza traunsteineri* (Saut.) Soó – занесен в Красную книгу РФ [Красная..., 2008] (табл. 2). Кроме того, нами к редким отнесены виды, включенные в Приложение к региональной Красной книге (14 видов) и редко встречающиеся на территории республики.

Таблица 2

Редкие и исчезающие виды растений на территории заказника «Кокманский»
[Rare and endangered species of the Kokmansky Nature Reserve]

Название растения	Статус	Местонахождение, состояние
<i>Botrychium virginianum</i> (L.) Sw.	3	Вырубка в березовом лесу, единично
<i>Carex chordorrhiza</i> Ehrh.	3	В сфагновых болотах по всей территории, обильно
<i>Carex limosa</i> L.	3	В сфагновых болотах по всей территории, обильно
<i>Carex pauciflora</i> Lightf.	3	Сфагновые болота, очень редко
<i>Carex tenuiflora</i> Wahlenb.	2	Переходное болото, в небольшом количестве особей
<i>Eriophorum gracile</i> Koch	3	Сфагновые болот, редко
<i>Dactylorhiza traunsteineri</i> (Saut.) Soó	2	Сфагновые болота, единично
<i>Drosera rotundifolia</i> L.	2	Сфагновые болота, местами обильно, было отмечено активное расселение вида на нарушенных влажных открытых песчаных субстратах
<i>Hammarbya paludosa</i> (L.) O.Kuntze	2	Сфагновое болото, 2–6 особей, появляется не каждый год
<i>Huperzia selago</i> (L.) Bernh. ex Schrank et C. Mart.	3	Заболоченный еловый лес
<i>Lycopodiella inundata</i> (L.) Holub	3	Сырые песчаные субстраты, предпочитает открытые участки
<i>Oxycoccus microcarpus</i> Turcz. ex Rupr.	3	Сосняк сфагновый, на небольшой площади
<i>Pulsatilla flavescens</i> (Zucc.) Juz.	3	Сосняки, небольшими группами, рассеяно
<i>Salix myrtilloides</i> L.	3	на верховых болотах
<i>Scheuchzeria palustris</i> L.	3	Сфагновые болота, по всей территории, обильно
<i>Thymus ovatus</i> Mill.	3	Опушка соснового леса, одна куртина
<i>Vaccinium uliginosum</i> L.	3	Окраины сфагновых болот, изредка
<i>Utricularia intermedia</i> Hayne	3	Сфагновое болото, наблюдалась однажды

Как видно из табл. 2, большинство видов Красной книги Удмуртской Республики имеет 3 категорию и на территории заказника встречаются преимущественно на сфагновых болотах. Среди редких растений есть виды, распространение которых еще до конца не изучено на территории Удмуртии; к ним, например, относится *Dianthus fischeri* Spreng., которая произрастает только на территории Кокманского заказника. Во время исследований 1998 г. было выявлено 2 местонахождения *Salix phylicifolia* L. (в 54 и 72 кв.), считавшейся ранее исчезнувшей с территории Удмуртии.

Sparganium glomeratum (Laest.) Neuman предпочитает расти на субстратах с избыточным увлажнением. Популяция, найденная на территории заказника в мочажине сфагнового болота на грани 71 кв. и 70 кв., отличается малочисленностью особей. В Удмуртии известно менее 10 местонахождения вида, так же отличающихся низкой численностью [Баранова, Пузырев, 2012; Редкие..., 2016].

Utricularia minor L. растет в небольших водоемах, чаще в мочажинах сфагновых болот или по их окраинам. На территории заказника было найдено три ценопопуляции (в 55, 56, 71 кв.).

Nardus stricta L. приурочен преимущественно к песчаным субстратам, поэтому в республике достаточно редок. Европейское растение, находится на северо-восточной границе ареала, чаще встречается в центральных районах. *Polygala wolfgangiana* Besser ex Szafer, Kulcz. et Pavl. растет по сосновым лесам, в Удмуртии произрастает преимущественно на юге, вероятно, находится на северной границе распространения [Баранова, Пузырев, 2012].

К редким видам относится и *Larix sibirica* Ledeb., вид, который до XVIII в. был распространенной лесобразующей породой на данной территории, свидетелями чему являются литературные данные и единственная особь лиственницы, имеющая возраст более 500 лет. Особи лиственницы разреженно встречаются в 56 и 72 кв. заказника, причем в последние годы появилось достаточно много её подроста. Вероятно, в будущем возможно восстановление этого вида в древостое на территории заказника.

К редким в республике видам относится *Arctostaphylos uva-urs* (L.) Spreng., которая растет в сосняках беломошнниках, на возвышенных элементах рельефа (на дюнных всхолмлениях). В Кокманском заказнике отмечена в достаточно большом количестве, отдельными пятнами обнаружена в сосняках по всей территории в подходящих для нее экологических условиях. Состояние ее популяции в заказнике не вызывает опасения.

К редким в заказнике можно отнести и *Cotoneaster melanocarpus* Fisch. ex Blytt. На территории Удмуртии произрастает на известковых склонах коренных берегов рек, преимущественно в южной части республики. На территории заказника был обнаружен 1 куст на вырубке соснового леса. Уникальность этой находки состоит в том, что место произрастания этого вида в заказнике отличается от таковых в целом по республике.

Festuca altissima All. и *Epipactis helleborine* (L.) Crantz являются неморальными растениями, изредка встречающимися в южной части Удмуртии. На территории заказника они встречаются единичными особями.

Заключение

Населяющую территорию заказника флору (408 видов растений) нельзя считать «богатой», что связано с ограниченным разнообразием различных типов растительности, и вместе с тем, особенности рельефа и почвы (чередование пониженных и повышенных участков, обилие песчаных почв), разнообразие различных типов болот (верховых, переходных, низинных), наличие хорошо сохранившихся лесных участков обуславливает произрастание здесь большого количества редких видов растений, гораздо большего, чем на других, окружающих его, территориях. Особенно характерно большое разнообразие болотных видов растений, среди которых встречается большинство редких для флоры Удмуртии видов. Большое количество редких и исчезающих видов растений и хорошая сохранность большинства их популяций свидетельствуют об уникальности территории Кокманского ботанического заказника. Популяции многих редких растений требуют дальнейшего и всестороннего изучения и слежения за динамикой численности особей.

Список источников

1. Баранова О.Г. Заметки к геоботаническому районированию Удмуртской Республики // Вестник Пермского университета. Сер. Биология. 2018. Вып. 3. С. 229–237.
2. Баранова О.Г. Заметки к флористическому районированию Удмуртской Республики // Ботанико-географические исследования. Камелинские чтения. Пермь, 2019. С. 23–26.
3. Баранова О.Г. Аборигенная флора центральных районов Удмуртской Республики // Фиторазнообразие Восточной Европы. 2020. Т. 14, № 4. С. 498–523.
4. Баранова О.Г., Веселкова Н.Р., Пузырев А.Н. Кокманский ботанический заказник // Тезисы докл. 4-й Рос. унив.-акад. науч.-практ. конф. Ижевск, 1999. Ч. 2. С. 91–92.

5. Баранова О.Г., Пузырев А.Н. Конспект флоры Удмуртской Республики (сосудистые растения). М: Ижевск, 2012. 212 с.
6. Баранова О.Г., Тарасова Е.Н. О новых и редких растениях во флоре Вятско-Камского региона // Ботанический журнал. 1995. Т. 80, № 6. С. 110–113.
7. Бутаков Г.П. Плейстоценовый перигляциал на востоке Русской равнины. Казань: Изд-во Казан. ун-та, 1986. 144 с.
8. Геоботаническое районирование Нечерноземья Европейской части РСФСР / под ред. В. Д. Александровой и Т. К. Юрковской. Л.: Наука, 1989. 64 с.
9. Ефимова Т.П. и др. Растительность // Природа Удмуртии. Ижевск: Удмуртия, 1972. С. 145–201.
10. Исаченко Т.И., Лавренко Е.М. Ботанико-географическое районирование // Растительность Европейской части СССР. Л.: Наука, 1980. С. 10–20.
11. Камелин Р.В. Растительный мир. Флора // Большая Российская энциклопедия. М., 2004. Т. Россия. С. 84–88.
12. Красная книга Российской Федерации. Растения. М.: Тов-во науч. изд. КМК, 2008. 854 с.
13. Красная книга Удмуртской Республики / под ред. О.Г. Барановой. Чебоксары: Перфектум, 2012. 458 с.
14. Редкие и исчезающие виды растений, лишайников и грибов северной половины Удмуртии и их охрана: итоги науч. исслед. (2008–2011) / О.Г. Баранова, Е.Н. Бралгина, Е.М. Маркова [и др.]. Ижевск: Удмуртский университет, 2016. 174 с.

References

1. Baranova O.G. [Notes on geobotanical zoning of the Udmurt Republic]. *Vestnik Permskogo universiteta. Ser. Biologija*. Iss. 3 (2018): pp. 229-237. (In Russ.).
2. Baranova O.G. [Notes on floristic zoning of the Udmurt Republic]. *Botaniko-geografičeskie issledovanija. Kamelinskie čtenija* [Botanical and geographical research. Kamelin readings]. Perm, 2019, pp. 23-26 (In Russ.).
3. Baranova O.G. [Aboriginal flora of the central regions of the Udmurt Republic]. *Fitoraznoobrazie Vostočnoj Evropy*. V. 14, No 4 (2020): pp. 498-523. (In Russ.).
4. Baranova O.G., Veselkova N.R., Puzyrev A.N. [Kokmansky Botanical Reserve]. *Tezisy dokl.4-j Ros. univ.-akad. nauč.-prakt. konf.* [Abstracts of the 4th Russian Univ.-akad. nauch.-prakt. conf. Part 2]. Izhevsk, 1999, pp. 91-92. (In Russ.).
5. Baranova O.G., Puzyrev A.N. *Konspekt flory Udmurtskoj Respubliki* [Synopsis of the flora of the Udmurt Republic (vascular plants)]. Moscow, Izhevsk, 2012. 212 p. (In Russ.).
6. Baranova O.G., Tarasova E.N. [About new and rare plants in the flora of the Vyatka-Kama region]. *Botaničeskij žurnal*. V. 80, No 6 (1995): pp. 110-113. (In Russ.).
7. Butakov G.P. *Plejstocenovyy periglacial na vostoке Russkoj ravniny* [Pleistocene periglacial in the east of the Russian Plain]. Kazan, Kazan universitet Publ., 1986. 144 p. (In Russ.).
8. Alexandrova V.D., Yurkovskaya T.K., eds. *Geobotaničeskoe rajonirovanie Nečernozem'ya Evropejskoj časti RSFSR* [Geobotanical zoning of the Non-Chernozem region of the European part of the RSFSR]. Leningrad, Nauka Publ., 1989. 64 p. (In Russ.).
9. Efimova T.P., Lozhkina N.P., Tychinin V.A., Baranov V.I. Vegetation. *Priroda Udmurtii* [Nature of Udmurtia]. Izhevsk, Udmurtia Publ., 1972, pp. 145-201. (In Russ.).
10. Isachenko T.I., Lavrenko E.M. *Botaniko-geograficheskoe rajonirovanie*. [Botanical-geographical zoning]. *Rastitel'nost' Evropejskoj časti SSSR* [Vegetation of the European part of the USSR]. Leningrad, Nauka, 1980, pp. 10-20. (In Russ.).
11. Kamelin R.V. [Plant world. Flora]. *Bol'shaja Rossijskaja ènciklopedija. T. Rossiya* [The Great Russian Encyclopedia. V. Russia]. Moscow, 2004, pp. 84-88. (In Russ.).
12. *Krasnaja kniga Rossijskoj Federacii (rastenija i griby)* [Red data book of the Russian Federation (plants and fungi)]. Moscow, 2008. 855 p. (In Russ.).
13. Baranova O.G., ed. *Krasnaja kniga Udmurtskoj Respubliki* [Red data book of the Udmurt Republic]. Чебоксары, Перфектум Publ., 2012. 458 p. (In Russ.).
14. Baranova O.G., Bragina E.N., Markova E.M. et al. *Redkie i isčezajuščie vidy rastenij, lišajnikov i gribov severnoj poloviny Udmurtii i ih ochrana: itogi nauč. issled. (2008-2011)* [Rare and endangered species of plants, lichens and fungi of the northern half of Udmurtia and their protection: results of scientific research. (2008-2011)]. Izhevsk, Udmurt Universitet Publ., 2016. 174 p. (In Russ.).

Статья поступила в редакцию 18.03.2022; одобрена после рецензирования 04.04.2022; принята к публикации 21.06.2022.
The article was submitted 18.03.2022; approved after reviewing 04.04.2022; accepted for publication 21.06.2022.

Информация об авторе

О. Г. Баранова – д-р биол. наук, профессор, ведущий научный сотрудник отдела Ботанический сад Петра Великого.

Information about the author

O. G. Baranova – Dr. Sci. (Biol.), Professor, Leading Researcher of the Department Peter the Great Botanical Garden.

БОТАНИКА

Научная статья

УДК 581.6

doi: 10.17072/1994-9952-2022-2-93-100.

Особенности микроморфологии и анатомии листа *Populus tremula* L. (sect. *Populus*) и *P. nigra* L. (sect. *Aigeiros* Duby, *Salicaceae*)

Наталья Александровна Молганова^{1✉}, Сергей Александрович Овеснов²

^{1✉} Пермский государственный аграрно-технологический университет им. акад. Д. Н. Прянишникова, Пермь, Россия, molganova@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-2266-2887>

² Пермский государственный национальный исследовательский университет, Пермь, Россия, OvesnovSA@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0002-2230-4457>

Аннотация. Изучена микроморфология и анатомия, эпидермы абаксиальной поверхности листа *Populus tremula* L. (sect. *Populus*) и *P. nigra* L. (sect. *Aigeiros* Duby, *Salicaceae*) с помощью светового и сканирующего электронного микроскопов. Основные клетки эпидермы *P. nigra* по Н.А. Анели криволинейные кривостеночные; коэффициент извилистости антиклинальных стенок – 14.3 ± 0.3 мкм/мкм²; площадь от 437.5 до 1300.0 мкм² (среднее 820.9 ± 39.9); *P. tremula* – извилистые, близкие к измятостеночным; 23.2 ± 0.4 мкм/мкм²; от 187.5 до 612.5 мкм² (среднее 351.7 ± 12.6). Замыкающие клетки устьиц у обоих видов чечевицеобразные, разнонаправленные, располагаются на одном уровне с основными. У *P. tremula* довольно мелкие (их длина 17.9 ± 0.4 мкм), а у *P. nigra* они крупнее (24.6 ± 0.4 мкм). Плотность устьиц у *P. tremula* колебалась от 333 до 571 шт./мм², у *P. nigra* – от 100 до 183 шт./мм². Около устьиц имеется складчатый (стриатный) микрорельеф. У *P. nigra* прямые или извилистые складки от 5 до 25 шт. расходятся в разные стороны на расстояние от 10 до 27 мкм. Обнаружены три типа микрорельефа. У *P. tremula* небольшое число околоустьичных складок (от 3 до 17 шт.) расходились перпендикулярно устьичной щели в разные стороны на расстояние ~ 10–20 мкм.

Ключевые слова: *Populus tremula*, *Populus nigra*, микроморфология листа, анатомия листа

Для цитирования: Молганова Н. А., Овеснов С. А. Особенности микроморфологии и анатомии листа *Populus tremula* L. (sect. *Populus*) и *P. nigra* L. (sect. *Aigeiros* Duby, *Salicaceae*) // Вестник Пермского университета. Сер. Биология. 2022. Вып. 2. С. 93–100. <http://dx.doi.org/10.17072/1994-9952-2022-2-93-100>.

Благодарности: Авторы глубоко признательны старшему преподавателю кафедры зоологии беспозвоночных и водной экологии Андрею Викторовичу Грищенко за проведение фотосъемки на сканирующем электронном микроскопе.

BOTANY

Original article

Features of the micromorphology and anatomy of the leaf *Populus tremula* L. (sect. *Populus*) and *P. nigra* L. (sect. *Aigeiros* Duby, *Salicaceae*)

Natalia A. Molganova^{1✉}, Sergey A. Ovesnov²

^{1✉} Perm State agricultural and technological University, Perm, Russia, molganova@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-2266-2887>

² Perm State University, Perm, Russia, OvesnovSA@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0002-2230-4457>

Abstract. The micromorphology and anatomy of the epidermis of the abaxial surface of the leaf of *Populus tremula* L. (sect. *Populus*) and *P. nigra* L. (sect. *Aigeiros* Duby, *Salicaceae*) using light and scanning electron microscopes. The main cells of the epidermis of *P. nigra* according to N.A. Aneli are curvilinear curvilinear; the coefficient of tortuosity of the anticline walls is 14.3 ± 0.3 $\mu\text{m}/\text{mm}^2$; the area is from 437.5 to 1300.0 mm^2 (average 820.9 ± 39.9); *P. tremula* – sinuous, close to indented; 23.2 ± 0.4 $\mu\text{m}/\text{mm}^2$; from 187.5 to 612.5 mm^2 (average 351.7 ± 12.6). The closing cells of the stomata in both species are lentil-shaped, multidirectional, located on the same level with the main ones. In *P. tremula* they are rather small (their length is 17.9 ± 0.4 microns), and in *P. nigra* they are larger (24.6 ± 0.4 microns). Stomata density in *P. tremula* ranged from 333 to 571 pcs/ mm^2 , in *P.*

nigra – from 100 to 183 pcs/ mm². There is a folded (striate) microrelief near the stomata. In *P. nigra*, straight or sinuous folds ranging from 5 to 25 pieces diverge in different directions at a distance of 10 to 27 microns. Three types of microrelief were found. At *P. tremula* a small number of periosteal folds (from 3 to 17 pcs.) diverged perpendicular to the stomatal slit in different directions at a distance of ~ 10-20 microns.

Keywords: *Populus tremula*, *Populus nigra*, micromorphology of the leaf, anatomy of a leaf

For citation: Molganova N. A., Ovesnov S. A. [Features of the micromorphology and anatomy of the leaf *Populus tremula* L. (sect. *Populus*) and *P. nigra* L. (sect. *Aigeiros* Duby, *Salicaceae*)]. *Bulletin of Perm University. Biology*. Iss. 2 (2022): pp. 93-100. (In Russ.). <http://dx.doi.org/10.17072/1994-9952-2022-2-93-100>.

Acknowledgments: the authors are deeply grateful to Andrey V. Grishchenko, Senior lecturer of the Department of Invertebrate Zoology and Aquatic Ecology, for taking photographs with a scanning electron microscope.

Введение

В научной литературе систематически появляются разнообразные работы, посвященные исследованиям видов и (чаще) культиваров из рода *Populus* (*Salicaceae*) [Этапы формирования..., 2005; Скворцов, 2010; Zeng et al., 2016; Евлаков, Царев, Заплетин, 2017; Куприянова, 2020 и др.]. Однако вопросы, связанные с идентификацией и концепцией видов данного рода решены еще не полностью. Таким образом, остается продолжать попытки получения данных о морфологических, анатомических особенностях видов и гибридогенных таксонов рода *Populus* на региональном материале. В 2021 г. изучена микроморфология и анатомия аборигенных видов: *Populus tremula* L. (sect. *Populus*) и *P. nigra* L. (sect. *Aigeiros* Duby) в Пермском крае.

P. tremula отмечена в Восточной и Западной Европе, в Крыму, на Кавказе, в Сибири, на Дальнем Востоке, на севере п-ова Корея. Ее ареал простирается от лесотундры до степей, на севере заходит за полярный круг [Свиязева, 1977с; Скворцов, 2010]. В Пермском крае *P. tremula* встречается часто, широко представлена в древостоях различных типов леса и синтаксонах, образует осинники [Овеснов, 2007].

P. nigra распространена в Западной и Восточной Европе, на Кавказе, в Малой Азии, Иране, Северной Африке, Восточной Сибири, доходя до бассейна среднего Енисея, в южной части Западной Сибири, на севере Казахстана [Свиязева, 1977b; Скворцов, 2010]. В Пермском крае произрастание данного вида ограничено в природе поймами и долинами рек [Овеснов, 2007]. Он произрастает одиночно, значительных массивов, которые можно рассматривать как лесонасаждения, не образует.

В естественных условиях в Пермском крае отмечается еще один вид – *P. alba* L. (sect. *Populus*), встречающийся очень редко на юго-западе региона [Овеснов, 2007]. Его ареал охватывает Западную Европу, среднюю и южную части Восточной Европы, Крым, Кавказ, южную часть Западной Сибири, Казахстан, Среднюю и Малую Азию, Иран, Афганистан, Западный Китай, Гималаи, северо-западную Африку [Свиязева, 1977a; Скворцов, 2010]. По литературным данным *P. alba* [Скворцов, 2010; Zeng et al., 2016 и мн. др.] в местах совместного произрастания с *P. tremula* повсеместно скрещиваются, образуя гибридогенный таксон *P. × canescens* (Ait.) Smith. Идентификацию родительских видов и нотовидов осложняет интрогрессивная гибридизация [Fossati et al., 2004; Lexer et al., 2005]. Локальные популяции *P. alba* Пермского края находятся на севере ареала, поэтому менее стабильны, в связи с чем не изучались.

Материал и методы

В рамках нашего исследования были изучены деревья *P. tremula* одной локальной популяции в долине р. Уинка в черте г. Перми. У *P. nigra* были исследованы 4 локальные популяции: в долине р. Егошиха, на Липовой горе в г. Перми; а также в Кунгурском р-не Пермского края около д. Захаровка на склоне к р. Ирень и в районе Спасской горы. Для данного исследования были отобраны листья со вполне развитых брахибластов, с хорошо освещенной нижней части кроны, на высоте 1.5–2.5 м. С нефиксированных листьев в центральной части с их абаксиальной стороны между главной жилкой и краем листа была снята эпидерма, по общепринятым методикам [Анели, 1975] приготовлены временные препараты и изучены в проходящем свете на белом поле под микроскопом Биомед-5. Часть листьев была высушена, из них вырезаны круглые фрагменты диаметром около 1 см. Они изучены с абаксиальной стороны с помощью сканирующего электронного микроскопа Hitachi TM3000 при ускоряющем напряжении 15 кВ в режиме обратных рассеивающихся электронов (BSE). Яркость и контрастность полученных микрофотографий были изменены в растровом графическом редакторе Adobe Photoshop. Для определения количественных параметров клеток с помощью средств векторного графического редактора CorelDraw были измерены периметры, длины и площади клеток. Для получения статистических данных было измерено основных клеток эпидермы у *P. tremula* – 58, а у *P. nigra* – 253, устьичных аппаратов у *P. tremula* – 24, а у *P. nigra* – 185. Статистическая обработка проведена общепринятыми методами [Доспехов, 1985] с помощью программы Microsoft Office Excel 2010.

Результаты и их обсуждение

Основные клетки эпидермы на изученных препаратах *P. tremula* были мелкими, что по данным А.А. Паутова [1996] характерно для всей совокупности видов *P. tremula* L., *P. davidiana* Dode, *P. grandidentata* Michaux, *P. sieboldii* Miq., *P. tremuloides* Michaux, которые формируют секцию *Trepidae* Dode [по Р.В. Камелину, 1973]. Средняя площадь основных клеток эпидермы 351.7 ± 12.6 мкм². Отдельные клетки на препарате варьировали по площади от 187.5 до 612.5 мкм². Коэффициент вариации данного признака высокий 27.4% [по А.А. Паутову, 2011]. Периметр клеток 78.9 ± 1.5 мкм. Коэффициент вариации периметра – средний – 14.9%.

У *P. nigra* основные клетки эпидермы на изученных препаратах были крупнее и несколько больше колебались по площади от 437.5 до 1300.0 мкм², в среднем 820.9 ± 39.9 мкм². Периметр 113.7 ± 2.4 мкм. Коэффициенты вариации данных признаков несколько выше, чем у *P. tremula* – 37.0 и 15.8% соответственно.

Изученные микрофотографии позволили оценить форму основных клеток эпидермы, исходя из классификации Н.А. Анели [1975]. У *P. nigra* они оказались криволинейными кривостеночными. На некоторых сторонах антиклинальных стенок у части клеток есть одна вершина, неглубоко вклинивающаяся в соседнюю клетку. Иногда эти вершины совершенно не выражены (рис. 1).

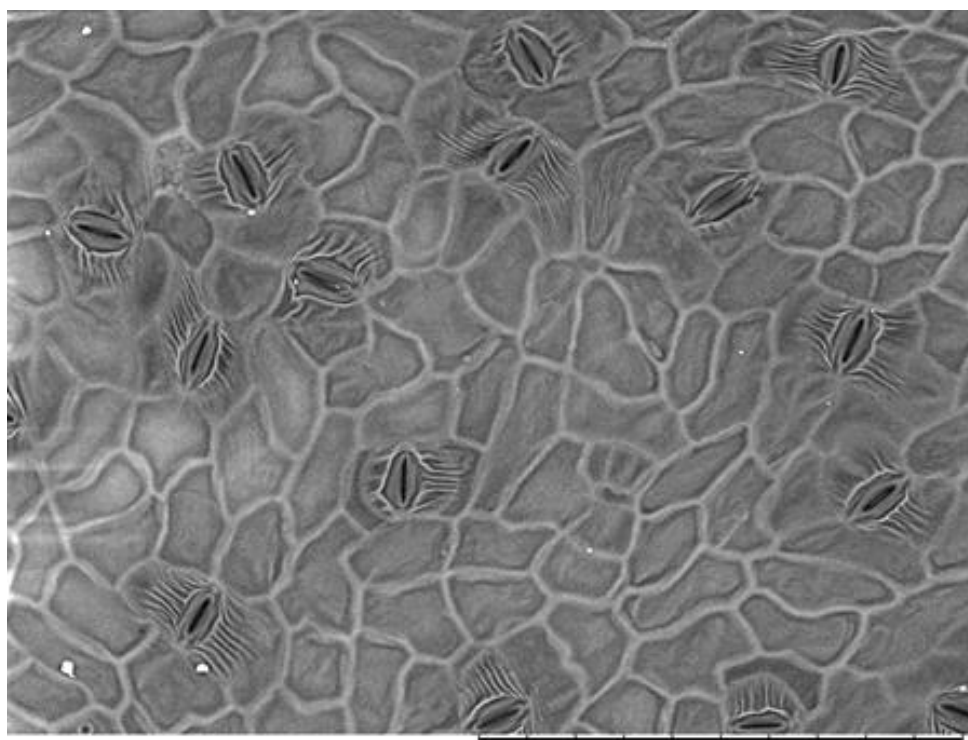


Рис. 1. Микроскульптура абаксиальной сторона листа *P. nigra*, Кунгурский район Пермского края, д. Захаровка

[Microsculpture of the abaxial side of the *P. nigra* leaf, Kungursky district of Perm Krai, Zakharovka village:]

У *P. tremula* клетки оказались извилистыми (рис. 2), более близкими к измятостеночным по Н.А. Анели [1975]. Средний коэффициент извилистости антиклинальных стенок клеток изученных листьев *P. tremula* равнялся 23.2 ± 0.4 мкм/мкм², а у *P. nigra* – 14.3 ± 0.3 мкм/мкм².

У ранее изученных авторами листьев брахибластов культиваров *P. laurifolia* с абаксиальной стороны в г. Перми клетки были более извилистыми (рис. 3), измятостеночными. Средний коэффициент извилистости равен 23.7 мкм/мкм² [Молганова, Овеснов, 2021].

Виды рода *Populus* имеют неодинаковые устьица, так, например, *P. tremula* характеризуется парацитными, латероцитными или аномоцитными типами [Паутов, 2009; Куприянова, 2020]. Соответственно, данный признак не пригоден для идентификации видов.

На исследованных препаратах плотность устьиц у *P. tremula* колебалась от 333 до 571 шт./мм². Из данных литературы известно, что плотность и размер устьиц зависит у листьев *Populus* от экологических условий произрастания [Pearce et al., 2006; Di Baccio, Minocci, Sebastiani, 2010; Евлаков, Царев, Заплетин, 2017 и др.] и от развития (мощности) деревьев [Этапы формирования..., 2005]. В исследованиях А.А.

Паутова с соавторами число устьиц на абаксиальной стороне листьев *P. tremula* было 255–352 шт./мм² [Этапы формирования..., 2005]. У *P. nigra* в г. Перми и на юге Пермского края плотность устьиц значительно ниже – от 100 до 183 шт./мм². По литературным данным [Евлаков, Царев, Заплетин, 2017], у культивара ‘Регенерата’ (*P. nigra* × *P. deltooides* Bartram ex Marshall) плотность устьиц около 140 шт./мм², а ‘Пионер’ (*P. nigra*) – немногим более 100 шт./мм².

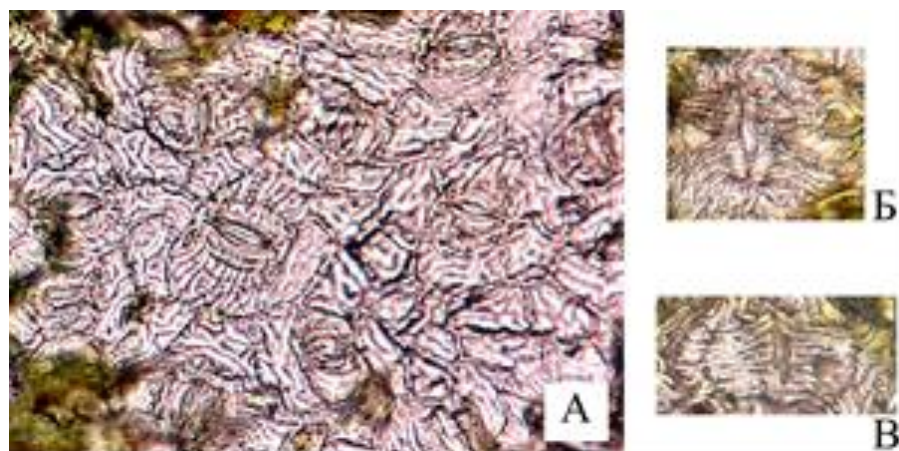


Рис. 2. Абаксиальная сторона листа *P. tremula*:

А – участок с основными клетками эпидермы, Б, В – околоустьичная складчатость

[The abaxial side of the *P. tremula* leaf:

A – the area with the main cells of the epidermis, B, C – parotid folding

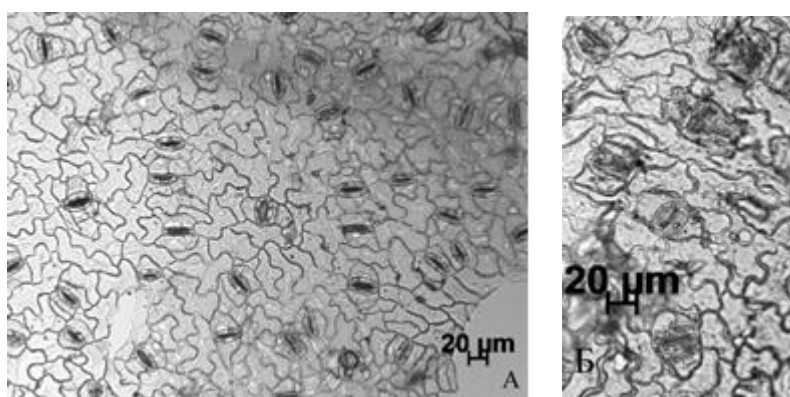


Рис. 3. Абаксиальная сторона листа *P. laurifolia*:

А – на ауксибластах, Б – на брахибластах

[Abaxial side of *P. laurifolia* leaf:

A – on auxiblasts, B – on brachiblasts]

Замыкающие клетки устьиц чечевицевидные, разнонаправленные, располагаются на одном уровне с основными. Замыкающие клетки устьиц *P. tremula* довольно мелкие (их длина 17.9 ± 0.4 мкм), а у *P. nigra* они крупнее (24.6 ± 0.4 мкм). У *P. laurifolia* длина замыкающих клеток составила 28.6 ± 0.5 мкм [Молганова, Овеснов, 2021]. Кривая распределения длины замыкающих клеток устьиц почти правильная, имеет характер, близкий к симметричному и одновершинному (рис. 4). Устьиц, значительно отличающихся по величине, описанных в литературе [Sitholey, Pandey, 1971; Stomata morphological..., 2015], на изученных препаратах не было обнаружено.

У изученных видов на абаксиальной стороне листа около устьиц имеется складчатый (стриатный) микрорельеф, который формирует так называемую околоустьичную кутикулярную складчатость. Особенности микрорельефа являются видоспецифичными и, следовательно, значимыми для таксономической диагностики [Stace, 1984; Сапач, 2005]. Их можно использовать совместно с другими признаками [Dehgan, 1980; Olowokudejo, 1993; цит. по: Паутов и др., 2014]. В листе *P. nigra* выделяются устьища с тремя типами микрорельефа (рис. 1; 5, А). У большей части складки расходятся в противоположные стороны на расстояние от 10 до 27 мкм (средняя длина складок 17.8 ± 4.7 мкм). Число складок от 5 до 25 шт. Иногда складки могут быть прямыми, а иногда извилистыми. В некоторых случаях они отходят перпен-

дикулярно устьичной щели, а иногда на микрофотографиях заметны отклонения складок в сторону. Исходя из литературных данных [Паутов, 2011], у *Hydrangea macrophylla* (Thunb.) Ser. число и длина складок зависит от размера устьиц и величины их побочных клеток. У *P. nigra* некоторая зависимость наблюдалась между длиной устьиц и числом складок (коэффициент корреляции средний положительный 0.4). Между длиной устьиц и длиной складок зависимости не выявлено (r 0.05).

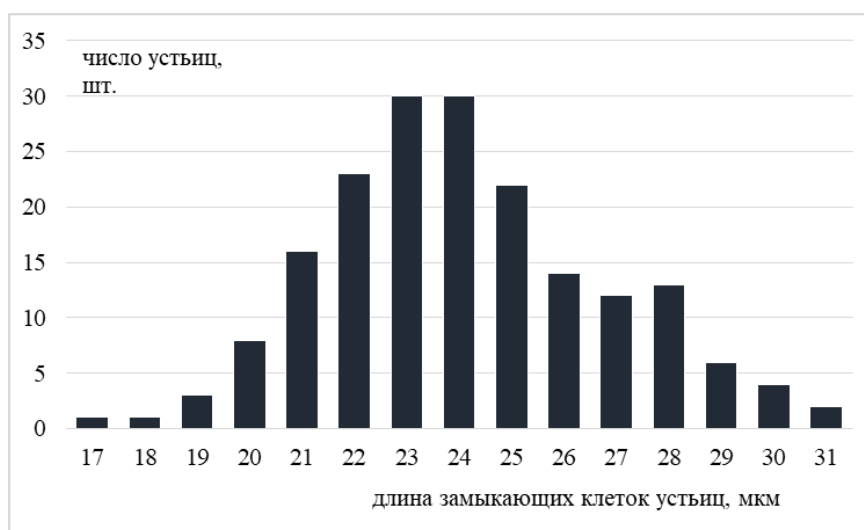


Рис. 4. Распределение числа устьиц по длине замыкающих клеток на абаксиальной стороне листа у *P. nigra*

[Distribution of the number of stomata along the length of the closing cells on the abaxial side of the leaf in *P. nigra*]

Редко у некоторых устьиц складки расходились радиально. Число складок при этом было большим – от 13 до 30. Они простирались в разные стороны на ~17–49 мкм. У приблизительно пятой части устьиц, попадающих в поле зрения, складки были почти не заметны или от устьиц отходили по 4 недлинные складки (от 5 до 12 мкм) от полюсов устьичных клеток.

У *P. tremula* небольшое число околоустьичных складок (от 3 до 17 шт.) расходились перпендикулярно устьичной щели в противоположные стороны на расстояние ~10–20 мкм. У части устьиц складки не были заметны (рис. 5, Б).

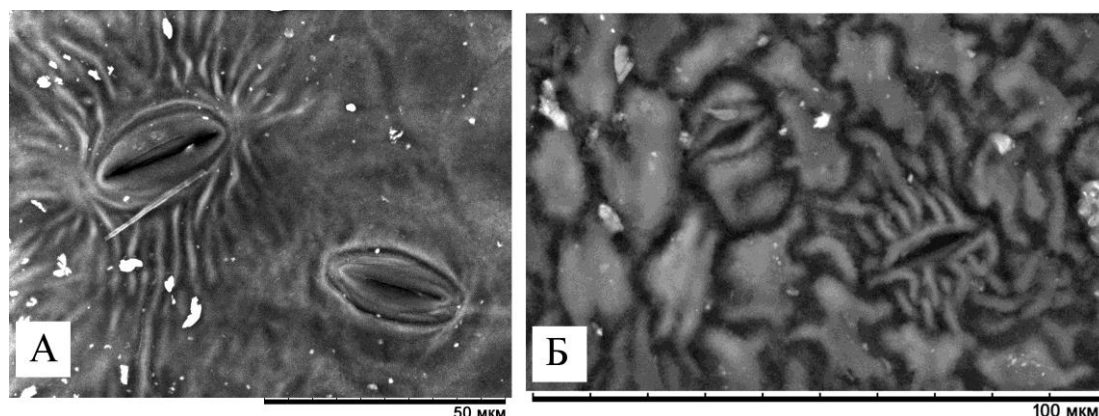


Рис. 5. Типы околоустьичных складок: А – *P. nigra*; Б – *P. tremula*

[Types of periarticular folds: А – *P. nigra*; Б – *P. tremula*]

Заключение

Основные клетки эпидермы у *P. tremula* и *P. laurifolia* сходны между собой по степени извилистости больше, чем с таковыми у *P. nigra*. На изученных микропрепаратах *P. nigra* и *P. tremula* околоустьичная складчатость формировалось по-разному. Клетки на препаратах *P. nigra* с деревьев с территории г. Перми и с юга Пермского края по периметрам основных клеток эпидермы, коэффициентам извилистости антиклинальных поверхностей, длине замыкающих клеток устьиц, характеру и длине околоустьичных складок достоверно не различались.

Список источников

1. Анели Н.А. Атлас эпидермы листа. Тбилиси: Мецниереба, 1975. 112 с.
2. Доспехов Б.А. Методика полевого опыта (с основами статистической обработки результатов исследований). М.: Агропромиздат, 1985. 352 с.
3. Евлаков П.М., Царев А.П., Заплетин В.Ю. Изучение фотосинтетических особенностей и интенсивности транспирации у различных сортов и клонов тополя (*Populus L.*) // Труды Санкт-Петербургского научно-исследовательского института лесного хозяйства. 2017. № 4. С. 4–13.
4. Камелин Р.В. Флорогенетический анализ естественной флоры горной Средней Азии. Л.: Наука, 1973. 357 с.
5. Куприянова Е.А. Сравнительное фармакогностическое исследование представителей рода тополь (*Populus L.*): автореф. дис. ... канд. фарм. наук. Самара, 2020. 18 с.
6. Молганова Н.А., Овеснов С.А. Особенности микроморфологии и анатомии листа *Populus laurifolia* Ledeb. // Агротехнологии XXI века: стратегия развития, технологии и инновации: материалы Всерос. науч.-практ. конф. Пермь, 2021. С. 499–503.
7. Овеснов С.А. Сем. *Salicaceae* – Ивовые // Иллюстрированный определитель растений Пермского края. Пермь: Книжный мир, 2007. С. 279–303.
8. Паутов А.А. Закономерности филломорфогенеза вегетативных органов растений. СПб.: Изд-во СПбГУ, 2009. 219 с.
9. Паутов А.А. Основные направления и закономерности преобразования структуры листа в эволюции тополей: автореф. дис. ... д-ра биол. наук. СПб., 1996. 45 с.
10. Паутов А.А. Расположение складок микрорельефа на побочных клетках устьиц *Hydrangea macrophylla* (Thunb.) Ser. (*Hydrangeaceae*) // Вестник Санкт-Петербургского университета. Сер. 3. Биология. 2011. № 2. С. 39–44.
11. Паутов А.А. и др. Микрорельеф поверхности листьев цветковых растений: устьичные кольца и выступы // Ботанический журнал. 2014. Т. 99. № 6. С. 625–640.
12. Сапач Ю.О. К вопросу о постоянстве микрорельефа поверхности листа цветковых растений // Герценовские чтения: материалы межвуз. конф. СПб., 2005. С. 30–31.
13. Свиязева О.А. *Populus alba* L. – Тополь белый, или серебристый // Ареалы деревьев и кустарников СССР. Л.: Наука, 1977а. Т. 1. С. 77.
14. Свиязева О.А. *Populus nigra* L. – Тополь черный, или осокорь // Ареалы деревьев и кустарников СССР. Л.: Наука, 1977б. Т. 1. С. 80–81.
15. Свиязева О.А. *Populus tremula* L. – Осина // Ареалы деревьев и кустарников СССР. Л.: Наука, 1977с. Т. 1. С. 84–85.
16. Скорцов А.К. Систематический конспект рода *Populus* в Восточной Европе, Северной и Средней Азии // Бюллетень Главного ботанического сада. 2010. № 196. С. 62–73.
17. Этапы формирования складчатого микрорельефа поверхности листа *Populus tremula* L. (*Salicaceae* Mirb.) // Вестник Санкт-Петербургского университета. Сер. 3. Биология. 2005. № 4. С. 3–8.
18. Di Baccio D., Minocci A., Sebastiani L. Leaf structural modifications in *Populus x euramericana* subjected to Zn excess // *Biologia Plantarum*. 2010. Vol. 54 (3). P. 502–508. doi: 10.1007/s10535-010-0088-x.
19. Fossati T. et al. Development of molecular markers to assess the level of introgression of *Populus tremula* into *P. alba* natural populations // *Plant Breed.* 2004. Vol. 123. P. 382–385.
20. Lexer C. et al. Barrier to gene flow between two ecologically divergent *Populus* species, *P. alba* (white poplar) and *P. tremula* (European aspen): the role of ecology and life history in gene introgression // *Molecular Ecology*. 2005. Vol. 14. P. 1045–1057.
21. Pearce D.W. et al. Stomatal characteristics of riparian poplar species in a semi-arid environment // *Tree Physiology*. 2006. Vol. 26 (2). P. 211–218. doi: 10.1093/treephys/26.2. 211.
22. Sitholey R.V., Pandey Y.N. Giant stomata // *Annals of Botany*. 1971. Vol. 35. P. 641–642. URL: <http://aob.oxfordjournals.org/content/35/3/641.short>.
23. Stace C.A. The taxonomic importance of the leaf surface // *Syst. Assoc.* 1984. Spec. Vol., № 25. P. 67–94.
24. Stomata morphological traits in two different genotypes of *Populus nigra* L. / G. Russo, P. De Angelis, J. Mickle & M. Lumaga // *I Forest-Biogeosciences and Forestry*. 2015. Vol. 8. P. 547–551. DOI: 10.3832/for1104-007.
25. Zeng Y.F. et al. Genetic structure of *Populus* hybrid zone along the Irtysh River provides insight into plastid-nuclear incompatibility // *Sci. Rep.* 2016. Vol. 6. P. 28043. <https://doi.org/10.1038/srep28043>.

References

1. Anely N.A. *Atlas èpidermy lista* [Atlas of the epidermis of the leaf]. Tbilisi, Mecniereba Publ., 1975. 112 p. (In Russ.).
2. Dosphehov B.A. *Metodika polevogo opyta* [Methodology of field experience (with the basics of statistical

processing of research results)]. Moscow, Agropromizdat Publ., 1985. 352 p. (In Russ.).

3. Evlakov P.M., Tsarev A.P., Zapletin V.Ju. [Study of photosynthetic features and transpiration intensity in various varieties and clones of poplar (*Populus* L.)]. *Trudy Sankt-Peterburgskogo naučno-issledovatel'skogo instituta lesnogo chozjajstva*. No 4 (2017): pp. 4-13. (In Russ.).

4. Kamelin R.V. *Florogenetičeskij analiz estestvennoj flory gornoj Srednej Azii* [Florogenetic analysis of the natural flora of mountainous Central Asia]. Leningrad, Nauka Publ., 1973. 357 p. (In Russ.).

5. Kupriyanova E.A. *Sravnitel'noe farmakognostičeskoe issledovanie predstavitelej roda topol' (Populus L.)*. Avnoref. dis. kand. farm. nauk [Comparative pharmacognostic study of representatives of the genus poplar (*Populus* L.): abstract of the dissertation]. Samara, 2020. 18 p. (In Russ.).

6. Molganova N.A., Ovesnov S.A. [Features of micromorphology and anatomy of the leaf *Populus laurifolia* Ledeb.]. *Agrotehnologii XXI veka: strategija razvitija, tehnologii i innovacii* [Agrotechnologies of the XXI century: development strategy, technologies and innovations: materials of the All-Russian Scientific and Practical Conference]. Perm, 2021, pp. 499-503. (In Russ.).

7. Ovesnov S.A. [Family *Salicaceae* – Willow]. *Illjustrirovannyj opredelitel' rastenij Permskogo kraja* [Illustrated determinant of plants of the Perm Region]. Perm, Kniznyj mir Publ., 2007, pp. 279-303. (In Russ.).

8. Pautov A.A. *Zakonomernosti filomorfogeneza vegetativnykh organov rastenij* [Regularities of phylomorphogenesis of vegetative organs of plants]. St-Peterburg, SPGU Publ., 2009. 219 p. (In Russ.).

9. Pautov A.A. *Osnovnye napravlenija i zakonomernosti preobrazovanija struktury lista v èvoljucii topolej*. Avtoref. dis. d-ra biol. nauk [The main directions and patterns of transformation of the leaf structure in the evolution of poplars: abstract. dissertations]. St-Peterburg, 1996. 45 p. (In Russ.).

10. Pautov A.A. [The location of microrelief folds on the side cells of stomata *Hydrangea macrophylla* (Thunb.) Ser. (*Hydrangeaceae*)]. *Vestnik Sankt-Peterburgskogo universiteta. Ser. 3. Biologija*. No 2 (2011): pp. 39-44. (In Russ.).

11. Pautov A.A. et al. [Microrelief of the surface of the leaves of flowering plants: stomatal rings and protrusions]. *Botaničeskij žurnal*. V. 99, No 6 (2014): pp. 625-640. (In Russ.).

12. Sapach Yu.O. [On the question of the constancy of the microrelief of the leaf surface of flowering plants]. *Gercenovskie čtenija* [Herzen readings: materials of the interuniversity conference]. St-Peterburg, 2005, pp. 30-31. (In Russ.).

13. Sviyazeva O.A. [*Populus alba* L. - White or silver poplar]. *Arealy derev'ev i kustarnikov SSSR* [Habitats of trees and shrubs of the USSR]. Leningrad, Nauka Publ., 1977a, V. 1, p. 77. (In Russ.).

14. Sviyazeva O.A. [*Populus nigra* L. - Black poplar, or sedge]. *Arealy derev'ev i kustarnikov SSSR* [Habitats of trees and shrubs of the USSR]. Leningrad, Nauka Publ., 1977b, V. 1, pp. 80-81. (In Russ.).

15. Sviyazeva O.A. [*Populus tremula* L. – Aspen]. *Arealy derev'ev i kustarnikov SSSR* [Habitats of trees and shrubs of the USSR]. Leningrad, Nauka Publ., 1977c, V. 1, pp. 84-85. (In Russ.).

