

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

1.5.9. Ботаника, 1.5.11. Микробиология, 1.5.12. Зоология, 1.5.7. Генетика, 1.5.18. Микология, 3.2.7. Аллергология и иммунология (биологические и медицинские науки), 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, Эдинбургский Нэйпир университет, г. Эдинбург, 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. 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. Еремченко, 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.б.н., профессор, Башкирский государственный университет, г. Уфа, Россия
М. С. Куюкина (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, 2024

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 агентства «Урал-Пресс»
<https://www.ural-press.ru/catalog/97266/8940022/>. 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. Korkotyán, Cand. Biol. Sc. Weizmann Institute of Science, Rehovot, Izrael
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. Polítov, 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. A. Chereshevnev, Dr. Med. Sc., Full Member of the RAS, Institute of Immunology and Physiology of UB RAS, Ekaterinburg, Russia
A. G. Shiryayev, 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. Esysunin, 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, 2024

Founder and Publisher Address:
614068, Perm, Bukireva, 15;
Tel: 8 (342) 2396435; E-mail: info@psu.ru
For subscription, visit the catalog of Ural-Press: <https://www.ural-press.ru/catalog/97266/8940022/>. 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

Головина Л. А., Ишмуратова М. М. Фенология сортов *Ribes nigrum* селекции Башкирского НИИСХ в условиях Башкирского Предуралья 253

Лаврская Е. А., Селиванов А. Е., Печенкина К. О. Представители семейства *Teloschistaceae*, как компонент растительного покрова скальных обнажений в долине реки Чусовой (Средний Урал) 263

Зоология

Ефимик Е. В., Телегина А. А. К изучению иксодовых клещей Большесосновского муниципального округа Пермского края 269

Четанов Н. А., Литвинов Н. А., Ганицук С. В., Галиулин Д. М. Некоторые черты термобиологии обыкновенного ужа *Natrix natrix* (Linnaeus, 1758) и обыкновенной гадюки *Vipera berus* (Linnaeus, 1758) при совместном обитании в Камском Предуралье 278

Микробиология

Королев Н. А., Кирьянова Т. Д., Егорова Д. О. Разнообразие бактерий-деструкторов монохлорированных бфиенилов, выделенных из почв охраняемого ландшафта 285

Николенко М. В., Сивкова Д. С., Барышникова Н. В., Сорогина Л. В. Межмикробные взаимодействия в бактериально-грибковых ассоциациях 300

Пьянкова А. А., Краева А. В., Нечаева Ю. И., Плотникова Е. Г. Выделение и характеристика штамма-деструктора дибутилфталата *Rhodococcus* sp. 5А-К4 309

Генетика

Зув Р. В., Криворучко А. Ю., Лиховид Н. Г., Криворучко О. Н. Полногеномный поиск ассоциаций однонуклеотидных полиморфизмов с шириной груди у овец Северокавказской мясо-шерстной породы 318

Печенкина В. А., Шестиперстова А. С., Васильева Ю. С., Боронникова С. В. Экспрессия транскрипционных факторов CBF (C-REPEAT BINDING FACTOR) у проростков ржи посевной (*Secale cereale* L.) при холодовом стрессе 327

Иммунология

Алексеева А. С., Филиппова Ю. Ю., Бурмистрова А. Л. Профили экспрессии микроРНК в лейкоцитах крови как маркеры тяжести расстройств аутистического спектра у детей 335

Contents

Botany

- Golovina L. A., Ishmuratova M. M.* Phenology of *Ribes nigrum* varieties bred by the Bashkir Research Institute of Agriculture in the conditions of the Bashkir Pre-Ural region 253
- Lavrskaya E. A., Selivanov A. E., Pechenkina K. O.* Representatives of the family *Teloschistaceae* as a component of the vegetation cover of rocky outcrops in the Chusovaya River valley (Middle Urals) . . . 263

Zoology

- Efimik V. E., Telegina A. A.* To the study of ixodid ticks of the Bolshesosnovsky municipal district of the Perm Krai 269
- Chetanov N. A., Litvinov N. A., Ganshchuk S. V., Galiulin D. M.* Some thermobiological features of the grass snake *Natrix natrix* (Linnaeus, 1758) and the common European adder *Vipera berus* (Linnaeus, 1758) in cohabitation in the Kama Cis-Urals 278

Microbiology

- Korolev N. A., Kir'yanova T. D., Egorova D. O.* Diversity of bacteria degraders of monochlorinated biphenyls isolated from soils of a protected landscape 285
- Nikolenko M. V., Sivkova D. S., Baryshnikova N. V., Sorogina L. V.* Intermicrobial interactions in bacterial-fungal associations 300
- Pyankova A. A., Kraeva A. V., Nechaeva Yu. I., Plotnikova E. G.* Isolation and characterization of dibutyl phthalate-degrading strain *Rhodococcus* sp. 5A-K4 309

Genetics

- Zuev R. V., Krivoruchko A. Yu., Likhovid N. G., Krivoruchko O. N.* Genome-wide association study with of single nucleotide polymorphisms with chest width in in Severocavcazskaya sheep breed 318
- Pechenkina V. A., Shestiperstova A.S., Vasilyeva Y. S., Boronnikova S. V.* Expression of some transcription factors CBF (C-REPEAT BINDING FACTOR) in rye (*Secale cereale* L.) seedlings under cold stress 327

Immunology

- Alekseeva A. S., Filippova Yu. Yu., Burmistrova A. L.* MicroRNA expression profiles in blood leukocytes as autism spectrum disorder severity markers in children 335

БОТАНИКА

Научная статья

УДК 634.723.1:58.084.2

CNDAKI

doi: 10.17072/1994-9952-2024-3-253-262



**Фенология сортов *Ribes nigrum* L. селекции Башкирского НИИСХ
в условиях Башкирского Предуралья**

Людмила Андреевна Головина¹, Майя Мунировна Ишмуратова²✉

¹ Башкирский НИИ сельского хозяйства – обособленное структурное подразделение Уфимского
федерального исследовательского центра РАН, Уфа, Россия, ludmilab_2010@mail.ru

² Уфимский университет науки и технологий, Уфа, Россия, ishmuratova@mail.ru

Аннотация. Смородина черная (*Ribes nigrum* L.) – ценная культура с питательными, вкусовыми и лекарственными свойствами. В Республике Башкортостан (РБ) местный сортовой ассортимент *R. nigrum* представлен сортами селекции Башкирского НИИСХ – ‘Бельская’, ‘Бобровая’, ‘Валовая’, ‘Иремель’, ‘Караидель’, ‘Кушнаренковская’, ‘Труженица’, ‘Эстафета’. Фенологические наблюдения за *R. nigrum* проводили в период с 2015 по 2023 гг. в Башкирском НИИСХ. Представлены результаты многолетних фенологических наблюдений за *R. nigrum* сортов башкирской селекции и сорта ‘Сеянец Голубки’ в условиях Башкирского Предуралья. Установлено, что раннее начало вегетации у сортов *R. nigrum* отмечено в 2023 г. с 1.04–5.04, позднее – 24.04–5.05 в 2018 г. Начало роста побегов у сортов *R. nigrum* приходится на I декаду мая. Раннее начало цветения зафиксировано в III декаде апреля в 2016 и 2023 гг., позднее начало цветения – с 20.05–26.05 в 2018 г. Продолжительность цветения *R. nigrum* составляет от 3 до 10 дней. Ранние сроки созревания ягод у сортов *R. nigrum* наблюдались в 2023 г. с 28.06–8.07. Поздние сроки созревания ягод – 9.08 в 2018 г. Длительность фенофазы в среднем 15–17 дней. Период от конца цветения до полного созревания *R. nigrum* составил в среднем 62–68 дней. Начало листопада у сортов *R. nigrum* в III декаде сентября, окончание II–III декада октября. Средняя продолжительность вегетационного периода *R. nigrum* в условиях РБ 188±4.2 дней. Показано, что на фоне потепления климата изменяются характеристики сортов *R. nigrum* по срокам созревания плодов.

Ключевые слова: *Ribes nigrum* L., фенологические фазы растений, изменения климата, Республика Башкортостан

Для цитирования: Головина Л. А., Ишмуратова М. М. Фенология сортов *Ribes nigrum* селекции Башкирского НИИСХ в условиях Башкирского Предуралья // Вестник Пермского университета. Сер. Биология. 2024. Вып. 3. С. 253–262. <http://dx.doi.org/10.17072/1994-9952-2024-3-253-262>.

Благодарности: работа выполнена по теме «Создать новые сорта яблони, груши, смородины и винограда с высокой продуктивностью и устойчивостью к действию абиотических и биотических стрессоров в условиях Республики Башкортостан» Башкирского НИИ сельского хозяйства; а также в рамках тем научной школы «Разнообразие, популяционные и онтогенетические механизмы устойчивости, охрана, воспроизводство и рациональное использование растительных ресурсов» Уфимского университета науки и технологий.

BOTANY

Original article

**Phenology of *Ribes nigrum* L. varieties bred by the Bashkir
Research Institute of Agriculture in the conditions
of the Bashkir Pre-Ural region**

Lyudmila A. Golovina¹, Maya M. Ishmuratova²✉

¹ Bashkir Research Institute of Agriculture - a separate structural unit of the Ufa Federal Research Center of the RAS, Ufa, Russia, ludmilab_2010@mail.ru

² Ufa University of Science and Technology, Ufa, Russia, ishmuratova@mail.ru

Abstract. Black currant (*Ribes nigrum* L.) is a valuable crop with nutritional, culinary, and medicinal properties. In the Republic of Bashkortostan (RB), the local varietal assortment of *R. nigrum* includes varieties bred by the Bashkir Research Institute of Agriculture: ‘Belskaya’, ‘Bobrovaya’, ‘Valovaya’, ‘Iremel’, ‘Karaidel’, ‘Kushnarenkovskaya’, ‘Truzhenitca’, and ‘Estafet’a. This study presents results from phenological observations con-

ducted from 2015 to 2023. The early onset of vegetation was noted in 2023 from April 1-5, while the latest onset occurred from April 24 to May 5 in 2018. Shoot growth in *R. nigrum* varieties typically begins in the first decade of May. Early flowering was recorded in late April (2016 and 2023), and late flowering occurred from May 20-26 in 2018. Flowering duration ranges from 3 to 10 days. Berry ripening varied, with early ripening in 2023 (June 28 to July 8) and late ripening on August 9 in 2018. The phenophase duration averages 15-17 days. The period from flowering to full berry ripening averages 62-68 days. Leaf fall begins in late September and ends by mid to late October. The average growing season in RB is 188±4.2 days. Climate warming has been shown to affect the ripening periods of *R. nigrum* varieties. This research highlights the phenological adaptations of *R. nigrum* varieties bred by the Bashkir Research Institute of Agriculture under changing climate conditions in the Bashkir Pre-Ural region.

Keywords: *Ribes nigrum* L., phenological phases of plants, climate change, Republic of Bashkortostan

For citation: Golovina L. A., Ishmuratova M. M. [Phenology of *Ribes nigrum* varieties bred by the Bashkir Research Institute of Agriculture in the conditions of the Bashkir Pre-Ural region]. *Bulletin of Perm University. Biology*. Iss. 3 (2024): pp. 253-262. (In Russ.). <http://dx.doi.org/10.17072/1994-9952-2024-3-253-262>.

Acknowledgments: the work was carried out on the topic "To create new varieties of apple, pear, currant and grape with high productivity and resistance to abiotic and biotic stressors in the Republic of Bashkortostan" of the Bashkir Scientific Research Institute of Agriculture; as well as within the framework of the scientific school topics "Diversity, population and ontogenetic mechanisms of resistance, protection, reproduction and the rational use of plant resources" of the Ufa University of Science and Technology.

Введение

Смородина черная (*Ribes nigrum* L.) является ценной ягодной культурой, широко распространенной по всему миру как в дикой природе, так и в сельском хозяйстве, особенно в Европе и России [Vagiri, 2012; Sharma, Lata, Yadav, 2020; Неброй, 2023]. Она высоко ценится за свои питательные и вкусовые качества, а также за лекарственные свойства [Абдеева, 2010; Ефремов, 2021]. В современном мире смородина черная используется не только в пищевой промышленности и медицине, но и в ландшафтном дизайне благодаря своей декоративности и полезности как плодово-ягодное растение [Кирилкина, 2015]. В контексте агропромышленного комплекса России смородина черная играет значительную роль в достижении целей импортозамещения и повышения эффективности через отечественные инновации. При этом особое внимание уделяется развитию садоводства и питомниководства с акцентом на увеличение производства и потребления витаминной продукции. Отечественные сорта смородины составляют значительную часть насаждений, что подчеркивает важность местной селекции и необходимость постоянного обновления сортимента для удовлетворения потребностей рынка [Федоренко и др., 2019]. В Республике Башкортостан (РБ) местный сортовой ассортимент *R. nigrum* представлен сортами селекции Башкирского НИИСХ – ‘Бельская’, ‘Бобровая’, ‘Валовая’, ‘Иремель’, ‘Караидель’, ‘Кушнаренковская’, ‘Труженица’, ‘Эстафета’. Данные сорта получены в Кушнаренковском селекционном центре по плодово-ягодным культурам и винограду. Становление сортов башкирской селекции проходило в условиях умеренно-континентального климата Республики Башкортостан. Глобальная проблема изменения климата [РСС, 2023] является актуальной и для Республики Башкортостан. На территории РБ за последние 30 лет среднегодовая температура воздуха увеличилась на 0.7°C, что соответствует общемировым тенденциям [Байтурина и др., 2020]. Одним из наиболее документально подтвержденных последствий изменения климата является изменение сроков фенологических фаз растений [Наокир, Shankar, Lalrinnggheta, 2020].

Цель исследования – изучить при выращивании в условиях Башкирского Предуралья фенологические фазы сортов *R. nigrum* местной селекции и выявить сортоспецифичные характеристики на фоне изменения климата.

Материалы и методы исследования

Объектами исследования являлись сорта *R. nigrum* селекции Башкирского НИИСХ: ‘Бельская’, ‘Бобровая’, ‘Валовая’, ‘Иремель’, ‘Караидель’, ‘Кушнаренковская’, ‘Труженица’, ‘Эстафета’ [Государственный ..., 2023]. В качестве контроля использовали сорт ‘Сеянец Голубки’, который включен в государственный реестр селекционных достижений в 1984 г. и возделывается практически по всех регионах РФ. ‘Сеянец Голубки’ – очень раннеспелый сорт, выведен в НИИ садоводства Сибири им. М.А. Лисавенко. Имеет ценные хозяйственные признаки – высокую самоплодность и урожайность, крупные ягоды, содержание витамина С – 140–175 мг%, высокую засухоустойчивость [Государственный ..., 2023].

Фенологические наблюдения за растениями *R. nigrum* в условиях РБ проводили в период с 2015 по 2023 гг. в полевых условиях Башкирского Предуралья в Кушнаренковском селекционном центре по плодово-ягодным культурам и винограду. Исследования проводили в соответствии с двумя методиками наблюдений: изучение фенологии растений и растительных сообществ [Бейдеман, 1974] и программой и

методикой сортоизучения плодовых, ягодных и орехоплодных культур [Джигадло и др., 1999]. Выделяли следующие фенологические фазы: начало вегетации (распускание почек), цветение, рост побегов, созревание плодов, листопад. В анализ включены по 15–20 кустов *R. nigrum* каждого сорта генеративного возрастного состояния.

Республика Башкортостан является сложным регионом в отношении как геологического и геоморфологического устройства, так и климатических условий, обусловленных ее расположением на стыке Восточно-Европейской равнины и Уральских гор [Галимова, 2020]. Факторами риска Уральского региона является жаркое лето и недостаток влаги [Государственный ..., 2023]. Для анализа погодных условий вегетационных периодов 2015–2023 гг. использовали данные издания [Агрометеорологический ...]. Оценка климатических условий для участков наблюдений в Кушнаренковском селекционном центре по плодово-ягодным культурам и винограду показана в табл. 1.

Таблица 1

Метеорологические условия участков наблюдений в Кушнаренковском селекционном центре по плодово-ягодным культурам и винограду (2015–2023 гг.)

[Meteorological conditions of the observation plots at the Kushnarenkovo Selection Center for Fruit and Berry Crops and Grapes (2015-2023)]

Годы наблюдений	Сумма осадков за период активных температур $t > 10^{\circ}\text{C}$, мм (май-август)	Сумма активных температур $t > 10^{\circ}\text{C}$ (май-август)	T_{\max} (среднесуточная t° самого теплого месяца, июль), $^{\circ}\text{C}$	T_{\min} (среднесуточная t° самого холодного месяца, январь), $^{\circ}\text{C}$	Гидротермический коэффициент (ГТК)
2015	207.8	2454.0	19.5	-14.1	0.8
2016	166.1	2551.0	21.4	-13.1	0.7
2017	364.0	2082.0	18.3	-15.0	1.7
2018	220.5	1970.0	18.7	-13.4	1.1
2019	209.3	1908.6	19.1	-12.0	1.1
2020	328.4	1987.9	22.0	-4.8	1.7
2021	95.0	2323.9	21.1	-10.6	0.4
2022	276.2	1908.0	19.9	-12.1	1.4
2023	164.5	2061.0	22.2	-14.6	0.8

Примечание. Классификация зон увлажнения по ГТК [Ионова, Лиховидова, Лобунская, 2019]: влажная – 1.6–1.3; слабо засушливая – 1.3–1.0; засушливая – 1.0–0.7; очень засушливая – 0.7–0.4; сухая – <0.4.

Статистическую обработку фенологических дат осуществляли в соответствии с методикой [Зайцев, 1984] в программе Excel for Windows (Microsoft Office 2010) и с использованием пакета программ STATISTICA (10.0.228.2).

Результаты исследований

Климат в районе исследования континентальный. Вегетационные периоды 2015–2023 гг. характеризовались различными погодными условиями. Продолжительность периода со средней температурой воздуха выше $+5^{\circ}\text{C}$ за год составляла 153–214 дней. Тенденция к увеличению этого периода до 214 дней наблюдалась с 2021 по 2023 гг. Максимальная температура воздуха летом достигала $+33 \dots +40.2^{\circ}\text{C}$. Минимальная температура зимой опускалась до -36.0°C . Выявлены среднемесячные температуры самого жаркого месяца – июля ($+18.3 \dots +22.0^{\circ}\text{C}$) и самого холодного месяца – января ($-4.8 \dots -15.0^{\circ}\text{C}$) (табл. 1). Сумма активных температур ($t > 10^{\circ}\text{C}$ (май–август) варьировала от 1908.0 до 2551.0 $^{\circ}\text{C}$ (2016 г.). Возвратные заморозки отмечались в конце мая. В июне возвратные заморозки не зафиксированы. В период вегетации самое высокое количество осадков наблюдалось в мае (2015 г.) – 47.5 мм, июне (2016–2018, 2022 гг.) – 59.7–146.6 мм, июле (2023 г.) – 64.5 мм, августе (2020 г.) – 120.1 мм, сентябре (2021 г.) – 45.3 мм. Сумма осадков за период активных температур ($t > 10^{\circ}\text{C}$) с мая по август варьировала от 95 мм (2021 г.) до 364.0 мм (2017 г.). Гидротермический коэффициент (ГТК) варьировал от 0.4 (2021 г.) до 1.7 (2017–2020 гг.). Первые заморозки осенью наступали в I декаде сентября (2016 г.), во II декаде сентября (2021–2023 гг.), в III декаде сентября (2017–2020 гг.), в III декаде октября (2015 г.). Устойчивый снежный покров в годы наблюдений устанавливался в разные сроки: во II декаде ноября (2020–2023 гг.), I декаде декабря (2015–2018 гг.), во II декаде декабря (2019 г.). Высота снежного покрова в январе варьировала от 32 (2019 г.) до 50 см (2022 г.). Разрушение снежного покрова происходило в I и II декадах апреля. Продолжительность периода с устойчивым снежным покровом в среднем составляет 128–146 дней.

Особенности рельефа также обуславливают разнообразие ветрового режима. Однако, в целом, за год, по данным большинства метеостанций, преобладают ветры южного и юго-западного направлений. Летом увеличивается повторяемость ветров северной четверти. Среднегодовая скорость ветра составляет 3–5 м/с. Число дней с сильным ветром (15 м/с и более) достигает 25–30 дней.

При изучении фенологических фаз у сортов *R. nigrum* башкирской селекции и контрольного сорта ‘Сеянец Голубки’ выявлены индивидуальные особенности сортов при различных погодных условиях местности, они показаны в табл. 2.

Таблица 2

Сроки наступления и длительность основных фенологических фаз у сортов *R. nigrum* в условиях Кушнаренковского селекционного центра по плодово-ягодным культурам и винограду (2015–2023 гг.)
[The timing and duration of the main phenological phases in *R. nigrum* varieties in the conditions of the Kushnarenkovsky Breeding Center for Fruit and Berry Crops and Grapes (2015-2023)]

Фенофазы Сорта	Начало вегетации, дата±дни	Цветение массовое, дата±дни	Созревание пло- дов (полное), дата±дни	Рост побегов (окончание), дата±дни	Листопад (окончание), дата±дни
‘Бельская’	14.04±2.8	13.05±3.7	22.07±3.5	14.08±2.3	18.10±2.2
‘Бобровая’	15.04±2.7	13.05±3.4	23.07±3.3	17.08±3.0	17.10±2.8
‘Валовая’	12.04±3.4	12.05±3.3	19.07±4.1	14.08±3.5	16.10±2.0
‘Иремель’	16.04±3.1	15.05±3.8	25.07±3.1	14.07±2.3	17.10±2.6
‘Караидель’	15.04±3.4	14.05±3.4	20.07±3.4	12.08±3.1	18.10±2.1
‘Кушнаренковская’	15.04±3.3	14.05±3.3	23.07±3.3	23.08±2.9	23.10±1.9
‘Труженица’	16.04±3.6	14.05±3.7	23.07±4.4	30.08±3.6	21.10±2.1
‘Чишма’	12.04±3.1	12.05±3.4	19.07±3.9	16.08±3.0	16.10±2.0
‘Эстафета’	13.04±3.0	14.05±3.8	20.07±3.8	19.08±3.0	17.10±2.2
‘Сеянец Голубки’ – контроль	7.04±2.9	10.05±3.4	16.07±3.8	10.08±3.4	16.10±1.2
Среднее	14.04±3.1	13.05±3.5	22.07±3.7	16.08±3.4	18.10±1.9
Min	28.03	26.04	28.06	27.07	3.10
Max	5.05	29.05	9.08	15.09	27.10
P	2.0±0.2	1.3±0.1	3.0±0.2	0.6±0.1	0.4±0.1
Длительность, дней	7.0±3.1	6±0.6	66±3.5	116±3.9	21±2.3
Min	4.0	3.0	49.0	92.0	7.0
Max	10.0	10.0	89.0	141.0	40.0

Начало вегетации. В зависимости от ряда факторов, предшествующих началу вегетации (почвенно-климатические условия местности, сортовые особенности, состояние растений) распускание почек *R. nigrum* происходило в разные сроки (табл. 1). На рис. 1. показана взаимосвязь между суммой положительных температур, количеством осадков и началом вегетации *R. nigrum* (средние даты в пределах изучаемых сортов).