16. Skvortsov A.K. [Systematic synopsis of the genus *Populus* in Eastern Europe, Northern and Central Asia]. *Bjulleten' Glavnogo botaničeskogo sada*. No 196 (2010): pp. 62-73. (In Russ.).

17. Pautov A.A. et al. [Stages of formation of the folded microrelief of the leaf surface of *Populus tremula* L. (*Salicaceae* Mirb.)]. *Vestnik Sankt-Peterburgskogo universiteta. Ser. 3. Biologija*. No 4 (2005): pp. 3-8. (In Russ.).

18. Di Baccio D., Minocci A., Sebastiani L. Leaf structural modifications in *Populus* × *euramericana* subjected to Zn excess. *Biologia Plantarum*. V. 54, No 3 (2010): pp. 502-508. doi: 10.1007/s10535-010-0088-x.

19. Fossati T. et al. Development of molecular markers to assess the level of introgression of *Populus tremula* into *P. alba* natural populations, *Plant Breed*. V. 123 (2004): pp. 382-385.

20. Lexer C. et al. Barrier to gene flow between two ecologically divergent *Populus* species, *P. alba* (white poplar) and *P. tremula* (European aspen): the role of ecology and life history in gene introgression. *Molecul. Ecol*. V. 14 (2005): pp. 1045-1057.

21. Pearce D.W. et al. Stomatal characteristics of riparian poplar species in a semi-arid environment. *Tree Physiology*. V. 26, No 2 (2006): pp. 211-218. doi: 10.1093/treephys/26.2. 211.

22. Sitholey R.V., Pandey Y.N. Giant stomata. *Annals of Botany*. V. 35 (1971): pp. 641-642. URL: <http://aob.oxfordjournals.org/content/35/3/641.short>.

23. Stace C.A. The taxonomic importance of the leaf surface. *Syst. Assoc. Spec. Vol.*, No 25 (1984): pp. 67-94.

24. Russo G., De Angelis P., Mickle J. & Lumaga M. Stomata morphological traits in two different genotypes of *Populus nigra* L. *I Forest-Biogeosciences and Forestry*. V. 8 (2015): pp. 547-551. DOI: 10.3832/for1104-007.

25. Zeng Y.F. et al. Genetic structure of *Populus* hybrid zone along the Irtysh River provides insight into plastid-nuclear incompatibility. *Sci. Rep*. V. 6 (2016): p. 28043. <https://doi.org/10.1038/srep28043>.

Статья поступила в редакцию 13.05.2022; одобрена после рецензирования 20.05.2022; принята к публикации 21.06.2022.

The article was submitted 13.05.2022; approved after reviewing 20.05.2022; accepted for publication 21.06.2022.

Информация об авторах

Н. А. Молганова – канд. биол. наук, доцент;

С. А. Овеснов – д-р биол. наук, профессор.

Information about the authors

N. A. Molganova – candidate of biology, associate professor;

S. A. Ovesnov – doctor of biology, professor.

Вклад авторов:

Молганова Н. А. – концепция исследования; обработка материала, написание текста статьи; итоговые выводы.

Овеснов С. А. – концепция исследования; редактирование текста статьи; итоговые выводы.

Contribution of the authors:

Molganova N. A. – research concept; material processing; writing the text of the article; final conclusions.

Ovesnov S. A. – research concept; editing of the text of the article; final conclusions.

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

The authors declare no conflicts of interests.

БОТАНИКА

Научная статья

УДК 581:4:581.5

doi: 10.17072/1994-9952-2022-2-101-106.

**Биоморфологические особенности виргинильных растений
рода *Euonymus* L.**

Татьяна Александровна Филиппова^{1✉}, Елена Геннадьевна Худоногова²

^{1, 2} Иркутский государственный аграрный университет имени А.А. Ежевского, Иркутск, Россия

^{1✉} ya.filipova0204@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0003-3814-1813>

² doky2015@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0002-0510-7582>

Аннотация. Род *Euonymus* L. (Celastraceae) насчитывает более 200 видов. Представители рода используются как высокодекоративные растения в ландшафтном озеленении городов, многие виды отличаются морозостойкостью, неприхотливостью, дымо-, газоустойчивостью. Цель исследования – изучение биоморфологических особенностей виргинильных растений рода *Euonymus* в условиях г. Иркутска. Объектами исследований являлись *E. verrucosa*, *E. europaea*, *E. maackii*. Повторность опытов каждого вида 14-кратная. Результаты 3-летних исследований показали, что в условиях резко континентального климата г. Иркутска начало роста побегов у виргинильных особей рода *Euonymus* приходится на вторую декаду мая – первую декаду июня. Самым продолжительным ростом побегов за период вегетации отличается *E. maackii* (7 недель). Средняя величина годового прироста побегов колеблется от 11.26 см до 16.11 см. Вариабельность прироста составляет 1.50–2.67%. Проведенные наблюдения позволили разделить виды бересклетов на 2 группы: к медленнорастущей можно отнести *E. verrucosa*, к быстрорастущей – *E. maackii* и *E. europaea*. Результаты исследований свидетельствуют, что все изученные виды рода *Euonymus* могут быть использованы в озеленении г. Иркутска, при этом наиболее перспективным из них являются *E. maackii*.

Ключевые слова: *Euonymus*, виргинильные растения, период роста, величина прироста побегов

Для цитирования: Филиппова Т. А., Худоногова Е. Г. Биоморфологические особенности виргинильных растений рода *Euonymus* L. // Вестник Пермского университета. Сер. Биология. 2022. Вып. 2. С. 101–106. <http://dx.doi.org/10.17072/1994-9952-2022-2-101-106>.

BOTANY

Original article

**Biomorphological features of virginal plants of the genus
Euonymus L.**

Tatiana A. Filippova^{1✉}, Elena G. Khudonogova²

^{1, 2} Irkutsk State Agrarian University named after A.A. Yezhevsky, Irkutsk, Russia

^{1✉} ya.filipova0204@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0003-3814-1813>

² doky2015@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0002-0510-7582>

Abstract. The genus *Euonymus* L. belonging to the family Celastraceae includes more than 200 species; about 11 species of them grow in the climatic conditions of central Russia. Representatives of this genus are used as highly ornamental plants in city landscape gardening; many species are frost-resistant, unpretentious, smoke- and gas-resistant and perfectly take root not only in the gardens of central Russia, but also in the climatic conditions of the North. The goal of the present research is to study biomorphological features of virginal plants of the genus *Euonymus* in the conditions of Irkutsk (Russia). The objects of this research were *E. verrucosa*, *E. europaea*, *E. maackii*. The repetition of experiments of each type is 14-fold. Each type of experiments was repeated 14 times. The results of the research showed that in the conditions of sharp continental climate of Irkutsk, the shoots of virginal individuals of the genus *Euonymus* begin to grow within the period of the second decade of May through the first decade of June. *E. maackii* showed the longest growth period of shoots during the growing season (7 weeks). The average annual growth increment of shoots ranges from 11.26 cm to 16.11 cm. The variability of the increment is 1.50 - 2.67%. The performed observations made it possible to divide the species of shorebirds into 2 groups, where the slow-growing group includes *E. verrucosa*, while the fast-growing includes

E. maackii and *E. europaea*. The research results indicate that all the studied species of the genus *Euonymus* can be used in the landscaping of Irkutsk, and *E. maackii* are the most promising of them.

Keywords: *Euonymus*, virginal plants, growth period, the amount of shoot growth, shoot growth increment

For citation: Filippova T. A., Khudonogova E. G. [Biomorphological features of virginal plants of the genus *Euonymus* L.]. *Bulletin of Perm University. Biology*. Iss. 2 (2022): pp. 101-106. (In Russ.). <http://dx.doi.org/10.17072/1994-9952-2022-2-101-106>.

Введение

Основой адаптации и акклиматизации декоративных растений является изучение биоморфологических и онтогенетических особенностей развития вида в условиях конкретного региона. При интродукции растений важным моментом считается виргинильный этап развития, так как именно в этот период закладываются и развиваются вегетативные органы. От качества и количества вегетативной массы будет зависеть выживаемость растений в новых почвенно-климатических условиях местности. Успех виргинильного этапа онтогенеза вводимого в культуру растения напрямую влияет на его адаптацию в новых обстоятельствах. В условиях резко континентального климата г. Иркутска эта закономерность является особенно важной по отношению к экзотам, к которым и относятся представители рода Бересклет (*Euonymus* L.).

Род *Euonymus* L. (*Celastraceae*) насчитывает более 200 видов, из них в климатических условиях средней полосы России произрастает около 11 видов. Бересклеты – высокодекоративные и неприхотливые растения, до сих пор не нашедшие достаточного применения в культуре. Морфологические признаки для 11 видов рода *Euonymus*, распространенных на российском Дальнем Востоке, позволили обосновать границы между представителями рода, уточнить ключ для их определения, обосновать статус некоторых таксонов: *E. maximowiczianus*, *E. × miniatus*, *E. pauciflorus*, *E. planipes*, *E. sacrosanctus*, *E. sieboldianus* [Savinov, Trusov, 2018]. Фенологические особенности дальневосточных видов рода *Euonymus* были изучены в природно-климатических условиях Республики Марий Эл, авторы отмечают, что особый интерес для озеленения представляет б. большекрылый (*E. macropterus* Rupr.), характеризующийся самым ранним началом вегетации, наибольшей ее продолжительностью, а также самым ранним сроком созревания плодов, повышающих декоративность растений в осенний период [Мухаметова, Куклина, 2018]. Результаты исследований особенностей размеров и массы семян представителей рода *Euonymus*, всхожести семян и др., могут быть использованы при семенном размножении в г. Иркутска [Khudonogova E. et al., 2019]. Бересклет европейский (*E. europaea* L.) используется как декоративный кустарник в ландшафтном озеленении городов, декоративностью отличаются листья и плоды в осенний период. Многие декоративные разновидности рода отличаются морозостойкостью и неприхотливостью, дымо- и газоустойчивостью, они прекрасно приживаются в садах средней полосы России. В городские ландшафты Европейского Севера (Мурманская область) рекомендован *E. europaea* как вид, устойчивый к заморозкам и атмосферным загрязнениям [Шагапов, Шагапов, 2011; Никанов и др., 2018]. Высокий балл зимостойкости отмечен в результате интродукции бересклета бородавчатого (*E. verrucosa* Scop.) в условиях г. Красноярска [Дубровская, Бугорова, 2016]. Б. сахалинский (*E. sachalinensis* (Schmidt) Maxim.) и б. священный (*E. sacrosanctus* Koidz.) были рекомендованы для зеленого строительства в Центральной части Забайкальского края [Пак, 2011].

Цель исследования – изучение биоморфологических особенностей виргинильных растений рода *Euonymus* в условиях г. Иркутска. В задачи исследований входило изучение периодов роста и величины прироста побегов виргинильного этапа развития представителей рода *Euonymus*.

Объекты и методы исследований

Объектами исследований являлись три представителя рода *Euonymus*: бересклет бородавчатый (*E. verrucosa*), б. европейский (*E. europaea*), б. Маака (*E. maackii* Rupr.). Изучение биоморфологических особенностей видов проводили в течение трех лет, на стадии виргинильного состояния, которое характеризуется тем, что особи имеют типичные черты почти сформировавшегося растения, но еще не способны к образованию генеративных побегов и семяношению [Соколова, 2004]. Определение прироста древесных растений выполнено согласно рекомендациям А.А. Молчанова и В.В. Смирнова [1967]. Повторность опытов каждого вида 14-кратная. Результаты исследования заносили в журнал фенологических наблюдений. Статистическая обработка экспериментальных данных выполнена по методике Б.А. Доспехова [1985].

Результаты и их обсуждение

Климат г. Иркутска характеризуется как резко континентальный, с низкими зимними температурами (до –20...–50°C) и теплым летом (до +15.5...+17.6°C), среднегодовое количество осадков – 450–600 мм. Вегетационный период – около 148 дней [Бояркин, Бояркин, 2011].

Среди бересклетов флоры России и сопредельных стран выделяют викарирующие виды, эндемичные и реликтовые. *E. europaeae* и *E. maackii* относят к географическим викариантам, *E. verrucosa* не является викарирующим видом [Savinov, Trusov, Yembaturova, 2021].

E. verrucosa – декоративный кустарник (до 2 м высотой), реже деревце (около 5 м). Побеги цилиндрические, коричневато-зеленые с красновато-буроватыми чечевичками, голые. Кора морщинистая, с возрастом черная. Листья яйцевидные или эллиптические, заостренные (1.5–6 см длиной, 0.5–4 см шириной), по краю пильчатые, голые или снизу опушенные. Соцветия на тонких цветоносах (3–7-цветковые), расположенные по всей длине побега, кроме верхушки, цветки желтоватые с бордовыми точками. Плоды – розовые 4-лопастные коробочки; семена черные, в присемяннике – беловатые. В генеративное состояние растения вступают на 8–11 год. Распространен вид в подлеске широколиственных, смешанных и хвойных лесов европейской части России, в Крыму, на Кавказе, в Западной Европе. В культуре с 1763 г., интродуцирован в Санкт-Петербурге, в Пермской области, на Алтае, в Приморском и Красноярском крае, в Челябинске, Архангельске, Новосибирске. В культуре неприхотливый, теневыносливый, обильноцветущий, медленно развивающийся вид, отличающийся довольно слабым плодоношением [Шиманович, 1987].

E. europaea – декоративный кустарник или деревце (2–7 м высотой). Молодые побеги 4-гранные, зеленые, голые; 2-летние побеги нередко с пробковыми крыльями (до 2–3 мм шириной). Листья эллиптические (3–5(10) см длиной, 1–3(5) см шириной), оттянуто-заостренные. Соцветия 3–7(15)-цветковые, простые или дважды вильчатые, цветки желтовато-зеленые или зеленовато-белые, 4-членные. Плоды – розоватые или ярко красные, обратносердцевидные, закругленно-четырёхлопастные коробочки с короткими выростами. Семена буровато-коричневые с оранжевыми присемянниками. В плодоношение вступает в возрасте 5–8 лет. В дикорастущем виде произрастает по всей Европе и Малой Азии в лиственных лесах, на опушках, в сосновых лесах, по берегам и долинам рек. В культуре известен с давних времен. Культивировался в Алтайском крае, Московской, Челябинской, Ярославской, Архангельской области, в Санкт-Петербурге, Уфе, Йошкар-Оле, Пензе, Новосибирске и др. Лучше развивается и плодоносит на открытом месте, светолюбив, отличается высокой зимостойкостью и засухоустойчивостью, быстрым ростом, газоустойчивостью, хорошо переносит стрижку. Декоративностью отличаются ярко-красные плоды и желто-красные листья в осенний период [Альбенский, 1959; Шиманович, 1987].

E. maackii – декоративный кустарник высотой 1.5–3 м, иногда стройное деревце (4–10 м) с раскидистой ажурной кроной. Молодые ветви тонкие, цилиндрические, красновато-коричневые, красновато-серые, кора морщинистая, с возрастом побеги темнеют. Листья продолговато-яйцевидные, заостренные, по краю мелкопильчатые или волнистые, светло-зеленые, блестящие, голые (до 8 см длиной, 0.8–3.6 см шириной). Соцветия на тонких цветоносах, 3–7(15)-цветковые. Образование цветков происходит в возрасте от 5 до 8 лет, цветки кремовые 4-членные, коротко- и длиннотычинковые. Плоды шаровидно-грушевидные, 4-лопастные, розовые, фиолетовые или темно-красные коробочки. Семена коричневато-фиолетовые. Произрастает в Юго-Восточной Сибири, Приморском крае, Северо-Восточном Китае. В дикорастущем виде произрастает в Юго-Восточной Сибири, Приморском крае, Северо-Восточном Китае. В культуре в средней полосе европейской части с 1883 г., в Сибири интродуцирован в Новосибирске и Улан-Удэ. По декоративности является одним из лучших видов рода благодаря обильному цветению, плодоношению и нежно-розовой окраске листьев в осенний период; отличается быстрым ростом. Морозостоек и засухоустойчив, малотребователен к почве, но не выносит затенения и застойного переувлажнения [Альбенский, 1959; Шиманович, 1987].

В условиях г. Иркутска изученные виды вступают в виргинильное состояние на второй год жизни, что подтверждается рядом морфологических признаков: формой листьев, характерной для взрослого растения; диаметром основного побега, который превышает боковые побеги в 2–3 раза [Филиппова, 2016; Лукина, Филиппова, 2016].

Изучение динамики роста и развития побегов позволит выявить быстрорастущие виды и рекомендовать их для озеленения. Результаты исследований периодов роста побегов *Euonymus* (за 3 года исследований) в условиях г. Иркутска представлены в табл. 1.

Таблица 1

Периоды роста побегов на виргинильной стадии развития изученных видов рода *Euonymus*
[Periods of shoot growth of the studied species of *Euonymus* at the virginal stage]

Вид	Месяцы и декады								
	Май			Июнь			Июль		
	I	II	III	I	II	III	I	II	III
<i>Euonymus verrucosa</i>									
<i>Euonymus europaea</i>									
<i>Euonymus maackii</i>									

На основании наблюдений установлено, что период роста побегов всех изученных видов бересклетов приходится на весенне-летний период вегетации. Активный период роста побегов у *E. verrucosa* продолжается четыре недели, с первой декады июня до второй декады июля. У *E. europaea* этот период несколько длиннее – около 5 недель (с третьей декады мая по первую декаду июля). Наиболее интенсивный рост побегов был отмечен у *E. maackii* – 7 недель (со второй декады мая до второй декады июля), что можно объяснить близостью естественного ареала произрастания вида.

Результаты исследований прироста побегов изученных видов рода *Euonymus* на виргинильной стадии развития (за 3 года исследований) приведены в табл. 2.

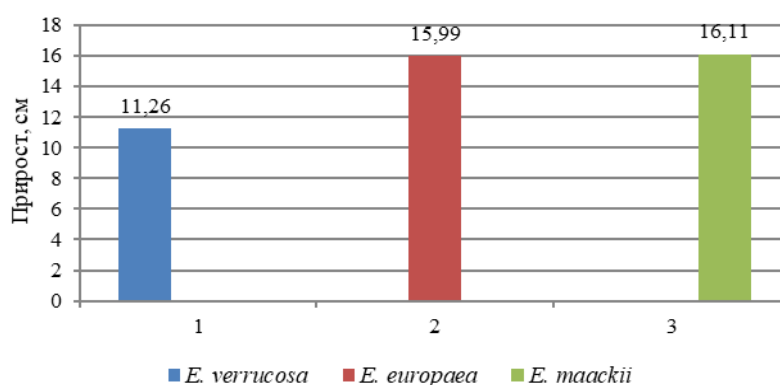
Таблица 2

Показатели годового прироста побегов *Euonymus* на виргинильной стадии развития
[Indicators of the annual growth increment of *Euonymus* shoots at the virginal stage of development]

Вид	Прирост побегов min, см	Прирост побегов max, см	Среднее квадратичное отклонение	Коэффициент вариации, %
<i>Euonymus verrucosa</i>	9.80	13.10	0.26	2.30
<i>Euonymus europaea</i>	14.90	18.10	0.24	1.50
<i>Euonymus maackii</i>	10.90	17.90	0.43	2.67

Интенсивность роста побегов в длину за период вегетации на виргинильной стадии составляет от 9.8 см (у *E. verrucosa*) до 18.1 см (у *E. europaea*). Коэффициент вариации прироста побегов каждого вида – от 1.50 до 2.67%. Данную малую вариабельность можно объяснить более-менее равномерными ростовыми процессами побегов изученных видов в условиях города.

Средний годовой прирост побегов составил для *E. verrucosa*– 11.26 см, *E. europaea*– 15.99 см, *E. maackii* – 16.11 см (рисунок). Более быстрые темпы роста побегов, так же, как и наиболее длительный период развития в условиях г. Иркутска, свойственны для *E. maackii*, вид является наиболее перспективным для озеленения города и Иркутской области.



Средние значения годового прироста побегов видов рода *Euonymus*
[Mean values of the annual growth increment of *Euonymus* shoots]

Выводы

1. В условиях резко континентального климата г. Иркутска начало роста побегов у виргинильных особей рода *Euonymus* приходится на вторую декаду мая – первую декаду июня в зависимости от вида. Самым продолжительным ростом побегов за период вегетации отличается *E. maackii* (7 недель).
2. Средняя величина годового прироста побегов колеблется от 11.26 см до 16.11 см. Вариабельность прироста составляет 1.50–2.67%.
3. Проведенные наблюдения позволили разделить виды бересклетов на 2 группы. К медленнорастущей группе можно отнести *E. verrucosa*, к быстрорастущей – *E. maackii* и *E. europaea*.
4. Результаты исследований свидетельствуют о том, что все изученные виды рода *Euonymus* могут быть использованы в озеленении г. Иркутска, при этом наиболее перспективным из них является *E. maackii*.

Список источников

1. Альбенский А.В. Селекция древесных пород и семеноводство. М.; Л.: Гослесбумиздат, 1959. 307 с.
2. Бояркин В.М., Бояркин И.В. География Иркутской области. Иркутск: Сарма, 2011. 256 с.
3. Доспехов Б.А. Методика полевого опыта. М.: Агропромиздат, 1985. 351 с.

4. Дубровская В.А., Буторова О.Ф. Изменчивость бересклета бородавчатого в ботаническом саду им. Вс.М. Крутовского // Лесной и химический комплексы – проблемы и решения: сб. статей. Красноярск, 2016. С. 19–21.
5. Лукина И.А., Филиппова Т.А. Особенности роста у пяти представителей рода *Euonymus* L. - бересклет // Вестник ИрГСХА. 2016. № 76. С. 60–65.
6. Молчанов А.А., Смирнов В.В. Методика определения прироста древесных растений. М.: Наука, 1967. 27 с.
7. Мухаметова С.В., Куклина Е.Э. Фенология дальневосточных видов бересклета в Республике Марий Эл // Международный журнал гуманитарных и естественных наук. 2018. № 12-1. С. 15–17.
8. Никанов А.Н. и др. Экологическая безопасность при интродукции растений в городские ландшафты европейского севера // Экология человека. 2018. № 2. С. 16–20.
9. Пак Л.Н. Итоги интродукции амурской дендрофлоры в дендрарии Ингодинского стационара // Вестник ИрГСХА. 2011. № 44-2. С. 113–120.
10. Соколова Т.А. Декоративное растениеводство. Древодводство. М.: Академия, 2004. 352 с.
11. Филиппова Т.А. Особенности ритма сезонного развития некоторых видов рода Бересклет в условиях г. Иркутска // Научные исследования и разработки к внедрению в АПК: материалы регион. науч.-практ. конф. молодых ученых. Иркутск, 2016. С. 62–68.
12. Худоногова Е.Г., Тяпаева М.А. Лабораторная всхожесть и хранение семян древесно-кустарниковых интродуцентов // Биология растений и садоводство: теория, инновации. 2020. № 2(155). С. 71–80. <https://doi.org/10.21685/2307-9150-2021-2-5>.
13. Шиманович Е.И. Бересклет. М.: Агропромиздат, 1987. 64 с.
14. Шагапов Р.Р., Шагапов Т.Р. Декоративные растения для системы городских ландшафтов // Известия Оренбургского государственного аграрного университета. 2011. Т. 3, № 31-1. С. 14–16.
15. Khudonogova E. et al. Seed germination of woody and shrubby introduced species // IOP Conference Series: Earth and Environmental Science. IV scientific-technical conference "Forests of Russia: Policy, Industry, Science and Education", 2019. P. 012021. <https://doi.org/10.1088/17551315/316/1/012021>.
16. Savinov I.A., Trusov N.A. Far Eastern species of *Euonymus* L. (*Celastraceae*): additional data on diagnostic characters and distribution // Botanica Pacifica. A journal of plant science and conservation. 2018. Vol. 7, № 2. P. 41–46.
17. Savinov I.A., Trusov N.A., Yembaturova E.Yu. The problem of vicarious and other categories of species of *Euonymus* L. (*Celastraceae*) from northern Eurasia: the carpological approach // Botanica Pacifica. A journal of plant science and conservation. 2021. Vol. 10, № 1. P. 3–7. <https://doi.org/10.17581/bp.2021.10105>.

References

1. Al'benskij A.V. *Selekcija drevesnych porod i semenovodstvo* [Tree Breeding and Seed Production]. Moscow, Leningrad, Goslesbumizdat Publ., 1959. 307 p. (In Russ.).
2. Boyarkin V.M., Boyarkin I.V. *Geografija Irkutskoj oblasti* [Geography of the Irkutsk region]. Irkutsk, Sarma Publ., 2011. 256 p. (In Russ.).
3. Dospehov B.A. *Metodika polevogo opyta* [Methodology of field experience (with the basics of statistical processing of research results)]. Moscow, Agropromizdat Publ., 1985. 351 p. (In Russ.).
4. Dubrovskaya V.A., Butorova O.F. [The variability of the warty euonymus in the botanical garden. Sun.M. Krutovsky]. *Lesnoj i chimičeskij komplekсы – problemy i reshenija* [Forest and chemical complexes – problems and solutions: collection of articles]. Krasnoyarsk, 2016, pp. 19-21. (In Russ.).
5. Lukina I.A., Filippova T.A. [Features of growth in five representatives of the genus *Euonymus* L. - spindle tree]. *Vestnik IrGSCHA*. No 76 (2016): pp. 60-65. (In Russ.).
6. Molchanov A.A., Smirnov V.V. *Metodika opredelenija prirosta drevesnych rastenij* [Method for determining the growth of woody plants]. Moscow, Nauka Publ., 1967. 27 p. (In Russ.).
7. Muhametova S.V., Kuklina E.E. [Phenology of Far Eastern Euonymous Species in the Republic of Mari-El]. *Meždunarodnyj žurnal gumanitarnykh i estestvennykh nauk*. No 12-1 (2018): pp. 15-17. (In Russ.).
8. Nikanov A.N., Zhirov V.K., Kizeev A.N., Frolova N.M., Popova O.N., Sturlis N.V. [Ecological safety during the introduction of plants into the urban landscapes of the European North]. *Ėkologija čeloveka*. No 2 (2018): pp. 16-20. (In Russ.).
9. Pak L.N. [Results of the introduction of the Amur dendroflora in the arboretum of the Ingodinsky Station]. *Vestnik IrGSCHA*. No 44-2 (2011): pp. 113-120. (In Russ.).
10. Sokolova T.A. *Dekorativnoe rastenievodstvo. Drevovodstvo* [Ornamental plant growing. Tree growing]. Moscow, Akademija Publ., 2004. 352 p. (In Russ.).
11. Filippova T.A. [Features of the rhythm of seasonal development of some species of the genus *Beresklet* in the conditions of the city of Irkutsk]. *Naučnye issledovaniya i razrabotki k vnedreniju v APK* [Research and

development for implementation in the agro-industrial complex. Materials of the regional scientific and practical conference]. Irkutsk, 2016, pp. 62-68. (In Russ.).

12. Hudonogova E.G., Tyapaeva M.A. [Laboratory germination and storage of seeds of tree and shrub introducers]. *Biologija rastenij i sadovodstvo: teorija, innovacii*. No 2-155 (2020): pp. 71-80. (In Russ.). <https://doi.org/10.21685/2307-9150-2021-2-5>.

13. Shimanovich E.I. *Beresklet*. [Library tree species. Euonymus]. Moscow, Agropromizdat Publ., 1987. 64 p. (In Russ.).

14. Shagapov R.R., Shagapov T.R. [Ornamental Plants for Urban Landscape System]. *Izvestija Orenburgskogo gosudarstvennogo agrarnogo universiteta*. V. 3, No 31-1 (2011): pp. 14-16. (In Russ.).

15. Khudonogova E., Zatssepina O., Polovinkina S., Tyapaeva M., Rachenko M. Seed germination of woody and shrubby introduced species. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science. IV scientific-technical conference "Forests of Russia: Policy, Industry, Science and Education"*, 2019, pp. 012021. <https://doi.org/10.1088/17551315/316/1/012021>.

16. Savinov I.A., Trusov N.A. Far Eastern species of *Euonymus* L. (*Celastraceae*): additional data on diagnostic characters and distribution. *Botanica Pacifica. A journal of plant science and conservation*. V. 7, No 2 (2018): pp. 41-46.

17. Savinov I.A., Trusov N.A., Yembaturova E.Yu. The problem of vicarious and other categories of species of *Euonymus* L. (*Celastraceae*) from northern Eurasia: the carpological approach. *Botanica Pacifica. A journal of plant science and conservation*. V. 10, No 1 (2021): pp. 3-7. <https://doi.org/10.17581/bp.2021.10105>.

Статья поступила в редакцию 16.05.2022; одобрена после рецензирования 02.06.2022; принята к публикации 21.06.2022.

The article was submitted 16.05.2022; approved after reviewing 02.06.2022; accepted for publication 21.06.2022.

Информация об авторах

Т. А. Филиппова – аспирант кафедрой ботаники, плодоводства и ландшафтной архитектуры;

Е. Г. Худоногова – д-р биол. наук, доцент, зав. кафедрой ботаники, плодоводства и ландшафтной архитектуры.

Information about the authors

T. A. Filippova – post-graduate student of the Department of Botany, Fruit Growing and Landscape Architecture;

E. G. Khudonogova – Doctor of Biology, Associate Professor, Head. Department of Botany, Fruit Growing and Landscape Architecture.

Вклад авторов:

Филиппова Т.А. – изучение литературных источников; сбор и обработка полевого материала; оформление первого варианта статьи; формулирование выводов.

Худоногова Е.Г. – научное руководство; концепция исследования; оформление исходного текста.

Contribution of the authors:

Filippova T. A. – the study of literary sources; the collection and processing of field material; the design of the first version of the article; the formulation of conclusions.

Khudonogova E. G. – scientific guidance; research concept; design of the original text.

ЗООЛОГИЯ

Научная статья

УДК 595.796:595.773.4 (470.53)

doi: 10.17072/1994-9952-2022-2-107-111.

Степень зараженности самок *Lasius* (Hymenoptera: Formicidae) тахиной *Strongygaster globula* (Diptera: Tachinidae) в г. Кунгуре (Пермский край)

Алёна Дмитриевна Пospelова¹

¹Пермский государственный национальный исследовательский университет, Пермь, Россия,
Alena.pospelova18@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-8452-7242>

Аннотация. Изучена степень зараженности самок муравьёв рода *Lasius* личинками мухи-тахины *Strongygaster globula*. Исследование проводилось в г. Кунгуре (Пермский край). В течение четырёх лет весной собирались перезимовавшие матки *L. niger* и *L. flavus* в количестве пятнадцати штук каждого вида. Все они были посажены в пробирки и содержались два месяца при температуре +25°C. Заражёнными оказались лишь самки *L. niger*, тогда как все самки *L. flavus* вывели потомство. В 2018 г. из пятнадцати пойманных самок *L. niger* было заражено шесть особей (40%), в 2019 г. – девять особей (60%), в 2020 – двенадцать (80%), а в 2021 – семь особей (47%). Таким образом, отмечается высокая степень заражённости маток *L. niger* мухой-тахиной *S. globula* в г. Кунгуре.

Ключевые слова: муравьи; мухи-тахины; степень зараженности

Для цитирования: Пospelова А. Д. Степень зараженности самок *Lasius* (Hymenoptera: Formicidae) тахиной *Strongygaster globula* (Diptera: Tachinidae) в г. Кунгуре (Пермский край) // Вестник Пермского университета. Сер. Биология. 2022. Вып. 2. С. 107–111. <http://dx.doi.org/10.17072/1994-9952-2022-2-107-111>.

Благодарности: автор выражает благодарность кандидату биологических наук Е.В. Аксёненко (г. Воронеж, ВГУ) за оказанные консультации по определению тахины, доктору биологических наук А.В. Гилёву (г. Екатеринбург, УрФУ) за помощь в написании статьи.

ZOOLOGY

Original article

Degree of infestation of *Lasius* queens (Hymenoptera: Formicidae) by Tachinid flies *Strongygaster globula* (Diptera: Tachinidae) in the town of Kungur (Perm Province)

Alena D. Pospelova¹

¹Perm State University, Perm, Russia, Alena.pospelova18@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-8452-7242>

Abstract. The aim of the research is to study the degree of infestation of female ants of the genus *Lasius* with the Tachinid flies *Strongygaster globula*. The study was performed in the town of Kungur (Perm Province, Russia). Overwintered queens of *L. niger* and *L. flavus* were collected in the amount of fifteen pieces of each species for four years in the spring. All this was placed in test tubes and kept for two months at a temperature of 25°C. Only queens of *L. niger* were infested, while all *L. flavus* queens bred. In 2018, out of fifteen *L. niger* queens caught, six individuals were infested (40%), in 2019 – nine individuals (60%), in 2020 – twelve (80%), and in 2021 – seven individuals (47%). In general, a high degree of infestation of *L. niger* queens with the Tachinid flies *S. globula* is noted in Kungur.

Keywords: Tachinid flies; degree of infestation

For citation: Pospelova A. D. [Degree of infestation of *Lasius* queens (Hymenoptera: Formicidae) by Tachinid flies *Strongygaster globula* (Diptera: Tachinidae) in the town of Kungur (Perm Province)]. *Bulletin of Perm University. Biology*. Iss. 2 (2022): pp. 107-111. (In Russ.). <http://dx.doi.org/10.17072/1994-9952-2022-2-107-111>.

Acknowledgments: the author is grateful to E.V. Aksyonenko, PhD of Biology (Voronezh, Voronezh State University) for consultations on the determination of Tachinid flies, and to A.V. Gilev, Doctor of Biology (Yekaterinburg, Ural Federal University) for help in writing the article.

Введение

Паразитизм – широко распространенное явление в живом мире. Нет ни одного живого организма, у которого не было бы никаких паразитов. Не являются исключением и муравьи. Их многочисленность, широкое распространение и доминирование практически во всех наземных биоценозах привлекают многих паразитов. Широко известно паразитирование ланцетовидной двуустки (*Dicrocoelium dendriticum*) на муравьях рода *Formica*, причем паразит меняет поведение муравья, делая его доступным для поедания основным хозяином [Длусский, 1967]. У тропических муравьев паразитическая нематода вызывает вздутие брюшка, делая его похожим на ягоду, для привлечения основного хозяина – птиц [Yanivak et al., 2008]. Однако у муравьев, как общественных насекомых, большее внимание исследователей привлекает явление социального паразитизма [Длусский, 1967; Hölldobler, Wilson, 1990], другие же паразиты изучены в меньшей степени.

Известно, что на муравьях паразитируют мухи из двух семейств: Phoridae – мухи-горбатки и Tachinidae – тахины, или ежемухи. Строго говоря, эти мухи являются не истинными паразитами, а паразитоидами, которые обычно убивают своего хозяина [Тобиас, 2004]. Паразитирующие на муравьях мухи-горбатки имеют большое значение как средство контроля численности огненного муравья *Solenopsis invicta* [Mottorn et al., 2004; Plowers et al., 2009], а также муравьев-листорезов из родов *Atta* и *Acromyrmex* [Feener, Brown, 1993; Goffre, Folgarait, 2019]. У муравьев-листорезов возникла даже специальная каста мелких рабочих, отгоняющих мух-горбаток от рабочих, несущих листья [Linksvaye et al., 2002].

Тахины – обширное семейство мух, большинство видов которого на личиночной стадии являются паразитоидами различных насекомых. Тахины известны как регуляторы численности многих насекомых, в том числе вредителей [Тобиас, 2004; O'Hara, 2008]. В литературе имеются многочисленные указания о паразитировании мух-тахин в муравьях [Gösswald, 1950; Мамаев, 1984; Holldobler, Wilson, 1990; Рихтер, 2004; Маркова и др., 2019]. Многим мирмекиперам хорошо известно, что самки муравьев рода *Lasius*, пойманные в природе, нередко оказываются зараженными личинками тахин [Клуб ..., 2021].

Однако специальных исследований влияния паразитизма тахин на популяции муравьев рода *Lasius* не проводилось. В данном сообщении приводятся первые сведения о степени зараженности молодых самок муравьев *Lasius niger* Linnaeus и *L. flavus* Fabricius личинками мух-тахин в г. Кунгуре Пермского края.

Материал и методы

Исследование проводилось в г. Кунгуре (Пермский край) с 2018 по 2021 гг. Каждую весну на территории города собирались перезимовавшие матки *L. niger* и *L. flavus* в количестве 15 штук каждого вида. Самки были собраны на территориях частных участков, на газонах, вблизи жилых построек и т.д. Сбор самок производился с помощью перекапывания и внимательного осмотра земли.

Собранных самок содержали в лабораторных условиях в течение двух месяцев при температуре +25°C в отдельных пробирках. С периодичностью один раз в неделю их кормили сахарным сиропом. Фиксировалось начало яйцекладки и количество отложенных яиц, появление куколок и первых рабочих.

После появления первых рабочих молодые семьи возвращали в природу.

Самки, зараженные личинками тахины, содержались в лаборатории до момента выхода молодых мух.

Таксономическую принадлежность паразитоида определяли по литературным источникам [Зимин и др., 1970; Зимин, Коломиец, 1984; Нарчук, 2003]. Все вышедшие мухи были определены как тахины *Strongygaster globula* (Meigen, 1824) из п/сем. Phasiinae, сем. Tachinidae.

Результаты исследования

Муравьи *L. flavus* и *L. niger* являются близкими видами со сходным способом основания гнезда. Мы предполагали, что тахина *S. globula* может заражать самок обоих видов. Однако все отловленные матки *L. flavus* уже через неделю отложили яйца и через полтора – два месяца после откладки яиц вывели первое поколение рабочих. Зараженные самки у этого вида не были выявлены за весь период наблюдений.

Среди *L. niger* часть самок на седьмой день также приступила к яйцекладке. У самок, не начавших яйцекладку, на четырнадцатый день был обнаружен большой желтовато-коричневый пупарий мухи-тахины (рис. 1, А).

Самки *L. niger*, зараженные тахиной, впоследствии так и не отложили яйца, но и не погибали. Известно, что личинка паразитоида во время своего развития питается жировым телом и яичниками самки, но не повреждает жизненно важные органы. Самки в результате становятся бесплодными. Зараженные самки проявляли заботу о пупариях паразитоида: чистили их, переносили в более благоприятные условия в пробирке. Вышедшая из пупария муха (рис. 1, Б) стремилась выбраться из пробирки. Самки не проявляли к мухе агрессии.

Зараженные матки отличались более крупным, рельефным, сильно растянутым брюшком по сравнению с незараженными (рис. 2).

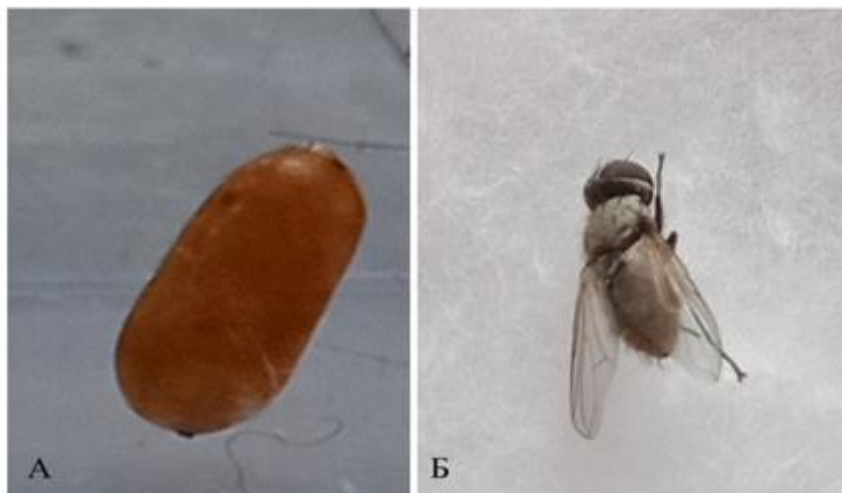


Рис. 1. Пупарий (А) и имаго (Б) мухи-тахины *Strongygaster globula*
[Puparium (A) and imago (B) of Tachinid flies *Strongygaster globula*]



Рис. 2. Незаражённая (А) и заражённая (Б) самки *L. niger*
[Non-infested (A) and infested (B) *L. niger* queens]

Средняя зараженность маток составила $57 \pm 13\%$. Однако степень зараженности существенно менялась по годам. Так, в 2018 г. были заражены 6 маток (40%), в 2019 г. – 9 (60%), в 2020 – 12 (80%), а в 2021 – 7 (47%). Таким образом, зараженность самок *L. niger* менялась в пределах 40–80%. Для сравнения, в Германии зараженность самок лазиуса мухой-тахиной была относительно низкой, не более десяти особей из ста, т.е. около 10% [Gösswald, 1950]. В нашем же случае наблюдается высокая зараженность маток *L. niger*, тогда как у *L. flavus* зараженных маток вообще не было выявлено.

Тахина *S. globula* является паразитом муравьев рода *Lasius* и способна заражать разные виды этого рода. Каких-либо предпочтений по хозяину у этого вида тахин не отмечено, однако следует отметить, что биология мухи недостаточно изучена. В нашем случае отмечено паразитирование мухи только на одном виде муравьев, что требует своего объяснения.

Известно, что крылатые особи *L. niger* и *L. flavus* вылетают из гнёзд и спариваются с июля по сентябрь. Брачный лет часто бывает массовым и происходит синхронно на больших территориях. Особенно характерно это для *L. niger*. Молодые самки основывают гнездо самостоятельно. Они ищут укромные места под камнями и опавшими листьями, затем роют туннель, который заканчивается небольшой камерой. Откладка яиц и выращивание первого поколения рабочих происходит следующей весной [Захаров, 2015].

Самки мух-тахин могут атаковать своих жертв в воздухе, либо на земле [Stireman et al., 2006; Маркова и др., 2016]. Тахина *S. globula* атакует самок муравья *L. niger* во время их брачного полёта и откладывает в каждую по одному яйцу [Gösswald, 1950]. Таким образом, самки муравьев доступны для тахин в ограниченный период, во время брачного лета и поиска места для гнезда. Это может обуславливать выбор тахиной наиболее массовой жертвы, которой является именно черный садовый муравей. Следует отметить, что в городских местообитаниях доминирует вид *L. niger*, а *L. flavus* встречается значительно реже. Кроме того, матки *L. niger* немного крупнее и массивнее маток *L. flavus*, что также может влиять на предпочтения паразитоида.

Этим же можно объяснить и высокую зараженность самок черного садового муравья – тахины концентрируются в местах высокой численности своих жертв. Также можно предположить, что городские условия в целом благоприятны для тахин. Известно, что взрослые тахины питаются нектаром и отмечены среди опылителей зонтичных растений, обилие которых в городских местообитаниях может быть очень высоким, что также привлекает мух.

Заключение

Таким образом, отмечается высокая степень зараженности маток *Lasius niger* личинками мухи-тахины *Strongygaster globula* в г. Кунгуре. Можно предполагать, что паразитоид оказывает существенное влияние на численность популяции *L. niger* в городских условиях. Представляется необходимым дальнейшее изучение особенностей паразитизма мух-тахин на муравьях рода *Lasius* в естественных и антропогенных местообитаниях.

Список источников

1. Длусский Г.М. Муравьи рода Формика (Hymenoptera, Formicidae, G. Formica). М.: Наука, 1967. 236 с.
2. Захаров А.А. Муравьи лесных сообществ, их жизнь и роль в лесу. М., 2015. 440 с.
3. Зимин Л.С., Зиновьева К.Б., Штакельберг А.А. Семейство Tachinidae (Larvaevoridae) – тахины // Определитель насекомых европейской части СССР. Двукрылые, блохи. Л.: Наука, 1970. Ч. 2. С. 678–798.
4. Зимин Л.С., Коломиец Н.Г. Паразитические двукрылые фауны СССР. Определитель. Новосибирск, 1984. 232 с.
5. Клуб любителей муравьев. 2021. URL: <http://antclub.net/node/> (дата обращения: 29.11.2021).
6. Мамаев Б.М. Отряд Двукрылые, или Мухи и комары (Diptera) // Жизнь животных. М.: Просвещение, 1984. Т. 3. Членистоногие: трилобиты, хелицероносые, трахейнодышащие. С. 416–463.
7. Маркова Т.О., Реш Н.В., Маслов М.В. Поведенческие особенности самок тахин (Diptera, Tachinidae) подсемейства Phasiinae при заражении хозяев // Вестник Иркутской государственной сельскохозяйственной академии. 2016. Вып. 73. С. 62–68.
8. Маркова Т.О. и др. Тахины (Diptera: Tachinidae, Tachininae) – паразиты насекомых-вредителей // Сибирский вестник сельскохозяйственной науки. 2019. Т. 49, № 3. С. 47–54.
9. Нарчук Э.П. Определитель семейств двукрылых насекомых фауны России и сопредельных стран (с кратким обзором семейств мировой фауны) // Труды Зоологического института РАН. 2003. Т. 294. С. 1–250.
10. Рихтер В.А. Сем. Tachinidae – Тахины // Определитель насекомых Дальнего Востока России. Двукрылые и блохи. Владивосток: Дальнаука, 2004. Т. 6, ч. 3. С. 148–398.
11. Тобиас В.И. Паразитические насекомые-энтомофаги, их биологические особенности и типы паразитизма // Труды Русского энтомологического общества. 2004. Т. 75, вып. 2. С. 1–145.
12. Feener D.H., Brown Jr., Brown B.V. Oviposition behavior of an ant-decapitating fly, *Neodohrniphora curvinervis* (Diptera: Phoridae) and defense behavior by its leaf-cutting ant host, *Atta cephalotes* (Hymenoptera: Formicidae) // Journal of Insect Behavior. 1993. Vol. 6. P. 675–688.
13. Gösswald K. Pflege des Ameisenparasiten *Tamiclea globula* Meig. (Diptera) durch den Wirt mit Bemerkungen über den Stoffwechsel in der parasitierten Ameise // Verhandlungen der Deutschen Zoologischen. 1950. S. 256–264.
14. Goffe D, Folgarait P.G. Phorid species from *Acromyrmex*'s hosts and effect of their survival of two fungi proposed for the control of leafcutter ants // Entomologia experimentalis et applicata. 2019. Vol. 167, № 11. P. 939–949.
15. Hölldobler B., Wilson E.O. The Ants. Berlin: Springer-Verlag, 1990. 732 p.
16. Linksvay T.A. et al. The function of hitchhiking behaviour in the leaf-cutting ant *Atta cephalotes*. // Biotropica. 2002. Vol. 34, № 1. P. 93–100.
17. Mottern J.L., Heinz K.M., Ode P.J. Evaluating biological control of fire ants using phorid flies: effects on competitive interactions // Biological control. 2004. Vol. 30. P. 566–583.
18. O'Hara J.E. Tachinid flies (Diptera: Tachinidae) // Ed. Capinera J.L. Encyclopedia of Entomology. Dordrecht: Springer, 2008. P. 3675–3686.
19. Plowes R.M. et al. A review of *Pseudacteon* (Diptera: Phoridae) that parasitize ants of the *Solenopsis geminata* complex (Hymenoptera: Formicidae) // Annals of the Entomological Society of America. 2009. Vol. 102, № 6. P. 937–958.