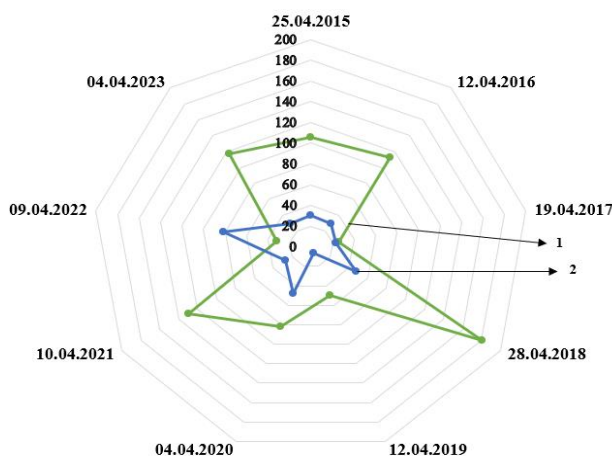


Рис. 1. Влияние суммы положительных температур и количества осадков на начало вегетации сортов *R. nigrum* в условиях Кушнаренковского селекционного центра по плодово-ягодным культурам и винограду (2015–2023 гг.):

1 – сумма положительных температур, °C; 2 – количество осадков, мм

[The effect of the sum of positive temperatures and precipitation on the beginning of the growing season of varieties *R. nigrum* in the conditions of the Kushnarenkov breeding Center for fruit and berry crops and grapes (2015-2023):

1 – the sum of positive temperatures, °C; 2 – the amount of precipitation, mm]

Сроки распускания почек *R. nigrum* зависели от темпов накопления суммы положительных температур выше +25°C в период, предшествующий фенофазе. У сортов *R. nigrum* распускание почек происходит при повышении температуры от +4 до +6°C. Позднее начало вегетации сортов *R. nigrum* с 24 апреля по 5 мая отмечали в 2018 г. и при высоком уровне накопления положительных температур 181°C. Сдерживающим фактором являлась средняя температура воздуха в марте -10.1°C и высокая степень промерзания почвы. Раннее начало вегетации у сортов *R. nigrum* в 2023 г. с 1 по 5 апреля происходило при повышенной температуре воздуха в марте и апреле (сумма активных $t > 10^\circ\text{C}$ – 117°C). Также раннее начало вегетации было отмечено в 2022 г. с 1 по 13 апреля (сумма активных $t > 10^\circ\text{C}$ – 32°C). Количество осадков на сроки распускания почек значительно не влияет. При этом достаточное количество влаги является залогом хорошего состояния растений в начале вегетации.

Помимо климата местности, имеют значение сортовые особенности *R. nigrum*. Раннее начало вегетации 7.04 ± 2.9 у контрольного сорта ‘Сеянец Голубки’. Сорта *R. nigrum* башкирской селекции начинают вегетацию позже, особенно сорта ‘Иремель’ (16.04 ± 3.1) и ‘Труженица’ (16.04 ± 3.6). Длительность распускания почек у сортов *R. nigrum* варьирует от 4 до 10 дней и зависит от текущих погодных условий местности.

Цветение. В условиях РБ *R. nigrum* зацветает в апреле–мае, когда среднесуточная температура воздуха составляет более +12°C. Известно, что для цветения *R. nigrum* необходима сумма положительных температур более 217°C, при этом сроки цветения зависят от темпа накопления температур в предшествующий цветению период [Абдеева, 1977]. Общее состояние сортов *R. nigrum* зависит от уровня влагообеспеченности на момент цветения. Влияние суммы положительных температур и количества осадков на сроки цветения сортов *R. nigrum* показано на рис. 2.

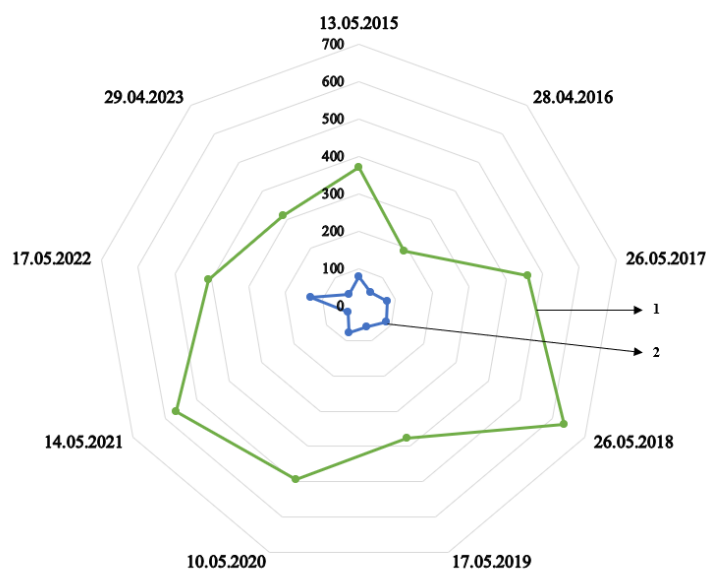


Рис. 2. Влияние суммы положительных температур и количества осадков на цветение и рост побегов у сортов *R. nigrum* в условиях Кушнаренковского селекционного центра по плодово-ягодным культурам и винограду (2015–2023 гг.):

1 – сумма положительных температур, °C; 2 – количество осадков, мм

[The effect of the sum of positive temperatures and precipitation on the flowering and shoot growth in *R. nigrum* varieties in the conditions of the Kushnarenkovsky Breeding Center for Fruit and Berry Crops and Grapes (2015-2023):

1 – the sum of positive temperatures, °C; 2 – the amount of precipitation, mm]

Раннее начало цветения у сортов *R. nigrum* отмечено в третьей декаде апреля в 2016 и 2023 гг. при средней температуре апреля выше +6.3°C, сумма положительных температур в эти годы составила 190 и 315°C соответственно. В 2023 г. отмечена максимально высокая температура для апреля – +8.9°C. А самое позднее начало цветения наблюдалось с 20 по 26 мая в 2018 г. при средней температуре апреля +6.0°C и мая +14.6°C, при сумме положительных температур 619°C. Возвратные заморозки и недостаток осадков сдерживают цветение *R. nigrum* и влияют на качество цветения. Например, возвратные заморозки до -3.7°C в I декаде мая 2023 г. при относительной влажности воздуха 38% вызвали повреждения соцветий у ранних сортов *R. nigrum* до 90%. Сумма осадков в этот период была минимальной для этого периода – 39.8 мм. Также минимальная влагообеспеченность (34.5 мм) при цветении *R. nigrum* наблюдалась в 2021 г. при высокой сумме положительных температур (566°C). Напротив, дождливая погода

в период цветения в мае 2017 г. снижала опыление цветков у *R. nigrum* до 50%. Избыточное количество осадков в период цветения *R. nigrum* наблюдалось в 2022 г. – 131.1 мм при высокой сумме положительных температур (408°C).

Сортовые особенности также оказывают влияние на сроки цветения *R. nigrum*. Ранними датами цветения характеризуется сорт ‘Сеянец Голубки’ (в среднем 8 мая), поздними (в среднем 13 мая) – сорт ‘Иремель’. Цветение сортов *R. nigrum* начинается с раскрытия первого цветка, в среднем с 8 по 13 мая. Массовое цветение наблюдается 10–15 мая. Окончание цветения – с 14 по 18 мая. Длительность фазы в среднем 5–6 дней. Разница между сортами в наступлении фенофазы составляет 4–6 дней, что, в целом, характеризует особенности сортов. Ранее в исследованиях *R. nigrum* [Абдеева, 1977] была отмечена разница в наступлении сроков цветения для сортов различного генетического происхождения.

Продолжительность цветения *R. nigrum* в годы наблюдений варьировала от 3 до 10 дней и характеризовала реакцию сортов на текущие погодные условия. Общий период прохождения фенофаз бутонизации и цветения сортов *R. nigrum* составляет 12–15 дней.

Созревание плодов у сортов *R. nigrum* начинается с появления первых окрашенных ягод. На период созревания плодов у сортов *R. nigrum* приходятся самые теплые летние месяцы – июнь и июль. Продолжительность созревания ягод у сортов *R. nigrum* ежегодно отличается в зависимости от погодных условий вегетационного периода и от сортовых особенностей *R. nigrum*.

Влияние суммы положительных температур и количества осадков на созревание плодов у сортов *R. nigrum* показана на рис. 3.

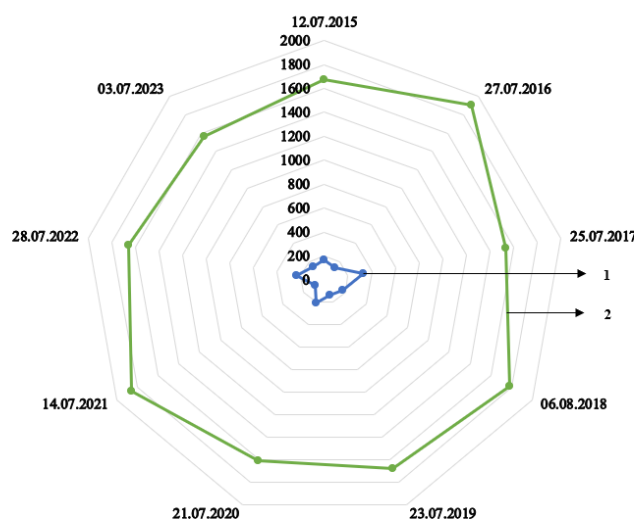


Рис. 3. Влияние суммы положительных температур и количества осадков на созревание плодов у сортов *R. nigrum* в условиях Кушнаренковского селекционного центра по плодово-ягодным культурам и винограду (2015–2023 гг.):

1 – сумма положительных температур, °C; 2 – количество осадков, мм

[The effect of the sum of positive temperatures and precipitation on fruit ripening in *R. nigrum* varieties in the conditions of the Kushnarenkovsky Breeding Center for Fruit and Berry Crops and Grapes (2015-2023):

1 – the sum of positive temperatures, °C; 2 – the amount of precipitation, mm]

Самые ранние сроки созревания ягод у сортов *R. nigrum* наблюдались в 2023 г.: появление первых окрашенных ягод с 10 по 21 июня и массовое созревание с 28 июня по 8 июля. Раннее созревание ягод у всех сортов *R. nigrum*, раньше среднееголетних сроков на 14–23 дня, связано с высокой среднесуточной температурой в июне (+16.6°C) и июле (+22.2°C). Достаточное количество осадков нивелировалось высокой (до +40.2°C) дневной температурой. Сумма положительных температур в фазу массового созревания плодов у *R. nigrum* в 2023 г. составила 1565°C. Минимум за годы наблюдений (1532°C в 2017 г.) и максимум (1907°C в 2016 г.) отмечены при продолжительном созревании плодов у *R. nigrum*. Количество осадков от начала вегетации до массового созревания плодов в годы наблюдений варьировало значительно – от 92 до 328 мм – и влияло в основном на общее состояние растений и качество плодов у сортов *R. nigrum*.

Полное созревание ягод у сортов *R. nigrum* зависело от сорта. Самое раннее начало созревания ягод отмечено в 2023 г. у сорта ‘Сеянец Голубки’ – 10 июня. Самое позднее – 31 июля у сорта ‘Труженица’ в 2018 г. Ранние сроки полного созревания ягод у сортов *R. nigrum* наблюдались в 2023 г. – 28 июня, у сортов ‘Валовая’, ‘Сеянец Голубки’ и ‘Чишма’.

Поздние сроки полного созревания ягод были в 2018 г. – 9 августа у сортов ‘Бобровая’ и ‘Труженица’, сумма положительных температур на дату массового созревания составила 1781°C. Сроки созревания ягод *R. nigrum* сильно зависят от темпа накопления температур в предшествующий период. Оптимальные погодные условия для созревания ягод *R. nigrum* наблюдали при средних температурах +18 ... +21°C и при достаточном количестве осадков (49.7 мм). Однако увеличение температуры воздуха выше +36°C оказывает отрицательное действие на состояние растений и качество ягод.

Длительность фенофазы составила в среднем 15–17 дней и зависела от условий вегетационного периода. Период от конца цветения до полного созревания *R. nigrum* составил в среднем 62–68 дней. Минимум (49 дней) отмечен у сортов ‘Сеянец Голубки’ и ‘Караидель’ в 2017 г., максимум (89 дней) – у сорта ‘Иремель’ в 2016 г.

Изменение характеристик феноритмов сортов *R. nigrum* по срокам созревания плодов на фоне потепления климата в условиях Башкирского Предуралья представлено в табл. 3.

Таблица 3

Характеристики сортов *R. nigrum* по срокам созревания плодов на фоне изменения климата в условиях Башкирского Предуралья (2015–2023 гг.)