20. Stireman J.O., O'Hara J.E., Wood D.M. Tachinidae: evolution, behavior, and ecology // *Annual Review of Entomology*. 2006. Vol. 51. P. 525–555.
21. Yanivaiak S.P. et al. Parasite-induced fruit-mimicry in a tropical canopy ant // *American Naturalist*. 2008. Vol. 171. P. 436–544.

References

1. Dlusskij G.M. *Murav'i roda Formika* [Ants of the genus Formica (Hymenoptera, Formicidae, G. Formica)]. Moscow, Nauka Publ., 1967. 236 p. (In Russ.).
2. Zaharov A.A. *Murav'i lesnykh soobščestv, ich žizn' i rol' v lesu* [Ants of forest communities, their life and role in the forest]. Moscow, 2015. 440 p. (In Russ.).
3. Zimin L.S., Zinov'eva K.B., Shtakel'berg A.A. [Familie Tachinidae (Larvaevoridae) – Tachinid flies]. *Opređitel' nasekomykh evropejskoj časti SSSR. Dvukrylye, blochi*. [The determinant of insects of the European part of the USSR. Diptera, fleas]. P. 2. Leningrad, Nauka Publ., 1970, pp. 678–798. (In Russ.).
4. Zimin L.S., Kolomic N.G. *Parazitičeskie dvukrylye fauny SSSR* [Parasitic Diptera of the fauna of the USSR. Determinant]. Novosibirsk, 1984. 232 p. (In Russ.).
5. *Klub ljubitelej murav'ev* [Ant lovers club]. Available at: <http://antclub.net/node/> (accessed 29.11.2021). (In Russ.).
6. Mamaev B.M. [Order Diptera, or Flies and mosquitoes (Diptera)]. *Žizn' životnyh* [Animal Life]. Moscow, Prosveščenie Publ., 1984, V. 3, pp. 416–463. (In Russ.).
7. Markova T.O., Repsh N.V., Maslov M.V. [Behavioral features of females of Tachinid flies (Diptera, Tachinidae) of the subfamily Phasiinae during infestation of hosts]. *Vestnik Irkutskoj gosudarstvennoj sel'skochozjajstvennoj akademii*. Iss.73 (2016): pp. 62–68. (In Russ.).
8. Markova T.O., Maslov M.V., Repsh N.V., Sachnov A.S. [Tachinid flies (Diptera: Tachinidae, Tachininae) – parasites of insect pests]. *Sibirskij vestnik sel'skochozjajstvennoj nauki*. V. 49, No 3 (2019): pp. 47–54. (In Russ.).
9. Narchuk E.P. [The determinant of Diptera family of the fauna of Russia and neighboring countries (with an overview of the families of the world's fauna)]. *Trudy zoologičeskogo instituta RAN*. V. 294 (2003): pp. 1–250. (In Russ.).
10. Rihter V.A. [Family Tachinidae – Tachinid flies]. *Opređitel' nasekomykh Dal'nego Vostoka Rossii. Dvukrylye i blohi* [The determinant of insects of the Russian Far East. Diptera and fleas]. Vladivostok, Dal'nauka Publ., 2004, V. 6, p. 3, pp. 148–398. (In Russ.).
11. Tobias V.I. [Parasitic insects-entomophages, their biological characteristics and types of parasitism]. *Trudy Russkogo entomologičeskogo obščestva*. V. 75, Iss. 2 (2004): pp. 1–145. (In Russ.).
12. Feener D.H., Brown Jr., Brown B.V. Oviposition behavior of an ant-decapitating fly, *Neodohrniphora curvinervis* (Diptera: Phoridae) and defense behavior by its leaf-cutting ant host, *Atta cephalotes* (Hymenoptera: Formicidae). *Journal of Insect Behavior*. V. 6 (1993): pp. 675–688.
13. Gösswald K. Pflege des Ameisenparasiten *Tamiclea globula* Meig. (Diptera) durch den Wirt mit Bemerkungen über den Stoffwechsel in der parasitierten Ameise. *Verhandlungen der Deutschen Zoologischen*. 1950, S. 256–264.
14. Goffre D, Folgarait P.G. Phorid species from *Acromyrmex*'s hosts and effect of their survival of two fungi proposed for the control of leafcutter ants. *Entomologia experimentalis et applicata*. V. 167, No 11 (2019): pp. 939–949.
15. Hölldobler B., Wilson E.O. *The Ants*. Berlin, Springer-Verlag, 1990. 732 p.
16. Linksvay T.A., McCall A.C., Jensen R.M., Marshall C.M., Miner J.W., McKone M.J. The function of hitchhiking behaviour in the leaf-cutting ant *Atta cephalotes*. *Biotropica*. V. 34, No 1 (2002): pp. 93–100.
17. Mottern J.L., Heinz K.M., Ode P.J. Evaluating biological control of fire ants using phorid flies: effects on competitive interactions. *Biological control*. V. 30 (2004): pp. 566–583.
18. O'Hara J. E. Tachinid flies (Diptera: Tachinidae). In: Capinera J.L., ed. *Encyclopedia of Entomology*. Dordrecht, Springer Netherlands, 2008, pp. 3675–3686.
19. Plowes R.M., Lebrun E.G., Brown B.V., Gilbert L.E. A review of *Pseudacteon* (Diptera: Phoridae) that parasitize ants of the *Solenopsis geminata* complex (Hymenoptera: Formicidae). *Annals of the Entomological Society of America*. V. 102, No 6 (2009): pp. 937–958.
20. Stireman J.O., O'Hara J.E., Wood D.M. Tachinidae: evolution, behavior, and ecology. *Annual Review of Entomology*. V. 51 (2006): pp. 525–555.
21. Yanivaiak S. P., Kaspari M., Dundley R., Poinar G. Parasite-induced fruit-mimicry in a tropical canopy ant. *American Naturalist*. V. 171 (2008): pp. 436–544.

Статья поступила в редакцию 15.03.2022; одобрена после рецензирования 24.05.2022; принята к публикации 21.06.2022.

The article was submitted 15.03.2022; approved after reviewing 24.05.2022; accepted for publication 21.06.2022.

Информация об авторе

А. Д. Поспелова – магистрант 1 курса биологического факультета.

Information about the author

A. D. Pospelova – a first-year Master student, Biological Faculty.

ЗООЛОГИЯ

Научная статья

УДК 636.74.043.3

doi: 10.17072/1994-9952-2022-2-112-118.

Влияние возраста самок немецкой овчарки на репродуктивные показатели

Анатолий Сергеевич Семенов^{1✉}, Ольга Сергеевна Попцова²

^{1✉} Пермский государственный аграрно-технологический университет, Пермь, Россия, semenov50-50@mail.ru

² Пермский институт ФСИН России, Пермь, Россия, olya.olga-olga71@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0002-8232-8506>

Аннотация. Приведены результаты исследования репродуктивных показателей у самок собак породы немецкая овчарка с учетом изменения возраста: размер помета (многоплодие), продолжительность щенности, живая масса щенков. Для выборки, состоящей из 158 племенных собак, среднее многоплодие по всей выборке составило 5.8 ± 0.018 щенков на 123 плодотворных спаривания. Установлено, что размер помета варьировал в зависимости от возраста самок. В течение исследуемого периода меньше всего было получено помётов, состоящих из одного и десяти щенков, соответственно, три и один, также было получено 6 помётов, состоящих из двух щенков, 9 – из трех щенков, по 15 помётов, насчитывающих 4, 7 и 8 щенков, 23 помёта из 5 щенков, 25 помётов из 6 щенков, 7 помётов из 9 щенков, 4 помёта из 11 щенков. Максимальный размер помета в количестве 11 щенков зарегистрирован у собак в возрасте 3, 4 и 6 лет, минимальный размер помета, состоящий из одного щенка, фиксировался у собак в возрасте 5 и 6 лет. Отмечена тенденция уменьшения периода щенности с увеличением возраста собаки, которая была значимой при сравнении возрастных групп 2 и 7 лет. Также отмечена высокая сохранность потомства во все исследуемые возрастные периоды, которая находилась в диапазоне от 92.75 до 100%, отдельно по помётам с количеством щенков 2–6 сохранность была 100%, по многоплодным помётам с количеством щенков 7–11 голов данный показатель составил 98.05%. Статистически значимые различия зарегистрированы по показателю многоплодия в возрасте 2 и 3 лет и в возрасте 7 и 8 лет ($P < 0.05$).

Ключевые слова: немецкая овчарка, репродуктивные показатели, возраст, спаривание, продолжительность щенности, размер помета, щенки

Для цитирования: Семенов А. С., Попцова О. С. Влияние возраста самок немецкой овчарки на репродуктивные показатели // Вестник Пермского университета. Сер. Биология. 2022. Вып. 2. С. 112–118. <http://dx.doi.org/10.17072/1994-9952-2022-2-112-118>.

ZOOLOGY

Original article

Influence of the age of German shepherd female on reproductive indicators

Anatoly S. Semenov^{1✉}, Olga S. Poptsova²

^{1✉} Perm State Agro-Technological University, Perm, Russia, semenov50-50@mail.ru

² Perm Institute of the Federal Penal Service, Perm, Russia, olya.olga-olga71@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0002-8232-8506>

Abstract. The article presents the results of a study of reproductive indicators in female German Shepherd dogs in terms of age changes: litter size (multiple pregnancies), duration of pregnancy, live weight of puppies. For a sample of 158 breeding dogs, the mean multiple pregnancy for the entire sample was 5.8 ± 0.018 puppies per 123 fruitful matings. The authors found out that the litter size varied depending on the age of the females. During the study period, the least number of litters consisted of one and ten puppies, respectively, three and one; also 6 litters consisted of two puppies, 9 consisted of 3 puppies, 15 litters each numbering 4, 7 and 8 puppies, 23 litters of 5 puppies, 25 litters of 6 puppies, 7 litters of 9 puppies, 4 litters of 11 puppies. The maximum litter size of 11 puppies was recorded in dogs aged 3, 4 and 6 years, the minimum litter size consisting of one puppy was recorded in dogs aged 5 and 6 years. There was a trend towards a decrease in the period of pregnancy with an increase in the age of the dog, which was significant in comparison between the age groups of 2 and 7 years. Also, a high safety of offspring was noted in all the studied age periods, which was in the range from 92.75 to 100%, separately for litters with the number of puppies 2-6, the safety was 100%, for multiple litters with the

number of puppies 7-11 heads, this indicator was 98.05% . Statistically significant differences were registered in terms of multiple pregnancy at the age of 2 and 3 years and at the age of 7 and 8 years, at ($P < 0.05$).

Keywords: German Shepherd, reproductive performance, age, mating, duration of pregnancy, litter size, puppies

For citation: Semenov A. S., Poptsova O. S. [Influence of the age of german shepherd female on reproductive indicators]. *Bulletin of the Perm University. Biology*. Iss. 2 (2022): pp. 112-118. (In Russ.). <http://dx.doi.org/10.17072/1994-9952-2022-2-112-118>.

Введение

Научные исследования в области собаководства содержат значительное количество сведений, касающихся воспроизводства собак. Тем не менее, на современном этапе развития служебного собаководства имеется объективная потребность изучения показателей воспроизводства у собак служебных пород и факторов, вызывающих их изменения. Большинство известных исследований проводилось на породах, не относящихся к служебным, либо в условиях зарубежных стран. Собаки как биологический вид относятся к животным с высоким многоплодием. Наряду с положительными аспектами, возникающими при использовании этой биологической особенности при разведении собак, имеется и ряд отрицательных моментов. В частности, собаки считаются животными, имеющими наиболее высокие показатели ранней смертности потомства, регистрируемой в период от рождения до отъема в возрасте 8–9 недель. По последним данным, неонатальная смертность щенков фиксируется во всех странах, например, в Нидерландах – 18.6%. В США – 22.5%, во Франции – 22.9%, составляя в среднем 20% в мире [Шастан-Майяр и др., 2012; Mila et al., 2015]. В племенных питомниках служебного собаководства кинологической службы ФСИН России, согласно отчетным данным, случаи ранней неонатальной смертности регистрируются регулярно, количество падежей щенков ежегодно сохраняется на уровне 3.2–8.3% [Семенов, Попцова, 2018]. Основными факторами ранней смертности щенков, как доказано научными исследованиями, являются породная принадлежность, продолжительность щенности, возраст, размер и физиологическое состояние матери, количество щенков в помете и живая масса щенка при рождении [Mila et al., 2015]. Живая масса щенка при рождении является определяющим фактором не только неонатальной смертности, но и состояния здоровья взрослой собаки в дальнейшем. При этом установлено, что с выживаемостью отрицательно коррелируют как чрезмерно низкая живая масса щенков при рождении, так и превышающая максимальные пороговые значения живая масса [Робинсон, 1973, Уиллис, 2000].

По некоторым данным, количество щенков, родившихся с критически низкой живой массой и погибших в первые дни жизни, составляет более 80% [Руководство ..., 2018, Дюльгер, Дюльгер, 2022].

Для каждой породы собак установлены требования к оптимальной массе новорожденных, но в зависимости от породной принадлежности, а также показателя многоплодия, ее значения могут изменяться в значительном диапазоне. Таким образом, селекция в собаководстве должна быть направлена на закрепление наиболее оптимальной живой массы у потомства при рождении. Живая масса щенка при рождении обусловлена не только внешними факторами, но также генотипом и физиологическим состоянием матери в период беременности [Helmink et al., 2001].

В научной литературе имеются сведения о наследовании показателей живой массы у собак при рождении. Известно, что прямая наследуемость массы тела при рождении для немецких овчарок и лабрадоров-ретриверов в диапазоне от 0.14 до 0.17 и от 0.26 до 0.3, а у боксеров в 0.62. В этом же исследовании, генетическая наследуемость материнского влияния оценивалась в диапазоне от 0.55 до 0.56 для немецкой овчарки и от 0.44 до 0.48 для лабрадоров-ретриверов [Helmink et al., 2001]. Исследованиями шведских ученых установлено, что коэффициент наследуемости живой массы щенков находится в пределах 0.34–0.45 [Мазовер, 1954]. Также следует учитывать и индивидуальные особенности сук, обеспечивающие высокую сохранность щенков и позволяющие получать от них регулярные пометы [Диков, 2019]. Наличие таких особенностей говорит о том, что селекция по данным показателям может быть весьма эффективной и позволяет проводить оценку племенной ценности сук.

Коэффициент наследуемости выживаемости щенков находится в пределах 0.15–0.17 и во многом зависит от массы тела при рождении и количества щенков в помете [Уиллис, 2000]. Для собак в зависимости от породной принадлежности, в основном, для тех пород, которые имеют ограниченную стандартом высоту в холке, определены пределы физиологической нормы массы тела новорожденного щенка.

В то же время, в зарубежных исследованиях не выявлено влияние сезона года в период щенения на живую массу при рождении, но отмечается роль многоплодия в достоверном снижении массы щенков при увеличении помета. Экспериментальным путем В. Круковер в 1999 г. установил, что живая масса суки коррелирует с живой массой новорожденных щенков и общей массой помета, он также доказал, что изменения живой массы новорожденного щенка могут варьировать в диапазоне от 1.7 до 4.4% в зависимости от породной принадлежности. Для породы немецкая овчарка данный показатель составляет 1.78% [Круковер, 1999]. Полученные данные могут являться основанием для ведения селекции по увеличению массы новорожденных за счет увеличения массы тела матери в пределах стандарта породы [Moehlman, 1989].

Различны мнения ученых по влиянию возраста суки на многоплодие. Приводимые в научной литературе данные характеризуют средний размер помета в пределах 8–12 щенков, уточняя, что показатель варьирует в значительной степени от породной принадлежности и внешних факторов. По другим сведениям, для немецкой овчарки оптимальным размером помета считается 5–7 щенков. Не исключается также и влияние кобеля на данный показатель. Более ранние работы К. Литтла (1949), М. Уиллиса (1976) и Э. Лингсета (1973) показывают, что размер помета зависит в большей степени от возраста суки, хотя и может меняться в зависимости от возраста кобеля. Напротив, более поздними исследованиями Jiří Šichtař, Luboš Vostrý, Radko Rajmon установлено, что количество щенков в помете не изменяется с возрастом суки; кроме того, возраст матери не влияет на мертворожденность, но существенно повышает смертность щенков в подсосный период [Šichtař et al., 2016].

О влиянии возраста матери и сезона года на размер помета указывают Hare и Leighton. Они предполагают, что каждый последующий помет увеличивает период щенности, а количество щенков в помете, наоборот, уменьшает [Hare, Leighton, 2006].

Заслуживают внимания данные, полученные в ходе изучения влияния гендерной принадлежности на различные показатели воспроизводства, в том числе на живую массу потомства при рождении. Часть ученых отрицает зависимость показателей живой массы от гендерной принадлежности [Alberghina et al., 2020], однако отдельные исследователи считают, что щенки мужского пола рождаются с большей на 5–10% массой тела, чем суки [Mila et al., 2015, Schelling et al., 2019].

Borge, Tønnessen, Nødtvedt и Indrebø сообщают, что величина животных данной породы, возраст суки и метод вязки влияют на многоплодие у чистопородных собак, отмечая величину животных данной породы как наиболее определяющий фактор [Borge et al., 2010].

В экспериментах, проведенных отечественными и зарубежными учеными, установлена обратная зависимость между продолжительностью щенности и размером помета [Уиллис, 2000].

Считается, что продолжительность беременности у суки может изменяться в значительных пределах – от 55 до 70 дней, но чаще всего находится в промежутке между 64 и 66 днями. Средняя продолжительность щенности у большинства пород собак составляет 65.1 сут. [Уиллис, 2000, Блохин и др., 2021]. По другим данным, при оптимальной продолжительности щенности у сук в количестве 65 дней, диапазон колебаний может составлять от 56 до 72 дней, начиная со дня первой вязки до дня родов. Крайние значения щенности нежелательны, так как щенки, рожденные ранее 57-го и позднее 72-го дня, обычно имеют низкую жизнеспособность [Дубров, 2005].

При использовании эндокринологических методов были получены более точные данные о продолжительности щенности, которые определяют их пределы в количестве 63–65±1 день после начала овуляции [Руководство ..., 2018].

Имеется неподтвержденное мнение, что период беременности может сокращаться при малой численности плодов. Также ученые предполагают, что на продолжительность щенности может оказывать влияние породная принадлежность, однако достоверного подтверждения эта гипотеза не получила [Руководство ..., 2018].

Таким образом, сохранение многоплодия и повышение выживаемости новорожденных щенков остаются одним из актуальных вопросов в практике племенного разведения собак, что и послужило основанием для данного исследования. Цель исследования – изучение продолжительности щенности и плодовитости собак породы немецкая овчарка с учетом возраста самок, влияния многоплодия на живую массу и выживаемость щенков в помете. Технология содержания служебных собак, принятая в кинологической службе ФСИН России, удовлетворяет физиологическим потребностям служебных животных, однако следует принимать во внимание, что кинологические объекты расположены в различных климатических зонах страны, которые могли оказать влияние на результаты исследования.

Искусственный отбор, интенсивно проводимый в течение многих лет, глобальные изменения в окружающей среде, переход от натурального кормления к кормлению сухими полнорационными кормами могли оказывать влияние на изменения в репродуктивных показателях собак. С учетом того, что племенное разведение собак служебных пород – одно из важнейших направлений в кинологической службе ФСИН России, изучение причин снижения показателей воспроизводства и поиск путей управления им является актуальным вопросом и требует решения. Для решения данной проблемы на достаточно большом поголовье было проведено уточнение репродуктивных показателей собак породы немецкая овчарка.

Материал и методы исследования

Материал

Исследования проведены в условиях племенных питомников служебного собаководства в 2020–2021 гг.

Объектом исследований служили взрослые собаки породы немецкая овчарка репродуктивного периода. В исследования были включены 158 племенных собак с общим количеством щенений 123. Средний возраст собак на момент исследования составлял 5.2 года, максимальный возраст – 8.0 лет, минимальный

– 2.0 года. Состояние упитанности, по данным выводки, удовлетворительное, средняя живая масса составляла 26.7 кг.

Отобранные животные были клинически здоровы, имели все профилактические прививки по возрасту, содержались в одинаковых условиях в вольерах открытого типа в соответствии с положениями ведомственного приказа и ветеринарно-санитарными и зоогигиеническими требованиями. Кормление осуществлялось в соответствии с требованиями приказа ФСИН России от 13 мая 2008 № 330 готовым полнорационным сухим кормом марки «Royal Canin CC» с суточной дачей 700 г. Рацион кормления собак удовлетворял физиологическую потребность собак в питательных веществах¹. Исследуемые собаки ежедневно пользовались активным моционом, а также дрессировались не менее 9 раз в месяц по 2 ч.

Методы исследования

Аналитическая и экспериментальная работа состояла из двух последовательных этапов.

1. Сбор материалов зоотехнического и ветеринарного учета (отчеты по племенной работе за 2020 и 2021 гг.). Данные о рационах кормления служебных собак получены из журнала по получению и расходу кормов. Данные по проведению ветеринарно-санитарных мероприятий взяты из журнала приема больных собак, ветеринарных книжек собак, актов приема-обследования и диспансеризации. Данные о живой массе получены из журнала контроля живой массы, а также из данных выводки и диспансеризации собак. Взвешивания собак проводились ежемесячно, живую массу собак определяли путем взвешивания животных в килограммах, с точностью до 0.1 кг.

2. Отобранных животных распределили на восемь групп по возрасту: 2 года (минимальный возраст щенения), 3 года, 4 года, 5 лет, 6 лет, 7 лет, 8 лет, 9 лет (максимальный возраст щенения). Данные по группам заносили в следующем порядке: количество рожденных щенков, в том числе, кобелей и сук, количество мертворожденных, количество выживших к отъему в возрасте 45 дней, количество дней щенности, количество пропусков (неплодотворных спариваний).

За нормативный показатель многоплодия для собак крупных пород принимали значение 5–7 щенков [Блохин и др., 2021]. Физиологическую норму щенности в пределах 53–72 дней учитывали по Дюльгеру [Дюльгер, 2022].

Осредненные данные по каждой собаке обрабатывались статистическим методом с использованием стандартной программы Microsoft Excel и методики Н.А. Плохинского [1970], учитывались средние данные между возрастными группами собак по каждому показателю.

Результаты и их обсуждение

Результаты оценки исследуемых показателей воспроизводства и сохранности потомства представлены в табл. 1 и 2. Всего по данным табл. 1 за 2020–2021 гг. с исследуемыми 158 собаками породы немецкая овчарка было проведено 173 спаривания, из которых 123 (71.09%) были плодотворными, 35 вязок закончились пропуском сук (28.9%). Часть пропускавших сук в исследуемый период была оплодотворена повторно, в случае наступления следующего эстрального цикла. В результате получено 714 щенков, из которых 23 (3.22 %) щенка были мертворожденные или пали в 1-е сутки. Среднее многоплодие составило 5.8 ± 0.018 щенков, что согласуется с нормативными показателями, принятыми для немецкой овчарки по Блохину [2021], и находится в пределах, установленных в исследованиях Робинсона [1973].

Основываясь на данных таблицы, следует отметить, что за исследуемый период меньше всего было получено пометов, состоящих из одного и десяти щенков, соответственно, три и один, также было получено 6 пометов, состоящих из двух щенков, 9 пометов по 3 щенка, по 15 пометов, насчитывающих 4, 7 и 8 щенков, 23 помета по 5 щенков, 25 пометов по 6 щенков, 7 пометов по 9 щенков, 4 помета по 11 щенков. Сложившееся распределение подтверждает, что многоплодие является типичным признаком для крупных пород собак и свидетельствует о нормальном протекании физиологических процессов в организме.

Анализ распределения количества пометов в зависимости от возраста сук выявил следующие особенности: наименьшее количество многоплодных пометов получено от сук в возрасте 7, 8 и 9 лет, от которых было получено всего 14.56% от общего количества щенков, а среднее многоплодие составило 4.5

¹ Об утверждении норм обеспечения кормами (продуктами) и норм замены кормов (продуктов) при обеспечении штатных животных учреждений и органов уголовно-исполнительной системы в мирное время. Приказ ФСИН РФ № 330 от 13 мая 2008 г. 55 с.

Об утверждении Порядка обращения со служебными животными в учреждениях и органах уголовно-исполнительной системы Российской Федерации. Приказ ФСИН РФ № 1210 от 31 дек. 2019 г.

Хохрин С.Н. Кормление собак и кошек: справочник. М.: Колосс, 2006. 248 с.

щенка, от сук среднего возраста 4–6 лет родилось наибольшее количество щенков, всего 50.28% от общего числа, они же демонстрировали более высокое многоплодие – 5.88 щенков, а также отмечено максимальное количество плодотворных пометов. У сук молодого возраста (2–3 года) отмечен самый высокий показатель многоплодия, составивший 6.25 щенка и 35.01% щенков от общего количества рожденных. Наибольшее количество многоплодных пометов по 8–11 щенков отмечено у сук в возрасте 3–4 лет. Установлено, что у собак всех возрастов чаще всего рождались пометы со средним количеством щенков 5 и 6 голов, соответственно 23 и 24 помета.

Таблица 1

Распределение количества пометов и щенков в них в зависимости от возраста сук, (n=158)
[Distribution of the number of litters and puppies in them depending on the age of bitches, (n=158)]

Количество щенков в помете	Возраст сук, лет								Пропустовки
	2	3	4	5	6	7	8	9	
	Количество пометов								
1	-	-	-	2	1	-	-		35
2	-	1	1	1	-	1	2	-	
3	1	2	2	1	1	-	2	-	
4	2	3	1	-	1	3	5	-	
5	3	3	4	7	2	3	1	-	
6	4	3	5	7	3	-	1	1	
7	3	3	4	3	2	-	1	-	
8	2	5	5	2	1	-	-	1	
9	1	2	1	1	-	-	2	-	
10	-	-	-	1	-	-	-	-	
11	-	2	1	-	1	-	-	-	
Всего щенков	96	154	150	140	69	29	61	14	
Всего спариваний: в т. ч. плодотворных (пометов)	173								
	123								

Количество неплототворных спариваний (пропустовок) составило 35 (28.9%), что является достаточно значимым показателем и требует установления причин их возникновения. В качестве одной из наиболее характерных причин неплототворного осеменения сук следует отметить заболевания репродуктивной системы.

Отмечено влияние увеличения возраста самок на плодотворность спаривания. Наибольшее количество неоплодотворенных сук выявлено в следующих возрастных группах: 6 лет (38.88%), 8 лет (36.36%), 4 года (31.42%) и 7 лет (30.00%).

Таблица 2

Репродуктивные показатели у сук в зависимости от их возраста, ($\bar{X} \pm m_x$)
[Reproductive indicators in bitches depending on their age, ($\bar{X} \pm m_x$)]

Возраст сук, лет	n	Количество дней щенности	Cv, %	Среднее многоплодие по группе	Количество щенков в помете		Сохранность, %
					max	min	
2	17	65.10± 0.56	4.34	6.00± 0.28*	9	2	98.95
3	25	66.33± 0.28	4.44	6.60± 0.38	11	2	98.05
4	24	64.40± 0.31	6.23	6.50± 0.61	11	2	98.66
5	25	65.10±0.34	5.51	5.60± 0.55	10	1	99.28
6	11	65.00± 0.71	4.36	5.45± 0.87	11	1	92.75
7	7	63.00±0.83	4.94	4.10± 0.52	5	2	100
8	14	62.00± 0.66**	4.47	4.70± 0.62*	9	2	98.36

Примечание. *P < 0.05, **P < 0.01.

По данным табл. 2 отмечена тенденция уменьшения периода щенности с возрастом, которая была значимой в сравнении между возрастными группами 2 и 7 лет, составившая 65.1± 0.56 и 63.0±0.83 дней, и в возрасте 3 и 8 лет, соответственно 66.3± 0.28 и 62.0±0.66 дней (при P<0.01). Коэффициент вариации во всех измерениях был ниже 10%, что говорит о достаточной однородности учитываемого признака.

Сохранность потомства по группам составляла от 92.75 до 100%, отдельно по пометам с количеством щенков 2–6 сохранность была 100%, по многоплодным пометам с количеством щенков 7–11 голов данный показатель составил 98.05%.

Показатель живой массы щенков в многоплодных пометах был ниже, чем в пометах с меньшим количеством щенков, установленная разница была статистически значима при ($P < 0.001$), соответственно 325.32 ± 12.9 г и 453.70 ± 10.4 г.

Статистически значимые различия зарегистрированы по показателю многоплодия сук в возрасте 2 и 3 лет и в возрасте 7 и 8 лет, при $P < 0.05$.

Заключение

Анализ полученных данных позволяет сделать вывод о наличии определенных различий в проявлении репродуктивных способностей у собак породы немецкая овчарка в зависимости от их возраста. Так, установлены статистически значимые различия по показателю многоплодия в возрасте 2 и 3 лет и в возрасте 7 и 8 лет, при ($P < 0.05$), которые согласуются с данными, имеющимися в научных публикациях. Установлена тенденция уменьшения числа дней щенности с увеличением возраста собак, при статистически значимой разнице, полученной для возрастных групп 2 и 7 лет, 3 и 8 лет. Данный факт требует дальнейшего изучения с учетом возраста и числа щенений по каждой собаке индивидуально.

Список источников

1. Блохин Г.И. и др. Кинология. СПб.: Лань, 2021. 376 с.
2. Диков А.В. Биологические особенности и рабочие качества ездовых собак разного происхождения: автореф. дис. ... канд. биол. наук. М., 2019. 24 с.
3. Дубров М.З. Немецкая овчарка. М.: Центрполиграф, 2005. 396 с.
4. Дюльгер Г.П., Дюльгер П.Г. Физиология размножения и репродуктивная патология собак. СПб.: Лань, 2022. 236 с.
5. Круковер, В.М. Всё о собаках. М.: Вече, 1999. 480 с.
6. Мазовер А.П. Племенное дело в служебном собаководстве. М, 1954. 186 с.
7. Плохинский Н.А. Биометрия. М.: Изд-во МГУ, 1970. 367 с.
8. Робинсон Р. Соотношение между размером помета и массой суки у собак // Ветеринарные записки. 1973. Т. 92, № 9. С. 221–223.
9. Руководство по репродукции и неонатологии собак и кошек / ред. Дж. Симпсон, Г. Ингланд, М. Харви. Ройал Канин, 2018. 657 с.
10. Семенов А.С., Попцова О.С. Сравнительная характеристика воспроизводительных качеств собак служебных пород // Вестник Пермского университета. Сер. Биология. 2018. Вып. 4. С. 375–381. DOI: 10.17072/1994-9952-2018-4-375-381.
11. Уиллис М.Б. Генетика собак. М.: Центрполиграф, 2000. 604 с.
12. Шастан-Майяр С. и др. Первые три недели: важнейший период в жизни щенков и котят. Royal Canin, 2012. 152 с.
13. Alberghina D. et al. Puppy growth rate during early periods of Labrador retriever development: role of litter size and photoperiod of birth // Italian Journal of Animal Science. 2020. Vol. 20. P. 26–32. URL: <https://doi.org/10.1080/1828051x.2020.1863869>.
14. Borge K. et al. Litter size at birth in purebred dogs—A retrospective study of 224 breeds // Theriogenology. 2010. Vol. 75 (5). P. 911–919. doi: 10.1016/j.theriogenology.2010.10.034.
15. Hare Liz, Leighton Eldin. Estimation of Heritability of Litter Size in Labrador Retrievers and German Shepherd Dogs // Journal of Veterinary Behavior Clinical Applications and Research. 2006. Vol. 1. P. 62–66. <https://doi.org/10.1016/j.jveb.2006.06.001>.
16. Helmink S. et al. Estimated genetic parameters for growth traits of German shepherd dog and Labrador retriever dog guides // Journal of animal science. 2001. Vol. 79(6). P. 1450–1456. doi: 10.2527/2001.7961450x.
17. Mila H. et al. Differential impact of birth weight and early growth on neonatal mortality in puppies // Journal of animal science. 2015. Vol. 93(9). P. 4436–4442.
18. Moehlman P.D. Intraspecific Variation in Canid Social Systems // Gittleman J.L. (ed.) Carnivore Behavior, Ecology, and Evolution. Boston: Springer, 1989. https://doi.org/10.1007/978-1-4757-4716-4_6.
19. Schelling C. et al. Heritabilities for the puppy weight at birth in Labrador retrievers Schelling et al. // BMC Veterinary Research. 2019. Vol. 15. P. 395. <https://doi.org/10.1186/s12917-019-2146-8>.
20. Šichtař J. et al. Factors affecting reproductive efficiency in German Shepherd bitches producing litters for Police of the Czech Republic // Czech Journal of Animal Science. 2016. Vol. 61(12). P. 578–585.

References

1. Blohin G.I., Blohina T.V. et al. *Kinologija* [Cynology]. St-Peterburg, Lan' Publ., 2021. 376 p. (In Russ.).
2. Dikov A.V. *Biologičeskie osobennosti i rabočie kačestva ezdovykh sobak raznogo proischoždenija. Avtoref. dis. kand. biol. nauk* [Biological features and working qualities of sled dogs of different origins: abstract of the dissertation]. Moscow, 2019. 24 p.
3. Dubrov M.Z. *Nemeckaja ovčarka* [German Shepherd]. Moscow, Centrpoligraf Publ., 2005. 396 p. (In Russ.).

4. Dyul'ger G.P., Dyul'ger P.G. *Fiziologija razmnoženija i reproduktivnaja patologija sobak* [Physiology of reproduction and reproductive pathology of dogs]. St-Peterburg, Lan' Publ., 2022. 236 p. (In Russ.).
5. Krukov V.M. *Vsë o sobakach* [All about dogs]. Moscow, Veče Publ., 1999. 480 p. (In Russ.).
6. Mazover A.P. *Plemennoe delo v služebnom sobakovodstve* [Breeding business in service dog breeding]. Moscow, 1954. 186 p. (In Russ.).
7. Plohinskij N.A. *Biometrija* [Biometrics]. Moscow, MGU Publ., 1970. 367 p. (In Russ.).
8. Robinson R. [The ratio between the size of the litter and the weight of the bitch in dogs]. *Veterinarnye zapiski*. V. 92, No 9 (1973): pp. 221-223. (In Russ.).
9. Simpson Dzh., Ingham G., Harvi M. eds. *Rukovodstvo po reprodukcii i neonatologii sobak i košek* [Guide to reproduction and neonatology of dogs and cats]. Rojal Kanin Publ., 2018. 657 p. (In Russ.).
10. Semenov A.S., Poptsova O.S. [Comparative characteristics of reproductive qualities of dogs of service breeds]. *Vestnik Permskogo universiteta. Biologija*. Iss. 4 (2018): pp. 375-381. (In Russ.). DOI: 10.17072/1994-9952-2018-4-375-381.
11. Uillis M.B. *Genetika sobak* [Dog genetics]. Moscow, Centrpoligraf Publ., 2000. 604 p. (In Russ.).
12. Shastan-Majyar S., Fonbon A., Furn'e O. *Pervye tri nedeli: važnejšij period v žizni ščенок i kotjat* [The first three weeks: the most important period in the life of puppies and kittens]. Royal Canin Publ., 2012. 151 p. (In Russ.).
13. Alberghina D., Gioè M., Quartuccio M., Majolino G., Liotta L. Puppy growth rate during early periods of Labrador retriever development: role of litter size and photoperiod of birth. *Italian Journal of Animal Science*. V. 20 (2020): pp 26-32. <https://doi.org/10.1080/1828051x.2020.1863869>.
14. Borge K., Tønnessen R., Nødtvedt A., Indrebø A. Litter size at birth in purebred dogs—A retrospective study of 224 breeds. *Theriogenology*. V. 75 (5) (2010): pp. 911-919. doi: 10.1016/j.theriogenology.2010.10.034.
15. Hare Liz, Leighton Eldin. Estimation of Heritability of Litter Size in Labrador Retrievers and German Shepherd Dogs. *Journal of Veterinary Behavior Clinical Applications and Research*. V. 1 (2006): pp. 62–66. <https://doi.org/10.1016/j.jveb.2006.06.001>.
16. Helmink S., Rodriguez-Zas S., Shanks R., Leighton E. Estimated genetic parameters for growth traits of German shepherd dog and Labrador retriever dog guides. *Journal of animal science*. V. 79(6) (2001): pp. 1450–1456. doi: 10.2527/2001.7961450x.
17. Mila H., Grellet A., Feugier A., Chastant- Majyar S. Differential impact of birth weight and early growth on neonatal mortality in puppies. *Journal of animal science*. V. 93(9) (2015): pp. 4436-4442.
18. Moehlman P.D. Intraspecific Variation in Canid Social Systems. In: Gittleman J.L. (ed.) *Carnivore Behavior, Ecology, and Evolution*. Springer, Boston, 1989. https://doi.org/10.1007/978-1-4757-4716-4_6.
19. Schelling C., Gaillard C., Russenberger J., Moseley L. Dolf G. Heritabilities for the puppy weight at birth in Labrador retrievers Schelling et al. *BMC Veterinary Research*. V. 15 (2019): p. 395. <https://doi.org/10.1186/s12917-019-2146-8>.
20. Šichtař J., Dokoupilová Á., Luboš V., Radko R. Factors affecting reproductive efficiency in German Shepherd bitches producing litters for Police of the Czech Republic. *Czech Journal of Animal Science*. V. 61(12) (2016): pp. 578-585.

Статья поступила в редакцию 30.03.2022; одобрена после рецензирования 02.06.2022; принята к публикации 21.06.2022.

The article was submitted 30.03.2022; approved after reviewing 02.06.2022; accepted for publication 21.06.2022.

Информация об авторах

А. С. Семенов – д-р с.-х. наук, профессор кафедры животноводства;

О. С. Попцова – канд. с.-х. наук, доцент кафедры зоотехнии, подполковник внутренней службы.

Information about the authors

A. S. Semenov – doctor of agricultural Sciences, Professor of the Department of animal husbandry;

O. S. Poptsova – candidate of agricultural Sciences, associate Professor of the Department of animal science.

Вклад авторов:

Семенов А. С. – научное руководство; концепция исследования; доработка текста; итоговые выводы.

Попцова О. С. – методология; написание исходного текста; статистическая обработка материала, итоговые выводы.

Contribution of the authors:

Semenov A. S. – scientific management; research concept; followon revision of the text; final conclusions.

Poptsova O. S. – methodology development; writing the draft; statistical processing of the material, final conclusions.

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

The authors declare no conflicts of interests.

ЗООЛОГИЯ

Научная статья

УДК 591.543.1+59.087

doi: 10.17072/1994-9952-2022-2-119-124.

Изучение терморегуляционного поведения рептилий при подкожной имплантации терморегистраторов

Николай Анатольевич Четанов^{1✉, 2}, Николай Антонович Литвинов³,
Светлана Владимировна Ганшук⁴, Данила Минуллович Галиулин⁵

^{1, 3, 4} Пермский государственный гуманитарно-педагогический университет, Пермь, Россия

^{2, 5} Пермский государственный национальный исследовательский университет, Пермь, Россия

^{1✉} chetanov@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0001-8512-0244>

³ litvinov@pspu.ru

⁴ ganshchuk@pspu.ru

⁵ galiulindm@gmail.com

Аннотация. Сделана попытка охарактеризовать терморегуляционное поведение рептилий без непосредственного наблюдения за ними при помощи сравнения данных двух терморегистраторов: вшитого подкожно объекту исследования и размещенному в биотопе. Выделены основные затруднения, возникающие при проведении подобных исследований, определены важнейшие условия для успешной реализации. На основании анализа собственных данных выделены и описаны пять основных форм терморегуляционного поведения у рептилий.

Ключевые слова: терморегуляционное поведение, рептилии, подкожная имплантация, iBDL DS1922L

Для цитирования: Изучение терморегуляционного поведения рептилий при подкожной имплантации терморегистраторов // Н. А. Четанов Н. А. Литвинов, С. В. Ганшук, Д. М. Галиулин // Вестник Пермского университета. Сер. Биология. 2022. Вып. 2. С. 119–124. <http://dx.doi.org/10.17072/1994-9952-2022-2-119-124>.

ZOOLOGY

Original article

The study of the thermoregulatory behavior of reptiles during subcutaneous implantation of thermorecorders

Nikolai A. Chetanov^{1✉, 2}, Nikolai A. Litvinov³, Svetlana V. Ganshchuk⁴,
Danila M. Galiulin⁵

^{1, 3, 4} Perm State Humanitarian Pedagogical University, Perm, Russia

^{2, 5} Perm State University, Perm, Russia

^{1✉} chetanov@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0001-8512-0244>

³ litvinov@pspu.ru

⁴ ganshchuk@pspu.ru

⁵ galiulindm@gmail.com

Abstract. The article presents an attempt to characterize the thermoregulatory behavior of reptiles without direct observation of them by comparing the data of two thermal recorders: one sewn subcutaneously to the object of study and one placed in the biotope. The main difficulties that arise in the course of such studies are identified, and the most important conditions for successful implementation are identified. Based on the analysis of our own data, five main forms of thermoregulatory behavior in reptiles are identified and described.

Keywords: thermoregulatory behavior, reptiles, subcutaneous implantation, iBDL DS1922L

For citation: Chetanov N. A., Litvinov N. A., Ganshchuk S. V., Galiulin D. M. [The study of the thermoregulatory behavior of reptiles during subcutaneous implantation of thermorecorders]. *Bulletin of Perm University. Biology*. Iss. 2 (2022): pp. 119–124. (In Russ.). <http://dx.doi.org/10.17072/1994-9952-2022-2-119-124>.

Введение

Первая работа, посвященная изучению термобиологии рептилий при помощи имплантации логгеров-терморегистраторов, появилась в нашей стране еще десять лет назад [Литвинов, Ганщук, 2012]. С тех пор логгеры периодически применялись исследователями при изучении вопросов термобиологии рептилий [Литвинов, Четанов, 2014; Берман и др., 2020].

В последние годы вышел целый ряд работ, посвященных изучению поведенческой терморегуляции рептилий при помощи имплантации логгеров [Литвинов и др., 2016; Ганюшина и др., 2019; Коросов и др., 2021; Ганюшина, Коросов, 2021].

Однако существует базовая проблема – нет возможности оценить корректность полученных с помощью терморегистраторов данных, если при этом не проводилось прямое наблюдение за формами активности рептилии. Что логично, так как зачастую при изучении в природных условиях это просто невозможно.

Мы поставили перед собой цель – разработать подход, позволяющий судить о терморегуляционном поведении рептилий, опираясь на данные всего лишь двух терморегистраторов – одного, вшитого подкожно, и второго, измеряющего температуру окружающей среды – без параллельной фиксации поведенческих актов. Данное сообщение по сути является предварительным, скорее всего, представляющим общую концепцию.

Материалы и методы исследования

В работе нами используются четыре относительно просто определяемые величины, для вычисления которых требуются показания всего лишь двух логгеров-терморегистраторов:

- 1) температура тела (T_t);
- 2) температура окружающей среды (T_s);
- 3) изменение температуры тела (ΔT_t);
- 4) изменение температуры среды (ΔT_s).

Рассмотрим каждый из них. Начнем с температуры тела и температуры окружающей среды.

Температура тела рептилии (T_t) определялась при помощи имплантированного подкожно датчика-логгера iBDL DS1922L, термочувствительная поверхность логгера обращена к телу животного. Теоретически, возможна имплантация и во внутреннюю полость на уровне последней трети желудка, однако, как показывает опыт, подобная операция травматична и значительно сложнее для проведения, при этом данные, получаемые от имплантированного в полость логгера, дают сходную картину со вшитым подкожно.

Размеры датчика накладывают ограничения на возможность проведения имплантации: объект должен быть достаточно крупным. Наши попытки повторить процедуру по миниатюризации логгеров [Robert, Thompson, 2003; Lovegrove, 2009] можно считать неудачными. Размер логгера при этом практически не уменьшается, но в значительной мере возрастает шанс на выход терморегистратора из строя и повреждение данных.

Также серьезной сложностью является повторный отлов животного для извлечения вшитого регистратора. В связи с этим для изучения можно рекомендовать только виды, имеющие выраженную территориальность, в противном случае шанс на получение данных с логгера крайне невелик.

Учитывая изложенные ограничения, из шести видов рептилий, достоверно обитающих на территории Камского Предуралья, по всей видимости, лучше всего подходит для проведения подобного исследования обыкновенная гадюка *Vipera berus* (Linnaeus, 1758). Прыткая ящерица *Lacerta agilis* Linnaeus, 1758 и живородящая ящерица *Zootoca vivipara* (Lichtenstein, 1823) не подходят по размерам тела. Теоретически можно проводить экспериментальную работу с обыкновенным ужом *Natrix natrix* (Linnaeus, 1758), обыкновенной медянкой *Coronella austriaca* Laurenti, 1768 и даже колхидской веретеницей *Anguis colchica* (Nordmann, 1840), однако только при использовании какого-то вольера, в котором в течение всего периода наблюдений и будут содержаться объекты со вшитыми терморегистраторами. В принципе, первые опыты по имплантации и проводились с обыкновенным и водяным ужами, содержащимися в специально оборудованном вольере [Литвинов, Ганщук, 2002].

В качестве температуры окружающей среды (T_s) нами принималась температура приземного воздуха, примерно на высоте 2–4 см от поверхности субстрата. Температура фиксировалась при помощи логгера-терморегистратора, размещенного в характерном для вида биотопе, желательно в том же месте, где проводился отлов животного. Обязательным условием является размещение логгера в затененной области (например, среди растений), чтобы избежать прямого нагрева солнечными лучами, что может привести к неверной оценке температурных условий.

Для корректности получаемых данных необходима синхронизация логгеров, измеряющих температуру тела и окружающей среды, с персональным компьютером, а также одновременный их запуск и одинаковые интервалы отсчетов измерений.

Результаты исследований

Изменение температуры тела (ΔT_t) может быть положительным или отрицательным, то есть животное может и нагреваться ($\Delta T_t > 0$), или остывать ($\Delta T_t < 0$). О причинах изменения температуры говорить трудно, но, так как эндотермия для современных рептилий недоступна, можно сделать обоснованное предположение, что все эти изменения связаны с какими-то внешними факторами: или температурой окружающей среды, или солнечной радиацией. Причем благодаря использованию энергии Солнца рептилии способны длительное время поддерживать стабильную температуру [Saint-Girons, 1975].

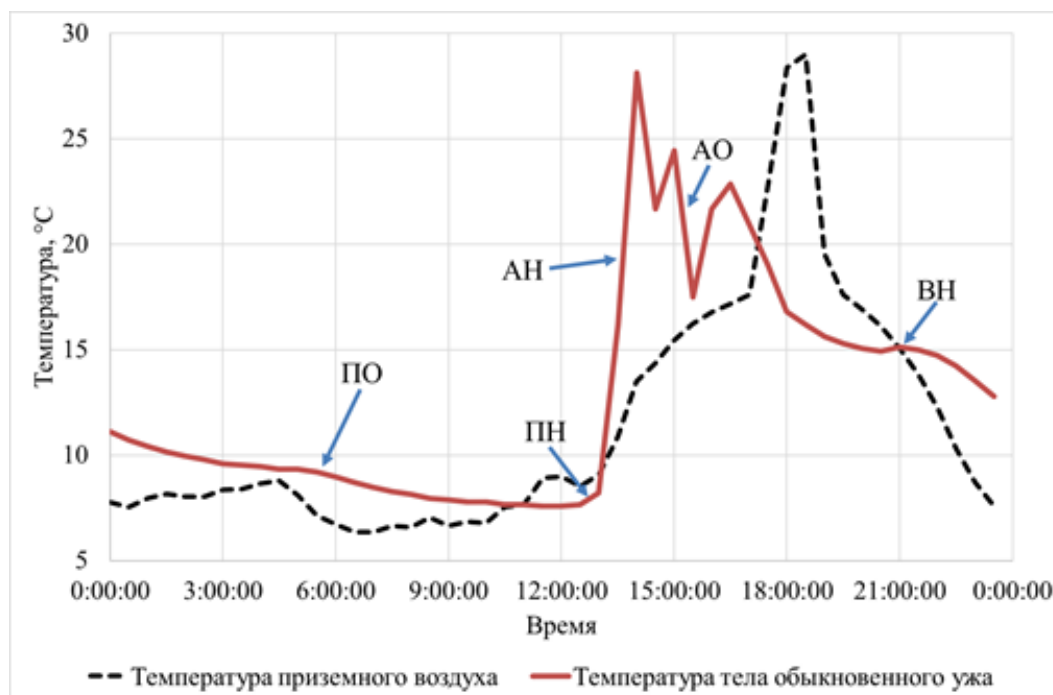
Изменение температуры окружающей среды (ΔT_s) в значительной мере предсказуемо: в утренние часы наблюдается повышение температуры ($\Delta T_s > 0$), в вечерние – понижение ($\Delta T_s < 0$). Однако нельзя забывать о случайных изменениях температуры в течение суток (облачность, осадки). Соответственно, подобные отклонения должны или учитываться при анализе данных, или отбраковываться из общего массива.

Какие, на наш взгляд, возможны варианты сочетаний температурных параметров и как они связаны с формами терморегуляционного поведения? Общие идеи отражены в представленной ниже таблице. Сразу же уточним, выделение в данном случае лишь пяти форм терморегуляционного поведения не охватывает весь спектр поведенческой терморегуляции у рептилий, который, несомненно, значительно шире [Черлин, 2010, 2012], однако выделение прочих форм без непосредственного наблюдения за объектом, по всей видимости, невозможно.

Характеристика основных форм терморегуляционного поведения рептилий
[Characteristics of the main forms of thermoregulatory behavior of reptiles]

Форма поведения	Характерные признаки		
	ΔT_t	ΔT_s	Соотношение температур тела и среды
Активное нагревание (АН)	> 0	> 0	$\Delta T_t > \Delta T_s; T_t > T_s$
Пассивное нагревание (ПН)	> 0	> 0	$\Delta T_t < \Delta T_s; T_t < T_s$ или $\Delta T_t > \Delta T_s; T_t < T_s$
Вечернее нагревание (ВН)	> 0	< 0	$\Delta T_t > \Delta T_s$
Активное остывание (АО)	< 0	> 0	$\Delta T_t < \Delta T_s$
Пассивное остывание (ПО)	< 0	< 0	$\Delta T_t < \Delta T_s$

Постараемся охарактеризовать каждую из этих форм терморегуляционного поведения подробнее и проиллюстрируем на примере данных за одни «типичные» сутки, полученных при изучении термобиологии обыкновенного ужа при вольерном содержании (рисунок).



Суточная динамика температуры приземного воздуха и температуры тела обыкновенного ужа
 [Daily dynamics of surface air temperature and body temperature of common grass snake]

Как видно из таблицы, по нашему мнению, можно выделить минимум три варианта нагревания: активное нагревание, вечернее нагревание, а также пассивное нагревание, причем при активном и пассивном обогреве изменения температуры тела и среды однонаправленное.

При активном нагревании можно наблюдать повышение как температуры тела ужа, так и температуры окружающей среды, однако скорость роста температуры окружающей среды значительно ниже. В подавляющем большинстве случаев подобная ситуация будет наблюдаться в утренние часы, когда рептилия повышает температуру своего тела за счет инсоляции. Это, по всей видимости, позволяет животному за короткий промежуток времени достичь оптимальной температуры тела, более высокой, чем температура среды обитания. Соответственно, окончанием данной формы поведения может служить выравнивание температур или скоростей нагрева.

На рисунке этот вариант отмечен как АН.

При пассивном нагревании возможны два основных варианта.

В первом случае температура животного пассивно повышается совместно с повышающейся температурой среды, причем скорость роста температуры среды выше, чем у животного. Тогда, по всей видимости, речь идет о постепенном нагревании в тени.

Второй вариант, когда температура тела рептилии повышается быстрее, чем температура окружающей среды, значительно сложнее идентифицировать и отделить от активного нагревания. На наш взгляд, подобное возможно, если рептилия покидает убежище с низкими температурами. Единственным относительно надежным маркером в таком случае может служить значительно более низкая температура тела рептилии по сравнению с окружающей средой.

На рисунке этот вариант отмечен как ПН.

Гораздо легче выделить вечернее нагревание – при снижении температуры окружающей среды наблюдается, пусть и непродолжительное, но повышение температуры тела. Нами в природных условиях неоднократно наблюдались рептилии, которые перед уходом в ночное убежище грелись под последними лучами заходящего солнца, при этом их температура тела при отлове была зачастую значительно выше, чем температура окружающей среды.

На рисунке этот вариант отмечен как ВН.

Для остывания, на наш взгляд, можно выделить только две основные формы поведения – активное и пассивное.

При активном остывании наблюдается снижение температуры тела при повышении температуры окружающей среды. Возможны два варианта объяснения подобного явления:

1) если температура среды выше, чем температура тела, то, скорее всего, произошел уход животного в некую холодную зону в связи с превышением температурой среды комфортных для рептилии условий. Это может быть расщелина между камней, нора, какое-то сильно затененное место;

2) если температура окружающей среды ниже, чем температура тела, но последняя при этом все равно снижается, то, по всей видимости, происходит уход из освещаемой, хорошо прогретой зоны, которую рептилия использовала для активного нагревания.

На рисунке этот вариант отмечен как АО.

Пассивное остывание в этом плане значительно менее интересно – температура тела снижается вслед за снижением температуры окружающей среды, однако с некоторым запаздыванием. Скорее всего, это связано с пребыванием в ночном убежище. По сути, полноценной формой поведения считать пассивное остывание сложно, так как активность животного при этом близка к нулю.

На рисунке этот вариант отмечен как ПО.

Таким образом, при проведении анализа данных, полученных всего лишь с двух логгеров, можно изучить достаточно подробную характеристику терморегуляционного поведения рептилий. Но подобный подход без прямых наблюдений за объектом не позволяет судить о причинах изменения температуры и, естественно, не отражает всего спектра терморегуляционного поведения у рептилий

Заключение

Постараемся подвести предварительные итоги:

1) для проведения исследований терморегуляционного поведения с помощью имплантированных логгеров-терморегистраторов необходим достаточно крупный объект с выраженной территориальностью. Из видов, обитающих на территории Камского Предуралья, лучше всего подходит обыкновенная гадюка;

2) миниатюризация логгеров не является обязательным условием для изучения термобиологии рептилий;

3) анализируя информацию, полученную с двух логгеров (имплантированного подкожно и размещенного в биотопе), можно выявить основные аспекты терморегуляционного поведения без проведения прямых наблюдений за животным;

4) выявленные при помощи данного подхода формы терморегуляционного поведения рептилий можно условно разделить на пять видов: активное нагревание, пассивное нагревание, вечернее нагревание, активное остывание и пассивное остывание. Отнесение пассивного остывания к терморегуляционному поведению достаточно спорно. Более точное описание форм поведения без непосредственных наблюдений за объектом, по всей видимости, невозможно.

Список источников

1. Берман Д.И. и др. Холодостойкость и зимовка обыкновенной гадюки (*Vipera berus*, *Reptilia*, *Viperidae*) на о-ве Кизи, Карелия // Зоологический журнал. 2020. Т. 99, вып. 8. С. 10–30.
2. Ганюшина Н.Д., Коросов А.В. Изменчивость параметров терморегуляции обыкновенной гадюки // Труды Зоологического института РАН. 2021. Т. 325, № 1. С. 99–112.
3. Ганюшина Н.Д. и др. Наружная и внутренняя температуры тела обыкновенной гадюки // Известия высших учебных заведений. Поволжский регион. Естественные науки. 2019. № 2 (26). С. 17–27. DOI: 10.21685/2307-9150-2019-2-2.
4. Коросов А.В. и др. Параметры терморегуляции обыкновенной гадюки (*Vipera berus* L.) в разных частях ареала // Принципы экологии. 2021. № 3. С. 54–63.
5. Литвинов Н.А., Ганшук С.В. Температура тела обыкновенного ужа *Natrix natrix* (Linnaeus, 1758) в Волжском бассейне в естественной среде и эксперименте // Известия Самарского научного центра РАН. 2012. № 1-1. С. 154–157.
6. Литвинов Н.А., Панова М.К., Окулов Г.А. Изучение терморегулирующего поведения рептилий методом имплантации регистраторов температуры // Вестник Санкт-Петербургского университета. Сер. 3. Биология. 2016. Вып. 3. С. 69–76. DOI: 10.21638/11701/spbu03.2016.313
7. Литвинов Н.А., Четанов Н.А. Непрерывная регистрация температуры тела обыкновенной гадюки летом // Известия Самарского научного центра РАН. 2014. Т. 16, № 5. С. 430–435.
8. Черлин В.А. Термобиология рептилий. Общая концепция. СПб.: Русско-Балтийский информационный центр БЛИЦ, 2012. 362 с.
9. Черлин В.А. Термобиология рептилий. Общие сведения и методы исследований (руководство). СПб.: Русско-Балтийский информационный центр БЛИЦ, 2010. 124 с.
10. Lovegrove, B.G. Modification and miniaturization of Thermochron iButtons for surgical implantation into small animals // J. Comp. Physiol. B. 2009. Vol. 179. P. 451–458. DOI: 10.1007/s00360-008-0329-x.
11. Robert K.A., Thompson M.B. Reconstructing Thermochron iButtons to reduce size and weight as a new technique in the study of small animal thermal biology // Herpetol. Rev. 2003. Vol. 34. P. 130–132.
12. Saint-Girons H. Observations préliminaires sur la thermorégulation des Vipères d'Europe // Vie et Milieu. Ser. C. 1975. Vol. 25. P. 137–168.

References

1. Berman D.I., Bulakhova N.A., Korosov A.V., Ganyushina N.D. [Cold hardiness and wintering of the common viper (*Vipera berus*, *Reptilia*, *Viperidae*) on Kizhi Island, Karelia]. *Zoologičeskij žurnal*. V. 99, iss. 8 (2020): pp.10-30. (In Russ.).
2. Ganyushina N.D., Korosov A.V. [Variability of thermoregulation parameters of the common viper]. *Trudy Zoologičeskogo instituta RAN*. V. 325, No 1 (2021): pp. 99-112. (In Russ.).
3. Ganyushina N.D., Korosov A.V., Litvinov N.A., Chetanov N.A. [External and internal body temperatures of the common viper]. *Izvestija vyssich učebnyh zavedenij. Povolžskij region. Estestvennye nauki*. No 2 (26) (2019): pp. 17-27. DOI 10.21685/2307-9150-2019-2-2. 4. (In Russ.).
4. Korosov A.V., Litvinov N.A., Ganyushina N.D., Chetanov N.A. [Thermoregulation parameters of the common viper (*Vipera berus* L.) in different parts of its range]. *Principy ekologii*. No 3 (2021): pp. 54-63. DOI: 10.15393/j1.art.2021.12122. (In Russ.).
5. Litvinov N.A., Ganshchuk S.V. [Body temperature of the grass snake *Natrix natrix* (Linnaeus, 1758) in the Volga basin in the natural environment and experiment]. *Izvestija Samarskogo naučnogo centra RAN*. No 1-1 (2012): pp. 154-157. (In Russ.).
6. Litvinov N.A., Panova M.K., Okulov G.A. [Study of the thermoregulatory behavior of reptiles by the method of implantation of temperature recorders]. *Vestnik Sankt-Peterburgskogo universiteta. Ser. 3. Biologija*. Iss. 3. (2016): pp. 69-76. DOI: 10.21638/11701/spbu03.2016.313. (In Russ.).
7. Litvinov N.A., Chetanov N.A. [Continuous registration of the body temperature of the common viper in summer]. *Izvestija Samarskogo naučnogo centra RAN*. V. 16, No 5 (2014): pp. 430-435. (In Russ.).
8. Cherlin V.A. *Termobiologija reptilij. Obščaja koncepcija* [Thermobiology of reptiles. General concept]. St-Petersburg, Russian-Baltic Information Center BLIC Publ., 2012. 362 p. (In Russ.).

9. Cherlin V.A. *Termobiologija reptilij. Obsščie svedenija i metody issledovanij* [Thermobiology of reptiles. General information and research methods (manual)]. St-Petersburg, Russian-Baltic Information Center BLIC Publ., 2010. 124 p. (In Russ.).

10. Lovegrove, B.G. Modification and miniaturization of Thermochron iButtons for surgical implantation into small animals. *J. Comp. Physiol. B.* V. 179 (2009): pp. 451-458. DOI: 10.1007/s00360-008-0329-x.

11. Robert K.A., Thompson M.B. Reconstructing Thermochron iButtons to reduce size and weight as a new technique in the study of small animal thermal biology. *Herpetol. Rev.* V. 34 (2003): pp. 130-132.

12. Saint-Girons H. Observations préliminaires sur la thermorégulation des Vipères d'Europe. *Vie et Milieu. Ser. C.* V. 25 (1975): pp. 137-168.

Статья поступила в редакцию 11.05.2022; одобрена после рецензирования 16.05.2022; принята к публикации 21.06.2022.

The article was submitted 11.05.2022; approved after reviewing 16.05.2022; accepted for publication 21.06.2022.

Информация об авторах

Н. А. Четанов – канд. биол. наук;

Н. А. Литвинов – канд. биол. наук, доцент;

С. В. Ганщук – канд. биол. наук, доцент;

Д. М. Галиулин – аспирант.

Information about the authors

N. A. Chetanov – candidate of biology;

N. A. Litvinov – candidate of biology, associate professor;

S. V. Ganshchuk – candidate of biology, associate professor;

D. M. Galiulin – postgraduate student.

Вклад авторов:

Четанов Н.А. – концепция исследования; анализ литературы; выполнение исследования; обработка результатов; написание исходного текста.

Литвинов Н.А. – выполнение исследования; обработка результатов; доработка текста; итоговые выводы.

Ганщук С.В. – выполнение исследования; обработка результатов.

Галиулин Д.М. – выполнение исследования; обработка результатов; анализ литературы.

Contribution of the authors:

Chetanov N.A. – research concept; literature analysis; research execution; processing of results; writing the draft.

Litvinov N.A. – research execution; processing of results; revision of the text; conclusions.

Ganshchuk S.V. – research execution; processing of results.

Galiulin D.M. – research execution; processing of results; literature analysis.

МИКРОБИОЛОГИЯ

Научная статья

УДК 618.3-06:616.98:579.887.1]-078

doi: 10.17072/1994-9952-2022-2-125-130.

Состояние микробиома нижних отделов репродуктивного тракта у беременных, инфицированных уреоплазмами *Ureaplasma urealyticum*, в зависимости от степени колонизации

Елизавета Викторовна Афанасьевская^{1✉}, Татьяна Алексеевна Мельникова²,
Эдуард Семенович Горовиц³, Нина Владимировна Николаева⁴

^{1,3,4} Пермский государственный медицинский университет им. акад. Е.А. Вагнера, Пермь, Россия

² Клинический многопрофильный медицинский центр Пермского государственного медицинского университета им. акад. Е.А. Вагнера, Пермь, Россия, melnikova.ta1111@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0003-4099-7928>

✉ lizavika@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-3498-6459>

³ eduard.gorovitz@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0003-4320-8672>

⁴ solomonina.ya@yandex.ru., <https://orcid.org/0000-0002-6799-5503>

Аннотация. Проведена оценка состояния микробиома нижних отделов репродуктивного тракта у беременных, инфицированных бактериями *Ureaplasma urealyticum* в различных концентрациях. С использованием традиционных методов выполнены бактериоскопические и бактериологические исследования вагинального секрета 112 беременных, инфицированных уреоплазмами. Изолированные микроорганизмы идентифицировали в основном до рода. Для выделения бактерий *U. urealyticum* использовали общепринятый количественный вариант бактериологического метода. У 85.7% инфицированных *U. urealyticum* беременных в мазках преобладали кокковидные и смешанные морфотипы бактерий, тогда как у условно здоровых их выявляли в 12.5% проб. Чаще всего выявляли воспалительную реакцию, ключевые клетки и положительный аминный тест. Более чем у 80% инфицированных беременных регистрировали изменения качественного и количественного состава микробиома влагалищного биотопа – снижение титра резидентных микроорганизмов и увеличение спектра и количества условно-патогенных. Эти нарушения были более значимы в подгруппе беременных с высоким уровнем колонизации гениталий *U. urealyticum*. У инфицированных женщин статистически значимо чаще выявляли бактериальный вагиноз и вагинит. Нормоценоз регистрировали в 47.6% случаев обследованных, против 77.5% в группе сравнения. Инфицирование уреоплазмами *U. urealyticum* нижних отделов репродуктивного тракта беременных приводит к существенным нарушениям микробиома влагалищного биотопа, сопровождающееся развитием бактериального вагиноза и вагинита. Вероятность их возникновения возрастает с увеличением титра уреоплазм.

Ключевые слова: беременные, уреоплазмы, *Ureaplasma urealyticum*, микробиом, влагалищный биотоп

Для цитирования: Состояние микробиома нижних отделов репродуктивного тракта у беременных, инфицированных *Ureaplasma urealyticum*, в зависимости от степени колонизации / Е.В. Афанасьевская, Т.А. Мельникова, Э.С. Горовиц, Н.В. Николаева // Вестник Пермского университета. Сер. Биология. 2022. Вып. 2. С. 125–130. <http://dx.doi.org/10.17072/1994-9952-2022-2-125-130>.

MICROBIOLOGY

Original article

The microbiome state of lower parts of the reproductive tract in pregnant women infected with *Ureaplasma urealyticum* depending on the colonization degree

Elizaveta V. Afanasievskaya^{1✉}, Tatiana A. Melnikova², Eduard S. Gorovitz³,
Nina V. Nikolaeva⁴

^{1,3,4} E.A. Vagner Perm State Medical University, Perm, Russia

² Clinical Multidisciplinary Medical Center of Perm State Medical University named after Academician E.A. Wagner, Perm, Russia, melnikova.ta1111@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0003-4099-7928>

✉ lizavika@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-3498-6459>

³ eduard.gorovitz@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0003-4320-8672>

⁴ solomonina.ya@yandex.ru., <https://orcid.org/0000-0002-6799-5503>

Abstract. Assessment of the microbiome state of the lower parts of the reproductive tract in pregnant women infected with various concentrations of *Ureaplasma urealyticum*. Bacterioscopic and bacteriological tests of the vaginal secretions of 112 pregnant women infected with *Ureaplasma urealyticum* were performed using traditional methods. Isolated microorganisms were identified mainly up to the genus level. *Ureaplasma urealyticum* was isolated by the generally accepted quantitative variant of the bacteriological test. In 85.7% of pregnant women infected with *U. urealyticum*, coccoid and mixed morphotypes of bacteria prevailed in smears, whereas in conditionally healthy ones they were detected in 12.5% of samples. They were most often found to have an inflammatory reaction, key cells and a positive amine test. Changes in the qualitative and quantitative composition of the microbiome of the vaginal biotope—a decrease in the titer of resident microorganisms and an increase in the spectrum and number of opportunistic pathogens—were recorded in more than 80% of infected pregnant women. These disorders were more significant in the subgroup of pregnant women with high genital colonization with *U. urealyticum*. As a result, bacterial vaginosis and vaginitis were statistically significantly more common in infected women. Normocenosis was registered in 47.6% of cases, compared to 77.5% in the comparison group. *U. urealyticum* infection of the lower parts of the reproductive tract in pregnant women leads to significant violations of the microbiome of the vaginal biotope accompanied by the development of bacterial vaginosis (BV) and vaginitis. The probability of their development increases with a rise in the titer of ureaplasmas.

Keywords: pregnant women, *Ureaplasma urealyticum*, microbiome, vaginal biotope

For citation: Afanasievskaya E. V., Melnikova T. A., Gorovitz E. S., Nikolaeva N. V. [The microbiome state of lower parts of pregnant women reproductive tract infected with *Ureaplasma urealyticum* depending on the colonization degree]. *Bulletin of Perm University. Biology*. Iss. 2 (2022): pp. 125-130. (In Russ.). <http://dx.doi.org/10.17072/1994-9952-2022-2-125-130>.

Введение

Уреаплазмы *Ureaplasma urealyticum* как условно-патогенные бактерии входят в состав микробиоценоза влагалища, являясь представителями факультативной, реже резидентной микрофлоры. Их патогенный потенциал, как правило, проявляется при снижении резистентности организма, в частности при беременности, а также под воздействием различных неблагоприятных факторов [Кира, 1995, 2012; Kokkayil, Dhawan, 2015]. Показано, что уреаплазмы могут выступать в качестве этиологических агентов при различных заболеваниях женской половой сферы в случаях её колонизации в высоких титрах, что характерно и для других условно-патогенных бактерий [Murtha, Edwards, 2014; Ришук, 2015; Ковылык и др., 2019]. Таковыми при использовании классического бактериологического метода диагностики инфекций, ассоциированных с бактериями рода *Ureaplasma*, являются диагностически значимые титры более 10^4 КОЕ /мл.

Цель исследования – оценка состояния микробиома нижних отделов репродуктивного тракта у беременных, инфицированных уреаплазмами *U. urealyticum* в различных концентрациях.

Материалы и методы исследований

Проведены бактериоскопическое и бактериологическое обследования 112 беременных, инфицированных *U. urealyticum* (группа А). У 53 из них (подгруппа 1) уреаплазмы были выявлены в титрах $10-10^3$ КОЕ/мл, у 59 (подгруппа 2) – 10^4-10^8 КОЕ/мл. Группу сравнения (В) составили 40 условно здоровых беременных. Обследование выполнено при первичном обращении беременных в женскую консультацию, как правило, в сроки гестации до 12 недель.

Материалом для исследования служил секрет заднего свода влагалища. Его забор осуществляли в соответствии с методическими рекомендациями [Волкова и др., 2006]. Для бактериоскопического исследования готовили мазки, которые окрашивали по методу Грама. Полученные препараты микроскопировали с помощью иммерсионного объектива с большим увеличением ($\times 400$). При микроскопии определяли общую микробную обсеменённость, наличие различных морфотипов бактерий, а также количество лейкоцитов для оценки степени выраженности воспалительной реакции. Бактериологическое исследование проводили традиционным способом, при этом готовили серийные десятикратные разведения исследуемого материала от 10^1 до 10^5 . Основные ассоцианты микробиоценоза влагалища бифидо- и молочнокислые бактерии, коринебактерии, а также представители семейства энтеробактерий, родов стафило- и стрептококков, грибов рода *Candida* выделяли на соответствующих питательных средах и идентифицировали, как правило, до рода.

Уреаплазмы *U. urealyticum* изолировали из исследуемого материала в соответствии с «Инструкцией по применению среды для индикации глюкозо-ферментирующих микоплазм, жидкой» ООО НПФ «Диагност-Мед», Омск. Количественное определение бактерий выполняли на плотной питательной среде в соответствии с рекомендациями [Евстигнеева, Щербакова, Юровских, 2007].

Для статистической обработки полученных данных использовали встроенный пакет анализа табличного процессора Excel®, 2016 MSO, пакет прикладных электронных таблиц Stat 2015 (В.С. Шелудько, 2016) [Шелудько, Девяткова, 2016]. Количественные признаки выражали в виде средней арифметической

(М) и стандартной ошибки средней арифметической (m). Для оценки статистической достоверности различий (p) использовали параметрический и непараметрический критерии Стьюдента и χ^2 . Достоверными считали различия при значениях $p < 0.05$.

Результаты и их обсуждение

По данным бактериоскопического и цитологического анализа вагинального секрета, у подавляющего большинства (84.8%) инфицированных беременных в мазках преобладали кокковидные и смешанные морфотипы бактерий. Подобную картину наблюдали в существенно меньшем (47.5%) проценте случаев в группе В (условно здоровые беременные). При этом более чем у половины последних в мазках преобладали палочковидные бактерии – 62.5%, против 15.2% в группе беременных, инфицированных уреаплазмами (табл. 1).

Таблица 1

Результаты бактериоскопического и цитологического исследований вагинального секрета беременных в сравниваемых группах
[Results of bacterioscopic and cytological studies of vaginal secretions of pregnant women in the compared groups]

Показатель	Параметр	Группа А (n = 112)		Группа В (n = 40)		p	χ^2
		абс.	%	абс.	%		
Преобладающие морфотипы бактерий	Палочковидные	17	15.2	19	62.5	0.0001	17.097
	Кокковидные	41	36.6	10	20.0	0.0001	17.097
	Смешанные	54	48.2	11	27.5	0.0001	17.097
Микроорганизмы	<i>Mobiluncus</i>	27	24.1	5	12.5	0.122	2.389
	<i>Gardnerella vaginalis</i>	42	35.5	11	27.5	0.235	1.198
	<i>Leptotrichia</i>	24	21.4	4	10.0	0.109	2.562
	Мицелий грибов	9	10.0	5	12.5	0.893	1.154
Количество лейкоцитов в п/з	До 10	17	15.2	19	47.5	0.0001	32.573
	11–20	42	37.5	5	12.5	0.0001	32.573
	21–40	9	8.0	11	27.5	0.0001	32.573
	>41	44	39.3	5	12.5	0.0001	32.573
Ключевые клетки		54	48.2	11	27.5	0.0001	32.573

Примечание. p , χ^2 – достоверность различия показателей между группами А и В.

У беременных с положительными результатами обследования на уреаплазмы также существенно чаще обнаруживали признаки воспалительной реакции. При микроскопии мазков в 37.5% случаев было выявлено более 20 лейкоцитов в поле зрения, тогда как среди условно здоровых беременных – 12.5%. Значительно чаще положительным был и аминный тест – 76.2% против 7.5% ($p = 0.007$) и почти у половины сдвиг pH среды биотопа в щелочную сторону (соответственно по группам А – 46.5%; В – 26.5% ($p = 0.001$)).

Более трети инфицированных уреаплазмами женщин предъявляли жалобы на обильные выделения. У 48.2% обследованных выявляли ключевые клетки, тогда как в группе сравнения таковых было 27.5% ($p = 0.001$). В мазках у инфицированных беременных чаще чем в группе сравнения, обнаруживали бактерии родов *Mobiluncus*, *Gardnerella*, *Leptotrichia* и, хотя различия не были статистически значимы, количество этих микроорганизмов в поле зрения у женщин в группе А, как правило, было существенно выше.

На основании комплексного анализа: микроскопии мазков, субъективных данных и показателей объективного обследования у 39.9% инфицированных беременных регистрировали вагинит, против 12.5% в группе сравнения ($p = 0.0004$). Бактериальный вагиноз (БВ) диагностировали соответственно у 41.5 и 18.5% обследованных ($p = 0.0002$). В связи с этим следует отметить, что БВ – одно из наиболее частых патологических состояний, сопровождающих колонизацию гениталий уреаплазмами *U. urealyticum* [Кира, 2012]. У этой же категории пациентов, как правило, регистрируют и вагинит.

Результаты бактериоскопического и цитологического исследований вагинального секрета, а также данные субъективного и объективного обследований были проанализированы с учетом степени колонизации *U. urealyticum* родовых путей беременных. В таблице 2 представлены результаты исследования мазков из вагинального секрета беременных подгрупп 1 и 2 соответственно с низким и высоким уровнем инфицирования. Из представленных данных следует, что у беременных с высоким уровнем колонизации генитального тракта уреаплазмами *U. urealyticum* (в диагностических титрах) в мазках чаще преобладали кокковидные морфотипы бактерий, воспалительная реакция была более выражена, однако эти различия не были статистически значимы. Аналогичная закономерность прослеживалась и в отношении показате-

лей аминного теста, наличия в препаратах ключевых клеток, а также предъявляемых женщинами жалоб. Во всех этих случаях различия были несущественны.

Таблица 2

Результаты бактериоскопического и цитологического исследований вагинального секрета беременных, инфицированных различными концентрациями уреаплазм
[Results of bacterioscopic and cytological studies of vaginal secretions of pregnant women infected with various concentrations of ureaplasmas]

Показатель	Параметр	Подгруппа 1 (n = 53)		Подгруппа 2 (n = 59)		p	χ^2
		абс.	%	абс.	%		
Преобладающие морфотипы бактерий	Палочковидные	8	15.1	9	15.2	0.4888	1.435
	Кокковидные	17	32.0	25	43.4	0.4888	1.435
	Смешанные	28	52.9	25	43.4	0.4888	1.435
Микроорганизмы	<i>Mobiluncus</i>	8	15.1	19	32.2	0.035	4.467
	<i>Gardnerella vaginalis</i>	17	32.0	25	43.4	0.261	1.283
	<i>Leptotrichia</i>	7	13.2	17	28.8	0.044	4.039
	Мицелий грибов	5	8.5	5	7.6	0.859	0.032
Количество лейкоцитов в п/з	До 10	8	15.1	9	15.2	0.4888	1.435
	11–20	17	32.0	25	43.4	0.4888	1.435
	21–40	5	8.5	5	7.6	0.859	0.032
	>41	23	44.1	20	33.9	0.688	1.475
Ключевые клетки		17	32.0	25	43.4	0.261	1.283

Примечание. p, χ^2 – достоверность различия показателей между подгруппами 1 и 2.

Тем не менее, у беременных 2 подгруппы статистически значимо чаще регистрировали щелочную (pH > 4.5) среду биотопа, в 53.4% случаях против 32.04% (p = 0.001), а также наличие в мазках бактерий родов *Mobiluncus* в высоких концентрациях. По данным литературы, эти бактерии присутствуют в вагинальном биотопе в значительных количествах обычно на фоне БВ и вагинитов, тогда как представители *Gardnerella* обнаруживаются в низких титрах у 70% здоровых женщин [Быков и др., 2018].

Следовательно, колонизация родовых путей беременных уреаплазмами *U. urealyticum*, независимо от степени их выраженности, обуславливает нарушение вагинального микробиома. Как следствие, развиваются БВ и вагинит, которые чаще возникают при более высокой степени колонизации родовых путей беременных.

Для изучения особенностей качественного и количественного состава микробиоты вагинального биотопа инфицированных уреаплазмами беременных проведено бактериологическое обследование. Анализ полученных результатов исследований (табл. 3) так же, как и ранее, был выполнен с учетом степени выраженности колонизации гениталий уреаплазмами *U. urealyticum*.

Таблица 3

Оценка состояния вагинального биоценоза у беременных, инфицированных уреаплазмами
[Assessment of the state of vaginal biocenosis in pregnant women infected with *U. urealyticum*]

Микроорганизм	Титр, КОЕ/мл	Количество беременных с соответствующим титром микроорганизмов						p_1	p_2	p_3
		Группа А				Группа В (n=40)				
		подгруппа 1 (n=53)		подгруппа 2 (n=59)						
		абс.	%	абс.	%	абс.	%			
<i>Lactobacillus</i> spp.	$\geq 10^3 - 10^7$	31	58.4	16	27.1	33	82.5	0.048	0.0012	0.0047
<i>Bifidobacterium</i> spp.	$\geq 10^3 - 10^5$	27	50.9	19	32.2	29	72.5	0.0032	0.0196	0.0051
<i>Corynebacterium</i> spp.	$\geq 10^4$	2	3.7	0	0	2	5.0	0.6543	0.6301	0.9933
<i>P. vulgaris</i>	$\geq 10^4$	1	1.9	1	1.7	0	0	0.4131	0.9397	0.3879
<i>C. albicans</i>	$\geq 10^4$	15	28.3	29	49.1	7	17.5	0.0038	0.0326	0.0288
<i>S. aureus</i>	$\geq 10^4$	31	58.4	42	71.3	19	47.5	0.0402	0.0387	0.0487
<i>S. epidermidis</i>	$\geq 10^4$	1	1.9	1	1.7	1	2.5	0.7826	0.9397	0.8422
<i>Streptococcus</i> spp.	$\geq 10^4$	23	43.3	39	66.1	11	27.5	0.0026	0.0085	0.0093
<i>E. coli</i>	$\geq 10^1$	3	5.6	5	9.4	2	5.0	0.5130	0.5678	0.8903
<i>Peptococcus</i> spp.	$\geq 10^4$	13	24.5	19	32.2	10	25.0	0.9553	0.8731	0.8417
<i>Peptostreptococcus</i> spp.	$\geq 10^4$	14	26.4	17	28.8	9	22.5	0.8107	0.9394	0.7621

Примечания: p – достоверность различия показателей между: p₁ – второй подгруппой и группой В; p₂ – подгруппами 1 и 2; p₃ – первой подгруппой и группой В.

Из приведенных данных следует, что у беременных, как первой, так и второй подгрупп, наблюдали уменьшение титра индигенных микроорганизмов, представителей этого биотопа, что было особенно существенным у женщин с высоким уровнем присутствия уреоплазм (вторая подгруппа). Так, лишь у 27.1% из них регистрировали присутствие лактобактерий в нормативных количествах, а бифидобактерий – у трети беременных этой подгруппы, тогда как у практически здоровых женщин (группа В) эти бактерии обнаруживали в достаточных концентрациях соответственно у 82.5 и 72.5%. В связи с этим следует подчеркнуть, что лактобациллы за счет активного кислотообразования играют важную роль в поддержании необходимых значений pH влагалищной среды.

Освободившиеся ниши заселяли условно-патогенные микроорганизмы, представители различных таксонов. Их спектр был разнообразным, а титры высокими. В частности, это были представители семейства энтеробактерий, родов стафилококков и стрептококков, а также грибы рода *Candida*. Особо следует отметить высокий (71.3% во второй подгруппе) процент обнаружения золотистого стафилококка в значительных концентрациях – бактерий, обладающих выраженным патогенным потенциалом.

При сопоставлении частоты встречаемости различных видов индигенных микроорганизмов у беременных первой и второй подгрупп можно констатировать, что снижение титра облигатных бактерий чаще регистрировали у пациенток с высокими концентрациями уреоплазм. Если нормативные значения уровня лактобактерий у беременных первой подгруппы выявляли в 58.4% случаев, бифидобактерий – 50.9%, то у пациентов второй подгруппы эти показатели соответственно составляли 27.1 и 32.2%. Существенное снижение титра нормальных представителей биотопа, очевидно, обусловлено особенностями биологических свойств *U. urealyticum*, которые за счет своей ферментативной активности осуществляют гидролиз мочевины, выделяя аммиак, оказывающий токсический эффект на клетки-мишени и «местные» бактерии [Кира, 2012].

Напротив, культуры *S. aureus*, так же, как и *C. albicans*, в большем проценте случаев обнаруживали у беременных второй подгруппы. Суммируя результаты проведенного комплексного обследования беременных, инфицированных *U. urealyticum*, необходимо отметить, что как в первой, так и во второй подгруппах нормоценоз влагалищного биотопа регистрировали значительно реже, чем у практически здоровых женщин. Соответственно у 42.5% в первой и 5.1% во второй подгруппах против 47.5% в группе условно здоровых (p в первом случае = 0.0001, во втором = 0.0009).

Таким образом, инфицирование нижних отделов родовых путей беременных уреоплазмами *U. urealyticum* приводит к дисбиотическим изменениям, сопровождающимся нарушением качественного и количественного состава микробиоты влагалища, в результате чего уменьшается титр резидентных бактерий, обеспечивающих колонизационную резистентность биотопа. На этом фоне увеличивается спектр и количество условно-патогенных микроорганизмов. При этом у беременных с высоким ($\geq 10^4$) уровнем *U. urealyticum* эти нарушения микробиоценоза более выражены. Как и можно было ожидать, результаты бактериологического обследования были более информативны, чем бактериоскопического анализа и, как следствие, позволяли выявить более существенные нарушения микробиоты биотопа у обследованных беременных.

Выводы

1. Инфицирование уреоплазмами *U. urealyticum* нижних отделов репродуктивного тракта беременных обуславливает изменение состава микробиома влагалища, сопровождающееся уменьшением титра резидентных микроорганизмов, представителей нормофлоры этого биотопа, расширением спектра и увеличением количества условно-патогенных микроорганизмов.

2. Колонизация гениталий беременных *U. urealyticum* приводит к развитию БВ и вагинита. Эти патологические состояния зарегистрированы соответственно у 41.5 и 39.9% беременных первой и второй подгрупп, тогда как в группе условно здоровых женщин эти показатели составили 18.5 и 12.5% соответственно.

3. Частота возникновения БВ и вагинита у инфицированных *U. urealyticum* беременных в значительной мере определяется степенью колонизации их родовых путей.

Список источников

1. Быков А.С. и др. Медицинская микробиология, вирусология и иммунология: атлас-руководство. М.: МИА, 2018. 416 с.
2. Волкова Э.О. и др. Алгоритм отбора проб клинического материала для бактериологического исследования с целью идентификации возбудителей гнойно-септических инфекций: метод. рекомендации. Пермь, 2006. 30 с.
3. Евстигнеева Н.П., Щербакова Н.В., Юровских Л.И. Диагностика урогенитальных микоплазм количественными методами. Екатеринбург, 2007. 13 с.
4. Кира Е.Ф. Бактериальный вагиноз. М.: МИО, 2012. 472 с.
5. Кира Е.Ф. Бактериальный вагиноз (клиника, диагностика, лечение): автореф. дис. ... д-ра мед. наук. СПб., 1995. 44. с.

6. Ковылык В.П. и др. Клиническое значение уреapлазм в урогенитальной патологии // Клиническая практика. 2019. Т. 10, № 1. С. 81–87.
7. Ришук С.В. Инфекционно-воспалительные заболевания женских половых органов: этиология, принципиальные подходы по диагностике и лечению // TERRA MEDICA. 2015. № 4(82). С. 4–15.
8. Шелудько В.С., Девяткова Г.И. Теоретические основы медицинской статистики (статистические методы обработки и анализа материалов научно-исследовательских работ): метод. рекомендации. Пермь, 2016. 80 с.
9. Kokkayil P., Dhawan B. Ureaplasma: current perspectives // Indian J. Med. Microbiol. 2015. Vol. 33(2). P. 205–214.
10. Murtha A.P., Edwards J.M. The rule Micoplsm and Ureaplasma in adverse pregnancyoutcomes // Obstet. Gynecol. Clin. North Am. 2014. Vol. 41(4). P. 615–624.

References

1. Bykov A.S., Zverev V.V., Pashkov E.P., Karaulov A.V. Bykov S.A. *Medicinskaja mikrobiologija, virusologija i immunologija* [Medical microbiology, virology and immunology. Atlas-guide]. Moscow, MIA Publ., 2018. 416 p. (In Russ.).
2. Volkova E.O., Markovich N.I., Avdeeva N.S., Savel'eva A.M., Gorovits E.S., Karpunina T.I., Sergevnn V.I. *Algoritm otbora prob kliničeskogo materiala dlja bakteriologičeskogo issledovanija s cel'ju identifikacii vzbuditelej gnojno-septičeskich infekcij* [An algorithm for sampling clinical material for bacteriological research in order to identify pathogens of purulent-septic infections. Methodological recommendations]. Perm, 2006. 30 p. (In Russ.).
3. Evstigneeva N.P., Shcherbakova N.V., Yurovskikh L.I. *Diagnostika urogenital'nych mikoplazm količestvennymi metodami* [Diagnosis of urogenital mycoplasmas, quantitative method]. Ekaterinburg, 2007. 13 p. (In Russ.).
4. Kira E.F. [Bacterial Vaginosis]. Moscow, MIO Publ., 2012. 472 p. (In Russ.).
5. Kira E.F. *Bakterial'nyj vaginoz (klinika, diagnostika, lečenie). Avtoref. dis. d-ra med. nauk* [Bacterial vaginosis (clinic, diagnosis, treatment): abstract of the dissertation]. St-Peterburg, 1995. 44 p. (In Russ.).
6. Kovylyk V.P., Vladimirova E.V., Rubasheva T.V. Sirmays N.S. [Clinical significance of ureaplasmas in urogenital pathology]. *Kliničeskaja praktika*. V. 10, No 1 (2019): pp. 81-87. (In Russ.).
7. Rishchuk S.V. [Infectious and inflammatory diseases of the female genital organs: etiology, basic approaches to diagnosis and treatment]. *TERRA MEDICA*. No 4(82) (2015): pp. 4-15. (In Russ.).
8. Sheludko V.S., Devyatкова G.I. *Teoretičeskie osnovy medicinskoj statistiki* [Theoretical foundations of medical statistics (statistical methods of processing and analysis of research materials): methodological recommendations]. Perm, 2016. 80 p. (In Russ.).
9. Kokkayil P., Dhawan B. Ureaplasma: current perspectives. *Indian J. Med. Microbiol.* V. 33(2) (2015): pp. 205-214.
10. Murtha A.P., Edwards J.M. The rule Micoplsm and Ureaplasma in adverse pregnancyoutcomes. *Obstet. Gynecol. Clin. North Am.* V. 41(4) (2014): pp. 615-624.

Статья поступила в редакцию 08.04.2022; одобрена после рецензирования 24.05.2022; принята к публикации 21.06.2022.

The article was submitted 08.04.2022; approved after reviewing 24.05.2022; accepted for publication 21.06.2022.

Информация об авторах

Е. В. Афанасьевская – канд. мед. наук, доцент;
Т. А. Мельникова – врач-дерматовенеролог;
Э. С. Горовиц – д-р мед. наук, профессор, зав. кафедрой;
Н. В. Николаева – канд. биол. наук, доцент.

Information about the authors

E. V. Afanasevskaja – candidate of medicine, associate professor;
T. A. Melnikova – dermatovenerologist;
Je. S. Gorovic – doctor of medicine, professor, head of department;
N. V. Nikolaeva – candidate of biology, associate professor.

Вклад авторов:

Афанасьевская Е. В. – сбор и лабораторный анализ материала.
Мельникова Т. А. – написание исходного текста.
Горовиц Э. С. – научное руководство, концепция исследования, итоговые выводы.
Николаева Н. В. – статистическая обработка, доработка текста.

Contribution of the authors:

Afanasevskaja E. V. – collection and laboratory analysis of the material.
Melnikova T. A. – writing the draft.
Gorovic Je. S. – scientific management, research concept, conclusions.
Nikolaeva N. V. – statistical processing, follow-on revision of the text.

МИКРОБИОЛОГИЯ

Научная статья

УДК 579.22

doi: 10.17072/1994-9952-2022-2-131-136.

Влияние одностенных углеродных нанотрубок на биопленкообразование актинобактерий рода *Rhodococcus* и протеобактерий активного ила

Юлия Геннадьевна Максимова^{1✉, 3}, Яна Евгеньевна Быкова^{2, 4}

^{1, 2} Институт экологии и генетики микроорганизмов УрО РАН – филиал ПФИЦ УрО РАН, Пермь, Россия

^{1✉} maks@iegm.ru, <https://orcid.org/0000-0003-1870-1369>

² yanabykova@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0003-4930-5537>

^{3, 4} Пермский государственный национальный исследовательский университет, Пермь, Россия

Аннотация. Исследовано влияние одностенных углеродных нанотрубок (ОУНТ) на формирование и разрушение биопленок протеобактерий активного ила и актинобактерий рода *Rhodococcus*. Показано, что ОУНТ не ингибирует формирование биопленок этих бактерий и не вызывает их разрушения, при этом в присутствии ОУНТ формируются значительно более массивные биопленки *Alcaligenes faecalis* 2 и *Acinetobacter guillouiae* 11h. Показано, что уровень дегидрогеназной активности, оцененный по восстановлению соли тетразолия до формазана, у клеток биопленок, формируемых в присутствии ОУНТ, превышал таковой биопленок в контроле.

Ключевые слова: одностенные углеродные нанотрубки, родококки, протеобактерии, активный ил

Для цитирования: Максимова Ю. Г., Быкова Я. Е. Влияние одностенных углеродных нанотрубок на биопленкообразование актинобактерий рода *Rhodococcus* и протеобактерий активного ила // Вестник Пермского университета. Сер. Биология. 2022. Вып. 2. С. 131–136. <http://dx.doi.org/10.17072/1994-9952-2022-2-131-136>.

Благодарности: исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ и Пермского края в рамках научного проекта № 20-44-596002.

MICROBIOLOGY

Original article

Influence of single-walled carbon nanotubes on the biofilm formation of actinobacteria of the *Rhodococcus* genus and proteobacteria of activated sludge

Yulia G. Maksimova^{1✉, 3}, Yana E. Bykova^{2, 4}

^{1, 2} Institute of Ecology and Genetics of Microorganisms, Ural Branch RAS, Perm, Russia

^{1✉} maks@iegm.ru, <https://orcid.org/0000-0003-1870-1369>

² yanabykova@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0003-4930-5537>

^{3, 4} Perm State University, Perm, Russia

Abstract. The effect of single-walled carbon nanotubes (SWCNTs) on the formation and eradication of biofilms of activated sludge proteobacteria and actinobacteria of the genus *Rhodococcus* was studied. It has been shown that SWCNTs do not inhibit the formation of biofilms of these bacteria and do not cause their destruction, while in the presence of SWCNTs, much more massive biofilms of *Alcaligenes faecalis* 2 and *Acinetobacter guillouiae* 11h are formed. It was shown that the level of dehydrogenase activity, estimated by the reduction of tetrazolium salt to formazan, in biofilm cells formed in the presence of SWCNTs, exceeded that of biofilms in the control.

Keywords: single-walled carbon nanotubes, rhodococci, proteobacteria, activated sludge

For citation: Maksimova Yu. G., Bykova Ya. E. [Influence of single-walled carbon nanotubes on the biofilm formation of actinobacteria of the *Rhodococcus* genus and proteobacteria of activated sludge]. *Bulletin of Perm University. Biology*. Iss. 2 (2022): pp. 131-136. (In Russ.). <http://dx.doi.org/10.17072/1994-9952-2022-2-131-136>.

Acknowledgments: the reported study was funded by RFBR and Perm Territory, project number № 20-44-596002.

Введение

В последние годы в связи с широким распространением наноматериалов активно изучается их воздействие на живые организмы, как на клетки эукариотов, так и на прокариотов. Малые размеры одноклеточных прокариотов обеспечивают непосредственное взаимодействие клетки с наноматериалами. Массштабное производство и применение наночастиц приводит к их попаданию в окружающую среду, сточные воды и почвы, в связи с чем возникает интерес к изучению их воздействия на микроорганизмы этих экосистем.