[Characteristics of *R. nigrum* varieties by fruit ripening time against the background of climate change in the Bashkir Pre-Urals region (2015–2023)]

Сорт	Срок созревания ягод по многолетним данным с момента включения в Госреестр селекционных достижений РФ	Срок созревания ягод по многолетним данным в годы наблюдений (2015–2023)	Регионы допуска и год включения
‘Бельская’	Среднеранний	Средний	Уральский (9) 2022
‘Бобровая’	Средний	Среднепоздний	Волго-Вятский (4), Средневожжский (7), Уральский (9) 1994
‘Валовая’	Ранний	Ранний	Уральский (9) и Западно-Сибирский (10) 1998
‘Иремель’	Среднепоздний	Среднепоздний	Уральский (9) 2022
‘Караидель’	Среднепоздний	Средний	Уральский (9) 2001
‘Кушнаренковская’	Среднепоздний	Поздний	Волго-Вятский (4), Уральский (9) 2016
‘Сеянец Голубки’	Ранний	Ранний	Северный (1), Северо-Западный (2), Центральный (3), Волго-Вятский (4), ЦЧО (5), Средневожжский (7), Уральский (9), Западно-Сибирский (10), Восточно-Сибирский (11)
‘Труженица’	Поздний	Поздний	Уральский (9) 2024
‘Чишма’	Средний	Ранний	Волго-Вятский (4), Уральский (9), Западно-Сибирский (10) 2013
‘Эстафета’	Среднепоздний	Средний	Уральский (9) 2021

В условиях Башкирского Предуралья в годы наблюдений (2015–2023 гг.) отмечается изменение феноритмов сроков созревания ягод для некоторых сортов. Так, для таких сортов, как ‘Караидель’, ‘Эстафета’, ‘Чишма’ наблюдается тенденция раннего наступления сроков созревания ягод. Для сортов ‘Бельская’, ‘Бобровая’ и ‘Кушнаренковская’ наблюдается тенденция относительно позднего наступления сроков созревания ягод. Сорта ‘Валовая’, ‘Иремель’, ‘Сеянец Голубки’, ‘Труженица’ сохранили феноритмы созревания ягод. К настоящему времени в условиях Башкирского Предуралья ранним сроком созревания характеризуются сорта ‘Валовая’, ‘Сеянец Голубки’, ‘Чишма’; среднего срока созревания – сорта ‘Караидель’, ‘Эстафета’, ‘Бельская’; среднепозднего срока созревания – сорта ‘Бобровая’, ‘Иремель’; позднего срока созревания – сорта ‘Кушнаренковская’, ‘Труженица’. Изменение сроков созревания у сортов *R. nigrum* связано с изменением климата в регионе.

Рост побегов у сортов *R. nigrum* в условиях РБ приходится на I декаду мая и по времени совпадает с фазами бутонизации и цветения. Начало роста побегов у сортов *R. nigrum* в годы наблюдений зависело от сроков распускания почек, а также от темпов накопления тепла в разные сезоны вегетации. Для начала роста побегов необходима средняя температура воздуха выше +6.5°C. Влияние суммы положительных температур и уровня накопления осадков на начало роста побегов показано на рис. 2. Средние многолетние даты начала роста побегов отличаются в зависимости от сорта: раньше начинается рост у сортов ‘Се-

янец Голубки', 'Эстафета', 'Караидель', 'Валовая' и 'Чишма'; позже – у сортов 'Бельская', 'Бобровая', 'Иремель', 'Кушнаренковская' и 'Труженица'.

В годы наблюдений (2015–2023 гг.) число дней между началом роста побегов *R. nigrum* и его окончанием составило в среднем 116 ± 3.9 дней. В 2015 г. рост побегов *R. nigrum* закончился раньше средне-многолетних сроков и составил 92 дня у сортов 'Бельская', 'Караидель' и 'Сеянец Голубки'. Продолжительный рост побегов наблюдался в 2020 г., особенно у сорта 'Труженица' – 141 день. Отклонение от средне-многолетних сроков составило от 1 до 25 дней. Окончание роста побегов в значительной степени зависело от сроков наступления периода покоя у сортов *R. nigrum*.

Листопад у сортов *R. nigrum* начинался в III декаде сентября. Vegetационный период 2019 г. в целом характеризовался ранним листопадом (13–16 сентября) для всех сортов *R. nigrum*. В I декаде сентября установилась погода с контрастными температурами: днем до $+26^\circ\text{C}$, ночью -0.3°C , что, возможно, и стало причиной раннего листопада. Октябрь выдался теплым и влажным, выпало 55.1 мм осадков, на 12% выше нормы, но резкой смены температурного режима не отмечалось. Окончание листопада наступило в средне-многолетние сроки. Длительность листопада в 2019 г. была максимальной, она варьировала от 31 ('Иремель') до 39 ('Бобровая') дней.

В 2018 г. позднее начало листопада (с 29 сентября по 9 октября) наблюдалось у всех сортов *R. nigrum*. Средняя температура августа была выше нормы на $+1.5^\circ\text{C}$, а в сентябре – выше нормы на 0.9°C . Окончание листопада наступило в средне-многолетние сроки с 17 по 26 октября. Длительность листопада варьировала в зависимости от сорта от 8 ('Бельская') до 17 ('Труженица') дней.

Окончание листопада у сортов *R. nigrum* в годы наблюдений происходило в октябре, средне-многолетняя дата по всем сортам 18.10 ± 1.9 . Раннее завершение листопада, с 4 по 13 октября, отмечено в 2015 г. при недостатке влаги в сентябре – 25% от нормы. Начало листопада проходило в средне-многолетние сроки. В целом, метеоусловия вегетационного периода 2015 г. сложились неблагоприятно для всех плодово-ягодных культур. Длительность листопада варьировала от 7 ('Валовая') до 22 ('Кушнаренковская') дней.

В 2023 г. листопад наступил в средне-многолетние сроки (с 27 сентября по 3 октября), а окончание его наступило позже (с 21 по 28 октября). Причиной тому была сравнительно теплая погода в сентябре и октябре, выше нормы на $+2.8^\circ\text{C}$. Оказало воздействие и избыточное количество осадков в октябре – 101.6 мм, что в 2 раза выше нормы. Длительность листопада в этот период составила 22 ('Кушнаренковская') – 29 ('Чишма', 'Бельская') дней.

Длительность листопада составила в среднем по сортам *R. nigrum* 21 ± 2.3 дней. Короткий листопад – 7 дней наблюдался у сорта 'Валовая' в 2015 г. Продолжительный листопад – 40 дней – отмечен у сортов 'Кушнаренковская' и 'Труженица' в 2019 г. Отклонения от средних многолетних значений длительности листопада составляют от -14 до 11 дней.

Средняя продолжительность вегетационного периода *R. nigrum* в условиях Республики Башкортостан за период с 2015 по 2023 гг. составила 188 ± 4.2 дней. Продолжительность вегетационного периода *R. nigrum* отличалась в зависимости от сорта. Она варьировала от 184 ± 5.3 дней ('Иремель') до 190 ± 4.0 дней ('Кушнаренковская', 'Сеянец Голубки') дней. Короткий период вегетации (158 дней) отмечен у сорта 'Иремель' в 2015 г., а длинный (207 дней) – у сорта 'Бобровая' в 2023 г. Отклонение от средней многолетней длительности вегетационного периода варьировало от -26 – до 22 дней.

Заключение

Феноритмы сортов *R. nigrum* селекции Башкирского НИИСХ в условиях Башкирского Предуралья имеют свои особенности и отражают приспособленность сортов к изменению климата. Местные сорта *R. nigrum* – 'Бельская', 'Бобровая', 'Валовая', 'Иремель', 'Караидель', 'Кушнаренковская', 'Труженица', 'Эстафета', становление которых проходило в сложных климатических условиях Башкирского Предуралья, имеют высокую пластичность и высокий уровень адаптации. Сроки наступления фенофаз, в особенности цветения и созревания плодов, зависели от темпов накопления положительных температур. Минимальная сумма положительных температур для наступления фенофаз у сортов *R. nigrum* составила: для начала вегетации – 32°C ; для цветения и роста побегов – 190°C ; для созревания плодов – 1532°C . Экстремальные условия, такие как отсутствие снежного покрова при существенных низких температурах (до -35°C) в период покоя, недостаточное количество влаги в начале вегетации, возвратные заморозки до -3.7°C , при относительной влажности воздуха 38% в период цветения, контрастные температуры в период созревания ягод и плодоношения до $+40.2^\circ\text{C}$, теплая и дождливая погода в фазу листопада оказывали негативное влияние на состояние растений. Фенологические фазы сортов *R. nigrum* демонстрировали отклонения в сроках их прохождения в зависимости от погодных условий вегетационного периода. Для сортов 'Караидель', 'Эстафета', 'Чишма' наблюдается тенденция раннего наступления сроков созревания ягод; для сортов 'Бельская', 'Бобровая' и Кушнаренковская – относительно позднего наступления сроков созревания ягод. Сорта 'Валовая', 'Иремель', 'Сеянец Голубки', 'Труженица' сохранили фено-

ритмы созревания ягод. К настоящему времени в условиях Башкирского Предуралья ранним сроком созревания характеризуются сорта 'Валовая', 'Сеянец Голубки', 'Чишма'; среднего срока созревания – сорта 'Караидель', 'Эстафета', 'Бельская'; среднепозднего срока созревания – сорта 'Бобровая', 'Ирмель'; позднего срока созревания – сорта 'Кушнаренковская', 'Труженица'.

Список источников

1. Абдеева М.Г. Производственно-биологическая характеристика сортов черной смородины в Башкирской АССР: дис. канд. с.-х. наук. Уфа, 1977. 182 с.
2. Абдеева М.Г. Создание сортов смородины с высокой адаптивной способностью // Достижения науки и техники АПК. 2010. № 1. С. 26–27.
3. Агrometeorологический бюллетень ФГБУ «Башкирское УГМС». URL: <https://www.meteorb.ru/weather/interaktiv-map-meteodata-repbashkortostan>.
4. Байтурина Р.Р. и др. Влияние изменений климата на лесные ресурсы Республики Башкортостан // Лесотехнический журнал. 2020. Т. 10, № 4(40). С. 99–109. DOI 10.34220/issn.2222-7962/2020.4/8.
5. Бейдеман И.Н. Методика изучения фенологии растений и растительных сообществ. Новосибирск: Наука, 1974. 156 с.
6. Галимова Р.Г. Оценка влияния современных климатических изменений в природных зонах республики Башкортостан // Региональные геосистемы. 2020. № 2. С. 125–137.
7. Государственный реестр селекционных достижений, допущенных к использованию. М.: Росинформагротех, 2023. Т. 1. Сорта растений. 631 с.
8. Джигадло Е.Н. и др. Программа и методика сортоизучения плодовых, ягодных и орехоплодных культур. Орел: Изд-во ВНИИ селекции плодовых культур, 1999. С. 351–373.
9. Ефремов А.П. Лекарственные растения и грибы средней полосы России. М.: Фитон XXI, 2021. С. 494–502.
10. Зайцев Г.Н. Математическая статистика в экспериментальной ботанике. М.: Наука, 1984. 424 с.
11. Ионова Е.В., Лиховидова В.А., Лобунская И.А. Засуха и гидротермический коэффициент увлажнения как один из критериев оценки степени ее интенсивности (обзор литературы) // Зерновое хозяйство России. 2019. № 6. С. 18–22. <https://doi.org/10.31367/2079-8725-2019-66-6-18-22>.
12. Кирилкина Т.И. Экспозиции Ботанического сада ПетрГУ: «Круглый сад» // Hortus botanicus. 2015. Т. 10. С. 288–293. URL: <https://cyberleninka.ru/article/n/ekspozitsii-botanicheskogo-sada-petrgu-kruglyy-sad> (дата обращения: 03.01.2023).
13. Неброй К.Ю. Современные направления селекционных исследований культуры смородины черной и возможные пути их реализации // Современное садоводство. 2023. № 1. С. 15–30.
14. Федоренко В.Ф. и др. Анализ состояния и перспективные направления развития питомниководства и садоводства. М., 2019. 88 с.
15. Naokip S., Shankar K., Lalrinnggheta J. Climate change and its impact on fruit crops // Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry. 2020. Vol. 9(1). P. 435–438.
16. PCC 2023: Summary for Policymakers // Climate Change 2023: Synthesis Report. Contribution of Working Groups I, II and III to the Sixth Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change [Core Writing Team, H. Lee and J. Romero (eds.)]. IPCC, Geneva, Switzerland, P. 1–34, doi: 10.59327/IPCC/AR6-9789291691647.001.
17. Sharma G., Lata S., Yadav A. Currants. Temperate Fruit Crop Breeding: Domestication to Cultivar Development. Publisher: Jaya Publishing House, 2020. Chapter: 8. P. 255–279.
18. Vagiri M.R. Black currant (*Ribes nigrum* L.) an insight into the crop // Faculty of Landscape Planning, Horticulture and Agricultural Science, Swedish University of Agricultural Sciences. 2012. Vol. 2. P. 3–58.

References

1. Abdeeva M.G. *Proizvodstvenno-biologičeskaja charakteristika sortov černoj smorodiny v Baškirkoj ASSR. Diss kand. s.-ch. nauk* [Production and biological characteristics of black currant varieties in the Bashkir ASSR: PhD agricultural sciences]. Ufa, 1977. 182 p. (In Russ.).
2. Abdeeva M.G. [Creating black currant varieties with high adaptive ability]. *Dostiženija nauki i tehniku APK*. No. 1 (2010): pp. 26–27. (In Russ.).
3. Agrometeorological bulletin of FSBI "Bashkir UGMS". Available at: <https://www.meteorb.ru/weather/interaktiv-map-meteodata-repbashkortostan> (accessed 30.05.2024). (In Russ.).
4. Baiturina R.R., Gabelhakov A.K., Khalikova O.V. et al. [Influence of climate changes on forest resources of the Republic of Bashkortostan]. *Lesotehničeskij žurnal*. V. 10, No. 4(40) (2020): pp. 99–109. DOI 10.34220/issn.2222-7962/2020.4/8. (In Russ.).
5. Beideman I.N. *Metodika izučenija fenologii rastenij i rastitel'nych soobščestv* [Methodology for studying the phenology of plants and plant]. Novosibirsk, Nauka Publ., 1974. 156 p. (In Russ.).

6. Galimova R.G. [Assessment of the impact of modern climate changes in the natural zones of the Republic of Bashkortostan]. *Regional'nye geosistemy*. No. 2 (2020): pp. 125-137. (In Russ.).
7. *Gosudarstvennyj reestr selekcionnykh dostizhenij, dopuschnykh k ispol'zovaniju* [State register of breeding achievements approved for use]. Moscow, Rosinformagrotech Publ., 2023. V. 1: Plant varieties. 631 p. (In Russ.).
8. Dzhigadlo E.N., Dolmatov E.A., Zhdanov V.V., Knyazev S.D., Krasova N.G., Ogoltsova T.P., Sedov E.N., Sedysheva G.A. *Programma i metodika sortoizuchenija plodovykh, jagodnykh i orechoplodnykh kul'tur* [Program and methodology for variety testing of fruit, berry and nut crops]. Orel, 1999, pp. 351-373. (In Russ.).
9. Efremov A.P. *Lekarstvennye rastenija i griby srednej polosy Rossii* [Medicinal plants and mushrooms of the middle zone of Russia]. Moscow, Phytone XXI Publ., 2021, pp. 494-502. (In Russ.).
10. Zaitsev G.N. *Matematičeskaja statistika v ěksperimental'noj botanike* [Mathematical statistics in experimental botany]. Moscow, Nauka Publ., 1984. 424 p. (In Russ.).
11. Ionova E.V., Likhovidova V.A., Labunskaya I.A. [Drought and hydrothermal moisture coefficient as one of the criteria for assessing the degree of its intensity (literature review)]. *Zernovoe chozjajstvo Russii*. No. 6 (2019): pp. 18-22. <https://doi.org/10.31367/2079-8725-2019-66-6-18-22>. (In Russ.).
12. Kirilkina T.I. [Expositions of the Botanical Garden of PetrSU: "Round Garden"]. *Hortus botanicus*. V. 10 (2015): pp. 288-293. Available at: <https://cyberleninka.ru/article/n/ekspozitsii-botanicheskogo-sada-petrgu-kruglyy-sad> (accessed 03.01.2023). (In Russ.).
13. Nebroy K.Yu. [Modern directions of breeding research on black currant culture and possible ways of their implementation]. *Sovremennoe sadovodstvo*. No. 1 (2023): pp. 15-30. (In Russ.).
14. Fedorenko V.F., Mishurov N.P., Kondratyeva O.V. et al. *Analiz sostojanija i perspektivnye napravlenija razvitiya pitomnikovodstva i sadovodstva* [Analysis of the state and promising directions of development of nursery and horticulture]. Moscow, 2019. 88 p. (In Russ.).
15. Haokip S., Shankar K., Lalringheta J. Climate change and its impact on fruit crops. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*. V. 9(1) (2020): pp. 435-438.
16. IPCC. Summary for Policymakers. Climate Change 2023: Synthesis Report. Contribution of Working Groups I, II and III to the Sixth Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change. Geneva, Switzerland, IPCC, 2023. P. 1-34. doi: 10.59327/IPCC/AR6-9789291691647.001.
17. Sharma G., Lata S., Yadav A. Currants. Temperate Fruit Crop Breeding: Domestication to Cultivar Development. Publisher: Jaya Publ. House, 2020, Chapter: 8, pp. 255-279.
18. Vagiri M.R. Black currant (*Ribes nigrum* L.) an insight into the crop. Faculty of Landscape Planning, Horticulture and Agricultural Science, Swedish University of Agricultural Sciences. V. 2 (2012): pp. 3-58.

Статья поступила в редакцию 04.06.2024; одобрена после рецензирования 11.06.2024; принята к публикации 27.09.2024.

The article was submitted 04.06.2024; approved after reviewing 11.06.2024; accepted for publication 27.09.2024.

Информация об авторах

Л. А. Головина – научный сотрудник;

М. М. Ишмуратова – д-р биол. наук, профессор, профессор кафедры биологии и экологии Ин-та природы и человека.

Information about the authors

L. A. Golovina – research associate;

M. M. Ishmuratova – doctor of biology, professor, professor of the Department of biology and ecology of the Institute of nature and man.

Вклад авторов:

Головина Л. А. – концепция исследования; планирование эксперимента; сбор материала; написание исходного текста; итоговые выводы; статистическая обработка материала.

Ишмуратова М. М. – научное руководство; концепция исследования; доработка текста; итоговые выводы.

Contribution of the authors:

Golovina L. A. – research concept, experiment planning, material collection, writing the source text, final conclusions, statistical processing of the material.

Ishmuratova M. M. – research supervision, research concept, text revision, final conclusions.

БОТАНИКА

Научная статья

УДК 581.55

DWBIBN

doi: 10.17072/1994-9952-2024-3-263-268



Представители семейства *Teloschistaceae*, как компонент растительного покрова скальных обнажений в долине р. Чусовой (Средний Урал)

Екатерина Андреевна Лаврская^{1✉, 2}, Алексей Евгеньевич Селиванов³,
Ксения Олеговна Печенкина^{4, 5}

^{1, 3, 5} Пермский государственный гуманитарно-педагогический университет, Пермь, Россия

^{2, 4} Пермский государственный национальный исследовательский университет, Пермь, Россия

^{1✉} ekandr.sh@yandex.ru

³ selivanperm@yandex.ru

⁴ pechenkina.ksusha@yandex.ru

Аннотация. Приведены сведения о закономерностях расположения лишайников семейства *Teloschistaceae* на береговых скалах в среднем течении р. Чусовой на участке от с. Кын до г. Чусового (Пермский край, Свердловская обл.). Для описания лишайникового покрова на скальных обнажениях закладывали учетные площадки размером 30×30 см. Каждая площадка фотографировалась с масштабной линейкой, фиксировались характеристики местообитания: уклон поверхности, экспозиция, наличие нависаний, горная порода. Семейство *Teloschistaceae* в районе исследования представлено тремя родами: *Caloplaca*, *Rusavskia*, *Xanthoria*. Из этих родов наибольшую встречаемость и проективное покрытие имеют виды рода *Rusavskia*. Максимальные показатели встречаемости представителей семейства, отмечены на известняковых скалах. На скалах из других пород (песчаники) они встречаются реже. Более высокие значения проективного покрытия и встречаемости телосхистовые демонстрируют на южных и восточных экспозициях. Представители *Teloschistaceae* являются одними из доминантных видов, играющих важную роль в сложении лишайникового покрова береговых скальных обнажений. Основными факторами, определяющими их распределение на изученных субстратах, являются экспозиция, тип горной породы, характер рельефа.

Ключевые слова: река Чусовая, эпилитные лишайники, лишайниковый покров, проективное покрытие, встречаемость, фитоценотическая роль

Для цитирования: Лаврская Е. А., Селиванов А. Е., Печенкина К. О. Представители семейства *Teloschistaceae*, как компонент растительного покрова скальных обнажений в долине реки Чусовой (Средний Урал) // Вестник Пермского университета. Сер. Биология. 2024. Вып. 3. С. 263–268. <http://dx.doi.org/10.17072/1994-9952-2024-3-263-268>.

BOTANY

Original article

Representatives of the family *Teloschistaceae* as a component of the vegetation cover of rocky outcrops in the Chusovaya River valley (Middle Urals)

Ekaterina A. Lavrskaya^{1✉, 2}, Aleksey E. Selivanov³, Ksenia O. Pechenkina^{4, 5}

^{1, 3, 5} Perm State Humanitarian Pedagogical University, Perm, Russia

^{2, 4} Perm State University, Perm, Russia

^{1✉} ekandr.sh@yandex.ru

³ selivanperm@yandex.ru

⁴ pechenkina.ksusha@yandex.ru

Abstract. The paper presents data on the patterns of lichens of the family *Teloschistaceae* on coastal rocks in the middle reaches of the Chusovaya River from the village of Kyn to the town of Chusovoy (Perm Krai, Sverdlovsk Oblast). To describe the lichen cover on rocky outcrops, 30×30 cm survey plots were laid out. Each site

was photographed with a scale ruler, and habitat characteristics such as surface slope, exposure, overhangs, and rock were recorded. The family *Teloschistaceae* in the study area on rocky outcrops is represented by three genera: *Caloplaca*, *Rusavskia*, and *Xanthoria*. Of these genera, *Rusavskia* has the highest occurrence and projective coverage. Maximum indicators of occurrence of representatives of the family are noted on limestone rocks. On rocks from other rocks (sandstones) they occur less frequently. *Teloschistaceae* show higher values of projective coverage and occurrence on southern and eastern exposures. Representatives of *Teloschistaceae* are among the dominant species that play an important role in the lichen cover of coastal rock outcrops. The main factors determining their distribution on the studied substrates are exposure, rock type, and relief character.

Keywords: Chusovaya River, epilithic lichens, lichen cover, projective coverage, occurrence, phytocenotic role

For citation: Lavrskaya E. A., Selivanov A. E., Pechenkina K. O. [Representatives of the family *Teloschistaceae* as a component of the vegetation cover of rocky outcrops in the Chusovaya River valley (Middle Urals)]. *Bulletin of Perm University. Biology*. Iss. 3 (2024): pp. 263-268. (In Russ.). <http://dx.doi.org/10.17072/1994-9952-2024-3-263-268>.

Введение

Свойства субстрата являются одними из важных факторов, влияющих на встречаемость, и характер распределения видов лишайников [Мальшьева, Шмидт, Голубкова, 1980; Седельникова, 1982; Мучник, 1997]. Многие авторы отмечают влияние физических характеристик субстрата, кислотности, химического состава, микрорельефа поверхности на разнообразие эпилитных лишайников и структуру их сообществ [Brodo, 1973; Favero-Longo, Isocrono, Piervittori, 2004; Rajakaruna et al., 2012].

Взаимодействие субстрата и лишайника может зависеть и от вторичных метаболитов, присутствующих в таллеме. По данным M. Nauck, S.R. Jürgens [2008], набор лишайниковых веществ у некоторых видов существенно влияет на субстратную приуроченность.

На территории Пермского края проводились исследования влияния физических свойств субстрата на лишайниковый покров скальных обнажений кварцитопесчаников и кварцевых песчаников [Погудина, Гришина, 2013]. Ведется изучение растительного покрова силикатных горных пород на останцах и кумуликах в горах [Селиванов и др., 2017].

Наша работа является частью исследований растительного покрова приречных обнажений осадочных горных пород в пределах Пермского края. Пермский край характеризуется хорошо развитой речной сетью, относящейся к бассейну р. Волги, изучение прибрежно-водных фитоценозов на этих территориях особенно актуально.

Долина р. Чусовой известна своими береговыми скалами – бойцами. Настоящее исследование проводилось в среднем течении реки, на береговых скалах. В районе исследования большая часть береговых скал состоит из карбонатсодержащих пород (известняки, кальцийсодержащие песчаники). На таких скалах одним из основных фототрофных компонентов являются лишайники.