Одностенные углеродные нанотрубки (ОУНТ) представляют собой листы графена, свернутые в цилиндры [Iijima, Ichinashi, 1993]. Предполагается, что за счет малого диаметра повреждающее действие ОУНТ на живые организмы, по сравнению с многостенными углеродными наноматериалами, будет более выраженным [Boncel et al., 2015]. Было показано, что взаимодействие модельного организма *Escherichia coli* с нефункционализированными агрегатами ОУНТ в течение 60 мин. приводило к гибели 80% клеток [Kang et al., 2008]. Также наблюдалось увеличение экспрессии стресс-зависимых генов после инкубации *E. coli* с углеродными нанотрубками, что доказывало их цитотоксический эффект [Rodrigues, Elimelech, 2010]. При этом предполагали трехступенчатый антимикробный механизм: (1) первоначальный контакт ОУНТ с бактериями, (2) нарушение структуры мембраны, (3) окислительный стресс [Vecitis et al., 2010]. Высказано предположение, что ОУНТ действуют как «нанодротики», нарушая целостность цитоплазматической мембраны [Liu et al., 2009]. Морфологическими, физиологическими исследованиями и прямым высевом подтвердили бактерицидный эффект ОУНТ в суспензиях генно-инженерного штамма *E. coli* K12 TG1 (plx) с клонированным в него lux-опероном [Зарубина и др., 2009]. Антибактериальный эффект диспергированных ОУНТ как на грамотрицательные *E. coli*, так и на грамположительные *Bacillus subtilis* был подтвержден методом атомно-силовой микроскопии (АСМ) [Liu et al., 2010]. Однако ряд исследователей придерживается другого мнения. Так, в работе Д.Г. Дерябина методом АСМ было показано отсутствие мембрано-повреждающего действия очищенных ОУНТ на *E. coli* [Дерябин и др., 2010].

В связи с попаданием наноматериалов такого типа в окружающую среду возникает вопрос об их воздействии на микробные сообщества в целом. В ряде работ было показано, что активность почвенных ферментов снижалась, а состав микробного сообщества почвы значительно изменялся под воздействием ОУНТ [Jin et al., 2013; Jin et al., 2014]. Так как в окружающей среде микроорганизмы существуют в основном в виде прикрепленных сообществ, погруженных в полимерный матрикс – биопленок, возникает закономерный вопрос о воздействии ОУНТ на такие сообщества, как на процесс их формирования, так и на зрелые биопленки. На модельной *E. coli* было показано, что в зрелых биопленках полимерный матрикс снижает токсический эффект ОУНТ на клетки [Rodrigues, Elimelech, 2010]. В целом, вопрос воздействия углеродных нанотрубок на бактериальные биопленки остается малоизученным. Ранее нами было показано, что многостенные углеродные нанотрубки не ингибируют биопленкообразование штаммов *E. coli* [Максимова, Быкова, 2021]. Цель настоящей работы – изучение биопленкообразования и разрушения биопленок некоторых видов грамотрицательных бактерий активного ила и актинобактерий рода *Rhodococcus* под действием ОУНТ.

Материалы и методы исследования

Объекты исследования и условия культивирования биопленок

Биопленки грамотрицательных бактерий *Alcaligenes faecalis* 2, *Acinetobacter guillouiae* 11h [Демаков и др., 2015], *Achromobacter pulmonis* ПНОС, *Burkholderia dolosa* БОС [Максимова и др., 2020], ранее выделенных нами из активного ила очистных сооружений, а также грамположительных бактерий *R. erythropolis* ИЛБИО, *R. erythropolis* 11-2, *R. ruber* gt1, ранее выделенных нами из почв Пермского края, выращивали в 96-луночном полистироловом планшете «Медполимер» (Россия) в 200 мкл среды LB «Sigma-Aldrich» (США), инокулированной 5 мкл бактериальной суспензии, содержащей 10^9 КОЕ/мл.

В среду вносили 200 мкг/мл ОУНТ TUBALL™ (OCSiAl, Россия). ОУНТ имели следующие характеристики: внешний средний диаметр 1.6 ± 0.4 нм, полная удельная поверхность $1311 \text{ м}^2/\text{г}$, чистота 99.5. Перед инокуляцией бактериальными штаммами среду с ОУНТ обрабатывали УЗ в ультразвуковой ванне Elma Ultrasonic 30S (Германия) при 37 кГц 10 раз по 1 мин. Контролем служили биопленки, выращенные на среде LB без ОУНТ.

Определение массивности биопленки

После 7 сут. инкубации в термостате при 30°C планктонные клетки удаляли из лунок декантацией, дважды отмывали биопленку 200 мкл калий-фосфатного буфера и определяли массивность образованной биопленки. Биопленку окрашивали 0.1%-ным кристаллическим фиолетовым в течение 40 мин. в темноте,

удаляли краситель, отмывали 1 раз калий-фосфатным буфером и экстрагировали краситель 200 мкл 96%-ного спирта. Биоленкообразование оценивали по оптической плотности раствора красителя при λ 540 нм на планшетном ридере Infinite M1000 pro, «TECAN» (Швейцария).

Тест на разрушение биоленок

Влияние ОУНТ на разрушение биоленок оценивали по общей массивности биоленки, определенной описанным выше методом, после суточной инкубации выращенных на среде LB биоленок с 0.9%-ным NaCl, содержащим 200 мкг/мл ОУНТ. Контролем служили биоленки, инкубированные с 0.9%-ным NaCl без ОУНТ.

Определение дыхательной активности клеток биоленок

Воздействие ОУНТ на дыхательную активность биоленок оценивали колориметрическим методом с использованием набора реактивов XTT Cell Proliferation Assay Kit, «Roche» (Germany).

Сформированные биоленки отмывали и вносили 100 мкл 0.9% раствора NaCl с добавлением 50 мкл реактива ХТТ (2,3-бис-(2-метокси-4-нитро-5-сульфенил)-2Н-тетразолий-5-карбоксанид). Измерения проводили на планшетном ридере Infinite M1000 pro «TECAN» (Швейцария) при λ 480 нм через каждый час в течение 7 ч. Во второй серии экспериментов биоленки, выращенные на среде LB, отмывали, вносили 100 мкл 0.9%-ного NaCl с ОУНТ (200 мкг/мл) и добавляли 50 мкл реактива ХТТ. Контролем служил 0.9%-ный NaCl без добавок. Измерения проводили, как описано выше. Уровень влияния ОУНТ на метаболическую активность бактериальных клеток (I) определяли как отношение оптической плотности экспериментального образца к оптической плотности контрольного образца через 7 ч. инкубации. Значение > 1 свидетельствовало о повышении дыхательной активности, < 1 – о снижении дыхательной активности.

Статистическую обработку проводили с использованием t-критерия Стьюдента, различия считали значимыми при $p < 0.05$.

Результаты и их обсуждение

Актинобактерии рода *Rhodococcus* и штаммы грамотрицательных бактерий, выделенные ранее нами из активного ила, были выращены в присутствии ОУНТ на среде LB. После 7 сут. роста оценивали массивность образующихся биоленок. Было установлено, что ОУНТ не оказывали ингибирующего действия на биоленкообразование изученных бактерий: так, все грамотрицательные бактерии активного ила формировали достоверно более массивные биоленки в присутствии наноматериалов, причем массивность биоленок *A. guillouiae* 11h и *A. faecalis* 2, формируемых в среде с ОУНТ, превышала таковую на среде LB в 8.5 и 73.2 раза соответственно (рис. 1). Несмотря на то, что в ряде работ подтверждалось бактерицидное действие ОУНТ [Kang et al., 2007; Kang et al., 2008; Liu S. et al., 2010; Rodrigues, Elimelech, 2010], в нашем исследовании было показано отсутствие антибактериального эффекта в сочетании со стимуляцией биоленкообразования.

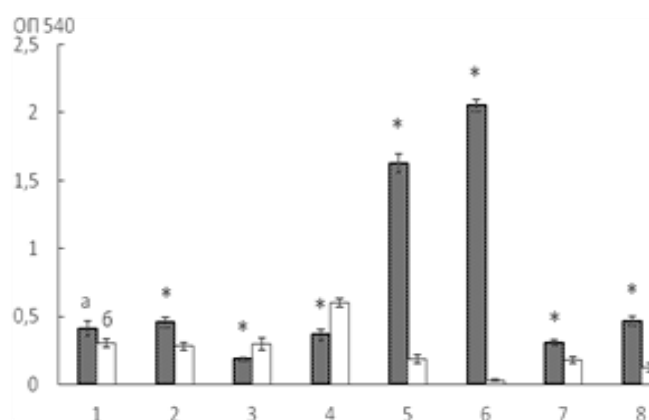


Рис. 1. Массивность биоленок при росте на среде LB с ОУНТ (а) и без наноматериалов (б) в течение 7 сут.: 1 – *R. ruber* gt1, 2 – *R. erythropolis* ИЛБИО, 3 – *R. erythropolis* 11-2, 4 – *R. erythropolis* 4-1, 5 – *A. guillouiae* 11h, 6 – *A. faecalis* 2, 7 – *A. pulmonis* ПНОС, 8 – *B. dolosa* БОС, (* $p < 0.05$)

[The massiveness of biofilms when growing on LB medium with OUNT (a) and without nanomaterials (b) for 7 days: 1 – *R. ruber* gt1, 2 – *R. erythropolis* ИЛБИО, 3 – *R. erythropolis* 11-2, 4 – *R. erythropolis* 4-1, 5 – *A. guillouiae* 11h, 6 – *A. faecalis* 2, 7 – *A. pulmonis* PNOS, 8 – *B. dolosa* BOS, (* $p < 0.05$)]

Так как в биопленке микроорганизмы в большей степени защищены от неблагоприятных внешних воздействий, переход из планктонной формы существования к росту в биопленке может быть адаптивной реакцией в ответ на стрессовый фактор. Кроме того, нельзя исключать агрегацию клеток в суспензии с ОУНТ и их оседание под действием силы тяжести, способствующее адгезии клеток к поверхности полистиролового планшета как на первых этапах роста, так и в дальнейшем к формируемой биопленке. При этом в среде LB рост *A. faecalis* 2 в основном планктонный, а уровень биопленкообразования незначительный. У штаммов родококков не было выявлено закономерности биопленкообразования в присутствии ОУНТ: у *R. erythropolis* ИЛБИО формировались достоверно более массивные биопленки, у *R. erythropolis* 11-2 и *R. erythropolis* 4-1 – менее массивные.

Оценивали разрушение биопленок под воздействием ОУНТ в течение 24 ч. Как и в случае формирования биопленок, ОУНТ не только не вызывали разрушение биопленок *A. guillouiae* 11h и *A. faecalis* 2, но и способствовали их большому сохранению в среде без питательного субстрата, в отличие от варианта с физиологическим раствором без наноматериалов (рис. 2). При этом не было показано значительного влияния ОУНТ в среде на разрушение или сохранение биопленок родококков.

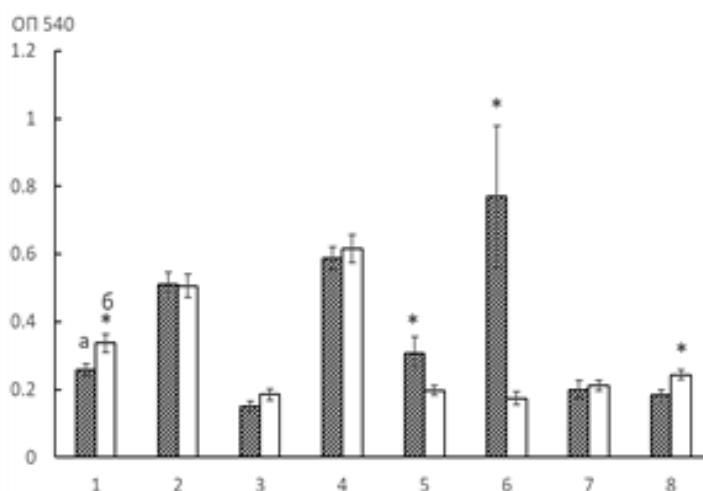


Рис. 2. Разрушение биопленок при 24 ч. инкубации в 0.9%-ном NaCl с ОУНТ (а) и без наноматериалов (б):
1 – *R. ruber* gt1, 2 – *R. erythropolis* ИЛБИО, 3 – *R. erythropolis* 11-2, 4 – *R. erythropolis* 4-1, 5 – *A. guillouiae* 11h,
6 – *A. faecalis* 2, 7 – *A. pulmonis* ПНОС, 8 – *B. dolosa* БОС, (* $p < 0,05$)

[Destruction of biofilms at 24 h. incubation in 0.9% NaCl with OUNT (a) and without nanomaterials (b):
1 – *R. ruber* gt1, 2 – *R. erythropolis* IL-BIO, 3 – *R. erythropolis* 11-2, 4 – *R. erythropolis* 4-1, 5 – *A. guillouiae* 11h,
6 – *A. faecalis* 2, 7 – *A. pulmonis* PNOS, 8 – *B. dolosa* BOS, (* $p < 0.05$)]

Оценивали дыхательную активность клеток биопленок с использованием реактива ХТТ Cell Proliferation Assay Kit. Более интенсивная оранжевая окраска реагента, связанная с восстановлением соли тетразолия до формазана, коррелирует с количеством дегидрогеназ, и, следовательно, с количеством жизнеспособных клеток. У всех изученных бактерий, за исключением *R. erythropolis* 11-2, было отмечено возрастание дыхательной активности клеток биопленок, формируемых в присутствии ОУНТ (рис. 3, таблица). Наибольшее возрастание дыхательной активности отмечено у клеток биопленок *R. erythropolis* 4-1, при этом общая массивность биопленок этого штамма, образованных в присутствии ОУНТ, была даже снижена. Данное противоречие может быть объяснено воздействием ОУНТ на формирование полимерного матрикса. Известно, что кристаллический фиолетовый окрашивает не только живые, но и мертвые клетки и полимерный матрикс биопленки, следовательно, снижение массивности может быть связано с меньшим количеством экзополимера. При воздействии ОУНТ на выращенные биопленки дыхательная активность *A. guillouiae* 11h, *A. faecalis* 2 и *A. pulmonis* ПНОС незначительно снижалась, а *B. dolosa* БОС, *R. erythropolis* ИЛБИО, *R. erythropolis* 11-2 и *R. erythropolis* 4-1 незначительно повышалась (таблица).

Индекс воздействия (I) ОУНТ на дыхательную активность биопленок

[Index of the impact (I) of OUNT on the respiratory activity of biofilms]

Штамм	Биопленки, выращенные в присутствии ОУНТ	Воздействие ОУНТ на выращенные биопленки
<i>A. pulmonis</i> ПНОС	1.62	0.83
<i>A. guillouiae</i> 11h	2.79	0.92

Штамм	Биопленки, выращенные в присутствии ОУНТ	Воздействие ОУНТ на выращенные биопленки
<i>A. faecalis</i> 2	0.97	0.70
<i>B. dolosa</i> БОС	1.94	1.75
<i>R. ruber</i> gt1	2.54	-
<i>R. erythropolis</i> ИЛ БИО	1.84	1.26
<i>R. erythropolis</i> 11-2	0.61	1.37
<i>R. erythropolis</i> 4-1	3.49	1.32

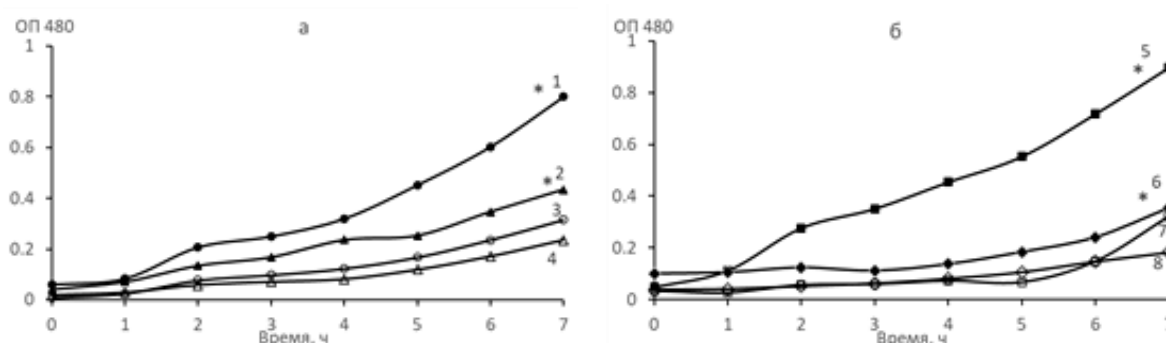


Рис. 3. Дыхательная активность 7-суточных биопленок *R. ruber* gt1 (1, 3), *R. erythropolis* ИЛ БИО (2, 4), *A. guillouiae* 11h (5, 7), *B. dolosa* БОС (6, 8), выращенных на среде LB с ОУНТ (1, 2, 5, 6) и на среде LB без наноматериалов (3, 4, 7, 8), (* $p < 0.05$)

[Respiratory activity of 7-day biofilms of *R. ruber* gt1 (1, 3), *R. erythropolis* IL BIO (2, 4), *A. guillouiae* 11h (5, 7), *B. dolosa* BOS (6, 8) grown on LB medium with OUNT (1, 2, 5, 6) and on LB medium without nanomaterials (3, 4, 7, 8), (* $p < 0.05$)]

Заключение

Было установлено, что ОУНТ в среде культивирования не оказывали антибактериального действия в отношении изученных актинобактерий рода *Rhodococcus* и протеобактерий активного ила – представителей родов *Alcaligenes*, *Acinetobacter*, *Achromobacter* и *Burkholderia*. Также эти наноматериалы не ингибировали образование биопленок изученных бактерий и значительно усиливали биопленкообразование *A. guillouiae* 11h и *A. faecalis* 2. Разрушение биопленок *A. guillouiae* 11h и *A. faecalis* 2 в физиологическом растворе с ОУНТ было гораздо менее выражено, чем в отсутствие наноматериалов. Уровень дегидрогеназной активности, оцененный по восстановлению соли тетразолия до формазана, у клеток биопленок, формируемых в присутствии ОУНТ, превышал таковой биопленок в контроле (на среде LB без наноматериалов); при этом исключением являлся *R. erythropolis* 11-2. Таким образом, ОУНТ не оказывает ингибирующего действия на формирование биопленок родококков и грамотрицательных бактерий активного ила, не вызывает их разрушения и не подавляет дыхательную активность клеток.

Список источников

1. Демаков В.А. и др. Бактерии активного ила биологических очистных сооружений, трансформирующие цианопиридины и амиды пиридинкарбоновых кислот // Микробиология. 2015. Т. 84, № 3. С. 369–378.
2. Дерябин Д.Г. и др. Исследование взаимодействия углеродных наноматериалов с клетками *Escherichia coli* методом атомно-силовой микроскопии // Российские нанотехнологии. 2010. Т. 5, № 11–12. С. 103–108.
3. Зарубина А.П. и др. Биотестирование биологических эффектов одностенных углеродных нанотрубок с использованием тест-системы люминесцентных бактерий // Российские нанотехнологии. 2009. Т. 4, № 11–12. С. 152–155.
4. Максимова Ю.Г., Быкова Я.Е. Влияние многостенных углеродных нанотрубок на биопленкообразование *Escherichia coli* // Вестник Пермского университета. Сер. Биология. 2021. Вып. 2. С. 87–92.
5. Максимова Ю.Г. и др. Деградация пиридина суспензиями и биопленками штаммов *Achromobacter pulmonis* ПНОС и *Burkholderia dolosa* БОС, выделенных из активного ила очистных сооружений // Биотехнология. 2020. Т. 36, № 2. С. 86–98.
6. Boncel S. et al. Interactions of carbon nanotubes with aqueous/aquatic media containing organic/inorganic contaminants and selected organisms // Chemosphere. 2015. Vol. 136. P. 211–221.
7. Iijima S., Ichinashi T. Single-shell carbon nanotubes of 1-nm diameter // Nature. 1993. Vol. 363. P. 603–605.

8. Jin L. et al. High concentrations of single-walled carbon nanotubes lower soil enzyme activity and microbial biomass // *Ecotoxicology and Environmental Safety*. 2013. Vol. 88. P. 9–15.
9. Jin L. et al. Single-walled carbon nanotubes alter soil microbial community composition // *Science of the Total Environment*. 2014. Vol. 466–467. P. 533–538.
10. Kang S. et al. Single-walled carbon nanotubes exhibit strong antimicrobial activity // *Langmuir*. 2007. Vol. 23. P. 8670–8673.
11. Kang S. et al. Antibacterial effects of carbon nanotubes: size does matter! // *Langmuir*. 2008. Vol. 24, № 13. P. 6409–6413.
12. Liu S. et al. Sharper and faster “nano darts” kill more bacteria: A study of antibacterial activity of individually dispersed pristine single-walled carbon nanotube // *ACS Nano*. 2009. Vol. 3. P. 3891–3902.
13. Liu S. et al. Antibacterial action of dispersed single-walled carbon nanotubes on *Escherichia coli* and *Bacillus subtilis* investigated by atomic force microscopy // *Nanoscale*. 2010. Vol. 2. P. 2744–2750.
14. Rodrigues D.F., Elimelech M. Toxic effects of single-walled carbon nanotubes in the development of *E. coli* biofilm // *Environmental Science and Technology*. 2010. Vol. 44. P. 4583–4589.
15. Vecitis C.D. et al. Electronic-structure-dependent bacterial cytotoxicity of single-walled carbon nanotubes // *ACS Nano*. 2010. Vol. 4, № 9. P. 5471–5479.

References

1. Demakov V.A. et al. [Bacteria of activated sludge of biological treatment facilities transforming cyanopyridines and amides of pyridinecarboxylic acids]. *Mikrobiologiya*. V. 84, No 3 (2015): pp. 369–378. (In Russ.).
2. Deryabin D.G. et al. [Study of the interaction of carbon nanomaterials with *Escherichia coli* cells by atomic force microscopy]. *Rossijskie nanotechnologii*. V. 5, No 11–12 (2010): pp. 103–108. (In Russ.).
3. Zarubina A.P. et al. [Biotesting of the biological effects of single-walled carbon nanotubes using a test system of luminescent bacteria]. *Rossijskie nanotechnologii*. V. 4, No 11–12 (2009): pp. 152–155. (In Russ.).
4. Maksimova Yu.G., Bykova Ya.E. [Effect of multi-walled carbon nanotubes on *Escherichia coli* biofilm formation]. *Vestnik Permskogo universiteta. Biologiya*. Iss. 2 (2021): pp. 87–92. (In Russ.).
5. Maksimova Yu.G. et al. [Degradation of pyridine by suspensions and biofilms of strains of *Achromobacter pulmonis* PNOS and *Burkholderia dolosa* BOS isolated from activated sludge of treatment facilities]. *Biotechnologiya*. V. 36, No 2 (2020): pp. 86–98. (In Russ.).
6. Boncel et al. Interactions of carbon nanotubes with aqueous/aquatic media containing organic/inorganic contaminants and selected organisms. *Chemosphere*. V. 136 (2015): pp. 211–221.
7. Iijima S., Ichinashi T. Single-shell carbon nanotubes of 1-nm diameter. *Nature*. V. 363 (1993): pp. 603–605.
8. Jin L. et al. High concentrations of single-walled carbon nanotubes lower soil enzyme activity and microbial biomass. *Ecotoxicology and Environmental Safety*. V. 88 (2013): pp. 9–15.
9. Jin L. et al. Single-walled carbon nanotubes alter soil microbial community composition. *Science of the Total Environment*. V. 466–467. (2014): pp. 533–538.
10. Kang S. et al. Single-walled carbon nanotubes exhibit strong antimicrobial activity. *Langmuir*. V. 23 (2007): pp. 8670–8673.
11. Kang S. et al. Antibacterial effects of carbon nanotubes: size does matter! *Langmuir*. V. 24, No 13 (2008): pp. 6409–6413.
12. Liu S. et al. Sharper and faster “nano darts” kill more bacteria: A study of antibacterial activity of individually dispersed pristine single-walled carbon nanotube. *ACS Nano*. V. 3 (2009): pp. 3891–3902.
13. Liu S. et al. Antibacterial action of dispersed single-walled carbon nanotubes on *Escherichia coli* and *Bacillus subtilis* investigated by atomic force microscopy. *Nanoscale*. V. 2 (2010): pp. 2744–2750.
14. Rodrigues D.F., Elimelech M. Toxic effects of single-walled carbon nanotubes in the development of *E. coli* biofilm. *Environ. Sci. Technol.* V. 44 (2010): pp. 4583–4589.
15. Vecitis C.D. et al. Electronic-structure-dependent bacterial cytotoxicity of single-walled carbon nanotubes. *ACS Nano*. V. 4, No 9 (2010): pp. 5471–5479.

Статья поступила в редакцию 22.03.2022; одобрена после рецензирования 11.05.2022; принята к публикации 21.06.2022.
The article was submitted 22.03.2022; approved after reviewing 11.05.2022; accepted for publication 21.06.2022.

Информация об авторах

Ю. Г. Максимова – доктор биол. наук, доцент, зав. лабораторией;
Я. Е. Быкова – инженер; студент.

Information about the authors

Yu. G. Maksimova – doctor of biology, docent, head of the laboratory;
Ya. E. Bykova – engineer, student.

Вклад авторов:

Максимова Ю. Г. – научное руководство; концепция исследования; написание текста.
Быкова Я. Е. – экспериментальная работа.

Contribution of the authors:

Maksimova Yu. G. – scientific management; research concept.
Bykova Ya. E. – research work.

МИКРОБИОЛОГИЯ

Научная статья

УДК 579.61

doi: 10.17072/1994-9952-2022-2-137-142.

Состояние микробиоценоза кишечника как критерий оценки качества питания

Нина Владимировна Николаева^{1✉}, Елизавета Викторовна Афанасьевская²,
Эдуард Семенович Горовиц³, Александр Яковлевич Перевалов⁴

^{1–4} Пермский государственный медицинский университет им. академика Е.А. Вагнера, Пермь, Россия

^{1✉} solomoni.ya@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0002-6799-5503>

² lizavika@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-3498-6459>

³ eduard.gorovitz@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0003-4320-8672>

⁴ <https://orcid.org/0000-0001-2345-6789>

Аннотация. В результате проведенного динамического трехкратного бактериологического обследования на дисбиоз кишечника практически здоровых студентов 1 курса, прибывших на учебу из других регионов, установлено, что уже спустя полгода после начала учебы изменение режима и качества питания приводит к развитию дисбиоза кишечника у 61.54% иногородних студентов 1 курса ВУЗа из 28 обследованных. Показано, что дисбиотические нарушения микробиоты кишечника прежде всего связаны с уменьшением на 1–3 порядка титра облигатных бактерий (бифидо- и лактобактерий, типичных эшерихий). На этом фоне возрастало количество условно патогенных транзитных микроорганизмов. К концу срока наблюдения (спустя 9 мес.) степень выраженности дисбиотических изменений у большинства обследованных студентов существенно нарастала. Полученные результаты исследований указывают на то, что состояние микробиоты кишечника у практически здоровых лиц может служить одним из объективных и информативных критериев полноценности питания.

Ключевые слова: иногородние студенты, питание, дисбиоз

Для цитирования: Состояние микробиоценоза кишечника как критерий оценки качества питания / Н. В. Николаева, Е. В. Афанасьевская, Э. С. Горовиц, А. Я. Перевалов // Вестник Пермского университета. Сер. Биология. 2022. Вып. 2. С. 137–142. <http://dx.doi.org/10.17072/1994-9952-2022-2-137-142>.

MICROBIOLOGY

Original article

Intestinal microbiocinosis status as a criterion for nutritional quality assessment

Nina V. Nikolaeva^{1✉}, Elizaveta V. Afanasevskaja², Eduard S. Gorovitz³,
Alexander Ja. Perevalov⁴

^{1–4} E.A. Vagner Perm State Medical University, Perm, Russia

^{1✉} solomoni.ya@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0002-6799-5503>

² lizavika@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-3498-6459>

³ eduard.gorovitz@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0003-4320-8672>

⁴ <https://orcid.org/0000-0001-2345-6789>

Abstract. As a result of dynamic triple bacteriological examination for intestinal dysbiosis performed in 30 generally healthy 1st-year students who came to study from other regions, it was found that changes in the regime and quality of food led to the development of intestinal dysbiosis in 61.54% (out of 28 examined individuals) of nonresident first-year university students six months after the start of the study. The dysbiotic disorders of the intestinal microbiota were found to be primarily associated with a decrease (by 1–3 orders of magnitude) in the titer of obligate bacteria (bifido- and lactic bacteria, typical *Escherichia coli*). Against this background, the number of opportunistic transient microorganisms elevated. By the end of the follow-up period (after 9 months), the severity of dysbiotic changes enhanced in the majority of the examined students. The results of the performed studies indicate that the intestinal microbiota status in generally healthy individuals can serve as an objective and informative criterion for good nutrition.

Keywords: nonresident students, nutrition, dysbiosis

For citation: Nikolaeva N. V., Afanasevskaja E. V., Gorovitz E. S., Perevalov A. Ja. [Intestinal microbiocenosis status as a criterion for nutritional quality assessment]. *Bulletin of Perm University. Biology*. Iss. 2 (2022): pp. 137-142. (In Russ.). <http://dx.doi.org/10.17072/1994-9952-2022-2-137-142>.

Введение

Известно, что макроорганизм и его микробиом представляют собой сложную экологическую систему. При этом так называемая нормофлора кишечного биотопа вместе с организмом хозяина рассматривается как единая экосистема, которая является своеобразным экстракорпоральным органом макроорганизма [Костюкевич, 2011; Shenderov, 2012]. Микробиота кишечника, выполняя целый ряд важных функций, играет существенную роль в жизнедеятельности человека. В частности, представители облигатных (индигенных, резидентных) бактерий обеспечивают колонизационную резистентность слизистой оболочки кишечника, препятствуя проникновению и развитию патогенных микроорганизмов, стимулируют функцию иммунной системы, регулируют функциональную активность кишечника [Перунова, Иванова, Бухарин, 2010; Беляева, 2014; Ситкин и др., 2021].

Нарушение качественного и количественного состава микробиоты кишечного биотопа принято называть дисбиозом кишечника. В таких случаях происходит «отмена» всех полезных функций облигатных микроорганизмов, что приводит к развитию дезадапционного синдрома и, как следствие, к возникновению различных патологических состояний. Причинами развития дисбиоза кишечника могут быть различные факторы и прежде всего нарушение питания (пищевые дефициты, несбалансированное питание, отсутствие необходимых нутриентов и т. д.) [Шендеров, 2008]. Более того, состояние микробиоценоза кишечного биотопа, формирование его видового состава в существенной мере определяется режимом и качеством питания. Следовательно, анализ количественных и качественных показателей видового состава микробиома кишечника может служить объективным и информативным критерием оценки достаточности и полноценности питания. В связи с этим следует подчеркнуть, что иные способы оценки качества питания, как правило, являются инвазивными и трудоемкими.

Цель настоящей работы – изучить влияние изменений режима и качества питания на состояние микробиоценоза кишечника.

Материалы и методы исследований

Под наблюдением находилось 30 практически здоровых студентов 1 курса Пермского государственного медицинского университета им. академика Е.А. Вагнера, прибывших на учебу из других регионов и проживающих в общежитии. Преобладали лица женского пола – 26 чел. Средний возраст составлял 18 лет (± 1 год). Оценку состояния микробиоценоза кишечника осуществляли с помощью традиционного бактериологического метода в соответствии с отраслевым стандартом¹.

Исследования выполняли на базе бактериологической лаборатории ГБУЗ ПК «ГКБ № 7» (Пермь). Изучение качественного и количественного состава микробиоты толстой кишки проводили в динамике, трехкратно. Первый забор материала осуществляли в сентябре 2018 г. (на 2–3 недели после приезда в г. Пермь). Повторное исследование проводили спустя 6 мес., а через 9 мес. после начала учебы – третье. В соответствии с отраслевым стандартом выявление бифидобактерий осуществляли на жидких средах лабораторного приготовления: Блаурокка и тиогликолевой; лактобактерий – МРС-4; энтерококков – Калины. Стафилококки выделяли на желточно-солевом агаре, грибы рода *Candida* – на среде Сабуро с добавлением антибиотиков. Для определения условно-патогенных энтеробактерий применяли дифференциально-диагностические среды Эндо и Левина; сальмонелл – селенитовый бульон с дальнейшим пересевом на строго селективную среду висмут-сульфат агар. Наряду с этим параллельно использовали кровяной агар – универсальную питательную среду для выявления гемофильных бактерий и гемолитической активности микроорганизмов. Посевы инкубировали при температуре 37°C в течение 24–96 ч., после чего изучали наличие роста. Бифидо- и лактобактерии определяли на основании исследования их морфологии, тинкториальных и культуральных свойств. Под термином «лактобактерии» объединяли представителей индигенной микрофлоры – молочнокислые стрептококки и палочковидные формы, учитывая однозначность их функций. Индикацию энтерококков проводили высевом лактозонегативных колоний со среды Эндо на агар Клигера и среду Симонса. Идентификацию стафилококков различных видов и условно-патогенных энтеробактерий осуществляли с помощью соответствующих диагностических наборов «Staphytest-24» и «Enterotest-16» (ERBA LACHEMA, Чехия).

¹ Протокол ведения больных. Дисбактериоз кишечника: отраслевой стандарт (ОСТ 91500.11.0004-2003, Приказ МЗ РФ № 231 от 09 июня 2003 г.). URL: https://skpgp1.ru/files/prikaz_minzdrava_rf_ot_09_06_2003_n_231_pdf.pdf.

Статистическую обработку результатов проведенных исследований выполняли с помощью компьютерной программы «STATISTICA, 6.0». Оценку значимости различий между наборами цифровых данных, полученных в разные сроки обследования студентов, проводили с использованием непараметрического критерия χ^2 . Статистически достоверными считали различия при $p < 0.05$.

Результаты и их обсуждение

При первичном обследовании, выполненном в первые три недели сентября, различные дисбиотические отклонения количественного и качественного состава микробиоты кишечника регистрировали у трети студентов (табл. 1).

Таблица 1

Результаты обследования студентов на дисбиоз кишечника в различные сроки наблюдения
[The results of the examination of students for intestinal dysbiosis at various follow-up periods]

Сроки обследования	Количество обследованных, чел.	Количество выявленных случаев дисбиоза, %	P ₁	P ₂	P ₃
Сентябрь 2018 г.	30	33.33	0.035	0.778	0.048
Февраль 2019 г.	28	61.54			
Май 2019 г.	28	57.69			

Примечание. Здесь, а также в табл. 2 и 3, P – достоверность различий между результатами обследования в различные сроки наблюдения: P₁ – 1 и 2; P₂ – 2 и 3; P₃ – 1 и 3.

Как следует из представленных данных, спустя 6 и 9 мес. после первичного (фонового) обследования количество студентов с дисбиозом кишечника существенно увеличивалось и соответственно составляло 61.54 и 57.69%. Выраженные негативные изменения в составе микробиома появлялись уже через полгода после начала наблюдения.

Выявленные дисбиотические проявления, прежде всего, характеризовались уменьшением концентрации основных облигатных представителей микробиоты кишечника – анаэробных микроорганизмов (табл. 2).

Таблица 2

Частота встречаемости изменений концентрации основных представителей индигенной микрофлоры кишечника у обследованных студентов

[The frequency of occurrence of changes in the concentration of the main representatives of the indigenous intestinal microflora in the examined students]

Микроорганизмы	Частота встречаемости случаев изменений количества микроорганизмов в различные сроки обследования, %			P ₁	P ₂	P ₃
	сентябрь 2018 г.	февраль 2019 г.	май 2019 г.			
<i>Bifidumbacterium</i> spp.	20.00	38.47	46.15	0.128	0.575	0.037
<i>Lactobacterium</i> spp.	16.67	30.77	42.31	0.213	0.388	0.035
<i>Escherichia coli</i> типичные	30.00	26.92	61.54	0.800	0.012	0.018
<i>E. coli</i> гемолитические	26.67	30.77	19.23	0.735	0.337	0.511
<i>E. coli</i> лактозонегативные	16.66	15.38	42.30	0.122	0.001	0.035
<i>E. faecalis</i>	24.00	35.00	38.46	0.352	0.774	0.220
<i>E. faecium</i>	30.00	35.00	53.85	0.713	0.163	0.071

Из приведенных сведений следует, что уже в первые сроки обследования у ряда студентов наблюдали изменение количества основных представителей доминантных видов кишечного биотопа бифидо- и лактобактерий, связанное со снижением титра соответственно до 10^7 – 10^8 КОЕ/г и 10^5 – 10^6 КОЕ/г. В дальнейшем количество таких лиц возрастало и к 9 мес. после начала наблюдений достигало соответственно 46.15 и 42.31%. Различия между данными первичного и завершающего обследований в том и в другом случаях статистически значимы. Снижение концентрации этих симбионтов в указанные сроки уже было более существенным, как правило, на 3–4 порядка.

Аналогичная тенденция прослеживалась в отношении концентрации других индигентных микроорганизмов, входящих в состав микробиоценоза кишечника, типичных *E. coli* и бактерий рода *Enterococcus*. Если в сентябре уменьшение концентрации типичных *E. coli* было отмечено у 30.0% обследованных, то к концу срока наблюдений уже у 61.54%. В отношении численности энтерококков выявлялись те же закономерности. При этом более существенным был процент лиц с уменьшением уровня *E. faecium* от 30.0% при первичном обследовании до 53.85% спустя 9 мес. Следует особо отметить, что во всех выявленных случаях снижение титра облигатных микроорганизмов, колонизирующих кишечник, колебалось от 1 до 2 порядков, причем к концу срока наблюдения оно было более выраженным: типичных *E. coli* до 10^4 – 10^5

КОЕ/г, *E. faecalis* до 10^3 – 10^4 КОЕ/г и *E. faecium* до 10^9 – 10^{10} КОЕ/г. На фоне уменьшения титра типичных эшерихий возросло количество атипичных видов *E. coli* – лактозонегативных и гемолитических форм. В частности, количество лиц с высоким титром лактозонегативных *E. coli* в процессе наблюдения увеличилось более чем в 2 раза.

За счет снижения уровня облигатных микроорганизмов в кишечнике регистрировали существенное увеличение концентрации микроорганизмов условно-патогенных видов, они колонизировали освободившиеся ниши. Это касается представителей как грамположительных, так и грамотрицательных бактерий, а также грибов рода *Candida* (табл. 3).

Таблица 3

Частота случаев превышения уровня условно-патогенных грамотрицательных и грамположительных бактерий у студентов в различные сроки обследования
[The frequency of cases of excess of the level of conditionally pathogenic gram-negative and gram-positive bacteria in students at various times of examination]

Микроорганизмы	Число случаев превышения концентрации микроорганизмов в различные сроки обследования, %			P ₁	P ₂	P ₃
	сентябрь 2018 г.	февраль 2019 г.	май 2019 г.			
<i>Klebsiella</i> spp.	13.33	34.61	61.53	0.060	0.053	0.001
<i>C. freundii</i>	20.00	42.30	76.92	0.071	0.011	0.001
<i>P. agglomerans</i>	13.33	23.07	7.69	0.343	0.125	0.497
<i>E. cloacae</i>	0.00	7.69	0.00	0.122	0.150	1.000
<i>S. epidermidis</i>	20.00	11.53	7.69	0.390	0.639	0.190
<i>Candida</i> sp.	3.33	3.85	3.85	0.918	1.000	0.918

Из представленных данных следует, что среди обнаруженных условно-патогенных транзиторных грамотрицательных бактерий чаще всего увеличивалось количество штаммов, принадлежащих к *C. freundii*. У 76.92% обследованных к концу срока наблюдения зафиксирован рост уровня этих энтеробактерий: их титр колебался от 10^6 до 10^8 КОЕ/г. В эти же сроки более чем у половины обследованных лиц констатировали и рост уровня культур *Klebsiella*, его значение, как правило, на 1–2 порядка превышало нормативные показатели. Изменение титра других условно-патогенных микроорганизмов, в том числе грампозитивных бактерий регистрировали реже, причем эти различия в динамике наблюдений не были статистически значимыми.

Таким образом, у практически здоровых лиц, прибывших на учебу в другой город, в силу изменения режима и качества питания (что подтверждается их опросом) уже спустя 6 мес. выявлены те или иные дисбиотические изменения микробиоты кишечника. В новых условиях ассортимент используемых продуктов в сравнении с «домашним» значительно уменьшается, «страдает» и меняется регулярность приема пищи. Полноценным по объему и калорийности остается практически только ужин. В остальное время большинство студентов из-за существенной учебной нагрузки и отсутствия поблизости учреждений общественного питания употребляют в основном хлебобулочные изделия и бутерброды, зачастую всухомятку. Естественно, это не может не сказаться на состоянии микробиоценоза кишечника, поскольку питание является ведущим физиологическим фактором, определяющим функциональную активность кишечника и его микробиоты [Shori, 2016; Шевелева и др., 2020; Ким, Шевелева, 2021]. В условиях эксперимента на лабораторных животных было убедительно показано, что ограничение пищевого рациона приводит к развитию дисбиоза кишечника [Venema, Van den Abbeele, 2013].

На состояние микробиоценоза различных биотопов организма человека также негативно влияют стрессовые ситуации, связанные с отрывом от семьи, переездом в другой город и резким изменением образа жизни. Как следствие, более чем у половины (61.54%) обследованных иногородних студентов уже спустя полгода после начала учебы наблюдаются различные дисбиотические изменения микробиоты кишечного биотопа, причем количество таких студентов, по сравнению с первичным обследованием, выполненным в первые недели сентября, возросло в 2 раза.

Обращает на себя внимание также достаточно значительный (30.0%) процент лиц с дисбиозом кишечника, выявляемый при первичном обследовании (фоновые значения). В связи с этим следует отметить, что по данным различных исследователей [Парфенов, Бондаренко, 2009; Перунова, Иванова, Бухарин, 2010; Стуров, Попов, Жуков, 2021], 30–50% практически здоровых лиц имеют те или иные изменения качественного или количественного состава микробиоты кишечника.

Выводы

1. Изменение режима и качества питания уже спустя полгода после начала учебы приводит к развитию дисбиоза кишечника у 61.541% из 28 обследованных иногородних студентов первого курса ВУЗа.

2. Состояние микробиома кишечника у практически здоровых лиц может служить одним из объективных и доступных информативных критериев полноценности питания.

Список источников

1. Беляева Е.А. Микробиота кишечника коренного жителя Центрального федерального округа Российской Федерации как основа для создания региональных пробиотических препаратов: автореф. дис. ... канд. биол. наук. М., 2014. 24 с.
2. Ким Н.В., Шевелева С.А. Роль микробиома кишечника в норме и при алиментарно-зависимых заболеваниях // Вопросы питания. 2021. Т. 90, № 6 (538). С. 31–41. DOI: <http://doi.org/10.33029/0042-8833-2021-90-6-31-41>.
3. Костюкевич О.И. Влияние кишечной микрофлоры на здоровье человека. От патогенеза к современным методам коррекции дисбиоза // РМЖ. 2011. Т. 19, № 5. С. 304–308.
4. Парфенов А.И., Бондаренко В.М. Регуляция соотношения между нормальной и патологической микрофлорой кишечника // Гастроэнтерология. Приложение к журналу Consilium Medicum. 2009. № 2. С. 67–70.
5. Перунова Н.Б., Иванова Е.В., Бухарин О.В. Микробная регуляция биологических свойств бактерий кишечного микросимбиоза человека // Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии. 2010. № 6. С. 76–80.
6. Ситкин С.И. и др. Микробиота и дисбиоз кишечника при целиакии // Российский вестник перинатологии и педиатрии. 2021. Т. 66, № 2. С. 116–122. DOI: [10.21508/1027-4065-2021-66-2-116-122](https://doi.org/10.21508/1027-4065-2021-66-2-116-122).
7. Стуров Н.В., Попов С.В., Жуков В.А. Современные подходы к коррекции микробиоты кишечника // Медицинский совет. 2021. № 4. С. 136–143. DOI: [10.21518/2079-701X-2021-4-136-143](https://doi.org/10.21518/2079-701X-2021-4-136-143).
8. Шевелева С.А. и др. Микробиом кишечника: от эталона нормы к патологии // Вопросы питания. 2020. Т. 89, № 4. С. 35–51. DOI: [10.24411/0042-8833-2020-10040](https://doi.org/10.24411/0042-8833-2020-10040).
9. Шендеров Б.А. Роль питания и кишечной микрофлоры в поддержании нутритивного гомеостаза человека // Вестник восстановительной медицины. 2008. № 1 (23). С. 12–13.
10. Shenderov B.A. Gut Indigeneous Microbiota and Epigenetics // Microbial Ecology in Health and Disease. 2012. Vol. 23, № 1. P. 1795.
11. Shori A. Influence of food matrix on the viability of probiotic bacteria: A review based on dairy and non-dairy beverages // Food Bioscience. 2016. Vol. 13. P. 1–8.
12. Venema K., van den Abbeele P. Experimental models of the gut microbiome // Best Practice & Research in Clinical Gastroenterology. 2013. Vol. 27, № 1. P. 115–126.

References

1. Beljaeva E.A. *Mikrobiota kišečnika korenного žitelja Central'nogo federal'nogo okruga Rossijskoj Federacii kak osnova dlja sozdaniya regional'nyh probiotičeskich preparatov*. Avtoref. dis. kand. biol. nauk [Gut microbiota of an indigenous inhabitant of the Central Federal District of the Russian Federation as a basis for the creation of regional probiotic drugs. Abstract of the dissertation]. Moscow, 2014. 24 p. (In Russ.).
2. Kim N.V., Sheveleva S.A. [The role of the intestinal microbiome in normal and alimentary-dependent diseases]. *Voprosy pitaniya*. V. 90, No 6 (2021): pp. 31-41. (In Russ.). DOI: <http://doi.org/10.33029/0042-8833-2021-90-6-31-41>.
3. Kostjuevich O.I. [The effect of intestinal microflora on human health. From pathogenesis to modern methods of correction of dysbiosis]. *RMŽ*. V. 19, No 5 (2011): pp. 304-308. (In Russ.).
4. Parfenov A.I., Bondarenko V.M. [Regulation of the ratio between normal and pathological intestinal microflora]. *Gastroènterologija. Priloženie k žurnalu Consilium Medicum*. No 2 (2009): pp. 67-70. (In Russ.).
5. Perunova N.B., Ivanova E.V., Buharin O.V. [Microbial regulation of biological properties of human intestinal microsymbiogenesis bacteria]. *Žurnal mikrobiologii, èpidemiologii i immunobiologii*. No 6 (2010): pp. 76-80. (In Russ.).
6. Sitkin S.I., Avalueva E.B., Oreshko L.S., Havkin A.I. [Microbiota and intestinal dysbiosis in celiac disease]. *Rossijskij vestnik perinatologii i pediatrii*. V. 66 No 2 (2021): pp. 116-122. (In Russ.). DOI: [10.21508/1027-4065-2021-66-2-116-122](https://doi.org/10.21508/1027-4065-2021-66-2-116-122).
7. Sturov N.V., Popov S.V., Zhukov V.A. [Modern approaches to correction of intestinal microbiota]. *Medicinskij sovet*. No 4 (2021): pp. 136-143. (In Russ.). DOI: [10.21518/2079-701X-2021-4-136-143](https://doi.org/10.21518/2079-701X-2021-4-136-143).
8. Sheveleva S.A., Kuvaeva I.B., Efimochkina N.R., Markova Ju.M., Prosjannikov M.Ju. [Gut microbiome: from the standard of norm to pathology]. *Voprosy pitaniya*. V. 89, No 4 (2020): pp. 35-51. (In Russ.). DOI: [10.24411/0042-8833-2020-10040](https://doi.org/10.24411/0042-8833-2020-10040).
9. Shenderov B.A. [The role of nutrition and intestinal microflora in maintaining nutritional homeostasis in humans]. *Vestnik vosstanovitel'noj mediciny*. No 1(23) (2008): pp. 12-13. (In Russ.).