Представители семейства *Teloschistaceae* являются обычными обитателями карбонатных пород. Виды с оранжевым слоевищем играют важную роль в сложении фитоценозов скальных обнажений района исследований, и обычно определяют их аспект. Несмотря на общеизвестную кальцефильность данной группы лишайников, они встречаются на скалах далеко не повсеместно.

Цель нашей работы – выявление закономерностей распределения лишайников семейства *Teloschistaceae* на скальных обнажениях в районе исследования.

Материал и методы исследования

Материал собран авторами в полевой сезон 2017 г. в среднем течении р. Чусовой (участок от с. Кын до г. Чусового). На береговых скальных обнажениях были проведены описания лишайникового покрова, для чего закладывали учетные площадки 30×30 см; при этом фиксировались данные об экспозиции и уклоне; после фотографирования с площадки собирались образцы всех представленных видов лишайников.

Всего на данном участке заложено 375 описаний, из которых на 87 были отмечены виды из семейства *Teloschistaceae* (23.2% от всего числа описаний).

Камеральный этап работы проводился на базе лаборатории биоразнообразия, экологии растений и лишенизированных грибов кафедры биологии и географии Пермского государственного гуманитарно-педагогического университета (ПГГПУ). Образцы хранятся в гербарии РРУ (ПГГПУ). Определение образцов проводилось с использованием стандартной методики [Флора лишайников ..., 2014].

Для изучения физико-химических характеристик субстрата измерялись удельная влагоемкость его образцов и кислотность смывов с них [Селиванов и др., 2019]. Для определения обилия видов был рассчитан процент проективного покрытия по фотографиям учетных площадей. Покрытие измерялось в программе ImageJ1.5 и рассчитывалось в таблицах Microsoft Excel.

Данные были проанализированы при помощи статистических методов. Матрица данных обрабатывалась в программе Past4.03. Кластерный анализ проводился методом ближайшего соседа (Neighbor-joining), в качестве индекса выбрано Евклидово расстояние. Оценка достоверности выделения отдельных кластеров выполнена Bootstrep-анализом (1000 итераций). Для определения эколого-субстратной приуроченности видов проведен факторный анализ (методом главных компонент). За факторы мы принимаем характеристики, которые фиксировались для каждого описания в поле или рассчитывались на камеральном этапе работы.

Результаты и их обсуждение

В ходе идентификации образцов на исследованной территории обнаружено 157 видов лишайников, 11 из которых относятся к семейству *Teloschistaceae* (7% общего числа видов), которое здесь представлено тремя родами: *Caloplaca*, *Rusavskia*, *Xanthoria*.

Большая часть видов представлена накипными формами: *Athallia holocarpa* (Hoffm.) Arup et al., *Calogaya decipiens* (Arnold) Arup et al., *Calogaya saxicola* (Hoffm.) Vondrák, *Caloplaca cerina* (Hedw.) Th.Fr., *Caloplaca lactea* (A. Massal.) Zahlbr., *Caloplaca diphodes* (Nyl.) Jatta, *Leproplaca chrysodeta* (Vain.) J.R. Laundon ex Ahti, *Pyrenodesmia variabilis* (Pers.) A.Massal. Остальные виды – листоватые: *Rusavskia elegans* (Link) S.Y.Kondr. et. Kärnefelt, *Rusavskia soredata* (Vain.) S.Y.Kondr. & Kärnefelt, *Xanthoria calcicola* Oхner.

Совокупность характеристик перечисленных видов телосхистовых была подвергнута кластерному анализу. На рисунке 1 приводятся результаты кластеризации и Bootstrep-анализа, по оси ординат приведены значения коэффициента сходства. Рисунок демонстрирует разделение учетных площадок на 2 основных кластера (значение Bootstrep – 100). Основной характеристикой, по которой происходит разделение, является уклон площадки. Первый кластер включает в себя описания с уклоном менее 90° и в нем можно отметить внутренние группы, например, на описаниях с уклоном 45° (экспозиция юг) как мхи, так и лишайники имеют низкие показатели встречаемости и покрытия. Описания с уклоном 80° (экспозиции Ю и ЮВ), наоборот, выделяются высокими значениями покрытия накипных лишайников.

Второй кластер состоит из площадок с уклоном в 90° и более (в том числе и отрицательные уклоны до 180°), они все располагаются на южных экспозициях (Ю, ЮЗ, ЮВ). На описаниях второго кластера, как по значениям проективного покрытия, так и встречаемости преобладают листоватые лишайники (*Rusavskia soredata* (Vain.) S.Y.Kondr. & Kärnefelt, *Xanthoria calcicola* Oхner).

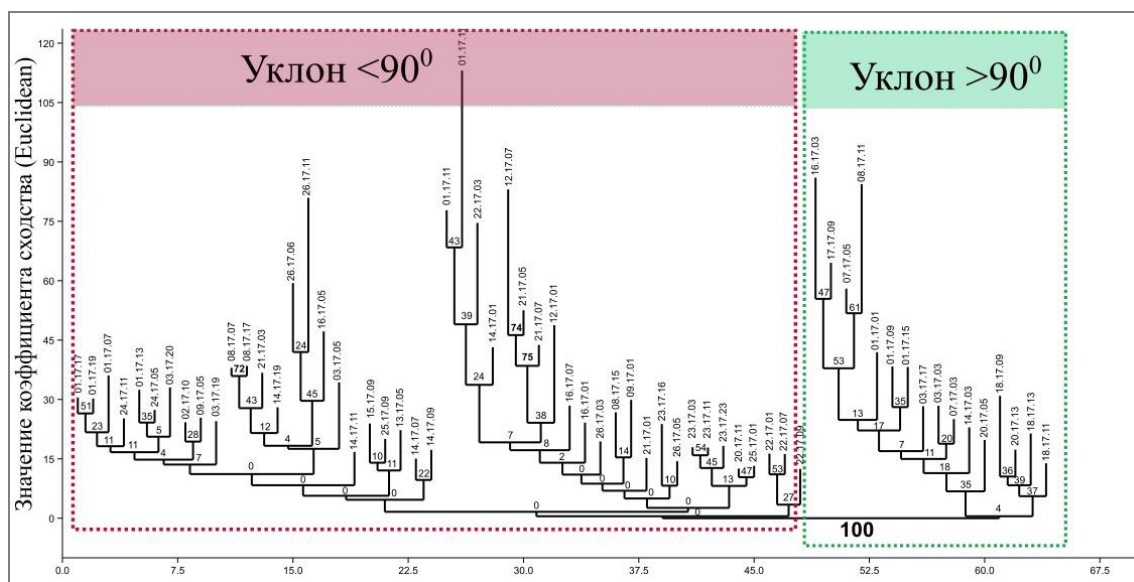


Рис. 1. Результат кластеризации учетных площадок

[The result of clustering of accounting sites]

Для данных по встречаемости и проективному покрытию построены графики, отображающие распределение значений по сторонам света (рис. 2, 3). Максимальные значения суммарной встречаемости лишайников отмечены на юго-западных и восточных экспозициях. На западных и юго-западных экспозициях, преобладают листоватые формы. Значения встречаемости накипных лишайников больше на восточных склонах. В отличие от лопастных лишайников, накипные редко, но все же встречаются на северных склонах вместе со мхами. В большинстве случаев это талломы лепрозного лишайника – *Leproplaca chrysodeta* (Vain.) J.R. Laundon ex Ahti.

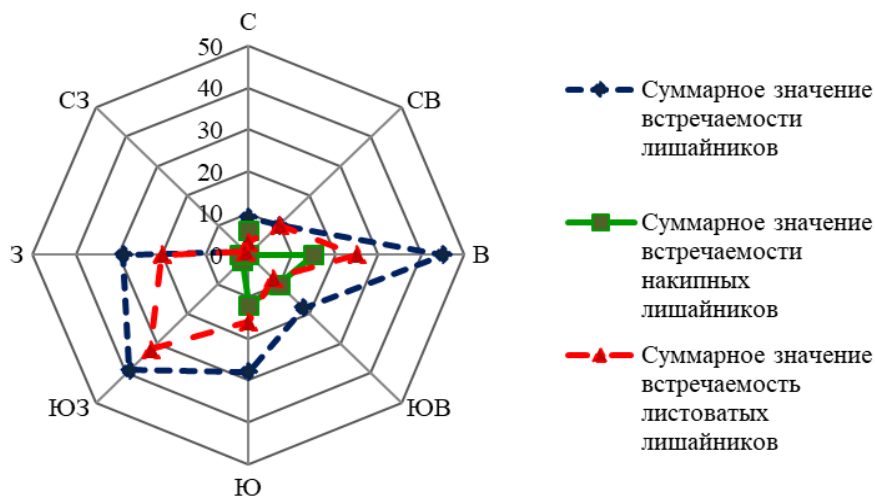


Рис. 2. Суммарная встречаемость лишайников (шт.) в зависимости от экспозиции
 [Total lichen occurrence (pcs) depending on exposure]

Максимальные значения покрытия лишайников выявлены как на южных экспозициях (Ю, ЮВ) так и на восточных (рис. 3). На скалах, ориентированных на юг, по значению покрытия преобладают листоватые виды.

Проективное покрытие как листоватых, так и накипных форм талломов зависит помимо экспозиции от влагоемкости горной породы. Так лишайники листоватых форм имеют максимальные средние значения покрытия и встречаемости на скалах, влагоемкость которых варьирует от 1 до 1.5%, и минимальные от 1.5 до 2%. Проективное покрытие талломов накипного типа высокое при влагоемкости около 1%, показатель резко падает при достижении значений 1.5 % и более.

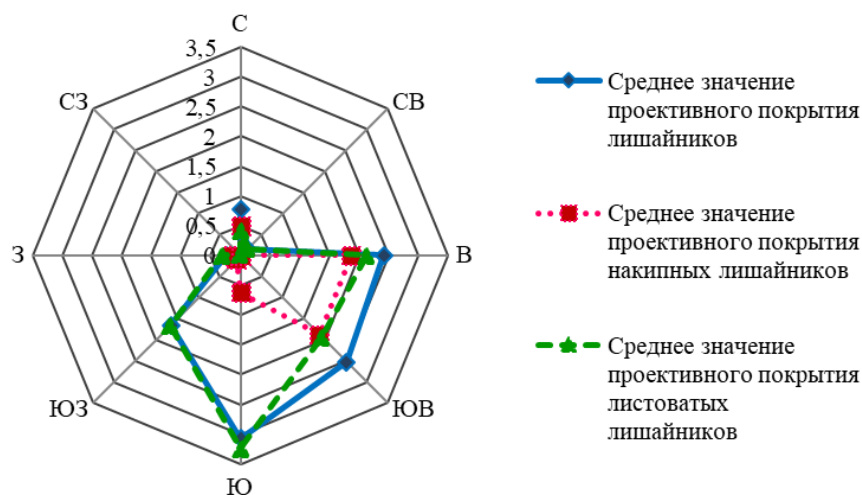


Рис. 3. Среднее значение проективного покрытия лишайников (%) в зависимости от экспозиции
 [Average value of projective lichen coverage (%) depending on exposure]

Согласно результатам факторного анализа местообитаний лишайников сем. *Teloschistaceae* нами выделены 3 компоненты, определяющие распределение видов на скалах в долине р. Чусовой. Для анализа количества факторов был использован метод «каменистой осыпи» (построен график «Scree plot»). Первая компонента (процент общей дисперсии 53.3) состоит из данных об уклоне учетной площадки (вклад фактора в компоненту 0.98). Вторая компонента (общая дисперсия 27.2%) определяется данными среднего проективного покрытия лишайников и покрытия листоватых лишайников (соответственно 0.68 и 0.7). Третья компонента имеет минимальный процент дисперсии (7.2%) и складывается из данных о проективном покрытии мхов (0.94). На распределение учетных площадей в пространстве двух компонент максимальное влияние оказывают характеристики проективного покрытия лишайников и мхов. Особенности распределения этих организмов, когда на площадях с низким значением покрытия лишайников высокое содержание мхов и наоборот, позволяет противопоставить лишайники и мхи. В районе исследования они

занимают локации с разными условиями и, поэтому, на наш взгляд, являются экологическими антагонистами.