10. Shenderov B.A. Gut Indigeneous Microbiota and Epigenetics. *Microbial Ecology in Health and Disease*. V. 23, No 1 (2012): p. 1795.

11. Shori A. Influence of food matrix on the viability of probiotic bacteria: A review based on dairy and non-dairy beverages. *Food Bioscience*. V. 13 (2016): pp. 1-8.

12. Venema K., van den Abbeele P. Experimental models of the gut microbiome. *Best Practice & Research in Clinical Gastroenterology*. V. 27, No 1 (2013): pp. 115-126.

Статья поступила в редакцию 08.04.2022; одобрена после рецензирования 23.05.2022; принята к публикации 21.06.2022.

The article was submitted 08.04.2022; approved after reviewing 23.05.2022; accepted for publication 21.06.2022.

Информация об авторах

Н. В. Николаева – канд. биол. наук, доцент;

Е. В. Афанасьевская – канд. мед. наук, доцент;

Э. С. Горовиц – д-р мед. наук, профессор, заведующий кафедрой;

А. Я. Перевалов – д-р мед. наук, почетный профессор.

Information about the authors

N. V. Nikolaeva – candidate of biology, associate professor;

E. V. Afanasevskaja – candidate of medicine, associate professor;

Je. S. Gorovic – doctor of medicine, professor, head of department;

A. Ja. Perevalov – doctor of medicine, honorary professor.

Вклад авторов:

Николаева Н. В. – написание исходного текста.

Афанасьевская Е. В. – сбор и лабораторный анализ материала; статистическая обработка.

Горовиц Э. С. – научное руководство; концепция исследования; итоговые выводы.

Перевалов А. Я. – доработка текста.

Contribution of the authors:

Nikolaeva N. V. – writing the draft.

Afanasevskaja E. V. – collection and laboratory analysis of the material, statistical processing.

Gorovic Je. S. – scientific management, research concept, conclusions.

Perevalov A. Ja. – follow-on revision of the text.

МИКРОБИОЛОГИЯ

Научная статья

УДК 579.843.1:577.115.3:577.1

doi: 10.17072/1994-9952-2022-2-143-154.

Влияние температурного стресса на спектр жирных кислот штаммов *Vibrio cholerae*

Елена Сергеевна Шипко^{1✉}, Ольга Викторовна Дуванова²

^{1, 2} Ростовский-на-Дону противочумный институт Роспотребнадзора, Ростов-на-Дону, Россия

✉ shipko_es@antiplague.ru, <https://orcid.org/0000-0002-8517-2789>

² duvanova_ov@antiplague.ru, <https://orcid.org/0000-0002-1702-1620>

Аннотация. В условиях смоделированного температурного стресса методом газовой хроматографии в сочетании с масс-спектрометрией был изучен спектр жирных кислот штаммов *Vibrio cholerae* O1, O139, non O1/non O139 серогрупп с различным набором детерминант патогенности, выделенных от больных и из проб воды поверхностных водоемов. Выявлены достоверные отличия в составе жирных кислот при холодном и тепловом стрессах в клетках возбудителя холеры относительно контрольных образцов. Штаммы, выделенные из воды поверхностных водоемов, отличались по спектру жирных кислот при холодном стрессе от штаммов, выделенных от больных. У штаммов, выделенных из воды, снижение температуры культивирования до 23°C сопровождалось синтезом докозановой, тетракозановой и гексакозановой кислот, а до 4°C – увеличением количества тетрадекановой и гексадекановой кислот. Тогда как у штаммов, выделенных от больных, снижение температуры культивирования вызывало закономерное увеличение гексадекановой и октадекановой кислот. Реакция на тепловой стресс у большинства изученных штаммов, независимо от набора детерминант патогенности и источника выделения, имела общую тенденцию: увеличение суммарного количества насыщенных жирных кислот, синтез *trans*-изомеров ненасыщенных жирных кислот, появление ω -алициклических и *iso*-разветвленных жирных кислот. Помимо ремоделирования жирнокислотного состава мембраны под действием температурного стресса отмечен синтез оксипинов, фенилпропаноидов, терпеноидов, возможно, играющих роль адаптогенов.

Ключевые слова: *Vibrio cholerae*, жирные кислоты, холодовой стресс, тепловой стресс

Для цитирования: Шипко Е. С., Дуванова О. В. Влияние температурного стресса на спектр жирных кислот штаммов *Vibrio cholerae* // Вестник Пермского университета. Сер. Биология. 2022. Вып. 2. С. 143–154. <http://dx.doi.org/10.17072/1994-9952-2022-2-143-154>.

MICROBIOLOGY

Original article

Influence of temperature stress on the spectrum of fatty acids of *Vibrio cholerae* strains

Elena S. Shipko^{1✉}, Olga V. Duvanova²

^{1, 2} Rostov-on-Don Antiplague Research Institute, Rostov-on-Don, Russia

✉ shipko_es@antiplague.ru, <https://orcid.org/0000-0002-8517-2789>

² duvanova_ov@antiplague.ru, <https://orcid.org/0000-0002-1702-1620>

Abstract. Under conditions of simulated temperature stress gas chromatography combined with mass spectrometry was used to study the spectrum of fatty acids of strains of *Vibrio cholerae* O1, O139, non O1/non O139 serogroups with a different set of pathogenicity determinants isolated from patients and from water samples of surface water bodies. Significant differences in the composition of fatty acids under cold and heat stress in the cells of the causative agent of cholera relative to control samples were revealed. The strains isolated from the water of surface reservoirs differed in the spectrum of fatty acids under cold stress from the strains isolated from patients. In strains isolated from water, a decrease in cultivation temperature to 23 °C was accompanied by the synthesis of docosanoic, tetracosanoic and hexacosanoic acids and to 4 °C - an increase in the amount of tetradecanoic and hexadecanoic acids. While in strains isolated from patients, a decrease in cultivation temperature caused a regular increase in hexadecenoic acids. and octadecenoic acids. The reaction to heat stress in most of the studied strains regardless of the set of pathogenicity determinants and the source of isolation had a general trend: an increase in the total amount of saturated fatty acids, the synthesis of *trans*-isomers of unsaturated fatty

acids and the appearance of ω -alicyclic and iso-branched fatty acids. In addition to the remodeling of the fatty acid composition of the membrane under the influence of temperature stress, the synthesis of oxylipins, phenylpropanoids and terpenoids, possibly playing the role of adaptogens, was noted.

Keywords: *Vibrio cholerae*, fatty acids, cold stress, heat stress

For citation: Shipko E. S., Duvanova O. V. [Influence of temperature stress on the spectrum of fatty acids of *Vibrio cholerae* strains]. *Bulletin of Perm University. Biology*. Iss. 2 (2022): pp. 143-154. (In Russ.). <http://dx.doi.org/10.17072/1994-9952-2022-2-143-154>.

Введение

Глобальное распространение *Vibrio cholerae* за пределами эндемичных территорий, постоянное эволюционирование и совершенствование внутри- и межвидовых стратегий сохранения возбудителя в разных биоценозах с широким диапазоном экологических факторов, диктуют необходимость изучения механизмов, формирующих адаптационный/персистентный потенциал возбудителя и пути его реализации – на генетическом, протеомном, метаболомном уровнях.

Одним из наиболее значимых экологических факторов, с которым сталкиваются бактерии в процессе своей жизнедеятельности, является воздействие температуры. Учитывая два стиля жизни холерного вибриона – водное окружение и кишечник человека, ему необходимо адаптироваться к широкому диапазону температур.

Температурная адаптация на клеточном уровне осуществляется за счет общих стрессовых реакций, которые включают адаптацию механизмов трансляции и транскрипции, структурную перестройку энзимов, экспрессию специфических белков, а также изменение текучести мембран.

Клеточные мембраны играют ключевую роль в устойчивости бактерий к действию абиотических и биотических факторов среды, осуществляя динамическое взаимодействие клетки и окружающей среды: обеспечивают избирательную проницаемость для ионов, метаболитов, генерацию трансмембранного потенциала, восприятие, обработку и передачу информации в виде химических и электрических сигналов.

Модулирование текучести мембраны – один из центральных процессов, лежащих в основе формирования адаптационного ответа бактериальной клетки на термический стресс. Известно, что при изменении температуры липиды могут претерпевать несколько фазовых переходов. Наиболее важными из них являются переходы кристалл (гель) – жидкий кристалл и жидкий кристалл – изотропное состояние. Поддержание жидкокристаллического состояния мембраны осуществляется за счет гомеовязкостной адаптации, в которую вовлечены следующие липидные модуляции – температурные вариации липида А молекулы липополисахарида, изменение типа этерификации фосфолипидов [Vigh, Landry, Nakamoto, 2007; Watson, 2015].

Изменение жирнокислотного состава липидов, как наиболее лабильной их части, может быть достигнуто несколькими путями: в результате синтеза жирных кислот (ЖК) *de novo* либо ремоделированием – удлинением, разветвлением, циклизацией, десатурацией цепей. Недавние исследования выявили способность патогенных вибрионов извлекать жирные кислоты из источников окружающей среды и ассимилировать их в собственные клеточные мембраны. Включение экзогенных длинноцепочечных полиненасыщенных жирных кислот в фосфолипиды оказывало влияние на проницаемость мембран, повышая стрессоустойчивость микроорганизмов [Moravec et al., 2017; Smith et al., 2021].

Резкая смена температур (при попадании патогена в организм теплокровного хозяина или его выход в окружающую среду) требует срочной ответной/адаптивной реакции клеток возбудителя на стресс. Основные механизмы, обеспечивающие данный процесс – это *cis-trans*-изомеризация ННЖК, циклопропанирование ЖК, а также *iso*- и *anteiso*-метилование ацильных цепей.

Циклопропановые ЖК обладают уникальными физическими и химическими характеристиками – проявляют высокую окислительную стабильность, способны к самополимеризации и т.д. Они формируют первую линию защиты клетки от термического стресса и действия агрессивных сред, оказывая влияние на структуру и динамику липидного бислоя. Показано, что включение циклопропановых ЖК способствует возникновению гош-эффекта в ацильных цепях (углеродная цепь изгибается под углом 120°), что приводит к увеличению латеральной диффузии липидов и повышению текучести мембран при холодном стрессе [Poger, Mark, 2015]. В то же время ω -алициклические ЖК с крупными циклогексильными, циклогептильными кольцами способствуют большей упорядоченности ацильных цепей, снижению диффузии липидов и увеличению вязкости мембран при действии высоких температур [Poger, Caron, Mark, 2015].

Механизм *cis-trans*-изомеризации ННЖК, запускаемый при экстремальной смене температурного режима, обуславливает быструю ригидизацию клеточной мембраны, препятствуя избыточному ее разжижению при высоких температурах либо проникновению внутрь клеток токсичных веществ [Heipieper, Nachicho, 2014]. Данный механизм присущ лишь тем представителям грамотрицательных бактерий, ко-

торые способны существовать в широком диапазоне экосистем, как например, представители родов *Pseudomonas* и *Vibrio* [Heipieper, Meinhard, Segura, 2003]. В *trans*-ННЖК, по сравнению с *cis*-изомерами, ацильные цепи более тесно взаимодействуют, подобно остаткам насыщенных жирных кислот, что позволяет эффективно снижать текучесть мембраны, когда это необходимо [Eberlein et al., 2018]. Было предложено считать увеличение соотношения *trans*- к *cis*-изомерам ЖК более 0.1 биомаркером стресса, переносимого бактериальной клеткой [Heipieper, Nachicho, 2014].

Одной из реакций на холодовой стресс у многих микроорганизмов, помимо увеличения доли ННЖК и короткоцепочечных вариантов, является синтез *anteiso*-разветвленных ЖК, повышающих текучесть мембраны и снижающих температуру фазового перехода. *Anteiso*-метильное разветвление имеет тенденцию уменьшать толщину липидного бислоя при одновременном снижении упорядоченности ацильных цепей с эффектом повышения текучести мембран за счет образования перегибов в точке ветвления [Poger, Caron, Mark, 2014]. Напротив, в ответ на действие теплового шока, помимо увеличения средней длины цепи ЖК и доли *cis*-изомеров ЖК, отмечено увеличение соотношения *iso*- к *anteiso*-разветвленным ЖК. *Iso*-разветвленные цепи имеют точки плавления существенно выше, чем *anteiso*-разветвленные, как, например, точки плавления туберкулостеариновой кислоты (13.2°C) и стеариновой кислоты (69.6°C) [Janse, 1997].

Важно отметить, что термические модификации липидного состава мембран тесно связаны с синтезом и секрецией ключевых факторов патогенности и для ряда патогенов могут являться инструментом модулирования степени их вирулентности [Бахолдина, Соловьева, 2009; Rowe, Hantley, 2015; Seydlova et al., 2017]. Таким образом, механизмы выживания бактерий при различных температурах тесно связаны не только с адаптацией/персистенцией в окружающей среде, но и с формированием их патогенетического потенциала.

Анализ отечественной и зарубежной литературы показал ограниченное количество публикаций, посвященных роли изменений композиций ЖК в процессе адаптации/персистенции холерных вибрионов. Единичные исследования посвящены в основном характеристике жирнокислотного состава штаммов с позиций поиска хемотаксономических маркеров для дифференциации представителей рода *Vibrio* [Кузьменко, Головня, Вронова, 1980; Lambert et al., 1983; Urdaci, Marchand, Grimont, 1990]. Тогда как качественное и количественное определение спектров ЖК у штаммов возбудителя холеры (разных серогрупп), при стандартных и варьируемых условиях культивирования не проводилось.

Цель данной работы – изучение влияния температурного стресса на спектр штаммов *V. cholerae* O1, O139, non O1/non O139 серогрупп с различным набором детерминант патогенности, выделенных от больных и из проб воды поверхностных водоемов с использованием метода газовой хроматографии в сочетании с масс-спектрометрией (ГХ/МС).

Материалы и методы

В работе использовали штаммы *V. cholerae* с различным набором детерминант патогенности: 2 штамма *V. cholerae* O1 El Tor (18332 ctx+ tcp+; P-20000 Δctx Δtcp), выделенных от больных и из воды поверхностных водоемов; 2 штамма *V. cholerae* Classical (13603, 680 ctx+ tcp+); 4 штамма *V. cholerae* O139 серогруппы, из которых 2 (P-16064, P-16131 ctx+ tcp+) были выделены от больных и 2 атоксигенных (17682, 17678 Δctx Δtcp) – из проб воды поверхностных водоемов; 2 штамма *V. cholerae* nonO1/nonO139 серогрупп (P-20453, 20283 Δctx Δtcp), выделенных от больного и из балластных вод. Штаммы получали из Музея живых культур с центром патогенных для человека вибрионов ФКУЗ Ростовского-на-Дону противочумного института Роспотребнадзора, где их хранили в лиофилизированном состоянии.

Температурную характеристику роста исследуемых культур проводили в диапазоне от 4 до 45°C. Для этого взвесь холерных вибрионов вносили в 3 мл 1%-ной пептонной воды (pH 7.8) до конечной концентрации 10⁹ м.к./мл по отраслевому стандарту мутности (ОСО-42-25-59-86 П) ГИСК им. Л.А. Тарасевича (в настоящее время – ФГБУ «Научный центр экспертизы средств медицинского применения» Минздрава России) и инкубировали в течение 24 ч. Работу проводили в соответствии с требованиями биологической безопасности¹. Оптическую плотность обеззараженных культур определяли на спектрофотометре фирмы Beckman (США) при 600 нм. Жизнеспособность оценивали по наличию роста после контрольного высева на чашки с агаром Мартена (pH 7.6, 37°C, 24 ч.). Учет КОЕ проводили по стандартной методике.

Для анализа влияния температурного стресса на спектр жирных кислот штаммов холерных вибрионов методом ГХ/МС клетки после выращивания осаждали центрифугированием при 14 000 об/мин в течение 10 мин. на холоду. Надосадочную жидкость отбрасывали, а осадок отмывали дважды от компонентов

¹ СанПиН 3.3686-21 «Санитарно-эпидемиологические требования по профилактике инфекционных болезней».

среды физиологическим раствором, забуференным фосфатным буфером pH 7.2. Препараты жирных кислот из бактериальных клеток получали по стандартной методике [Sherlock. MIS., 2012], включающей следующие этапы: сапонификацию, кислый метанолиз, экстракцию метиловых эфиров жирных кислот гексаном. Известно, что ЖК состав микроорганизмов более специфичен, если он дополнен другими липидными компонентами, такими как, оксикислоты, спирты, альдегиды, углеводороды и стерины. Поэтому с целью расширения спектра анализируемых соединений пробоподготовка включала дополнительный этап – обработку гексановой фракции О-бис(триметилсилил)-трифлуороацетамидом (BSTF). Данный реагент высоко активен в отношении гидроксильных, карбоксильных, тиоловых и аминок групп, которые плохо подвергаются метилированию [Осипов, 2010; Moldoveanu, David, 2019].

Метиловые и триметилсилильные эфиры ЖК анализировали методом ГХ-МС на приборе «Маэстро 2-7802» (ИнтерЛаб, Москва), при помощи программного обеспечения «MSD ChemStation» и библиотеки масс-спектров NIST17.

Хроматографическое разделение проб осуществляли на капиллярной колонке Rtx-5MS (5% diphenyl/95% dimethyl polysiloxane) длиной 30 м, внутренний диаметр 0.25 мм, толщина слоя неподвижной фазы 0.25 μm в режиме линейного программирования температуры от 80 до 320°C со скоростью 4.8°C/мин. Ввод пробы проводили с помощью автосамплера в режиме без деления потока. Объем вводимой пробы 5 мкл. Газ-носитель – водород. Время цикла 47.013 мин. Идентификацию индивидуальных жирных кислот выполняли сравнением времен удержания анализируемых веществ с коммерческими стандартами ЖК: каприновая (ICN Pharmaceuticals), додекановая (ICN Pharmaceuticals), тетрадекановая (ICN Pharmaceuticals), гексадекановая (ICN Pharmaceuticals), стеариновая (ICN Pharmaceuticals), эйкозановая (Serva), доказановая (ICN Pharmaceuticals), 2-гидроксидокановая (Serva); холестерол (концентрация 1 мг/мл).

Полученные хроматограммы обрабатывали автоматически, пользуясь соответствующей опцией штатной программы обработки данных. Частично данные автоматической обработки требовали ручной проверки измерения пиков. Это относится к неполностью разделенным на хроматограмме пикам или малым пикам, находящимся в соседстве с более интенсивными. Эти пики находят, руководствуясь закономерностями их появления на хроматограмме – т. е. временем удержания, подтверждением ионами.

Содержание индивидуальных ЖК оценивали в относительных величинах (в процентах от общей суммы площадей пиков всех индивидуальных ЖК) и представляли в виде средних арифметических значений, полученных в трех экспериментах. Результаты оформлены в виде диаграмм, дополненных полосами погрешностей для рядов данных. Среднее значение и стандартное отклонение рассчитывали с помощью программы Microsoft Office Excel 2010. Статистическую значимость различий сравниваемых средних значений оценивали с помощью критериев Фридмана и Кендалла с использованием пакета прикладных программ «Statistica v. 6.1 for Microsoft Windows». Критический уровень значимости принимался равным 0.05.

Результаты и их обсуждение

Для изучения феномена толерантности и механизма, лежащего в основе адаптации клеток штаммов холерного вибриона к температурному стрессу, штаммы холерного вибриона культивировали в диапазоне температур от 4 до 45°C.

В результате изучения температурных характеристик роста исследуемых культур было выявлено, что у всех штаммов холерного вибриона диапазон роста составлял от 23 до 45°C, с оптимумом в области 28–37°C. При 4°C рост практически отсутствовал, при сохранении жизнеспособности культуры (рис. 1). Таким образом, были определены температурные условия дальнейших экспериментов: оптимальная температура 37°C (контрольный вариант), 4°C – для моделирования холодового шока и 45°C – для моделирования теплового шока. Также изучался спектр ЖК при 23°C – средней температуре речной воды в летний период.

С помощью высокочувствительного и селективного метода ГХ/МС был изучен спектр ЖК штаммов: *V. cholerae* O1 El Tor, *V. cholerae* Classical, *V. cholerae* O139, *V. cholerae* non O1/non воды поверхностных водоемов. Анализ с набором выделенных от больных и из проб держания липидных компонентов проводили через 2 и 24 ч. инкубации. O139 серогрупп с различным детерминант патогенности.

У контрольных образцов штаммов холерных вибрионов, взятых в исследование (37°C, 24 ч. инкубации), детектировались следующие насыщенные жирные кислоты (НЖК): тетрадекановая (C14:0), гексадекановая (C16:0), гептадекановая (C17:0), октадекановая (C18:0). ННЖК были представлены гексадеценовой (C16:1) – C16:1 Δ 7, C16:1 Δ 9, C16:1 Δ 11; гептадеценовой – C17:1 Δ 9, C17:1 Δ 10; октадеценовой (C18:1) – C18:1 Δ 6, C18:1 Δ 9, C18:1 Δ 11. У всех штаммов детектировалась 3-гидроксимиристиновая кислота (3-ОН14:0).

Анализ спектров ЖК, выявленных у исследованных штаммов *V. cholerae*, показал преимущественное содержание гексадекановой и гексадеценовой жирных кислот. Суммарное количество этих кислот варьировало от 50.4 до 62.9%. Исключение составили штамм *V. cholerae* nonO1/nonO139 20453, в ЖК-составе

которого доминировали C16:1 (31.6%) и C18:1 (22.92%) ННЖК, и штамм *V. cholerae* O139 17682 с преобладанием C16:0 (46.65%) и C18:0 (19.8%) НЖК. Ранее рядом отечественных и зарубежных авторов [Кузьменко, Головня, Вронова, 1980; Lambert et al., 1983; Urdaci, Marchand, Grimont, 1990] проводился анализ спектров ЖК у штаммов бактерий, принадлежащих к семейству *Vibrionaceae*. Авторами отмечена высокая степень гомологии ЖК состава у представителей семейства. Основное различие заключалось в содержании C12:0 (додекановой), C14:0, C15:0 (пентадекановой) НЖК и некоторых разветвленных ЖК. Профили доминантных ЖК были аналогичны полученным в настоящем исследовании. Отношение НЖК к ННЖК у контрольных образцов штаммов, взятых в исследование, в среднем составило (47.41:44.77), у штамма 20453 – (27.07:59.74).

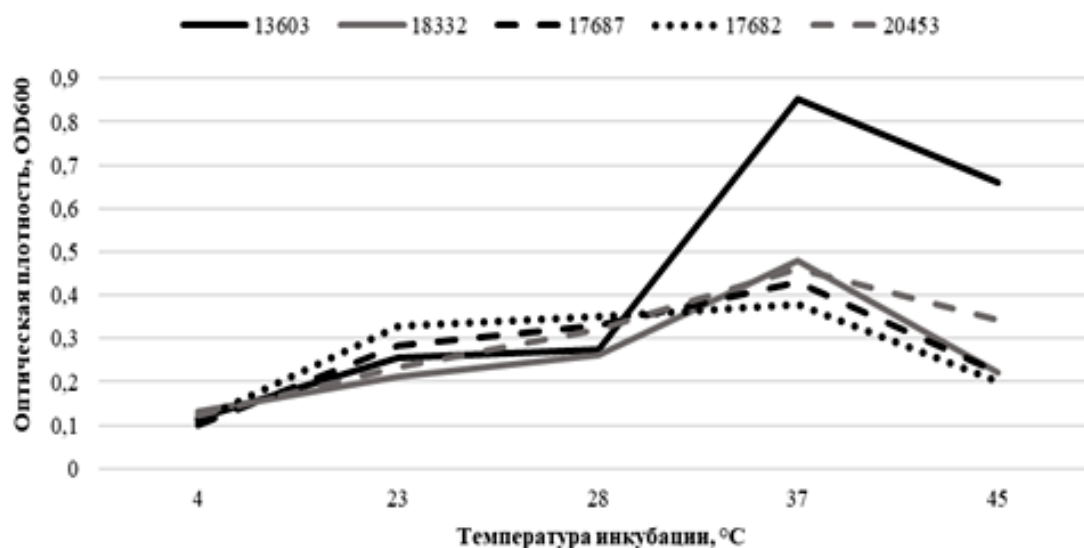


Рис. 1. Температурная характеристика роста штаммов *V. cholerae*
[Temperature characteristics of the growth of *V. cholerae* strains]

Через 2 ч. инкубации в условиях холодового стресса значимых изменений в основных группах ЖК выявлено не было – C16:0 и C16:1 оставались доминантными ЖК. Тем не менее, в первые часы инкубации отмечено появление пиков соединений, необычных для возбудителя холеры – жасмоновой кислоты и фарнезола. Согласно литературным данным оксипипин – жасмоновая кислота, синтезируется и накапливается в клетках преимущественно при действии на организм повреждающего фактора и играет центральную роль в формировании адаптационного ответа на действие абиотических и биотических стрессов [Васюкова, Озерецковская, 2009]. Максимальный синтез жасмоновой кислоты отмечался у штаммов холерного вибриона классического биовара, достигая 5% от суммарной площади пиков соединений, детектируемых в клетке, что косвенно указывает на то, что данное соединение, возможно, играет роль в реакции холерных вибрионов на температурный (холодовой) стресс. В то же время у штаммов O139 серогруппы увеличение синтеза данного оксипипина наблюдали и при повышенной температуре культивирования – 45°C.

Для растений и некоторых микроорганизмов описана роль жасмоновой кислоты в качестве мобильной сигнальной молекулы, которая индуцирует экспрессию защитных генов, стимулирует накопление различных вторичных метаболитов, непосредственно участвующих в защитных реакциях [Wang, Wu, 2013].

Фарнезол, детектируемый в клетках штаммов холерных вибрионов классического биовара, является звеном в биосинтезе тритерпенов (через этап образования сквалена). Для ряда микроорганизмов показана его роль в качестве QS-молекулы в осуществлении внутри- и межвидовой хемокоммуникации [Сачивкина, Подопригора, Марахова, 2020].

Через 24 ч. инкубации в условиях гипотермии у большинства штаммов содержание НЖК закономерно уменьшалось, а количество ННЖК увеличивалось. Отношение НЖК к ННЖК при 23°C составляло в среднем (40.61:51.85), а при 4°C – уже (26.24:63.46). Отмечены достоверные изменения в содержании C16:0, C15:0, C17:0, C16:1 и C18:1 по сравнению с контрольными образцами. Так, содержание пальмитиновой кислоты было снижено на 20–60%, а нечетные нормальные ЖК C15:0 и C17:0 полностью отсутствовали. В то же время содержание C16:1 увеличивалось на 25–40% (16:1), а C18:1 на 7–35%.

Помимо моноеновых ННЖК, у штаммов O1 серогруппы отмечалось появление полиеновых ЖК – C18:3, C20:5. Как известно из литературы, увеличение доли ННЖК является основным механизмом

адаптации грамотрицательных бактерий к низким температурам. Накопление в мембранах моно- и полиеновых ЖК в *cis*-конфигурации способствует поддержанию ее активного – жидкокристаллического состояния, препятствуя переходу в фазу кристалл-гель за счет снижения температуры плавления. Так, температура плавления C16:0 (доминантной ЖК у холерных вибрионов при 37 и 45°C) составляет 62.5°C, а температура плавления C16:1 (доминантной ЖК при 4°C) – всего 1°C. Небезынтересно отметить, что при более длительной инкубации (7–10 дней) клеток в условиях холодового стресса наблюдался обратный процесс – значительное снижение содержания основных ННЖК – C16:1, C18:1 (в 2–8 раз) и увеличение НЖК. Рядом авторов высказано предположение, что подобная модификация липидного состава в сочетании с изменением мембранного потенциала и уровня гидрофобности приводит к снижению текучести мембраны, индуцируя переход в некультивируемое состояние (крайнюю форму адаптации) при длительной инкубации в условиях низких температур [Day, Oliver, 2004; Yoon, Lee, 2020].

У штаммов холерного вибриона O139 и nonO1/nonO139 серогрупп, выделенных из воды, наблюдали альтернативные реакции на холодовой шок. Так, у штамма *V. cholerae* nonO1/nonO139 20453 через сутки инкубации в условиях холодового стресса детектировали семикратное увеличение C16:0 – с 5.32% до 41%. У штамма *V. cholerae* O139 P-17682 и P-17687 на фоне снижения C16:0, отмечалось увеличение содержания более короткоцепочечной C14:0 в среднем до 30% (рис. 2).

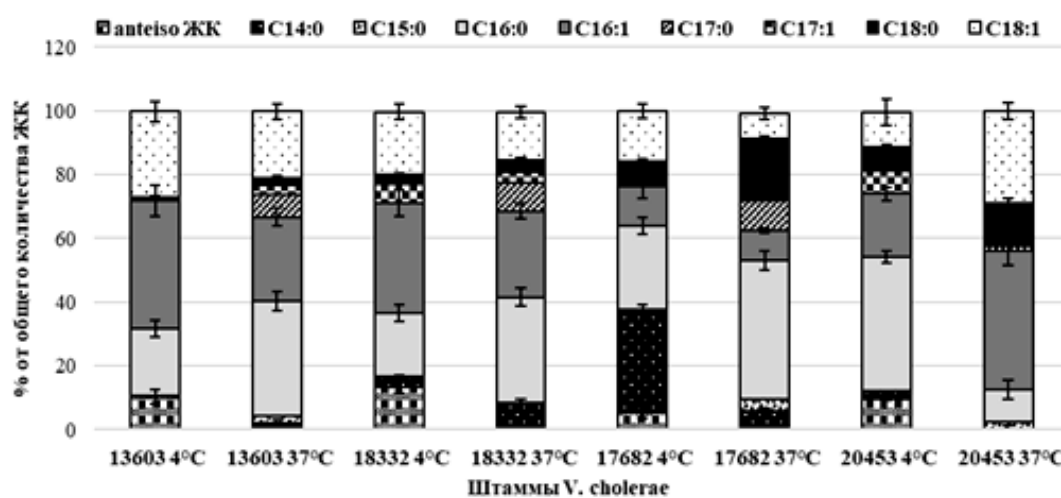


Рис. 2. Спектр жирных кислот штаммов *V. cholerae* в условиях холодового стресса (4°C, 24 ч.)
[Fatty acid spectrum of *V. cholerae* strains under cold stress conditions (4°C, 24 h)]

Помимо вариаций ЖК состава при пониженных температурах культивирования, у ряда штаммов *V. cholerae* регистрировали увеличение количества ненасыщенных жирных спиртов.

Необходимо отметить, что оптимальной для синтеза ЖК (температура, при которой площадь пиков и число отдельных представителей ЖК было максимальным) для большинства штаммов была температура 37°C. Исключение составляли штаммы *V. cholerae* O139 серогруппы, выделенные из воды. У водных штаммов P-17682 и P-17678 при температуре 23°C детектировались необычные для холерных вибрионов длинноцепочечные НЖК – бегеновая (C22:0), тетракозановая (C24:0), гексакозановая (C26:0), которые отсутствовали у контрольных образцов. Причем содержание C24:0 достигало 40%, конкурируя с C16:0, а количество C22:0 составляло 10–11%, конкурируя с C18:0 (рис. 3).

Воздействие теплового стресса приводило к значительным изменениям в ЖК составе *V. cholerae*. При сублетальных значениях температуры (45°C) детектировали появление *trans*-изомеров ННЖК, доля которых спустя 24 ч. достигала 26.14–77.3% от всего количества ННЖК. У штаммов O1 серогруппы по данному механизму изомеризовались как C16:1, так и C18:1 ННЖК, тогда как у штаммов *V. cholerae* O139 серогруппы (как водных, так и клинических), и у штаммов *V. cholerae* nonO1/nonO139 детектировались преимущественно *trans*-изомеры C18:1 ЖК. Необходимо отметить, что у некоторых штаммов детектировали наличие *trans*-изомеров и при пониженных температурах культивирования. Данный феномен может указывать на наличие альтернативных функций у *trans*-ННЖК при термическом стрессе, либо об индивидуальных особенностях штаммов.

Повышенная температура культивирования служила сигналом также для активации путей синтеза соединений класса фенилпропаноидов – гликолевой, салициловой, пиперониловой, фенил(бензен)пропановой, бензойной и толуиновой кислот, кумаринов, циннаматов – пики которых детектировали через 2 ч. инкубации клеток возбудителя холеры в условиях теплового стресса. У вибрионов O1 серогруппы они составляли 7–13% от всех детектируемых соединений.

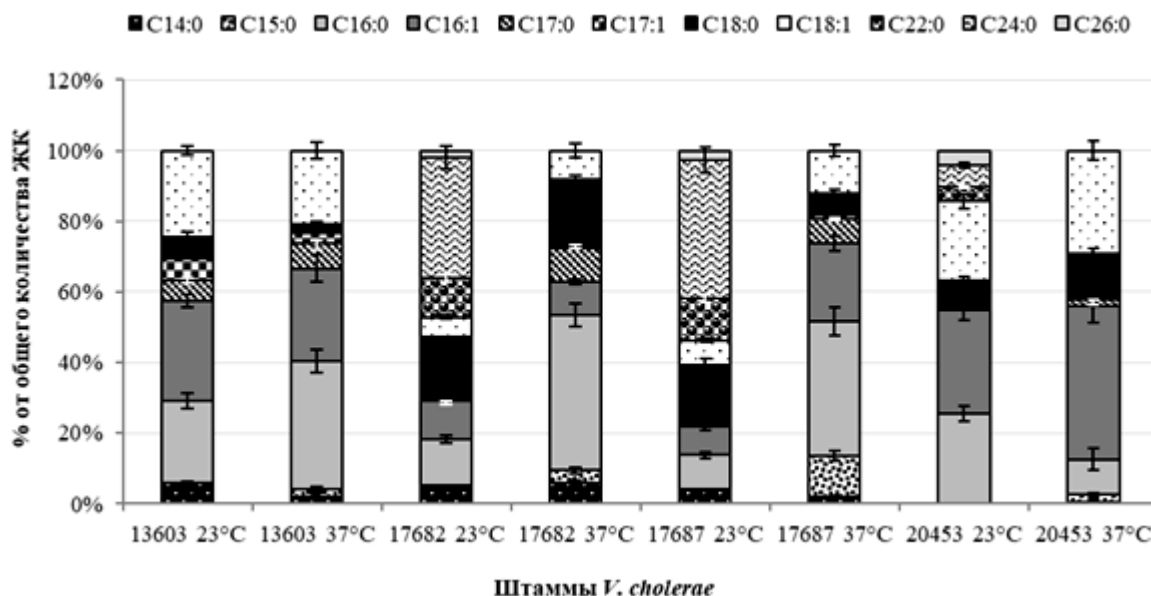


Рис. 3. Спектр жирных кислот штаммов *V. cholerae* при пониженной температуре (23°C, 24 ч.)
[The spectrum of fatty acids of *V. cholerae* strains at a reduced temperature (23°C, 24 h)]

Биосинтез ароматических соединений является важным метаболическим путем для жизнедеятельности микроорганизмов, растений и некоторых эукариотических организмов. Этот путь включает большое разнообразие соединений, участвующих в таких важных биологических процессах, как образование структурных блоков для синтеза белка, сидерофоров, вторичных метаболитов, таких как пигменты и антимикробные вещества. Некоторые продукты этого пути оказывают цитотоксический эффект в отношении эукариотических клеток [Díaz-Quiroz et al., 2014]. Промежуточные продукты синтеза коричной кислоты – салициловая и бензойная кислоты – в настоящее время рассматриваются как эндогенные полифункциональные биорегуляторы фенольной природы, принимающие участие в клеточном сигналинге, ростовых процессах, формировании адаптивных реакций организмов [Колупаев, Ястреб, 2013]. Летучий метил салицилат играет также важную роль в аллелопатических взаимоотношениях в биоценозах наряду с летучими производными липоксигеназного метаболизма (метилжасмонат, ноненали и др.) [Васюкова, Озерцковская, 2007]. Пиперониловая кислота, синтезируемая штаммами классического биовара при повышенной температуре, является аналогом транс-метоксикоричной. Существуют данные, что молекулы пиперониловой кислоты участвуют в репарации клеточных повреждений, вызванных действием стрессирующих факторов [Shalk et al., 1998; Lee et al., 2018].

Азелаиновая кислота, накапливаемая в клетках *V. cholerae* при 45°C, участвует в межвидовом взаимодействии и в реакции на стрессовые условия [Javvadi et al., 2018; Palmieri et al., 2019].

Через 24 ч. инкубации в условиях гипертермии регистрировали резкое увеличение содержания НЖК, обусловленное в первую очередь синтезом пальмитиновой и стеариновой кислот, доля которых составляла 37–62% и 20–34%, соответственно. Отношение НЖК к ННЖК в среднем составляло (75.87:19.59) (рис. 4).

Начиная с 37°C, у возбудителя холеры детектировался синтез ω -циклических жирных кислот – циклопентанундекановой (cyc11:0) и циклопентантридекановой (cyc13:0), количество которых достигало 3–5% в условиях теплового стресса (45°C). Как следует из литературных данных, введение циклопентанового кольца в молекулу жирной кислоты способствует стабилизации мембраны, препятствуя ее избыточному разжижению, тем самым обеспечивая ее функционирование в стрессовых условиях уже через несколько часов после воздействия высоких температур [Li et al., 2002].

Помимо нормальных прямоцепочечных ЖК у холерных вибрионов детектировались также разветвленные ЖК – в *iso*- и *anteiso*-конфигурациях. При 4°C разветвленные ЖК были представлены в основном *anteiso*-изомерами, а при 37 и 45°C – *iso*-изомерами.

Anteiso-разветвленные ЖК у холерных вибрионов были представлены 12-метил миристиновой (a15:0), 13-метил пентадекановой (a16:0), 14-метил пальмитиновой (a17:0), 15-метил гептадекановой ЖК (a18:0). Количество их колебалось от 0 до 36%. *Iso*-разветвленные ЖК были представлены – 12-метил тридекановой (i14:0), 13-метил миристиновой (i15:0), 14-метил пентадекановой (i16:0), 16-метил гептадекановой (i18:0). Содержание их варьировало от 0 до 12.2% в зависимости от штамма, времени и температуры инкубации. Известно, что разветвленные ЖК благодаря особенностям химического строения мо-

гут выполнять адаптивную функцию, сохраняя оптимальную текучесть и пластичность мембраны при резких изменениях температуры окружающей среды [Siliakus, Oost, Kengen, 2017].

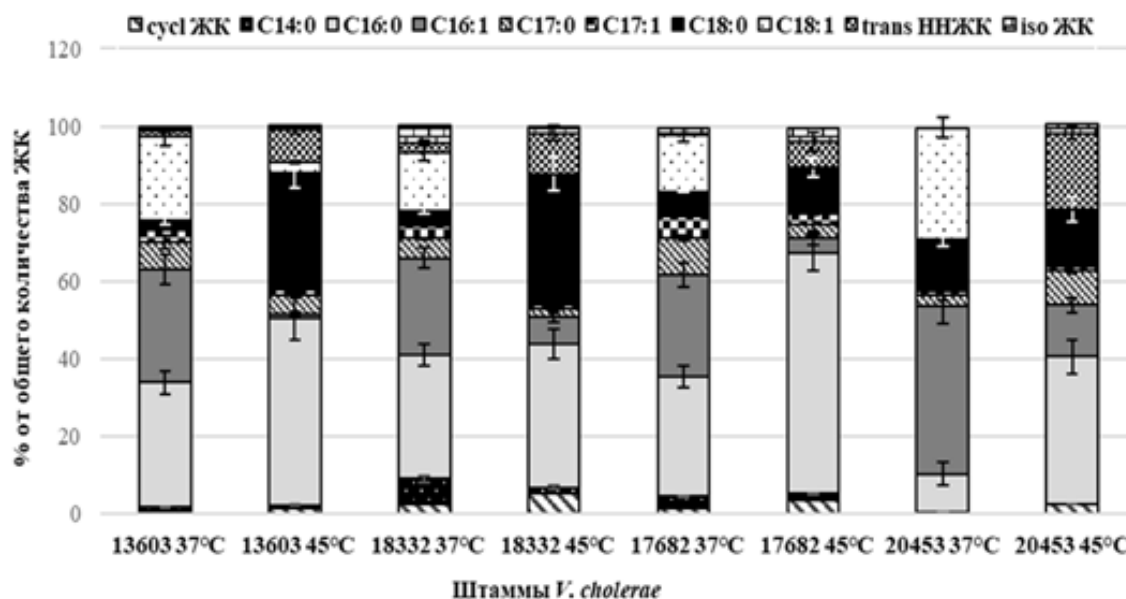


Рис. 4. Спектр жирных кислот штаммов *V. cholerae* в условиях теплового стресса (45°C, 24 ч.)
[Fatty acid spectrum of *V. cholerae* strains under heat stress conditions (45°C, 24 h)]

Для оценки достоверности различий в содержании основных (мажорных) групп ЖК в клетках возбудителя холеры при изменении температуры культивирования были использованы непараметрические критерии Фридмана и Кендалла. Полученные результаты позволяют говорить о статистической значимости различий в содержании следующих доминантных ЖК в исследованных штаммах *V. cholerae* при пониженной (4°C), стандартной (37°C) и повышенной температурах культивирования (45°C): C16:0 ($p = 0.0141$), C16:1 ($p = 0.012860$), C17:0 ($p = 0.0275$), C18:0 ($p = 0.00002$), C18:1 ($p = 0.00027$).

Таким образом, температурный стресс влияет на спектр ЖК штаммов *V. cholerae*. Можно предположить, что изменения в ЖК составе являются одним из механизмов термической адаптации холерных вибрионов и маркерами температурного стресса.

Заключение

Методом ГХ/МС у штаммов *V. cholerae* O1, O139, nonO1/nonO139 серогрупп был изучен спектр ЖК в широком диапазоне температур: от 4 до 45°C. Детектированы качественные и количественные изменения в составе ЖК у штаммов холерных вибрионов под влиянием температурного стресса. Выявлены отличия в реакции на холодовой стресс у штаммов, выделенных от больных и из воды поверхностных водоемов. Реакция штаммов, выделенных от больных, на гипотермию заключалась в увеличении содержания ННЖК – C16:1, C18:1, синтезе *anteiso*-разветвленных ЖК. Штаммы, выделенные из воды поверхностных водоемов, напротив, реагировали увеличением синтеза НЖК – C14:0, C16:0. Реакция на тепловой стресс у большинства изученных штаммов, независимо от набора детерминант патогенности и источника выделения, имела общую тенденцию: увеличение суммарного количества НЖК, синтез транс-изомеров ННЖК, появление ω -алициклических и iso-разветвленных ЖК. Помимо ремоделирования жирнокислотного состава мембраны, под действием температурного стресса отмечен синтез оксипинов, фенилпропаноидов, терпеноидов.

Характер и динамика наблюдаемых изменений в спектрах жирных кислот под влиянием термического стресса свидетельствуют о наличии «запаса» экологической пластичности у холерного вибриона, способствующей сохранению возбудителя в разных биоценозах.

Список источников

1. Бахолдина С.И., Соловьева Т.Ф. Экологические аспекты вирулентности бактерий псевдотуберкулеза // Вестник ДВО РАН. 2009. № 3. С. 85–89. URL: <https://cyberleninka.ru/article/n/ecologicheskie-aspekty-virulentnosti-bakteriy-pseudotuberculeza> (дата обращения: 11.09.2020).