Заключение

Анализ факторов, влияющих на формирование лишайникового покрова показал, что на распределение видов семейства *Teloschistaceae* в долине р. Чусовая оказывает значимое влияние крутизна и экспозиция склонов. Влияние выражается в характере распределения на учетных площадках накипных и листоватых видов лишайников. Листоватые виды преобладают на описаниях, где уклон более 80°, а среднее значение проективного покрытия максимально на южных склонах. Лишайники других таксономических групп на таких участках представлены накипными формами с незначительной площадью покрытия или вовсе отсутствуют.

Накипные лишайники семейства *Teloschistaceae* достигают высоких значений встречаемости и покрытия на площадках с уклоном от 70 до 90°. Здесь взаимодействие с другими группами лишайников может иметь два варианта. Первый, когда на участках с низким значением покрытия накипных и отсутствием листоватых форм телосхистовых, массово присутствуют другие группы лишайников. Второй вариант, когда виды разных таксономических групп одинаково слабо представлены. Такие различия могут объясняться особенностями условий, в частности, характеристиками субстратов и механическими воздействиями на них (сход льда в период снеготаяния, утрата естественного позиционирования каменных глыб на скальном массиве).

Изменение уровня антропогенной нагрузки в районе исследования может оказать влияние на лишайниковый покров береговых скал. По данным исследования, факторами, которые в первую очередь подвергнутся изменению, являются встречаемость лишайников и значение их проективного покрытия. Поэтому можно предположить, что данные характеристики при необходимости допустимо использовать при проведении мониторинга и оценке рекреационной нагрузки территории.

Список источников

1. Мальшчева Н.В., Шмидт В.М., Голубкова Н.С. Лишайники Татарии II. Экологическое распределение лишайников по субстратам. Роль субстрата в географическом распределении лишайников // Вестник Ленинградского государственного университета. Биология. 1980. № 15. С. 45–55.
2. Мучник Е.Э. Эпилитные лишайники Центрального Черноземья // Ботанический журнал. 1997. Т. 82, № 4. С. 46–53.
3. Погудина Е.В., Гришина Е.Л. Лишайники на кварцевом песчанике в долине р. Усьва и на хребте Рудянский Спой // Вестник Пермского государственного гуманитарно-педагогического университета. Сер. № 2. Физико-математические и естественные науки. 2013. Вып. 1. С. 25–31.
4. Седельникова Н.В. Лишайники – индикаторы горных пород // Нетрадиционные методы в исследованиях растительности Сибири. Новосибирск: Наука, 1982. С. 35–40.
5. Селиванов А.Е. и др. Растительный покров скальных обнажений на хребте Муни-Тумп (Северный Урал) // Вестник Пермского государственного гуманитарно-педагогического университета. Сер. № 2. Физико-математические и естественные науки. 2017. Вып. 2. С. 40–51.
6. Селиванов А.Е. и др. Исследование физико-химических характеристик субстратов эпилитных лишайников. // Лишайники от молекул до экосистем: программа и тез. докл. Междунар. конф. Сыктывкар, 2019. С. 75–78.
7. Флора лишайников России: биология, экология, разнообразие, распространение и методы изучения лишайников. М.; СПб., 2014. 392 с.
8. Brodo I.M. Substrate ecology // The Lichens / V. Ahmadjian, M.E. Hale, eds. New York, USA; London, UK: Academic Press, 1973. P. 401–441.
9. Favero-Longo S.E., Isocrone D., Piervittori R. Lichens and ultramafic rocks: a review // Lichenologist. 2004. Vol. 36, iss. 6. P. 391–404.
10. Hauck M., Jürgens S.R. Usnic acid controls the acidity tolerance of lichens // Environ. Pollut. 2008. Vol. 156. P. 15–122.
11. Rajakaruna N. et al. Investigation of the importance of rock chemistry for saxicolous lichen communities of the New Idria serpentinite mass, San Benito County, California, USA // Lichenologist. 2012, Vol. 44, iss. 5. P. 695–714.

References

1. Malysheva N.V., Shmidt V.M., Golubkova N.S. [Ecological distribution of lichens across substrates. The role of the substrate in the geographical distribution of lichens]. *Vestnik Leningradskogo gosudarstvennogo universiteta. Biologija*. No. 15 (1980): pp. 45-55. (In Russ.).

2. Muchnik Ye.E. [The saxicolous lichen of the central Chernozem region]. *Botaničeskij žurnal*. V. 82, No. 4 (1997): pp. 46-53. (In Russ.).
3. Pogudina E.V., Grishina E.L. [Lichens on quartz sandstone in the Usva interval and on the Rudyansky Spoy mountain range]. *Vestnik Permskogo gosudarstvennogo gumanitarno-pedagogičeskogo universiteta. Fiziko-matematičeskie i estestvennye nauki*. Iss. 1 (2013): pp. 25-31. (In Russ.).
4. Sedelnikova N.V. [Lichens – indicators of rocks]. *Netradicionnye metody v issledovanijach rastitel'nosti Sibiri* [Non-traditional methods in Siberian vegetation research]. Novosibirsk, Nauka Publ., 1982, pp. 35-40. (In Russ.).
5. Selivanov A.E., Zagrebina E.S., Shchipanova E.A., Pechenkina K.O. [Vegetation cover of rocky outcrops on the Munin-Tump Ridge (Northern Urals)]. *Vestnik Permskogo gosudarstvennogo gumanitarno-pedagogičeskogo universiteta. Fiziko-matematičeskie i estestvennye nauki*. Iss. 2 (2017): pp. 40-51. (In Russ.).
6. Selivanov A.E., Pechenkina K.O., Lebedinsky I.A., Shchipanova E.A. [The study of physical and chemical characteristics of epilithic lichen substrates]. *Lišajniki: ot molekul do èkosistem* [Lichens: from molecules to ecosystems. Program and Abstracts of International Conference]. Syktyvkar, 2019, pp. 75-78. (In Russ.).
7. *Flora lišajnikov Rossii* [The lichen Flora of Russia. Biology, ecology, diversity, distribution and methods to study lichens]. Moscow, St-Peterburg, 2014. 392 p. (In Russ.).
8. Brodo I.M. Substrate ecology. Ahmadjian V., Hale M.E., eds. *The Lichens*. Academic Press: New York, NY, USA; London, UK, 1973. P. 401-441.
9. Favero-Longo S.E., Isocrono D., Piervittori R. Lichens and ultramafic rocks: a review. *Lichenologist*. V. 36, iss. 6 (2004): pp. 391-404.
10. Hauck M., Jürgens S.R. Usnic acid controls the acidity tolerance of lichens. *Environ. Pollut.* V. 156 (2008): pp. 15-122.
11. Rajakaruna N., Knudsen K., Fryday A.M., O'Dell R.E., Pope N., Olday F.C., Woolhouse S. Investigation of the importance of rock chemistry for saxicolous lichen communities of the New Idria serpentinite mass, San Benito County, California, USA. *Lichenologist*. V. 44, iss. 5 (2012): pp. 695-714.

Статья поступила в редакцию 21.05.2024; одобрена после рецензирования 19.08.2024; принята к публикации 27.09.2024.

The article was submitted 21.05.2024; approved after reviewing 19.08.2024; accepted for publication 27.09.2024.

Информация об авторах

Е. А. Лаврская – ассистент кафедры биологии и географии; аспирант кафедры ботаники и генетики растений;
 А. Е. Селиванов – канд. биол. наук, доцент, зав. кафедрой биологии и географии;
 К. О. Печенкина – ассистент кафедры биологии и географии; аспирант кафедры ботаники и генетики растений.

Information about the authors

E. A. Lavrskaya – Assistant of the Department of Biology and Geography; Postgraduate Student the Department of Botany and Plant Genetics;
 A. E. Selivanov – candidat of biology, head of the Department of botany and geography;
 K. O. Pechenkina – Assistant of the Department of Biology and Geography; Postgraduate Student the Department of Botany and Plant Genetics.

Вклад авторов:

Лаврская Е. А. – участие в полевых работах; развитие методологии; статистическая обработка материала, написание исходного текста.

Селиванов А. Е. – участие в полевых работах; научное руководство; концепция исследования; доработка текста; итоговые выводы.

Печенкина К. О. – участие в полевых работах; доработка текста.

Contribution of the authors:

Lavrskaya E. A. – fieldwork participation; methodology development; statistical processing of the material; writing the draft.
 Selivanov A. E. – fieldwork participation; scientific management; research concept; follow on revision of the text; final conclusions.

Pechenkina K. O. – fieldwork participation; follow on revision of the text.

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

The authors declare no conflicts of interests.

ЗООЛОГИЯ

Научная статья

УДК 595.421

ЮОРХН

doi: 10.17072/1994-9952-2024-3-269-277



К изучению иксодовых клещей Большесосновского
муниципального округа Пермского края

Виктор Евгеньевич Ефимик^{1✉}, Александра Алексеевна Телегина²

^{1,2} Пермский государственный национальный исследовательский университет, Пермь, Россия

^{1✉} efimik.viktor@mail.ru

² telegina-2002@bk.ru

Аннотация. Приводятся результаты изучения численности, биотопической приуроченности и сезонной динамики иксодовых клещей *Dermacentor reticulatus* Fabricius, 1794 и *Ixodes persulcatus* (Schulze, 1930) на территории Большесосновского муниципального округа, расположенного на юго-западе Пермского края. Анализ биотопической приуроченности клещей продемонстрировал, что *I. persulcatus* предпочитает различные типы лесов (относительное обилие за сезон варьировало от 20 до 104 экз./флаго-км), а *D. reticulatus* – луговые станции (относительное обилие – 39–830 экз./флаго-км). Оценка влияния температуры и влажности на активность клещей показала, что по каждому фактору во всех биотопах и для каждого вида есть умеренная или заметная корреляция параметров среды с изменением активности клещей. Анализ сезонной динамики активности изучаемых видов выявил следующее: в мае или начале июня в среднем наблюдается высокая численность взрослых клещей обоих видов, в середине лета их активность падает вплоть до нуля и только у *D. reticulatus* активность возобновляется в конце лета и в начале осени и становится даже выше весенней.

Ключевые слова: иксодовые клещи, *Dermacentor reticulatus*, *Ixodes persulcatus*, численность, биотопическая приуроченность, сезонная динамика, Пермский край

Для цитирования: Ефимик Е. В., Телегина А. А. К изучению иксодовых клещей Большесосновского муниципального округа Пермского края // Вестник Пермского университета. Сер. Биология. 2024. Вып. 3. С. 269–277. <http://dx.doi.org/10.17072/1994-9952-2024-3-269-277>.

Благодарности: авторы выражают благодарность сотрудникам ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии в Пермском крае» и особенно Елене Александровне Славновой за предоставление информации.

ZOOLOGY

Original article

To the study of ixodid ticks of the Bolshesosnovsky municipal
district of the Perm Krai

Viktor E. Efimik^{1✉}, Aleksandra A. Telegina²

^{1,2} Perm State University, Perm, Russia

^{1✉} efimik.viktor@mail.ru

² telegina-2002@bk.ru

Abstract. This article presents the results of studying the abundance, biotopic location and seasonal dynamics of ixodid ticks *Dermacentor reticulatus* Fabricius, 1794 and *Ixodes persulcatus* (Schulze, 1930) on the territory of the Bolshesosnovsky municipal District located in the south-west of Perm Krai. An analysis of the biotopic abundance of ticks showed that *I. persulcatus* prefers various types of forests (relative abundance per season ranged from 20 to 104 specimens/flago-km), and *D. reticulatus* prefers meadow stations (relative abundance per season ranged from 39 to 830 specimens/flago-km). Assessment of the influence of temperature and humidity on tick activity has shown that for each factor in all biotopes and for each species there is a moderate or noticeable correlation of environmental parameters with changes in tick activity. The analysis of the seasonal dynamics of the activity of the studied species revealed the following: in May or early June, on average, there is a high number of adult ticks of both species, in midsummer their activity drops to zero and only in *D. reticulatus* activity resumes in late summer and early autumn and becomes even higher than in spring.

Keywords: ixodid ticks, *Dermacentor reticulatus*, *Ixodes persulcatus*, biotopic preference, seasonal dynamics, Perm Krai

For citation: Efimik V. E., Telegina A. A. [To the study of ixodid ticks of the Bolshesosnovsky municipal district of the Perm Krai]. *Bulletin of Perm University. Biology*. Iss. 3 (2024): pp. 269-277. (In Russ.). <http://dx.doi.org/10.17072/1994-9952-2024-3-269-277>.