2. Васюкова Н.И., Озерецковская О.Л. Индуцированная устойчивость растений и салициловая кислота (обзор) // Прикладная биохимия и микробиология. 2007. Т. 43, № 4. С. 405–411. URL: https://elibrary.ru/download/elibrary_9534588_50848214.pdf.
3. Васюкова Н.И., Озерецковская О.Л. Жасмонат-зависимая защитная сигнализация в тканях растений. // Физиология растений. 2009. Т. 56, № 5. С. 643–653. URL: <http://elibrary.ru/item.asp?id=12900977>.
4. Колупаев Ю.Е., Ястреб Т.О. Стресс-протекторные эффекты салициловой кислоты и ее структурных аналогов // Физиология и биохимия культ. растений. 2013. Т. 45, № 2. С. 113–126. URL: <http://dspace.nbuv.gov.ua/bitstream/handle/123456789/66470/03Kolupaev.pdf?sequence=1>.
5. Кузьменко Т.Е., Головня Р.В., Вронова Е.А. Исследование состава высших жирных кислот свободных липидов *V. cholerae* // Биоорганическая химия. 1980. Т. 1, № 6. С. 90–98.
6. Осипов Г.А. Хромато–масс–спектрометрический анализ микроорганизмов и их сообществ, в клинических пробах при инфекциях и дисбиозах // Химический анализ в медицинской диагностике. М.: Наука, 2010. С. 293–368.
7. Сачивкина Н.П., Подопрigора И.В., Марахова А.И. Фарнезол: свойства, роль и перспективы использования при регулировании пленкообразования у грибов рода *Candida* // Фармация. 2020. Т. 69, № 6. С. 8–12. <https://doi.org/10.29296/25419218-2020-06-02>.
8. Day A.P., Oliver J.D. Changes in membrane fatty acid composition during entry of *Vibrio vulnificus* into the viable but nonculturable state // J. Microbiol. 2004. Vol. 42, № 2. P. 69–73. PMID: 15357297.
9. Diaz-Quiroz D.C. et al. Current perspectives on applications of shikimic and aminoshikimic acids in pharmaceutical chemistry // Research and Reports in Medicinal Chemistry. 2014. № 4. P. 35–46. DOI: <http://doi.org/10.2147/RRMC.S46560>
10. Eberlein C. et al. Immediate response mechanisms of gram-negative solvent-tolerant bacteria to cope with environmental stress: cis-trans isomerization of unsaturated fatty acids and outer membrane vesicle secretion // Appl. Microbiol. Biotechnol. 2018. Vol. 102. P. 2583–2593. DOI: <http://doi.org/10.1007/s00253-018-8832-9>.
11. Heipieper H.J., Hachicho N. Bacterial solvent responses and tolerance: cis-trans isomerization // Hydrocarbon and lipid. Microbiology Protocols. / eds McGenity T., Timmis K., Nogales B. Berlin; Heidelberg: Springer, 2014. DOI: http://doi.org/10.1007/8623_2014_16.
12. Heipeper H.J., Meinhard F., Segura A. The cis-trans isomerase of unsaturated fatty acids in *Pseudomonas* and *Vibrio*: biochemistry, molecular biology and physiological function of a unique stress adaptive mechanism // Fems Microbiol. Let. 2003. Vol. 229, № 1. P. 1–7. DOI: [http://doi.org/10.1016/S0378-1097\(03\)00792-4](http://doi.org/10.1016/S0378-1097(03)00792-4).
13. Janse J.D. Fatty acid analysis in the identification, taxonomy and ecology of (plant pathogenic) Bacteria // Diagnosis and Identification of Plant Pathogens. Developments in Plant Pathology / eds Dehne H.W., Adam G., Diekmann M., Frahm J., Mauler-Machnik A., van Halteren P. Dordrecht: Springer, 1997. № 11. DOI: https://doi.org/10.1007/978-94-009-0043-1_13.
14. Javvadi S.G. et al. The spent culture supernatant of *Pseudomonas syringae* contains azelaic acid // BMC Microbiol. 2018. Vol. 18. P. 1–11. DOI: <http://doi.org/10.1186/s12866-018-1352-z>.
15. Lambert M.A. et al. Differentiation of *Vibrionaceae* species by their cellular fatty acid composition // Int. J. Syst. Bacteriol. 1983. Vol. 33, № 4. P. 777–792. DOI: <http://doi.org/10.1099/00207713-33-4-777>.
16. Lee D. et al. Piperonylic acid stimulates keratinocyte growth and survival by activating epidermal growth factor receptor (EGFR) // Sci. Rep. 2018. Vol. 9. P. 8. DOI: <http://doi.org/10.1038/s41598-017-18361-3>.
17. Li J. et al. Temperature- and surfactant-induced membrane modifications that alter *Listeria monocytogenes* nisin sensitivity by different mechanisms // Appl. Environ. Microbiol. 2002. Vol. 68, № 12. P. 5904–5910. DOI: <http://doi.org/10.1128/aem.68.12.5904-5910.2002>.
18. Moldoveanu S.B., David V. Derivatization Methods in GC and GC/MS // Gas Chromatography / ed. Peter Kusch. 2019. 142 p. DOI: 10.5772/intechopen.81954.
19. Moravec A.N. et al. Exogenous polyunsaturated fatty acids impact membrane remodeling and affect virulence phenotypes among pathogenic *Vibrio* species // Appl. Environ. Microbiol. 2017. Vol. 83, № 22. P. 1–16. doi: 10.1128/AEM.01415-17.
20. Palmieri F. et al. Chapter two-oxalic acid, a molecule at the crossroads of bacterial-fungal interactions // Advan. Appl. Microbiol. 2019. Vol. 106. P. 49–77. DOI: <http://doi.org/10.1016/bs.aambs.2018.10.001>.
21. Poger D., Caron B., Mark A.E. Effect of methyl-branched fatty acids on the structure of lipid bilayers // J. Physical. Chem. 2014. Vol. 118, № 48. P. 13838–13848. DOI: <http://doi.org/10.1021/jp503910r>.
22. Poger D., Caron B., Mark A.E. Ring to rule them all: the effect of cyclopropane fatty acids on the fluidity of lipid bilayers // J. Physical. Chem. B. 2015. Vol. 119, № 17. P. 5487–5495. DOI: <http://doi.org/10.1021/acs.jpcc.5b00958>.
23. Poger D., Mark A.E. Effect of ring size in ω -alicyclic fatty acids on the structural and dynamical properties associated with fluidity in lipid bilayers // Langmuir. 2015. Vol. 31, № 42. P. 11574–11582. DOI: <http://doi.org/10.1021/acs.langmuir.5b02635>.

24. Rowe H.M., Hantley J.F. From the outside - in: The *Francisella tularensis* envelope and virulence // Front Cell Infect. Microbiol. 2015. № 5. P. 94. DOI: <http://doi.org/10.3389/fcimb.2015.00094>.
25. Seydlova G. et al. The extent of the temperature-induced membrane remodeling in two closely related *Bordetella* species reflects their adaptation to diverse environmental niches // J. Biol. Chem. 2017. Vol. 292, № 19. P. 8048–8058. DOI: <http://doi.org/10.1074/jbc.M117.781559>.
26. Shalk M. et al. Piperonylic acid, a selective, mechanism-based inactivator of the trans-cinnamate 4-hydroxylase: a new tool to control the flux of metabolites in the phenylpropanoid pathway // Plant Physiol. 1998. Vol. 118. P. 209–218. DOI: <http://doi.org/10.1104/pp.118.1.209>.
27. Sherlock. Microbial Identification System. V 6.2. MIS Operating Manual. Newark: Sandy Dr, 2012.
28. Siliakus M.F., Oost J., Kengen S.W.M. Adaptations of archeal and bacterial membranes to variations in temperature, pH and pressure // Extremophiles. 2017. Vol. 21. P. 651–670. DOI: <http://doi.org/10.1007/s00792-017-0939-x>.
29. Smith D.S. et al. Polyunsaturated fatty acids cause physiological and behavioral changes in *Vibrio alginolyticus* and *Vibrio fischeri* // Microbiologyopen. 2021. Vol. 10, № 5. P. 1–16. doi: 10.1002/mbo3.1237.
30. Urdaci M.C., Marchand M., Grimont P.A. Characterization of 22 *Vibrio* species by gas chromatography analysis of their cellular fatty acids // Res. Microbiol. 1990. Vol. 141, № 4. P. 437–452. DOI: [http://doi.org/10.1016/0923-2508\(90\)90070-7](http://doi.org/10.1016/0923-2508(90)90070-7)
31. Vigh L., Landry J., Nakamoto H. Membrane regulation of the stress response from prokaryotic models to mammalian cells // Ann. NY Acad. Sci. 2007. Vol. 1113, № 1. P. 40–51. DOI: <http://doi.org/10.1196/annals.1391.027>.
32. Wang L., Wu J. The essential role of jasmonic acid in plant herbivore interactions using the wild tobacco *Nicotiana attenuata* as a model // J. Gen. Genomics. 2013. Vol. 40. P. 597–606. DOI: <http://doi.org/10.1016/j.jgg.2013.10.001>.
33. Watson H. Biological membranes // Essays Biochem. 2015. Vol. 59. P. 43–69. DOI: <http://doi.org/10.1042/bse0590043>.
34. Yoon J-H, Lee S-Y. Characteristics of viable-but-nonculturable *Vibrio parahaemolyticus* induced by nutrient-deficiency at cold temperature // Crit. Rev. Food Sci. Nutr. 2020. Vol. 60, № 8. P. 1302–1320. DOI: 10.1080/10408398.2019.1570076.

References

1. Bakhholdina S.I., Solov'eva T.F. [Ecological aspects of *Yersinia pseudotuberculosis* virulence]. *Vestnik DVO RAN*. No 3 (2009): pp. 85-89. (In Russ.). URL: <https://cyberleninka.ru/article/n/ecologicheskie-aspekty-virulentnosti-bakteriy-pseudotubercu-leza> (accessed 11.09.2020).
2. Vasyukova N.I., Ozeretskovskaya O.L. [Induced plant resistance and salicylic acid: a review]. *Prikladnaja biochimija i mikrobiologija*. V. 43, No 4 (2007): pp. 367-373. (In Russ.). https://elibrary.ru/download/elibrary_9534588_50848214.pdf.
3. Vasyukova N.I., Ozeretskovskaya O.L. [Jasmonate-dependent defense signaling in plant tissues]. *Fiziologija rastenij*. V. 56, No 5 (2009): pp. 581-590. (In Russ.). <http://elibrary.ru/item.asp?id=12900977>.
4. Kolupaev Yu.Ye., Yastreb T.O. [Stress-protective effect of salicylic acid and its structural analogues]. *Fiziologija i biochimija kul't. rastenij*. V. 45, No 2 (2013): pp. 113-126. (In Russ.). <http://dspace.nbuv.gov.ua/bitstream/handle/123456789/66470/03Kolupaev.pdf?sequence=1>.
5. Kuz'menko T.E., Golovnya R.V., Voronova E.A. [A composition of higher fatty acids of *Vibrio cholerae* free lipids]. *Bioorganičeskaja chimija*. V. 6, No 1 (1980): pp. 90-98. (In Russ.).
6. Osipov G.A. [Chromatographic mass spectrometry detection of microorganisms and their communities in clinical samples for infections and dysbiosis]. *Chimičeskij analiz v medicinskoj diagnostike* [Chemical Analysis in Medical Diagnostics]. Moscow, Nauka Publ., 2010, pp. 293-368. (In Russ.).
7. Sachivkina N.P., Podoprigora I.V., Marakhova A.I. [Farnesol: properties, role, and prospects for use in the regulation of film formation in fungi of the genus *Candida*]. *Farmacija*. V. 69, No 6 (2020): pp. 8-12. (In Russ.). <https://doi.org/10.29296/25419218-2020-06-02>.
8. Day A.P., Oliver J.D. Changes in membrane fatty acid composition during entry of *Vibrio vulnificus* into the viable but nonculturable state. *J. Microbiol.* V. 42, No 2 (2004): pp. 69-73. PMID: 15357297.
9. Díaz-Quiroz D.C., Carmona S.B., Bolívar F., Escalante A. Current perspectives on applications of shikimic and aminoshikimic acids in pharmaceutical chemistry. *Research and Reports in Medicinal Chemistry*. No 4 (2014): pp. 35-46. DOI: <http://doi.org/10.2147/RRMC.S46560>.
10. Eberlein C., Baumgarten T., Starke S., Heipeiper H.J. Immediate response mechanisms of gramnegative solvent-tolerant bacteria to cope with environmental stress: cis-trans isomerization of unsaturated fatty acids and outer membrane vesicle secretion. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* V.102 (2018): pp. 2583-2593. DOI: <http://doi.org/10.1007/s00253-018-8832-9>.

11. Heipieper H.J., Hachicho N. Bacterial solvent responses and tolerance: cis-trans isomerization. In: McGenitty T, Timmis K, Nogales B. (eds). *Hydrocarbon and lipid. Microbiology Protocols*. Berlin, Heidelberg, Springer, 2014. DOI: http://doi.org/10.1007/8623_2014_16.
12. Heipeiper H.J., Meinhard F., Segura A. The cis-trans isomerase of unsaturated fatty acids in *Pseudomonas* and *Vibrio*: biochemistry, molecular biology and physiological function of a unique stress adaptive mechanism. *Fems Microbiol. Let.* V. 229, No 1 (2003): pp. 1-7. DOI: [http://doi.org/10.1016/S0378-1097\(03\)00792-4](http://doi.org/10.1016/S0378-1097(03)00792-4).
13. Janse J.D. Fatty acid analysis in the identification, taxonomy and ecology of (plant pathogenic) Bacteria. In: Dehne H.W., Adam G., Diekmann M., Frahm J., Mauler-Machnik A., van Halteren P. (eds) *Diagnosis and Identification of Plant Pathogens. Developments in Plant Pathology*. Dordrecht, Springer, 1997, No 11. DOI: https://doi.org/10.1007/978-94-009-0043-1_13.
14. Javvadi S.G., Cescutti P., Rizzo R., Lonzarich V., Navarini L. et al. The spent culture supernatant of *Pseudomonas syringae* contains azelaic acid. *BMC Microbiol.* V. 18 (2018): pp. 1-11. DOI: <http://doi.org/10.1186/s12866-018-1352-z>.
15. Lambert M.A., Hickman-Brenner F.W., Farmer III J.J. and C. Wayne Moss. Differentiation of *Vibrionaceae* species by their cellular fatty acid composition. *Int. J. Syst. Bacteriol.* V. 33, No 4 (1983): pp. 777-792. DOI: <http://doi.org/10.1099/00207713-33-4-777>.
16. Lee D., Lim J., Woo K.-C., Kim K.-T. Piperonylic acid stimulates keratinocyte growth and survival by activating epidermal growth factor receptor (EGFR). *Sci. Rep.* V. 9 (2018): p. 8. DOI: <http://doi.org/10.1038/s41598-017-18361-3>.
17. Li J., Chikindas M.L., Ludescher R.D., Montville T.J. Temperature- and surfactant-induced membrane modifications that alter *Listeria monocytogenes* nisin sensitivity by different mechanisms. *Appl. Environ. Microbiol.* V. 68, No 12 (2002): pp. 5904-5910. DOI: <http://doi.org/10.1128/aem.68.12.5904-5910.2002>.
18. Moldoveanu S.B., David V. Derivatization Methods in GC and GC/MS. *Gas Chromatography*. Ed. by Peter Kusch. 2019, 142 p. DOI: 10.5772/intechopen.81954.
19. Moravec A.N., Siv A.W., Hobby C.R., Lindsay E.N., Norbash L.V., Shults D.J., Symes S.J.K., Giles D.K. Exogenous polyunsaturated fatty acids impact membrane remodeling and affect virulence phenotypes among pathogenic *Vibrio* species. *Appl. Environ. Microbiol.* V. 83, No 22 (2017): pp. 1-16. doi: 10.1128/AEM.01415-17.
20. Palmieri F., Estoppey A., House G.L., Lohberger A., Bindschedler S. et al. Chapter two-oxalic acid, a molecule at the crossroads of bacterial-fungal interactions. *Advan. Appl. Microbiol.* V. 106 (2019): pp. 49-77. DOI: <http://doi.org/10.1016/bs.aambs.2018.10.001>
21. Poger D., Caron B., Mark A.E. Effect of methyl-branched fatty acids on the structure of lipid bilayers. *J. Physical. Chem.* V. 118, No 48 (2014): pp. 13838-13848. DOI: <http://doi.org/10.1021/jp503910r>.
22. Poger D., Caron B., Mark A.E. Ring to rule them all: the effect of cyclopropane fatty acids on the fluidity of lipid bilayers. *J. Phys. Chem* V. 119, No 17 (2015): pp. 5487-5495. DOI: <http://doi.org/10.1021/acs.jpcc.5b00958>.
23. Poger D., Mark A.E. Effect of ring size in ω -alicyclic fatty acids on the structural and dynamical properties associated with fluidity in lipid bilayers. *Langmuir.* V. 31, No 42 (2015): pp. 11574-11582. DOI: <http://doi.org/10.1021/acs.langmuir.5b02635>.
24. Rowe H.M., Hantley J.F. From the outside - in: The *Francisella tularensis* envelope and virulence. *Front Cell Infect. Microbiol.* No 5 (2015): p. 94. DOI: <http://doi.org/10.3389/fcimb.2015.00094>.
25. Seydlova G., Beranova J., Bibova I., Dienstbier A., Drzmisek J., Masin J., Fiser R., Konopasek I., & Vecerek B. The extent of the temperature-induced membrane remodeling in two closely related *Bordetella* species reflects their adaptation to diverse environmental niches. *J. Biol. Chem.* V. 292, No 19 (2017): pp. 8048–8058. DOI: <http://doi.org/10.1074/jbc.M117.78155> 9.
26. Shalk M., Cabello-Hurtado F., Pierrel M.-A., Atanossova R., Saindrenan P., Werck-Reichhart D. Piperonylic acid, a selective, mechanism-based inactivator of the trans-cinnamate 4-hydroxylase: a new tool to control the flux of metabolites in the phenylpropanoid pathway. *Plant Physiol.* V. 118 (1998): pp. 209-218. DOI: <http://doi.org/10.1104/pp.118.1.209>.
27. Sherlock. Microbial Identification System. V 6.2. MIS Operating Manual. Newark, Sandy Dr. 2012.
28. Siliakus M.F., Oost J., Kengen S.W.M. Adaptations of archeal and bacterial membranes to variations in temperature, pH and pressure. *Extremophiles.* V. 21 (2017): pp. 651-670. DOI: <http://doi.org/10.1007/s00792-017-0939-x>.
29. Smith D.S., Houck C., Lee A., Simmons T.B., Chester O.N., Esdaile A., Symes S.J.K., Giles D.K. Polyunsaturated fatty acids cause physiological and behavioral changes in *Vibrio alginolyticus* and *Vibrio fischeri*. *Microbiologyopen.* V. 10, No 5 (2021): pp. 1-16. doi: 10.1002/mbo3.1237.
30. Urdaci M.C., Marchand M., Grimont P.A. Characterization of 22 *Vibrio* species by gas chromatography analysis of their cellular fatty acids. *Res. Microbiol.* V. 141, No 4 (1990): pp. 437-452. DOI: [http://doi.org/10.1016/0923-2508\(90\)90070-7](http://doi.org/10.1016/0923-2508(90)90070-7).

31. Vigh L., Landry J., Nakamoto H. Membrane regulation of the stress response from prokaryotic models to mammalian cells. *Ann. NY Acad. Sci.* V. 1113, No 1 (2007): pp. 40-51. <http://doi.org/10.1196/annals.1391.027>.
32. Wang L., Wu J. The essential role of jasmonic acid in plant herbivore interactions using the wild *tobacco* *Nicotiana attenuata* as a model. *J. Gen. Genomics.* V. 40 (2013): pp. 597-606. <http://doi.org/10.1016/j.jgg.2013.10.001>
33. Watson H. Biological membranes. *Essays Biochem.* V. 59 (2015): pp. 43-69. <http://doi.org/10.1042/bse0590043>.
34. Yoon J-H, Lee S-Y. Characteristics of viable-but-nonculturable *Vibrio parahaemolyticus* induced by nutrient-deficiency at cold temperature. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* V. 60, No 8 (2020): pp. 1302-1320. DOI: 10.1080/10408398.2019.1570076.

Статья поступила в редакцию 13.03.2022; одобрена после рецензирования 31.05.2022; принята к публикации 21.06.2022.

The article was submitted 13.03.2022; approved after reviewing 31.05.2022; accepted for publication 21.06.2022.

Информация об авторах

Е. С. Шипко – младший научный сотрудник отдела микробиологии холеры и других острых кишечных инфекций;
О. В. Дуванова – канд. биол. наук, старший научный сотрудник отдела микробиологии холеры и других острых кишечных инфекций.

Information about the authors

E. S. Shipko – junior researcher at the Department of microbiology of cholera and other acute intestinal infections;
O. V. Duvanova - candidate of biology, senior researcher at the Department of microbiology of cholera and other acute intestinal infections.

Вклад авторов:

Шипко Е. С. - концепция исследования; написание исходного текста; статистическая обработка материала.
Дуванова О. В. – научное руководство; доработка текста.

Contribution of the authors:

Shipko E. S. – research concept; writing the draft; statistical processing of the material.
Duvanova O. V. – scientific management; followon revision of the text.

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

The authors declare no conflicts of interests.

ПОЧВОВЕДЕНИЕ

Научная статья

УДК 631.4

doi: 10.17072/1994-9952-2022-2-155-163.

Биогеохимическая характеристика корнеобитаемого слоя травянистых растений на рекультивированных участках техногенных отходов

Валентина Сергеевна Артамонова^{1✉}, Светлана Борисовна Бортникова²

^{1✉} Институт почвоведения и агрохимии СО РАН, Новосибирск, Россия, artamonovavs@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0001-8606-7975>

² Институт нефтегазовой геологии и геофизики им. А.А. Трофимука СО РАН, Новосибирск, Россия, bortnikovasb@ipgg.sbras, <https://orcid.org/0000-0003-1691-7406>

Аннотация. Обосновывается актуальность изучения биогеохимии корнеобитаемого слоя травянистых растений, произрастающих на техногенных отходах угледобычи и обогащения железной руды через 40 лет рекультивации. Приведены результаты определения в эмбриозёмах и фоновой почве под схожими растениями валового содержания тяжёлых металлов и металлоидов, Сорг., остаточной токсичности, встречаемости и особенностям роста бактерии *Azotobacter chroococcum*. Показано, что за время многолетнего развития эмбриозёмов на отходах разного происхождения в них сохраняется высокий пул тяжёлых металлов и металлоидов, а также накапливается Сорг. В районе угледобычи вокруг корней донника выявляются максимальные концентрации Pb, в то время как под злаками – Br. На облесённых хвостах агломерации железной руды тенденция иная: вокруг корней злаков концентрируются Ca, Ni, Cu, Mn, Zn, около корней донника – As. Однако остаточная токсичность проявляется только на хвостах агломерации железной руды. Установлено, что встречаемость азотобактера в корнеобитаемом слое разных растений повсеместная, но в эмбриозёмах облесённого хвостохранилища популяции бактерии гетерогенны, в них присутствуют ослизнённые штаммы, проявляющие свечение, ризоидный тип роста и антагонизм. Вокруг корней донника складывались условия, наименее благоприятные для размножений, нежели под злаками. Полученные данные расширяют знания о роли фитобиомов в миграции химических элементов на техногенных объектах, могут быть учтены при разработке нейтрализации токсичности и в прогнозах результативности биологической рекультивации.

Ключевые слова: техногенные отходы, корнеобитаемый слой, рекультивация, почва, фитобиом

Для цитирования: Артамонова В. С., Бортникова С. Б. Биогеохимическая характеристика корнеобитаемого слоя травянистых растений на рекультивированных участках техногенных отходов // Вестник Пермского университета. Сер. Биология. 2022. Вып. 2. С. 155–163. <http://dx.doi.org/10.17072/1994-9952-2022-2-155-163>.

Благодарности: работа выполнена в рамках государственного задания, номер госрегистрации темы: ИПА СО РАН № 1210311700316-9 и ИНГТ СО РАН № 0266-2022-0028.

SOIL SCIENCE

Original article

Biogeochemical characteristics of the root layer of herbaceous plants in recultivated areas of man-made

Valentina S. Artamonova^{1✉}, Svetlana B. Bortnikova²

^{1✉} Institute of Soil Science and Agrochemistry of the SB RAS, Novosibirsk, Russia, artamonovavs@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0001-8606-7975>

² Trofimuk Institute of Petroleum Geology and Geophysics of the SB RAS, Novosibirsk, Russia, bortnikovasb@ipgg.sbras, <https://orcid.org/0000-0003-1691-7406>

Abstract. The introduction of the work substantiates the relevance of studying the biogeochemistry of the root layer of herbaceous plants growing on man-made waste from coal mining and iron ore enrichment after 40 years of reclamation. The main part of the report is devoted to the results of determining the gross content of heavy metals and metalloids, Sorg., residual toxicity, occurrence and growth characteristics of the bacterium

Azotobacter chroococcum in embryos and background soil under similar plants. It is shown that during the long-term development of embryosems on waste of different origin, a high pool of heavy metals and metals is preserved in them, and Sorghum accumulates. In the area of coal mining around the roots of the clover, the maximum concentrations of Pb are detected, while cereals - Br. On the forested tails of the iron ore agglomeration, the trend is different: Ca, Ni, Cu, Mn, Zn are concentrated around the roots of cereals, and As is near the roots of the clover. However, the residual toxicity is manifested only on the tailings of the iron ore agglomeration. It has been established that the occurrence of *azotobacter* in the root layer of different plants is ubiquitous, but in the embryos of the forested tailings pond, the bacterial populations are heterogeneous, they contain donkey strains showing luminescence, rhizoid growth type and antagonism. Around the roots of the clover, conditions were formed that were less favorable for reproduction than under cereals. The data obtained expand knowledge about the role of phytobiomes in the migration of chemical elements at man-made facilities, can be taken into account when developing toxicity neutralization and in predicting the effectiveness of biological reclamation.

Keywords: technogenic waste, root layer, reclamation, soil

For citation: Artamonova V. S., Bortnikova S. B. [Biogeochemical characteristics of the root layer of herbaceous plants in recultivated areas of man-made waste]. *Bulletin of Perm University. Biology*. Iss. 2 (2022): pp. 155-163. (In Russ.). <http://dx.doi.org/10.17072/1994-9952-2022-2-155-163>.

Acknowledgments: the work was carried out within the framework of the state task, the state registration number of the topic: ISSA SB RAS № 1210311700316-9 and TIPGG SB RAS № 0266-2022-0028.

Введение

Техногенные элювии вскрышных и вмещающих пород пермских и четвертичных отложений полезных ископаемых, а также отходы их агломерации, зарастают медленно. Осуществление биологической рекультивации предполагает ускорение озеленения техногенных отходов и новообразования в них почв. Эффективность рекультивации во многом зависит от присутствия в корнеобитаемом слое органического вещества, доступных элементов минерального питания, ризосферных и симбиотических микроорганизмов, экотоксикантов.

В условиях Кузбасса основным способом вторичного освоения земель является облесение, при котором используются малотребовательные к почвенному плодородию виды растений с олиготрофным типом корневого питания. Лесная рекультивация осуществляется в регионе около 50 лет, в результате чего в хозяйственный оборот возвращено более 15 тыс. га, или 60% нарушенных территорий [Уфимцев, Манаков, Куприянов, 2017]. Улучшению лесорастительных условий элювиев, в том числе повышению биогенного азота в корнеобитаемом слое лесных культур, предшествует посев донника за год до их посадки. На второй год жизни он образует высокий травостой, который защищает саженцы от прямых солнечных лучей, обеспечивает их влагой. Востребованы монокультуры, в том числе виды местной флоры, культивары и интродуценты. Интродуцированные популяции бобовых растений обладают высокой жизненностью и продуктивностью, повышенной концентрацией некоторых химических элементов в надземной части [Ламанова, Шеремет, 2010]. Однако в них внедряются аборигенные виды злаков – потенциальные доминанты сообществ.

Установлено [Клевенская, 1992], что в первые годы рекультивации углеродсодержащих вскрышных пород развитие донника обеспечивается небольшим количеством бактериоидов (клубеньков) на корнях растения на фоне высокой мобилизации углеродсодержащих соединений: простых сахаров, угольной кислоты из корнеобитаемого слоя. Их поставщиком являются корневые выделения, составляющие 54–76% общей массы корней [Волошин, Аветисян, 2017] и микроорганизмы. В этой связи, соотношение C/N биомассы донника характеризуется низким отношением, а микробная биомасса – высокими значениями. В составе микробиоты присутствуют гетеротрофные бактерии рода *Azotobacter* и фотогетеротрофные цианобактерии. Они активно развиваются в корнеобитаемом слое растений на отвалах вскрышных пород каменного угля в Кузбассе, бурого угля – в районе КАТЭКа [Артамонова, 1992]. С учетом того, что азотобактер и цианобактерии являются активными продуцентами азотсодержащей биомассы, полисахаридов и урсонных кислот [Бонарцева и др., 2017], как и корни самого донника [Федосеева, Харлампович, 2013], возникло предположение об участии таких фитобиомов в техногенных условиях обитания в создании специфической «биомелиорированной» среды. В ней происходит адсорбционное связывание химических элементов полисахаридами, обеспечивающее повышение доступности минерального питания и снижение токсического действия тяжёлых металлов. Полисахариды бактериального и растительного происхождения – агенты гелеобразования, что обеспечивает поглощение большого количества воды в присутствии (как правило) двухвалентных ионов. Сорбционная ёмкость альгинатов и фитополисахаридов по отношению к тяжёлым металлам значительно превышает таковую препаратов угля и лигнина [Хотимченко, 2011]. Помимо этого, не исключена миграция мышьяка с хелатами в коллоидной форме, адсорбированной оксидом железа, силикатом или глиной [Путилина, Галицкая, Юганова, 2011], присутствующих в техногенных отвалах в избытке, особенно в отходах переработки полиметаллических руд.

Однако подтверждений этому нет, поскольку такой природный феномен изучен к настоящему времени недостаточно. Информация о биогеохимии корнеобитаемого слоя травянистых растений на рекультивированных техногенных отходах единична. Актуальность работы осуществления комплексных исследований вторичного освоения нарушенных земель в Кузбассе в отдалённый посттехногенный период определила цель настоящей работы – изучить и сравнить биогеохимическую характеристику корнеобитаемого слоя донника и злаков на 40-летних облесённых и самозарастающих отходах угледобычи и агломерации железной руды в Кузбассе. Задачи включали определение валового содержания химических элементов, Сорг., фитотоксичности, выявление азотобактера и особенностей его роста.

Материалы и методы исследования

Объектами исследований являлись одновозрастные почвоподобные образования: 1) на участках облесённых отходов угледобычи и обогащения железной руды; 2) на участках самозарастания вскрышных углесодержащих пород. Все участки одного возраста биогенного освоения, 35–40 лет. В качестве фонового варианта обследовалась тёмно-серая лесная почва под колками. Объекты расположены в Новокузнецком р-не Кемеровской обл. Почвоподобные образования рассматриваются нами как эмбриозёмы согласно классификации сибирских почвоведов [Гаджиев, Курачев, 1992]. Она согласуется с критериями классификации почв России [Шишов, 2004]. Пробы отбирались из прикорневой зоны бобовых и злаковых растений. В каждом случае для анализа использовался смешанный образец, составленный из 5–6 растений. Определение элементного состава в пробах проводили методом энергодисперсионного рентгенфлуоресцентного анализа с использованием синхротронного излучения (РФА-СИ) в Сибирском Центре синхротронного и терагерцового излучения ЦКП «СЦСТИ» в ИЯФ СО РАН на станции локального и сканирующего рентгенфлуоресцентного элементного анализа "Комплекс ВЭПП-4 – ВЭПП-2000" (аналитик – Ю.П. Колмогоров). Определение валового Сорг., актуальной кислотности осуществляли общепринятыми в почвоведении методами. Фитотоксичность выявляли по росту корней проростков овса посевного (*Avena sativa*) и горчицы белой (*Sinapsis alba*) по сокращённой схеме¹. Семена выбраны с учётом Национального стандарта РФ, в котором эти растения предложены для определения воздействия загрязняющих веществ на всхожесть и рост на ранних стадиях высших растений². Выявление фитотоксического действия эмбриозёмов осуществляли в стерильных чашках Петри согласно методам определения токсичности субстратов [Сэги, 1983] и токсичности почв с использованием почвенных пластинок, для чего навеску каждого смешанного образца брали в количестве 60 г [Методы изучения ..., 1966]. Предварительно образцы просеивали через почвенное сито с диаметром ячеек 2 мм. Во избежание разброса данных, полученных в ходе предварительного тестирования, мы использовали в каждом конкретном случае 5 чашек (повторностей) с 25-ю семенами растений. Чашки с семенами помещали на трое суток в термостат, затем переносили в растительную камеру, температура воздуха составляла в том и другом случае 24–25°C, освещение – комнатное. После 6-суточной экспозиции проростков горчицы и 7-суточной – овса измеряли максимальную длину корней и высоту ростков³. Выявление *Az. chroococcum* осуществляли методом обростания почвенных комочков, традиционным в микробиологии [Зенова и др., 2002]. Ореол роста бактерии фотографировали через 24 и 36 ч., затем рассчитывали его площадь на экране компьютера. При интерпретации данных основывались на статистической обработке. Она выполнена с применением пакета стандартных программ Statistica (Stat Soft). На графиках приведены средние значения проростков из 125 повторностей и средние значения роста ореола азотобактера из 150 повторностей. В том и другом случаях при оценке значимости использовали $p \leq 0.05$. В таблице представлены данные содержания химических элементов при ошибке определения 5–10%.

Результаты и их обсуждение

Анализ валового содержания химических элементов в корнеобитаемом слое травянистых растений на облесённых отходах обогащения железной руды показал, что вокруг корней злаков и донника присутствуют металлы: Ca, Fe, Mn, Cr, V, Ni, Cu, Zn, Pb, Mo, Sr и металлоиды: Br и As, в концентрациях, превышающих их кларки в литосфере (таблица) [Касимов, Власов, 2015]. В фоновой тёмно-серой лесной почве набор преобладающих химических элементов оказался схожим с таковым в районе угледобычи, хотя абсолютные значения были ниже. Обращает на себя внимание высокое содержание Pb в эмбриозёмах и фоновой почве. Не исключено, что в накоплении металла участвуют гуминовые кислоты, со струк-

¹ СП 2.1.7.1386-03. Санитарные правила по определению класса опасности токсичных отходов производства и потребления. М., 2003. 15 с.

² ГОСТ Р ИСО 18763—2019. Национальный стандарт. Качество почвы. Определение токсического воздействия загрязняющих веществ на всхожесть и рост на ранних стадиях высших растений.

³ ГОСТ 12038-84. Семена сельскохозяйственных культур. Методы определения всхожести.

турой которых имеется большое сходство у Pb. Гуминовая кислота в разы больше сорбирует Pb, чем, например, Cu и Cd [Водяницкий, 2011]. Присутствие As в аномально высоких количествах обнаружено ранее в хвостовых отходах на Алтае [Бабошкина др., 2005]. В эмбриозёмах на облесённых и самозарастающих вскрышных породах в районе угледобычи лидировали Pb, Y, Zr, Br, As. Валовое содержание Сорг. в исследованных пробах эмбриозёмах вокруг корней растений и в экотопах без них на участке облесённого хвостохранилища было очень низким (рис. 1) – около 1% (без пересчёта на 1.724). Под лесными насаждениями и на самозарастающих участках углеотвалов в корнеобитаемом слое схожих растений его содержание было существенно выше и имело тенденцию сближения с таковым в фоновой почве под колками.

Содержание элементов в почвоподобных образованиях на рекультивированных участках техногенных отходов и в фоновой почве

[The content of elements in soil-like formations on reclaimed areas of man-made waste and in background soil]

По-каза-тель	Эмбриозёмы								Л ₃		Кларк
	под лесными насаждениями				под самозарастающей растительностью						
	Хвосты			Углеотходы		Углеотходы			Колки		
	БР	З	Д	З	Д	З	Д	К	З	К	
pH	6.3	8.0	5.7	7.0	6.3	7.4	7.7	7.7	5.8	5.9	
Ca*	8.4	14	8.0	1.1	2.2	1.8	1.7	1.6	1.9	1.7	2.96
Fe*	26	13	25.9	1.8	2.7	2.0	2.1	2.2	3.1	2.8	4.65
Mn*	0.48	0.53	0.43	0.059	0.067	0.054	0.041	0.046	0.086	0.081	0.1
Cr	520	240	490	43	46	50	24	31	54	44	83
V	500	210	420	51	64	57	55	44	81	74	90
Ni	100	147	70	75	38	33	36	46	48	62	58
Cu	490	680	420	34	30	36	35	39	28	41	47
Zn	250	270	220	73	76	65	66	64	74	67	83
Pb	270	90	260	30	32	29	37	29	27	23	16
Sr	530	390	200	150	160	140	150	150	140	140	340
Mo	22	9.2	18	0.86	<0.5	<0.5	<0.5	<0.5	<0.5	<0.5	1.1
Y	11	16	11	33	36	33	34	31	39	33	29
Zr	62	69	50	280	260	250	250	250	240	290	70
Br	32	5.2	36	1.7	3.0	4.4	2.5	3.3	17	16	2.1
As	990	500	1110	11	7	23	19	12	10	11	1.7

Примечание. Отмеченные * приводятся в %, остальные элементы – в г/г; полужирным шрифтом выделены значения, превышающие кларки элементов в литосфере; БР – почва без растений, З – злаки, Д – донник, К – клевер.

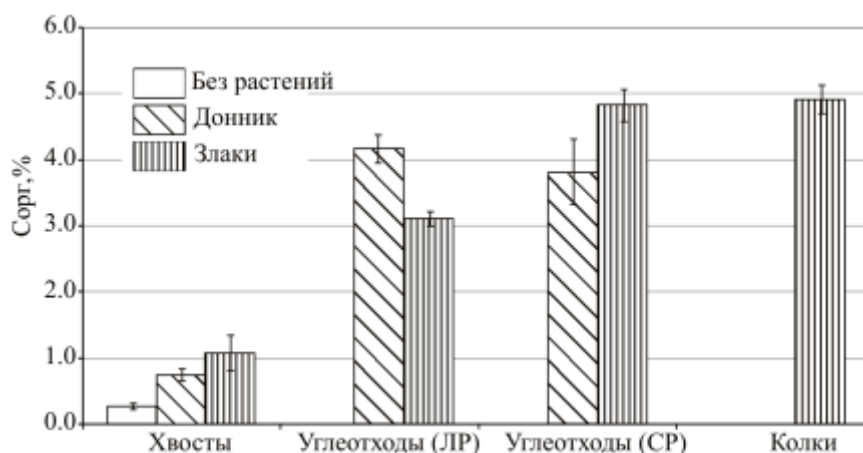


Рис. 1. Содержание Сорг. в почвоподобных образованиях:

ЛР – лесная рекультивация, СР- самозарастание

[Corg. content, % in soil-like formations. Note: ЛР – forest reclamation, СР-self-infestation]

Анализ фитотоксичности эмбриозёмов по отношению к проросткам овса и горчицы показал, что достоверный эффект торможения удлинения корней обнаружен на облесённом хвостохранилище вокруг корней донника и составил 35.2% для овса и 54.4% – для горчицы. Максимальный эффект токсичности

выявлен на участке без растений: 62.1% – для корней овса, 62.2% – для горчицы. На самозарастающем участке в районе угледобычи фитотоксичность эмбриозёмов оказалась слабой для корней овса – эффект токсичности составил лишь 25.1%. Реакция горчицы была схожей с овсом. Фоновая почва корнеобитаемого слоя злаков оказалась нетоксичной ни в одной из проб, несмотря на присутствие загрязнения. Более того, в них проявился эффект стимулирования роста как длины корней, так и высоты ростков овса и горчицы. Абсолютные линейные значения ростков и корней овса существенно превосходили таковые горчицы. Возможно, в корнеобитаемом слое злаков это связано с выделением ими производных мугеиновых кислот, действующих как сидерофоры. Последние мобилизуют нерастворимые ионы тяжёлых металлов из почвы, образуя хелаты.

Проявление высокой фитотоксичности вокруг корней донника на участке облесения рудных хвостов и слабой – на участке самозарастания вскрышных пород, вероятно, обусловлено повышенным содержанием подвижных форм Pb, чему могли способствовать кислые полисахариды и уроновые кислоты. Накопление свинца в корнях бобовых культур отмечалось ранее [Кулик, Радомская, 2011].

Помимо присутствия кислых полисахаридов, усиливающих миграцию металла вокруг корней донника, определённую роль в накоплении валовых форм свинца могли играть щелочные экзополисахариды, которые способны образовывать алюмосиликатные гели и приоритетно сорбировать Pb [Водяницкий, 2011]. Показано, что сорбционная ёмкость полисахаридов по отношению к свинцу выше, чем меди [Сайдова, 2021]. Поставщиком алюмосиликатов в наших пробах являются монтмориллонит и каолинит, которые присутствуют в большом количестве в лессовидных карбонатных суглинках, слагающих основу вскрышных пород. Поэтому вокруг корней донника на участке облесения отходов обогащения железной руды и на самозарастающем участке вскрыши в районе угледобычи условия для временного закрепления свинца не однозначны.

Развитие бактерии *Az. chroococcum* обнаружено в корнеобитаемом слое растений, произрастающих в эмбриозёмах на угле- и рудосодержащих отходах. Однако на облесённом участке хвостохранилища популяция бактерии оказалась гетерогенной, в её составе на участке без растений присутствовали ослизнённые штаммы с антибиотической активностью (7% популяции), вокруг корней злаков – с биолюминисценцией (9% популяции), вокруг корней донника преобладали штаммы с атипичным ризоидным типом роста. В эмбриозёмах в районе угледобычи и в фоновой почве развивались типичные штаммы. Анализ площади ореола роста бактерии вокруг частиц мелкозёма, или комочков, с облесённого хвостохранилища показал, что она увеличивалась в течение 24 и 36 ч., свидетельствуя о размножении бактерии во всех пробах (рис. 2). В пересчёте на 1 мм² комочка, который был источником жизнедеятельных клеток, в первые сутки скорость деления клеток была наибольшей вокруг корней злаков и составила 1.75 мм²/сут., наименьшей – на участке без растений и вокруг корней донника – 1.2 мм²/сут. В последующие 12 ч. интенсивность бинарного деления клеток бактерии возросла на участке без растений на 21%, достигнув 1.53 мм²/сут., вокруг корней злаков увеличилась на 26.5%, достигнув максимальной скорости – 2.38 мм²/сут.

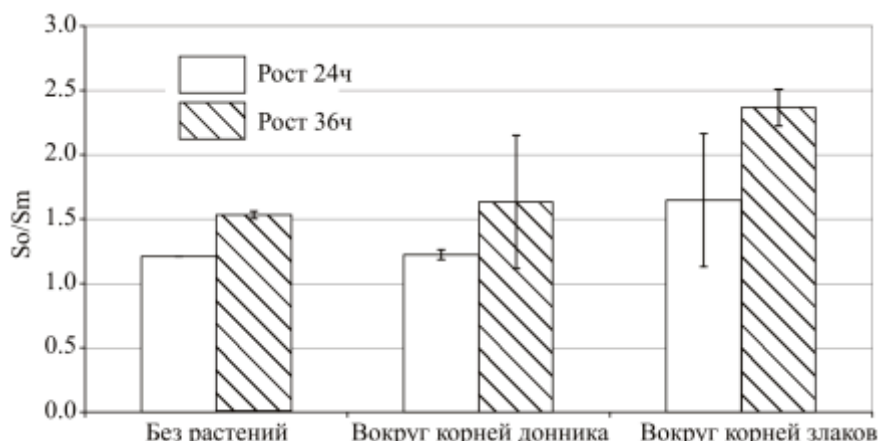


Рис. 2. Рост бактерии в почвоподобных образованиях

[Growth of bacteria in soil-like formations]

В корнеобитаемом слое донника она увеличилась на 30.3%, но скорость роста, 1.75 мм²/сут., уступала по-прежнему таковой вокруг корней злаков. Не исключено, что вокруг корней донника снижение темпов размножения бактерии обусловлено, как и в случае торможения роста проростков фитотестов, присутствием мобильных форм тяжёлых металлов, а также Y и Zr. Их поглощение обнаружено у многих грамположительных и грамотрицательных бактерий [Казак и др., 2018]. При этом штаммы азотобактера могли проявлять высокую устойчивость к Pb(2+) [Maric, Antonijevic, Alagic, 2013] в отличие от Cd(2+),

Cu(2+), Fe(3+), Mn(2+), Zn(2+). Возможно, на снижение активности размножения азотобактера вокруг корней донника могло повлиять присутствие кумарина, который продуцируется донником, и дикумарина, образующегося при разложении корневых и наземных остатков растения [Харлампович, 2015; Бочкарёва, Дьякова, Артемьева, 2016]. Кроме того, негативное действие на бактерию, очевидно, оказывал и As, валовое содержание которого в отходах агломерации железной руды достигало аномально высокой величины – 1100 мг/кг, что в 647 раз превысило уровень кларка в литосфере и в почвах мира (5 мг/кг) [Касимов, Власов, 2015]. Вероятной причиной тому являются гетит и магнетит, присутствующие в избытке, и выступающие эффективными сорбентами 3- и 5-валентного элемента, прочно удерживая их на поверхности [Переломов и др., 2012]. В сорбции соединений мышьяка в углесодержащих вскрышных породах принимают участие иллит, монтмориллонит и каолинит [Goldberg, George, Brown, 2002; Путилина, Галицкая, Юганова, 2011]. В миграции мышьяка большое значение имеет pH среды. Поэтому на участке облесённого хвостохранилища вокруг корней злаков, где актуальная кислотность среды достигла pH = 8.0, сорбция As(V) понижена (она уменьшается при pH выше 6). При этом сорбция As(III) возрастает. В этой связи, 5-валентный As мог связываться полисахаридами бактерии и вовлекаться в восстановительное метилирование с последующим улетучиванием алкиларсина. Представители р. *Aspergillus* и *Candida* способны метаболизировать арсенат, арсенит, метиларсоновую кислоту, ее соли и диметиларсин в летучие формы мышьяка, а некоторые представители рода *Penicillium* – в органические соединения As. Но вокруг корней донника кислотность среды была слабокислой (pH = 5.7). При таком pH происходит осаждение As(V) и железа с формированием минерала скородита ($\text{FeAsO}_4 \times 2\text{H}_2\text{O}$), который слабо растворим [Путилина, Галицкая, Юганова, 2011]. Но арсенит-ионы остаются мобильными. Более того, в период выпадения обильных дождей и в период снеготаяния водорастворимые полисахариды, как растений, так и азотобактера, могут высвобождать арсенит-ион в прикорневую зону. Активная миграция техногенного мышьяка наблюдалась ранее под воздействием атмосферных осадков в легких подзолистых и супесчаных почвах [Шумилова и др., 2014]. Следовательно, биогеохимическая обстановка вокруг корней растений на отходах агломерации железной руды остаётся сложной через 40 лет их облесения. Атипичный рост азотобактера вокруг корней донника свидетельствует о неблагоприятных условиях обитания. Данное заключение находится в согласии с имеющейся информацией о том, что свечение бактерий, синтез вторичных «специализированных метаболитов», в том числе антибиотиков и полисахаридов, индуцируется у гетеротрофных микроорганизмов в неблагоприятной обстановке генами, группирующимися в кластеры [Андрюков, Михайлов, Беседнова, 2019].

Выводы

1. На 40-летних облесённых и самозарастающих участках отвалов углесодержащих вскрышных пород корнеобитаемый слой бобовых и злаковых растений характеризуется концентрациями большинства исследованных токсичных металлов и металлоидов, незначительно превышающими кларки элементов, либо оказываются меньше. Высокое содержание обнаруживают Pb, Y, Zr, Br, As. Вокруг корней донника выявляются максимальные концентрации Pb, вокруг злаков – Br.
2. Корнеобитаемый слой бобовых и злаковых растений на облесённых хвостах агломерации железной руды через 40 лет рекультивации характеризуется аномально высоким содержанием Ca, Fe, Mn, Cr, V, Ni, Cu, Zn, Pb, Sr, Mo, Br, As. Вокруг корней злаков концентрируются Ca, Ni, Cu, Mn, Zn, около корней донника – As.
3. Содержание Сорг. в корнеобитаемом слое бобовых и злаковых растений, произрастающих в эмбриозёмах в районе угледобычи, достигает высокого уровня, близкого фоновой почвы. В районе складирования хвостов агломерации железной руды накопление Сорг. вокруг корней схожих растений замедлено и соответствует очень низкому уровню.
4. Замедленные темпы накопления Сорг. в эмбриозёмах облесённого хвостохранилища вокруг корней донника, злаков и на участке без высших растений обуславливаются остаточной токсичностью, о чём свидетельствует торможение роста фитотестов на ранних стадиях развития, а также гетерогенность популяции азотобактера. Её толерантность к воздействию токсичных металлов и металлоидов обеспечивают штаммы, проявляющие свечение вокруг корней злаков и ризоидный тип роста с плотной слизью – вокруг корней донника. Скорость роста бактерии вокруг корней донника уступала его росту вокруг злаков.
5. Полученные данные расширяют знания об экологической адаптации фитобиомов к техногенному загрязнению, роли фитобиомов в миграции химических элементов в эмбриозёмах на рекультивированных техногенных объектах. Особенности биогеохимии корнеобитаемого слоя могут быть учтены при разработке нейтрализации токсичности и в прогнозах результативности биологической рекультивации.

Список источников

1. Андрюков Б.Г., Михайлов В.В., Беседнова Н.И. Антимикробная активность вторичных метаболитов морских бактерий // Антимикробная активность и химиотерапия. 2019. Т. 64, вып. 7–8. С. 44–45.
2. Артамонова В.С. Эволюция сообществ фототрофных микроорганизмов // Экология и рекультивация техногенных ландшафтов. Новосибирск: Наука, 1992. С. 199–214.
3. Бабошкина С.В. и др. Мышьяк в почвах техногенных ландшафтов Алтая // Ползуновский вестник. Биогеохимия. 2005. Вып. 4. С. 153–156.
4. Бонарцева Г.А. и др. Биосинтез альгинатов бактериями рода *Azotobacter* // Прикладная биохимия и микробиология. 2017. Т. 53, № 1. С. 61–68.
5. Бочкарёва И.И., Дьякова И.Н., Артемьева В.В. Водные и лекарственные формы донника как источника кумаринов // Новые технологии. 2016. № 3. С. 90–94.
6. Водяницкий Ю.Н. Об опасных тяжёлых металлах/металлоидах в почвах // Бюллетень Почвенного института им. В.В. Докучаева. 2011. Вып. 68. С. 56–82. <https://doi.org/10.19047/0136-1694-2011-68-56-82>
7. Волошин Е.И., Аветисян А.Т. Руководство по удобрению многолетних бобовых трав (люцерна, клевер, донник, донник, эспарцет): метод. рекомендации. Красноярск: Крас ГАУ, 2017. 31 с.
8. Гаджиев И.М., Курачев В.М. Генетические и экологические аспекты исследования и классификации почв техногенных ландшафтов // Экология и рекультивация техногенных ландшафтов. Новосибирск: Наука, 1992. С. 6–15.
9. Зенова Г.М. и др. Практикум по биологии почв. М.: Изд-во МГУ, 2002. 120 с.
10. Казак Е.С. и др. Биосорбция редкоземельных элементов и иттрия в водной среде гетеротрофными бактериями // Вестник Московского университета. Сер. 4. Геология. 2018. № 2. С. 73–80.
11. Касимов Н.С., Власов Д.В. Кларки химических элементов как эталоны сравнения в экогеохимии // Вестник Московского университета. Сер. 5. География. 2015. № 2. С. 7–17.
12. Клевенская И.Л. Эволюция микробоценозов и их функций // Экология и рекультивация техногенных ландшафтов. Новосибирск: Наука, 1992. С. 149–199.
13. Кулик Е.Н., Радомская В.И. Особенности трансляции тяжёлых металлов в бобовые культуры при антропогенном воздействии // Вестник КрасГАУ. 2011. № 8. С. 83–88.
14. Ламанова Т.Г., Шеремет Н.В. Агрофитоценозы на отвалах в южной части Кузнецкой котловины. Новосибирск: Офсет, 2010. 226 с.
15. Методы изучения почвенных микроорганизмов и их метаболитов. М.: Изд-во Московского ун-та. 1966. 216 с.
16. Переломов Л.В. и др. Адсорбция и окисление соединений мышьяка минералами железа и в биоминеральных системах // Известия Тульского гос. ун-та. Естественные науки. 2012. Вып. 3. С. 231–241.
17. Путилина В.С., Галицкая И.В., Юганова Т.И. Поведение мышьяка в почвах, горных породах и подземных водах. Трансформация, адсорбция/десорбция, миграция: анализ. обзор. Сер. Экология. Вып. 97. Новосибирск: ГПНТБ СО РАН. 2011. 249 с.
18. Саидова (Мирзоева) Р.С. Сорбционная активность пектиновых полисахаридов к ионам двухвалентных металлов: дис. ... канд. техн. наук. Душанбе, 2021. 124 с.
19. Сэги Й. Методы почвенной микробиологии. М.: Колос, 1983. 296 с.
20. Троц Н.М., Троц В.Б., Обущенко С.В. Аккумуляция тяжёлых металлов зерновыми бобовыми культурами в агроландшафтах Самарского Заволжья // Достижения науки и техники АПК. 2012. № 2. С. 50–51.
21. Уфимцев В.И., Манаков Ю.А., Куприянов А.Н. Методические рекомендации по лесной рекультивации нарушенных земель на предприятиях угольной промышленности в Кузбассе. Кемерово: Ирбис, 2017. 44 с.
22. Федосеева Л.М., Харлампович Т.А. Изучение некоторых водоростворимых соединений донника лекарственного травы (*Melilotus officinalis* L.) // Химия растительного сырья. 2013. № 2. С. 153–157. DOI: 10.14258/jcrpm.1302153.
23. Харлампович Т.А. Фитохимическое изучение и стандартизация донника лекарственного травы, произрастающего на территории Алтайского края: автореф. дис. ... канд. фарм. наук. Пермь, 2015. 22 с.
24. Хотимченко М.Ю. Сорбционные свойства и фармакологическая активность некрахмальных полисахаридов: дис. ... д-ра мед. наук. Владивосток, 2011. 327 с.
25. Шишов Л.Л. и др. Классификация и диагностика почв России. Смоленск: Ойкумена, 2004. 235 с.
26. Шумилова М.А. и др. Подвижность техногенного мышьяка в почвах Удмуртии под воздействием атмосферных осадков // Химическая физика и мезоскопия. 2014. Т. 16, № 4. С. 627–631.
27. Goldberg S., George E., Brown Jr. Competitive Adsorption of Arsenate and Arsenite on Oxides and Clay Minerals // Soil Sci. Soc. Am. J. 2002. № 66. P. 413–421. DOI: 10.2136/SSSAJ2002.4130.

28. Maric M., Antonijevic M., Alagic S. In Vitro effects of various xenobiotics on *Azotobacter chroococcum* strains isolated from soils of southern Poland // Environ Sci. Pollut. Res. Int. 2013. Vol. 20(2). P. 1181–1188. DOI: 10.1007/s11356-012-1007-9.

References

1. Andriukov B.G., Mikhailov V.V., Besednova N.I. [Antimicrobial activity of secondary metabolites of marine bacteria]. *Antimikrobnaja aktivnost' i chimioterapija*. V. 64. Iss. 7-8 (2019): pp. 44-45. (In Russ.).
2. Artamonova V.S. [Evolution of communities of phototrophic microorganisms]. *Èkologija i recultivacija technogennykh landšaftov* [Ecology and recultivation of technogenic landscapes]. Novosibirsk, Nauka Publ., 1992, pp. 199-214. (In Russ.).
3. Baboshkina S.V., Puzanov A.V., Yelchinina O.A., Gorbachev I.V. [Arsenic in soils of technogenic landscapes of Altai]. *Polzunovskij vestnik. Biogeochemija*. Iss. 4 (2005): pp. 153-156. (In Russ.).
4. Bonartseva G.A., Akulina E.A., Myshkina V.L., Voinova V.V., Makhina T.K., Bonartsev A.P. [Biosynthesis of alginates by bacteria of the genus *Azotobacter*]. *Prikladnaja biochimija i mikrobiologija*. V. 53, No 1 (2017): pp. 61-68. (In Russ.).
5. Bochkareva I.I., Dyakov I.N., Artemyeva V.V. [Water and medicinal forms of sweet clover as a source of coumarins]. *Novye technologii*. No 3 (2016): pp. 90-94. (In Russ.).
6. Vodyanitsky Yu.N. [On dangerous heavy metals/metalloids in soils]. *Bjulleten' Počvennogo instituta im. V.V. Dokučeva*. Iss. 68 (2011): pp. 56-82. (In Russ.). <https://doi.org/10.19047/0136-1694-2011-68-56-82>.
7. Voloshin E.I., Avetisyan A.T. *Rukovodstvo po udobreniju mnogoletnich bobovykh trav* [Guidelines for fertilizing perennial legumes (alfalfa, clover, sweet clover, sweet clover, esparcet). Methodological recommendations]. Krasnoyarsk, KrasGAU Publ., 2017. 31 p. (In Russ.).
8. Gadzhiev I.M., Kurachev V.M. [Genetic and ecological aspects of research and classification of soils of technogenic landscapes]. *Èkologija i recultivacija technogennykh landšaftov* [Ecology and recultivation of technogenic landscapes]. Novosibirsk, Nauka Publ., 1992, pp. 6-15. (In Russ.).
9. Zenova G.M., Stepanov A.L., Likhacheva A.A., Manucharova N.A. *Praktikum po biologii počv* [Workshop on soil biology]. Moscow, MGU Publ., 2002. 120 p. (In Russ.).
10. Kazak E.S., Kalitina E.G., Kharitonova N.A., Chelnokov G.A., Yelovsky E.V., Bragin I.V. [Biosorption of rare earth elements and yttrium in an aqueous medium by heterotrophic bacteria]. *Vestnik Moskovskogo universiteta. Ser. 4. Geologija*. No 2 (2018): pp. 73-80. (In Russ.).
11. Kasimov N.S., Vlasov D.V. [Clarks of chemical elements as reference standards in ecogeochemistry]. *Vestnik Moskovskogo universiteta. Ser. 5. Geografija*. No 2 (2015): pp. 7-17. (In Russ.).
12. Klevenkaya I.L. [Evolution of microbocenoses and their functions]. *Èkologija i recultivacija technogennykh landšaftov* [Ecology and recultivation of technogenic landscapes]. Novosibirsk, Nauka Publ., 1992, pp. 149-199. (In Russ.).
13. Kulik E.N., Radomskaya V.I. [Features of heavy metals translation into legumes underanthropogenic impact]. *Vestnik KrasGAU*. No 8 (2011): pp. 83-88. (In Russ.).
14. Lamanova T.G., Sheremet N.V. *Agrofitocenozy na otvalach v južnoj časti Kuzneckoj kotloviny* [Agrophytocenoses on dumps in the southern part of the Kuznetsk basin]. Novosibirsk, Offset Publ., 2010. 226 p. (In Russ.).
15. *Metody izučeniya počvennykh mikroorganizmov i ich metabolitov* [Methods of studying soil microorganisms and their metabolites]. Moscow, MGU Publ., 1966. 216 p. (In Russ.).
16. Perelomov L.V., Perelomova I.V., Levkin N.D., Mukhina N.G., Korzine A., Andreoni V. [Adsorption and oxidation of arsenic compounds by iron minerals and in biomineral systems]. *Izvestija Tul'skogo gosudarstvennogo universiteta. Estestvennye nauki*. Iss. 3 (2012): pp. 231-241. (In Russ.).
17. Putilina V.S., Galitskaya I.V., Yuganova T.I. *Povedenie myš'jaka v počvach, gornych porodach i podzemnykh vodach. Transformacija, adsorbcija/desorbcija, migracija*. [Behavior of arsenic in soils, rocks and groundwater. Transformation, adsorption/desorption, migration. Analytical review]. Ser. Ecology. Iss. 97. Novosibirsk, 2011. 249 p. (In Russ.).
18. Saidova (Mirzoeva) R.S. *Sorbcionnaja aktivnost' pektinovyx polisacharidov k ionam dvuchvalentnykh metallov*. Diss. kand. tech. nauk [Sorption activity of pectin polysaccharides to divalent metal ions. Ph. D. Dissertation]. Dushanbe, 2021. 124 p. (In Russ.).
19. Segi Y. *Metody počvennoj mikrobiologii* [Methods of soil microbiology]. Moscow, Kolos Publ., 1983. 296 p. (In Russ.).
20. Trots N.M., Trots V.B., Obushchenko S.V. [Accumulation of heavy metals by grain legumes in agricultural landscapes of the Samara Volga region]. *Dostiženija nauki i tehniki APK*. No 2 (2012): pp. 50-51. (In Russ.).
21. Ufimtsev V.I., Manakov Yu.A., Kupriyanov A.N. *Metodičeskie rekomendacii po lesnoj rekultivacii narušennykh zemel' na predpriyatiyach ugol'noj promyšlennosti v Kuzbasse* [Methodological recommendations on forest reclamation of disturbed lands at coal industry enterprises in Kuzbass]. Kemerovo, Irbis Publ., 2017. 44 p. (In Russ.).

22. Fedoseeva L.M., Kharlampovich T.A. [Study of some water-soluble compounds of sweet clover medicinal herb (*Melilotus officinalis* L.)]. *Chimija rastitel'nogo syr'ja*. No 2 (2013): pp. 153-157. DOI: 10.14258/jcprm.1302153. (In Russ.).
23. Kharlampovich T.A. *Fitochemičeskoe izučenie i standartizacija donnika lekarstvennogo travy, proizrasajuščego na territorii Altajskogo kraja*. Avtoref. dis. kand. farm. nauk [Phytochemical study and standardization of the medicinal herb clover growing on the territory of the Altai Territory. Abstract Cand. Diss.]. Perm, 2015. 22 p. (In Russ.).
24. Khotimchenko M.Y. *Sorbcionnye svojstva i farmakologičeskaja aktivnost' nekrachmal'nych polisacharidov*. Diss. Doct. Med. Nauk [Sorption properties and pharmacological activity of non-starch Polysaccharides. Dissertation]. Vladivostok, 2011. 327 p. (In Russ.).
25. Shishov L.L. et al. *Klassifikacija i diagnostika počv Rossii* [Classification and diagnostics of soils of Russia]. Smolensk, Ojkumena Publ., 2004. 342 p. (In Russ.).
26. Shumilova M.A., Petrov V.G., Nabokova O.S., Karpova A.Yu. [Mobility of technogenic arsenic in the soils of Udmurtia under the influence of atmospheric precipitation]. *Chimičeskaja fizika i mezoskopijja*. V. 16, No 4 (2014): pp. 627-631. (In Russ.).
27. Goldberg S., George E., Brown Jr. Competitive Adsorption of Arsenate and Arsenite on Oxides and Clay Minerals. *Soil Sci. Soc. Am. J.* No 66 (2002): pp. 413-421. DOI: 10.2136/SSSAJ2002.4130.
28. Maric M., Antonijević M., Alagic S. In Vitro effects of various xenobiotics on *Azotobacter chroococcum* strains isolated from soils of southern Poland. *Environ Sci. Pollut. Res. Int.* V. 20(2) (2013): pp. 1181-1188. DOI: 10.1007/s11356-012-1007-9.

Статья поступила в редакцию 15.03.2022; одобрена после рецензирования 23.05.2022; принята к публикации 21.06.2022.

The article was submitted 15.03.2022; approved after reviewing 23.05.2022; accepted for publication 21.06.2022.

Информация об авторах

В. С. Артамонова – д-р биол. наук, доцент, ведущий научный сотрудник лаб. рекультивации почв;

С. Б. Бортникова – д-р геолого-минералогических наук, профессор, зав. лабораторией геоэлектрoхимии.

Information about the authors

V. S. Artamonova – doctor of biology, associate professor, leading researcher of the Department of soil reclamation;

S. B. Bortnikova – doctor geology, professor, head of the Department of Geoelectrochemistry.

Вклад авторов:

Артамонова В. С. – концепция исследования; развитие методологии; написание исходного текста; итоговые выводы.

Бортникова С. Б. – доработка текста; статистическая обработка материала; итоговые выводы.

Contribution of the authors:

Artamonova V. S. – research concept; methodology development; writing the draft; conclusions.

Bortnikova S. B. – follow on revision of the text; statistical processing of the material; conclusions.

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

The authors declare no conflicts of interests.

ПЕРСОНАЛИИ

Памяти Валентины Александровны Верещагиной (22.02.1937–24.01.2020)

Лариса Викторовна Новоселова¹

¹ Пермский государственный национальный исследовательский университет, Пермь, Россия,
Novoselova@psu.ru, <http://orcid.org/0000-0001-9470-4065>

PERSONALITIES

The memory of Valentina A. Vereshchagina (22.02.1937–24.01.2020)

Larisa V. Novoselova¹

¹Perm State University, Perm, Russia, Novoselova@psu.ru, <http://orcid.org/0000-0001-9470-4065>



Валентина Александровна Верещагина родилась в с. Елизавета-Пожва Чёрмозского р-на Пермской обл. В 1959 г. с отличием окончила биологический факультет Пермского государственного университета им. А.М. Горького. По распределению работала учителем биологии в школах г. Свердловска. В 1962 г. поступила в аспирантуру при кафедре морфологии и систематики растений (научный руководитель – профессор А.Н. Пономарев). В 1966 г. защитила кандидатскую диссертацию на тему «Антэкология растений темнохвойной тайги» в Пермском государственном университете, в 1981 г. – докторскую диссертацию на тему «Гинодиэция, клейстогамия и гетеростилия у покрытосеменных (морфологические и эмбриологические аспекты)» в Ботаническом институте АН СССР (г. Ленинград). В 1983 г. ей присвоено учёное звание профессора. Двадцать лет, с 1981 по 2002 г. заведовала кафедрой морфологии и систематики растений (после переименования – кафедрой ботаники и генетики растений). Пять лет, с 1983 по 1988 гг., Валентина Александровна – декан биологического факультета Пермского университета.

В. А. Верещагина – опытный педагог, разработала и с блеском читала ряд учебных дисциплин: «Цитология», «Генетика и селекция», «Эмбриология растений», «Генетические ресурсы растений и селекция» и другие.

Профессор Верещагина всегда отдавала дань глубокого уважения своим великим Учителям, она говорила о счастье слушать лекции замечательных генетиков и доносить полученные знания до студентов. Вспоминала, что курс радиационной генетики она слушала у Н.В. Тимофеева-Ресовского, цитогенетики – у А.А. Прокофьевой-Бельговской, биохимии нуклеиновых кислот – у академика А.Н. Белозерского, мутагенеза – у И.А. Захарова. В её памяти были яркие выступления Н.П. Дубинина, Н.П. Бочкова, Б.Л. Астаурова, В.П. Эфромсона. Всю жизнь Валентина Александровна была благодарна эмбриологам Всесоюзного института растениеводства (ВИР), Ботанического института им. В.П. Комарова АН СССР (БИН), Московского государственного университета (МГУ) за квалифицированные консультации и под-

держку. Эмбриологию на курсах повышения квалификации в МГУ читала Вера Алексеевна Поддубная-Арнольди – ведущий специалист в СССР и России по систематике, биологии и эмбриологии цветковых растений, у которой Валентина Александровна прошла полный курс эмбриологии с практикумом и с которой долгие годы поддерживала очень теплые отношения. В ВИРе, в лаборатории цитологии у Ивана Дмитриевича Романова, Валентина Александровна получила опыт для создания лаборатории цитологии в Перми; затем было многолетнее научное общение с Ларисой Ивановной Орел, заведующей лабораторией после И.Д. Романова. В.А. Верещагина прошла повышение квалификации в Московском и Ленинградском университетах, научную стажировку в институте цитологии и генетики Сибирского отделения Академии наук (г. Новосибирск), БИНе и ВИРе (г. Санкт-Петербург), Оксфордском университете (Великобритания). И сама профессор В.А. Верещагина стала Учителем для многих своих учеников.

Валентина Александровна рассказывала о своих экспедициях в Печеро-Илычский заповедник, где сохранялась нетронутая северная тайга, где медведи ворошили муравейники поблизости от места наблюдений, а Валентина Александровна со студентками, тем не менее, изучали ритмику цветения «верной свиты темнохвойного леса» круглосуточно. Она вспоминала экспедиции в Азербайджан, на границу с Ираном, в Центрально-Черноземный заповедник, на Северный Кавказ, по родному Прикамью.

В.А. Верещагина опубликовала учебные пособия «Генетика с основами селекции», «Генетические ресурсы и селекция»; учебное пособие «Основы общей цитологии» с грифом Министерства образования и науки РФ, которое вышло третьим изданием в 2009 г., а в 2012 г. был опубликован учебник для вузов «Цитология» в издательском центре «Академия».

Валентина Александровна являлась основателем специализации на кафедре ботаники и генетики растений «Генетика и селекция» и автором магистерской программы «Генетика» в Пермском университете. Область её научных интересов – репродуктивная биология растений (цитологические и генетические аспекты), она опубликовала более 140 научных публикаций. Под научным руководством В.А. Верещагиной защищено 9 кандидатских и 2 докторские диссертации.

Организатор нескольких республиканских совещаний и двух симпозиумов по репродуктивной биологии, проведенных в ПГУ; участник международных научных конгрессов и симпозиумов.

С 1995 по 2001 гг. она была главным редактором выпуска Биология научного журнала «Вестник Пермского университета».

С 1995 г. Валентина Александровна успешно возглавляла диссертационный совет по защите кандидатских диссертаций по специальности «Ботаника»; с 2001 по 2015 гг. она была председателем диссертационного совета по защите докторских и кандидатских диссертаций по специальностям «Ботаника» и «Экология», в котором прошло более 100 защит.

Все диссертанты отмечали мудрость, справедливость, доброжелательность и профессионализм председателя и членов совета.

С 1995 г. В.А. Верещагина – действительный член Международной академии наук экологии и безопасности жизнедеятельности.

Валентина Александровна получила почётное звание «Заслуженный работник высшей школы РФ» и медаль «Ветеран труда» за многолетнюю работу в Пермском университете и заслуги в учебной, научной и общественной деятельности. В 2008 г. ей присвоено звание «Заслуженный профессор Пермского государственного университета». По результатам конкурса за лучшую научно-исследовательскую работу в 2008 г. награждена дипломом лауреата Пермского государственного университета в области биологических наук.

В 2006 г. общественные организации города назвали В. А. Верещагину «Женщиной года» в номинации «Королева науки». В 2011 г. решением Президиума РАЕН профессору В.А. Верещагиной присвоено почетное звание «Основатель научной школы «Репродуктивная биология ресурсных растений в целях селекции в Пермском университете».

За существенный вклад в изучение эмбриологии растений заслуженный профессор Пермского университета В.А. Верещагина удостоена медали Сергея Навашина. О присуждении награды стало известно 14 октября, в день 100-летия университета, на торжественном закрытии V Международной школы для молодых ученых «Эмбриология, генетика, биотехнология», которая прошла с 9 по 14 октября 2016 г. в г. Санкт-Петербурге под эгидой Ботанического института РАН им. В.Л. Комарова и Русского ботанического общества.

Увлечение Валентины Александровны – аранжировка цветов. Она получила базовое образование в школе «Николь» и у Моник Готьё (г. Париж). Участник и дипломант международных конкурсов аранжировщиков цветов; участник 7-й Всемирной олимпиады по аранжировке цветов в Шотландии (Глазго, 2002 г.). Она издала первый отечественный учебник «Аранжировка цветов для начинающих», особенностью которого является использование растений отечественной флоры. Мастер международного класса, судья международного класса; единственная из российских мастеров в качестве судьи представляла Россию на 8-й Всемирной олимпиаде аранжировщиков цветов в Японии (Иокогама, 2005 г.).

Выставка «Памяти заслуженного профессора Пермского университета В.А. Верещагиной» прошла в феврале-марте 2020 г., она была организована кафедрой ботаники и генетики растений (куратор Новоселова Л.В.) и Научной библиотекой ПГНИУ при участии художника университета Любови Писорогло и сотрудника научной библиотеки ПГНИУ Натальи Артамоновой. По отзывам, выставка оказалась многогранной, как и личность Валентины Александровны, уникально одарённого человека, талантливого учёного, автора многих научных работ, основателя научной школы, опытного педагога, талантливого художника. Созданные ею работы и флористические композиции демонстрировали не только глубину таланта и одаренности, но и любовь к ботанике. Валентина Александровна любила цветы и все, что с ними связано. Она была прекрасным человеком, искренне любила своих учеников, всегда интересовалась их успехами, искренне им радовалась; ученики с благодарностью принимали её мудрые советы и считают, что им повезло, что именно Валентина Александровна встретила в начале их пути в науке, и потеря этого человека и учёного невосполнима.

Валентина Александровна Верещагина имела крепкую семью и всегда говорила о надёжном плече супруга Анатолия Николаевича, профессора Пермского университета, доктора физико-математических наук, которого знала со школьных лет; любимых и любящих сыновей Юрия и Николая с невестками Ольгой и Ладой, внука Владислава и двух внуков Александру и Марию. Именно Мария сделала фито-композиции на выставку памяти, как учила её бабушка.

В.А. Верещагина служила Пермскому университету 57 лет, она была прекрасным учёным и педагогом, добрым, светлым, талантливым и отзывчивым человеком. Все сотрудники и студенты будут помнить её и чтить её память многие, многие годы.

Список основных публикаций В.А. Верещагиной

1961. Материалы к изучению микориз некоторых злаков, произрастающих в степной полосе. Учен. зап. Пермского гос. ун-та (соавтор).
1965. Экология цветения и опыления *Oxalis acetosella* L. // Ботан. журн.
1969. Антэкология растений темнохвойной тайги // Вопросы антэкологии: материалы к симпозиуму по антэкологии. Пермь.
1973. Мейоз и микроспорогенез у некоторых бурачниковых и губоцветных с устойчивой мужской стерильностью // Половой процесс и эмбриогенез растений: материалы Всесоюз. симпозиум. Москва.
1978. Цитозембриология разных половых форм цветков у гинодиэичных растений //7 Всесоюз. симпозиум по эмбриологии растений. Киев.
1980. Эмбриология некоторых клейстогамных фиалок // Ботан. журн.
1983. Семейство Violaceae // Сравнительная эмбриология цветковых растений.
1985. Семейство Oxalidaceae // Сравнительная эмбриология цветковых растений.
1987. Семейство Boraginaceae // Сравнительная эмбриология цветковых растений.
1988. Растительный мир Прикамья. Пермь (соавтор).
1990. On the Study of Reproduction Biology of *Medicago* L. // XIth International Symposium Embryology and Seed Reproduction. Leningrad (соавтор).
1995. Репродуктивная биология орхидных Урала. Цветение и опыление *Calipso bulbosa* (L.) Oakes // Вестник Пермского университета (соавтор).
1997. Наследование некоторых маркерных признаков у карликовых линий подсолнечника (*Helianthus annuus* L.) // Вестник Пермского университета (соавтор).
1998. The fertility of ovules of annual and perennial species *Medicago* L. // Abstracts of XV International Congress on sexual plant reproduction. Wageningen, Netherlands.
2000. Некоторые данные по биологии размножения ветрениц лютиковой и уральской // Вестник Пермского университета (соавтор).
2001. Растения Прикамья: учеб. пособие. Пермь (соавтор).
2004. Репродуктивная биология видов рода *Medicago* L. Пермь (монография, соавтор).
2016. История изучения репродуктивной биологии и генетических ресурсов в Перми // Эмбриология, генетика и биотехнология: материалы 5 межд. школы для молодых ученых. СПб (соавтор).

Публикации о В.А. Верещагиной

Валентина Александровна Верещагина // Профессора Пермского университета. Пермь, 1991. С. 144–146.

Валентина Александровна Верещагина // Профессора Пермского государственного университета (2016–2001). Пермь, 2001. С. 172–173.

Проскурнин В. Украсить землю цветами – значит украсить её любовью // Университет. 2005. С. 78–83.
Журавлев С.Ф. Этюды оптимизма (о Верещагиной Валентине Александровне) // От мира сего: портреты ученых на фоне времени. Пермь, 2006. С. 64–87.

Мазитов Я. Вся моя жизнь – цветы // Университет. 2008. С 62–65.

Валентина Александровна Верещагина // Профессора Пермского государственного университета (2016–2016). Пермь, 2016. С. 136.

Валентина Александровна Верещагина в фильме «По направлению в будущее. Пермский университет». URL: <https://www.youtube.com/watch?v=6FTTgtCkYEc>

Статья поступила в редакцию 03.05.2022; одобрена после рецензирования 07.06.2022; принята к публикации 21.06.2022.

The article was submitted 03.05.2022; approved after reviewing 07.06.2022; accepted for publication 21.06.2022.

Информация об авторах

Л. В. Новоселова – д-р биол. наук, доцент, профессор кафедры ботаники и генетики растений.

Information about the authors

L. V. Novoselova – doctor of biology, associate professor, professor of the Department of Botany and Plant Genetics.

ПРАВИЛА ОФОРМЛЕНИЯ СТАТЕЙ ДЛЯ ОПУБЛИКОВАНИЯ ИХ В ЖУРНАЛЕ «ВЕСТНИК ПЕРМСКОГО УНИВЕРСИТЕТА. СЕРИЯ БИОЛОГИЯ»

Редакционная коллегия научного журнала «Вестник Пермского университета. Серия Биология» просит авторов руководствоваться ГОСТ Р 7.0.7–2021 при подготовке рукописи к печати.

1. Оформление рукописи

1.1. Статья должна быть представлена в электронном виде (на диске или по электронной почте) и обязательно в виде распечатанной на принтере копии формата А4. Электронная версия записывается в формате Microsoft Word (версии **6.0, 7.0, 97, 2003**) или RTF. Размеры верхнего и нижнего полей – 2.6 см, правого и левого – 2.5 см. Расстояние до верхнего и нижнего колонтитулов – 1.25 см. Шрифт Times New Roman. Межстрочный интервал – одинарный. Абзацный отступ – 0.5 см. При оформлении статьи необходимо различать дефис (-) и тире (–). В качестве знака «минус» надо использовать тире, а в качестве разделителя в десятичных дробях – точку (а не запятую). В тексте статьи использовать кавычки «ёлочка». Переносы в словах делать только в тексте статьи, не допускаются переносы в названии статьи, заголовках всех уровней и названиях таблиц. Страницы должны иметь сквозную нумерацию.

1.2. Статьи без списка процитированной литературы не рассматриваются. Список цитированной литературы должен включать, как правило, не менее 10–15 публикаций. Коэффициент самоцитирования не должен превышать 30%.

1.3. Рукописи должны быть тщательно выверены и отредактированы автором (авторами). При этом материал должен быть структурирован, изложен ясно и последовательно.

1.4. Рукопись статьи должна быть подписана авторами.

1.5. Объём рукописи статьи (включая таблицы, рисунки, подписи к рисункам, библиографический список) не должен быть более 15 с., для информационных публикаций и рецензий – 1–5 с., кратких сообщений – 1–3 с. Суммарный объём таблиц и рисунков не должен превышать 1/3 объёма статьи.

1.6. Общий порядок расположения частей статьи и их оформление (смотри образец):

- Раздел журнала.
- Тип статьи (научная, обзорная, редакционная,

статья, персоналии, рецензия на книгу, рецензия на статью, краткое сообщение)

- УДК (размер шрифта 12, курсив).
- Название статьи (размер шрифта 14 полужирный, как в предложениях).
- Имя, отчество и фамилия автора (авторов) (размер шрифта 12, полужирный).
- Места работы авторов (размер шрифта 10 пт), электронная почта и ORCID (приводят в форме электронного адреса в сети «Интернет»), адрес электронной почты (обязательно, одного из авторов указывают в качестве автора, ответственного за переписку).
- Аннотация (размер шрифта 10, объём до 250 слов; она должна включать краткую информацию о целях, объекте и методах исследования, краткие результаты и заключение).
- Словосочетание «Ключевые слова» (размер шрифта 10, полужирный курсив), сами ключевые слова (до 15 слов, прямым светлым шрифтом) должны отделяться друг от друга запятой.
- Имя, отчество и фамилии, места работы авторов, название статьи, её аннотация и ключевые слова на английском языке должны полностью соответствовать шрифтам и объёму на русском языке.
- Текст статьи. В статьях экспериментального характера должны быть выделены разделы: **Введение** (можно без заголовка), **Материалы (или Объект) и методы исследований, Результаты и их обсуждение, Выводы (или Заключение)**. Набор текста статьи производится в одну колонку. Основной текст набирается шрифтом Times New Roman Суг, размер – 10 пт. Латинские названия таксонов (до семейства включительно) должны быть набраны *курсивом* (кроме авторов таксонов). Литературные ссылки даются на фамилии авторов и располагаются в хронологическом порядке.
- Заголовки разделов набрать в левый край, размер шрифта 12, полужирн. строчные. Заголовки подразделов, если таковые есть, набираются в левый край (размер шрифта 10, жирн. курсив).
- Благодарности и финансирование (размер шрифта 10).
- Список литературных источников (размер шрифта 10). Литературные источники в списке

приводятся по алфавиту; сначала на кириллице, затем на латинице; нумерация источников сквозная.

- Пристатейный список литературы на латинице (References), помещается сразу за Библиографическим списком, либо вместе с другой англоязычной частью, размещаемой за статьей. Не допускается смешивать русскоязычную и англоязычную часть в одной ссылке, точно также, как сокращать русскоязычный список литературных источников, перенося все англоязычные ссылки в References. Нумерация источников должна соответствовать русскоязычному списку.

- Поступила в редакцию (дата ставится ответственным редактором выпуска, размер шрифта 10).

- Ф.И.О. автора или всех авторов (полностью, без сокращений), учёная степень, учёное звание и должность каждого автора. Сведения о вкладе каждого автора, если статья имеет несколько авторов. Этим сведениям предшествуют слова «Вклад авторов:» (“Contribution of the authors:”). После фамилии и инициалов автора в краткой форме описывается его личный вклад в написание статьи

Оформление формул, рисунков и таблиц. Формулы набираются в редакторе Microsoft Equation с выравниванием по центру и пробелами сверху и снизу по 6 пт (номер формулы, если формул несколько, выравнивается по правому краю колонки). Размеры и начертание всех элементов формул должны быть одинаковыми с их представлением в тексте (основной размер 10 пт, индексы 7 пт, например, A_i). В тексте статьи и в математических уравнениях коэффициенты и аргументы функций набираются *наклонным* шрифтом, векторы – *наклонным жирным* шрифтом, цифры – обычным прямым шрифтом. Если уравнение не входит в одну строку, то его можно разбить на две или более строк. Химические символы и формулы набираются прямым шрифтом.

Таблицы и рисунки нумеруются в порядке упоминания их в тексте, каждая таблица и рисунок должны иметь свой заголовок. Надписи и подписи к таблицам и рисункам приводят на языке текста статьи и повторяют на английском языке. Заголовок таблицы обязателен и набирается полужирным строчным, размер шрифта 10 пт; текст таблицы набирается шрифтом размером 10 или 9 пт. Если в заголовке используются латинские названия таксонов, они набираются *курсивом*. Все столбцы должны иметь заголовки. Цифры в столбцах таблицы должны быть выровнены по точке десятичных дробей или по единице младшего разряда. Таблица может сопровождаться примечаниями. Таблицы в альбомном формате не допускаются.

Рисунки следует делать экономно, если они выполнены из отдельных элементов, то должны быть сгруппированы. Подписи к рисункам обязательны и набираются обычным прямым текстом размером

шрифта 10 пт; обозначения и примечание к рисунку – размер шрифта 9 пт. Названия таксонов в подписях даются только по латыни, *курсивом*. Оригиналы рисунков должны представлять собой файлы форматов gif, jpg либо tif. Авторам следует учесть, что в журнале не предусмотрена цветная печать, поэтому рисунки, как правило, должны быть монохромными. За потерю качества при типографской печати цветных оригиналов редакция ответственности не несёт.

Следует избегать прямого импорта диаграмм в электронный оригинал статьи из редактора MS Excel и ему подобных путём копирования и вставки. Не допускается вставка со связью с оригиналом. Данные диаграммы должны быть доработаны автором в графическом редакторе.

При использовании для создания в тексте статьи схем и диаграмм встроенного графического редактора MS Word по окончании работы над изображением обязательно группируйте все его объекты в формате gif, jpg либо tif. Рамки вокруг изображений, в т. ч. диаграмм и легенд диаграмм, не допускаются. Рекомендуется обращать особое внимание на контрастность рисунков во избежание потерь информации при печати. В случае недостаточной контрастности исходных материалов она может быть повышена в графическом редакторе. Следует избегать большого числа цветов (полутон) на изображении, а также выбора близких тонов заливки рядом расположенных элементов изображения.

Единственный в статье рисунок (*или* единственная таблица) должен иметь только заголовок и не обозначаться как рис. 1 (*или* табл. 1).

Если таблица не помещается на одну страницу, то на следующей странице - «Продолжение (или Окончание) табл. 1».

Сокращения. Разрешаются лишь общепринятые сокращения - названия мер, физических, химических и математических величин и терминов и т.п. Все сокращения должны быть расшифрованы, за исключением небольшого числа общеупотребительных. Названия учреждений при первом упоминании их в тексте даются полностью и сразу же в скобках приводится общепринятое сокращение; при повторных упоминаниях даётся сокращённое название учреждений. *Пример:* Пермский государственный национальный исследовательский университет (ПГНИУ), повторно – ПГНИУ, в Гербарии ПГНИУ и т.д.

Благодарности. В этой рубрике выражается признательность частным лицам, сотрудникам учреждений и фондам, оказавшим содействие в проведении исследований и подготовке статьи, а также указываются источники финансирования научных исследований, если таковые имеются.

Оформление списка литературы. Убедительно просим при оформлении статей руководствоваться новыми правилами. Список литературы должен быть

оформлен строго в соответствии с ГОСТ Р 7.0.5-2008 «Библиографическая ссылка».

Для связи библиографических ссылок с текстом статьи используют идентифицирующие сведения: фамилия автора (авторов) или название публикации, год издания, при необходимости страницу; отсылки в тексте заключают в квадратные скобки [Israeli, Shaffer, Lighthart, 1993, с. 142]. Названия периодических изданий **не сокращаются**. За правильность и полноту предоставления библиографических данных ответственность несёт автор.

Внимание! Единственным критерием для публикации в журнале «Вестник Пермского университета. Серия Биология» является научный уровень работы, выявляемый при её рецензировании.

2. Представление и редакционная подготовка рукописи

Рукопись может быть представлена лично, прислана на почтовый адрес редакции или по электронной почте (vestnik_psu_bio@mail.ru). Рукопись регистрируется при получении ответственным секретарем журнала. К рукописи прикладывается **Лицензионный договор**.

Автором(ами) подписывается договор о согласии на использование статьи в открытой печати. Авторы гарантируют, что статья является оригинальным произведением, ранее не публиковалась, и они обладают исключительными авторскими правами на неё. Форма Лицензионного договора находится на сайте журнала (<http://www.psu.ru/nauchnye-zhurnaly/series-biology>).

Статья аспиранта (без соавторов) должна иметь отзыв научного руководителя.

Вместе со статьей подается ее электронный вариант, названный по фамилии автора(ов), например, Иванов, Петров, Сидоров.doc. Для литературного и технического редактирования представляется печатный вариант статьи со всеми необходимыми элементами, с текстом, размещенным в одну колонку, отпечатанный 12 размером шрифта с межстрочным интервалом 1.5.

Рукопись должна быть тщательно выверена, отредактирована и подписана автором(ами).

После получения редакцией статьи, она направляется на рецензирование. При наличии замечаний к рукописи она отсылается автору (авторам) на доработку.

Рукописи рассматриваются в порядке их поступления в течение 1–6 месяцев в зависимости от сложности ситуации и объема работы.

После редакционной правки рукопись при необходимости возвращается автору для согласования (срок – не более 2 дней). После исправления всех замечаний автор подписывает статью к печати.

Для правильного оформления статьи используйте электронную форму настоящих правил последнего выпуска, выложенного на сайте журнала.

Редакционная коллегия

БОТАНИКА

УДК 581.9

Научная статья

Название статьи

И. И. Иванов^{1✉}, П. П. Петров², С. С. Сидоров³

^{1✉} Пермский государственный национальный исследовательский университет, Пермь, Россия

² Московский государственный университет, Москва, Россия

³ Институт экологии и генетики микроорганизмов УрО РАН, Пермь, Россия

Аннотация. В аннотации (реферате) отражается основное содержание статьи. Аннотация должна содержать не более 250 слов. Например: определён показатель жизнеспособности лиофилизированных культур *Rhodococcus* ssp. после длительного хранения, достаточный для восстановления клеточной популяции. Консервацию алканотрофных родококков рекомендовано производить в условиях предварительного их культивирования на питательных средах. Ключевых слов или словосочетаний должно быть не более 15; они должны отделяться друг от друга запятой, точка не ставится.

Ключевые слова: оформление, статья, правила

Благодарности: текст. Текст. Текст. Текст. Текст. Текст. Текст. Текст.

BOTANY

Original article

The title of the article

I. I. Ivanov^{1✉}, P. P. Petrov², S. S. Sidorov³

^{1✉} Perm State University, Perm, Russia

² Moscow State University, Moscow, Russia

³ Institute of Ecology and Genetics of Microorganisms of the Ural Branch RAS, Perm, Russia

Abstract. Viability level necessary to recover cell populations upon long-term storage was measured. It is recommended to preserve alkanotrophic rhodococci pre-cultivated on nutrient hydrocarbon-containing media. The duration of rhodococci storage could be increased using protectants. The most effective lyoprotectants are shown to be a sucrose-gelatine agar or gelatine agar supplemented with *Rhodococcus*-biosurfactants.

Key words: actinobacteria, *Rhodococcus*, biosurfactants

Acknowledgments: text. Text. Text. Text. Text. Text. Text. Text. Text.

Введение

Текст. Текст. Текст. Текст. Текст [Автор, Автор, Автор, 2012; Автор, 2014].

Текст. Текст. Текст [Автор, Автор, Автор, 1992; Автор, 2001]. Текст. Текст.

Текст. Текст. Текст. Текст. Текст. Текст. Текст. Текст.

Материал и методы исследования

Материал

Текст. Текст. Текст. Текст. Текст. Текст. Текст. Текст.

Текст. Текст. Текст. Текст. Текст. Текст. Текст. Текст.

Методы исследования

Текст. Текст. Текст. Текст. Текст [Автор, Автор, Автор, 1999; Author, 2012].

Текст. Текст. Текст [Author, Author, 1992; Автор, 2000]. Текст. Текст.

Результаты и их обсуждение

Текст. Текст. Текст. Текст. Текст (рис. 1). Текст. Текст. Текст.

Текст. Текст. Текст (рис. 2, табл. 1). Текст. Текст. Текст. Текст. Текст.
Текст. Текст. Текст. Текст. Текст. Текст. Текст. Текст. Текст (формула 1)

$$a = \operatorname{th} x + \int\limits_a^b f(x)dx + \operatorname{ch} x - 25 \sum\limits_{i=1}^N k_i A_i . \qquad (1)$$

где текст, текст, текст.
Текст. Текст. Текст. Текст (табл. 2). Текст. Текст. Текст. Текст.
Текст. Текст. Текст. Текст (табл. 2). Текст. Текст. Текст. Текст.
Текст. Текст. Текст [Author, 2010]. Текст. Текст. Текст. Текст. Текст. Текст. Текст.

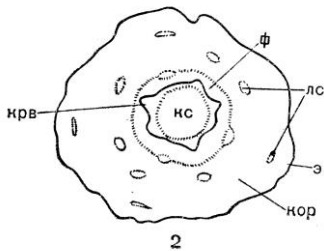


Рис. 1. Название рисунка:
кор – название, крв – название, кс – название, лс – название, ф – название, э – название

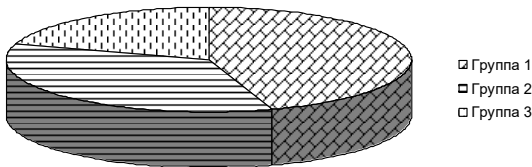


Рис. 2. Название рисунка:
1 – Группа 1 – название, 2 – Группа 2 – название, 3 – Группа 3 – название

Таблица 1

Пример оформления таблицы и заголовка к ней для объекта X

Область оценки	Дисперсия сигнала (D)	v (МГц)	Среднее
А	79	8.91*	5.6
Б	170	13.0	208.0
В	165	12.8	124.05

*Текст примечания.

Текст. Текст. Текст. Текст. Текст. Текст. Текст. Текст.

Выводы (Заключение)

Текст. Текст. Текст. Текст. Текст. Текст. Текст. Текст.

Список источников

1. Автор И.О. Заголовок // Источник. Год публикации. Том, номер. Страницы.
2. Автор И.О., Автор И.О. Заголовок // Источник. Год публикации. Том, номер. Страницы.
3. Заголовок / Автор И.О. и др. // Источник. Место публикации, год публикации. Страницы.
4. Author N., Author N. Title // Place of publication. Year Published. Volume Number, Issue Number. Page Numbers.
5. Author N. Title // Place of publication, Year Published. Page Numbers.
6. Title // Place of publication, Year Published. Page Numbers.

References

1. Last Name, First Name. Title of Book. Publisher City: Publisher Name, Year Published. Page Numbers.

-
2. Last Name, First Name. [Title] *Journal Name* Volume Number, Issue Number (Year Published): Page Numbers. (In Russ.).
 3. Last Name, First Name. [Title] *Journal Name* Volume Number, Issue Number (Year Published): Page Numbers.
 4. Last Name, First Name. *Title of Book*. Publisher City: Publisher Name, Year Published. Page Numbers. (In Russ.).
 - ...

Об авторах

Иванов Иван Иванович, доктор биологических наук, профессор, зав. кафедрой
Пермский государственный национальный исследовательский университет
ORCID: <https://orcid.org/XXXX-XXXX-XXXX-XXXX>
ivanovii@mail.ru; (342)2396233

Петров Петр Петрович, кандидат биологических наук, доцент
Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова
ORCID: <https://orcid.org/XXXX-XXXX-XXXX-XXXX>
PPetrov@yandex.ru; (095)3764812

Сидоров Семен Семенович, инженер
Институт экологии и генетики микроорганизмов УрО РАН
ORCID: <https://orcid.org/XXXX-XXXX-XXXX-XXXX>
Sid709@iegm.ru; (342)2876328

Вклад авторов:

Иванов И. И. – научное руководство; концепция исследования; развитие методологии; написание исходного текста; итоговые выводы.

Петров П. П. – доработка текста; итоговые выводы.

Сидоров С. С. – статистическая обработка материала.

Contribution of the authors:

Ivanov I. I. – scientific management; research concept; methodology development; writing the draft; conclusions.

Petrov P.P. – followon revision of the text; conclusions.

Sidorov S. S. – statistical processing of the material.

Поступила в редакцию 00.00.202_
About the authors

Ivanov Ivan Ivanovich, doctor of biology, professor, head of the Department
Perm State University
ORCID: <https://orcid.org/XXXX-XXXX-XXXX-XXXX>
ivanovii@mail.ru; (342)2396233

Petrov Petr Petrovich, candidate of biology, associate professor
Lomonosov Moscow State University
ORCID: <https://orcid.org/XXXX-XXXX-XXXX-XXXX>
PPetrov@yandex.ru; (095)3764812

Sidorov Semyon Semyonovich, engineer
Institute of Ecology and Genetics of Microorganism UB RAS
ORCID: <https://orcid.org/XXXX-XXXX-XXXX-XXXX>
Sid709@iegm.ru; (342)2876328

Вестник Пермского университета
БИОЛОГИЯ
2022. Выпуск 2

Bulletin of Perm University
BIOLOGY
2022. Issue 2

Научное издание

Редактор *Л. Л. Савенкова*

Корректор *Л. Л. Соболева*

Компьютерная верстка *С. А. Овеснова*

Подписано в печать 21.06.2022. Выход в свет 02.08.2022. Формат 60×84¹/₈.
Усл. печ. л. 10,7. Тираж 500 экз. Заказ № 97/2022.

Издательский центр Пермского государственного национального исследовательского
университета
614990, г. Пермь, ул. Букирева, 15

Отпечатано с готового оригинал-макета в типографии издательства «Книжный формат»
614000, г. Пермь, ул. Пушкина, 80

Бесплатно.

Подписка на журнал осуществляется онлайн на сайте «Пресса России. Объединенный каталог»
<https://www.pressa-rf.ru/cat/1/edition/e41000/>. Подписной индекс 41000