Acknowledgments the authors express their gratitude to the staff of the Federal Medical Institution "Center of Hygiene and Epidemiology in the Perm Region" and especially to Elena A. Slavnova for providing information.

Введение

Научные исследования о распространении и особенностях биологии иксодовых клещей на территории Пермского края имеют давнюю историю [Миронов, 1939, 1940; Пшеничников, Храмушин, 1943; Шилова, 1963; Лыков, 1967; Симкин, 1967; Лыков, Митрофанова, 1971 и др.], но остаются актуальными и имеют важное значение и в настоящее время в связи с тем, что большая часть территории Пермского края относится к зоне природно-очаговых клещевых инфекций, число которых уже достигло четырех, появляются их новые переносчики. К тому же в акаралогическом и инфекционном плане не все районы (округа) Пермского края до сих пор изучены одинаково хорошо. В частности, к недостаточно исследованным районам края относится и Большесосновский муниципальный округ.

Ранее нами были опубликованы данные по видовому составу и оценке степени зараженности иксодовых клещей в данном округе [Телегина, Ефимик, Славнова, 2024]. У двух видов, обнаруженных там – таежный клещ *Ixodes persulcatus* (Schulze, 1930) и луговой клещ *Dermacentor reticulatus* Fabricius, 1794, – уровень зараженности колеблется от 22.7% у *D. reticulatus* до 67.1% у *I. persulcatus*. В клещах были обнаружены бактерии, относящиеся к родам *Borrelia*, *Anaplasma*, *Ehrlichia*, вызывающие у человека клещевой боррелиоз (болезнь Лайма), гранулоцитарный анаплазмоз человека и моноцитарный эрлихиоз человека соответственно. Чаще других в исследованных клещах были выявлены боррелии (в 20.9% случаях для лугового и в 55.3% – для таежного клеща), при этом вирусный клещевой энцефалит обнаружен не был [Телегина, Ефимик, Славнова, 2024].

Данная статья посвящена изучению биотопической приуроченности и сезонной динамике численности *I. persulcatus* и *D. reticulatus* в Большесосновском муниципальном округе Пермского края.

Материал и методы исследования

Территория Большесосновского муниципального округа является частью восточной окраины Восточно-Европейской равнины, располагается на юго-западе Пермского края (рис. 1) в бассейне р. Камы и её притоке – р. Сивы и входит в подзону южнотаежных пихтово-еловых лесов [Овеснов, 1997].



Рис. 1. Большесосновский муниципальный округ на карте Пермского края

[Bolshesosnovsky municipal District (red), Perm Krai]

Оценка сезонной динамики активности и биотопической приуроченности иксодовых клещей в Большесосновском округе Пермского края проводилась с 10 мая по 7 октября 2023 г. на территории Тойкинского сельского поселения и в его окрестностях.

Материал собирался по общепринятой методике с помощью флага [Таежный клещ..., 1985; Сбор, учет ..., 2012]. Орудие сбора было изготовлено из белой вафельной ткани, в передний край которой зашивалось древко. К древку для удобства была привязана верёвка. Ширина флага составляла 0,6 м, длина – 1 м. Орудие сбора велось по траве параллельно ходу учётника с остановками через каждые 25 м (40–50 шагов) для осмотра. Все особи, зацепившиеся за ткань флага и за учётника, были подсчитаны, записаны в блокнот с разделением по видам и половой принадлежности. Для видовой идентификации часть клещей помещалась в пробирки с этиловым спиртом, а большинство возвращалась в привычное место обитания.

Обилие клещей указывали числом особей, напавших на учётника и флаг на 1 км пути – экз. / флажок-км. Перед началом сбора на каждом маршруте измерялась температура и влажность окружающей среды. Позже был произведён подсчёт коэффициентов корреляции (зависимость количества клещей от температуры и влажности) с помощью алгоритмов программы MSExcel 2013. Материал был собран на 5 маршрутах, каждый протяженностью 1 км.

Маршрут 1 – опушка темнохвойного леса. Маршрут пролегал вдоль темнохвойного леса, в котором преимущественно произрастают ели, в меньшем количестве присутствуют сосны. Лес вырос на одном склоне лога. В самом логу и на другом склоне преобладают травы, редко встречаются кустарники (например, шиповник).

Маршрут 2 – мелколиственный лес. Маршрут пролегал по лесной дороге. Лес молодой, преобладают берёзы и осины.

Маршрут 3 – низинный луг. Маршрут пролегал вдоль р. Потки. На данный момент луг используется в качестве пастбища. Произрастают луговые травы, из древесных растений – ивы.

Маршрут 4 – злаково-разнотравный луг. Маршрут пролегал вдоль ручья, соединяющего 2 пруда между собой и протекающего по логу ближе к темнохвойному лесу, состоящему из ели (встречаются лиственницы и сосны). На противоположном склоне лога лес лиственный (преобладают береза и осина).

Маршрут 5 – опушка мелколистного леса. Маршрут пролегал вдоль ивняка по границе леса и луга.

С мая по август маршруты проходились ежедекадно (раз в 10 дней), в сентябре и октябре – раз в 2 недели. Осенью обследовались не все биотопы, т.к. в лесах и на опушках в тени не успевала просохнуть трава. За весь период проведено 13 учётов на 1 маршруте (2 учёта осенью), 11 учётов – на маршруте 2, 12 – на маршруте 3 (1 осенью), 14 – на маршрутах 4 и 5 (3 осенью).

Всего было собрано 236 особей таёжного и 1194 экземпляра лугового клеща.

Результаты и их обсуждение

Биотопическая приуроченность

Для анализа биотопической приуроченности клещей использовался показатель относительного обилия, который учитывался по сумме ежедекадных данных обилия на 1 км маршрута за период активности. Данный анализ показал, что, во-первых, наибольшую активность продемонстрировал *D. reticulatus*, по сравнению с *I. persulcatus*, во-вторых, что у каждого вида есть свои предпочтения по выбору биотопов (рис. 2).

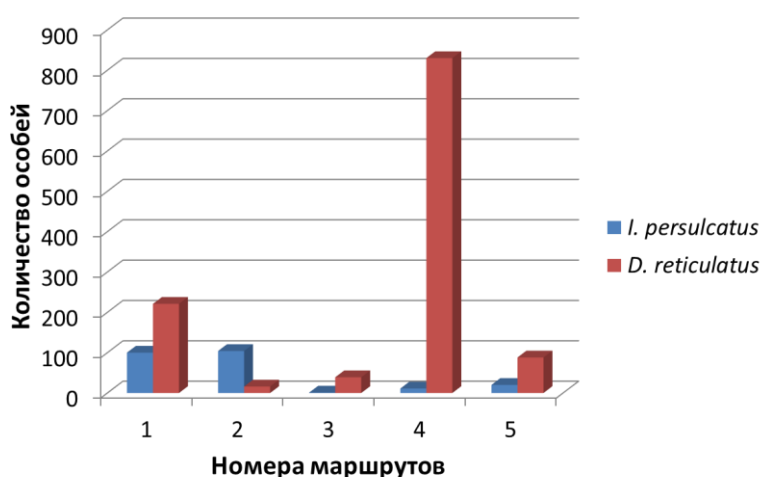


Рис. 2. Биотопическая приуроченность *I. persulcatus* и *D. reticulatus*.

Характеристика маршрутов дана в тексте

[Biotopic location of *I. persulcatus* и *D. reticulatus*.

The characteristics of the routes are given in the text]

Для *I. persulcatus* наиболее привлекательными оказались мелколиственный лес (маршрут 2) – 104 экз./флаго-км и опушка темнохвойного леса (маршрут 1) – 100 экз./флаго-км, а для *D. reticulatus* – злаково-разнотравный луг (маршрут 4) – 830 экз./флаго-км и опушка темнохвойного леса (маршрут 1) – 221 экз./флаго-км. Непривлекательными для *I. persulcatus* был низинный луг (маршрут 3) – 1 экз./флаго-км, а для *D. reticulatus* – мелколиственный лес (маршрут 2) – 16 экз./флаго-км.

Таким образом, по результатам наших исследований таежный клещ (*I. persulcatus*) продемонстрировал предпочтение лесным, а луговой (*D. reticulatus*) – более открытым (опушка леса, луг и т.п.) местообитаниям, что вполне соответствует литературным данным [Кулик, Винокурова, 1983; Малунов, Егоров, 2008; Гапонов, Солодовникова, Федорук, 2011; Береснев, Ефимик, 2021 и др.]. Например, в результате акарологических исследований в Воронежской обл. в 2003–2009 гг. было выявлено, что *D. reticulatus* приурочен к кустарниковым зарослям, полянам, при этом попадался чаще в более затененной части микростадий. [Гапонов, Солодовникова, Федорук, 2011]. Анализ биотопической приуроченности *I. persulcatus* и *D. reticulatus* в агроценозах на территории Верхневолжского региона в 2006–2007 гг. показал, что таежный клещ встречается преимущественно в закрытых, лесных стациях, а луговой клещ предпочитает открытые биотопы (луга, поймы рек, пастбища) [Малунов, Егоров, 2008].

Оценка влияния абиотических факторов на активность клещей

Для оценки влияния температуры и влажности на активность клещей был проведен корреляционный анализ, который показал, что по каждому фактору во всех биотопах и для каждого вида есть умеренная или заметная корреляция параметров среды с изменением активности клещей (таблица).

Значение коэффициентов корреляции относительного обилия клещей с абиотическими факторами исследуемых биотопов

[Correlation coefficients of relative abundance of ticks with abiotic factors of the studied biotopes]

Номер маршрута	Название биотопа	Виды клещей	Температура	Влажность
1	Опушка темнохвойного леса	<i>I. persulcatus</i>	-0.44	-0.09
		<i>D. reticulatus</i>	-0.07	0.06
2	Мелколиственный лес	<i>I. persulcatus</i>	-0.58	-0.70
		<i>D. reticulatus</i>	-0.46	-0.49
3	Низинный луг	<i>I. persulcatus</i>	0.21	-0.46
		<i>D. reticulatus</i>	0.11	-0.53
4	Злаково-разнотравный луг	<i>I. persulcatus</i>	0.19	-0.64
		<i>D. reticulatus</i>	-0.47	0.25
5	Опушка мелколиственного леса	<i>I. persulcatus</i>	-0.26	-0.33
		<i>D. reticulatus</i>	-0.18	0.47

Примечание. Значение корреляции 0.3–0.5 – умеренное; 0.5–0.7 – заметное (по шкале Чеддока) [Котеров и др., 2019].

Почти во всех случаях значения коэффициентов корреляции оказались отрицательными, т.е. при увеличении температуры или влажности наблюдалось снижение относительного обилия клещей. Значение коэффициентов корреляции относительного обилия клещей с абиотическими факторами далее были использованы при оценке сезонной динамики активности клещей.

Сезонная динамика

Анализ сезонной динамики активности изучаемых видов показал следующее. В начале сезона в среднем фиксировалась довольно высокая численность активных особей обоих видов. Затем их обилие постепенно снижалось, а в конце лета и осенью свою высокую активность проявлял только луговой клещ.

Так, на опушке темнохвойного леса (маршрут 1) пик активности *I. persulcatus* пришёлся на вторую декаду мая (рис. 3А). Далее происходило снижение его активности, а в конце июня было зафиксировано небольшое увеличение количества активных особей. Затем снова спад, уже до нуля. Во вторую половину лета активные особи таежного клеща не встречались. Наоборот, *D. reticulatus* здесь продемонстрировал 3 пика активности (в мае, начале августа и в сентябре) и высокую численность в начале сентября (90 экз./флаго-км).

В мелколиственном лесу (маршрут 2) пик активности *I. persulcatus* и *D. reticulatus* также пришёлся на середину мая, а в конце июня было зафиксировано небольшое увеличение количества активных особей *D. reticulatus* (рис. 3Б). С июня до конца лета происходило постепенное увеличение температуры и влажности, что отразилось на активности особей, а именно привело к снижению числа активных клещей. Так, с первой трети июля активные особи этих видов в данном лесу не встречались.

На низинном лугу (маршрут 3) доминировал *D. reticulatus*, у которого было зафиксировано 2 четко выраженных пика активности – в мае и в августе-сентябре (рис. 3В). *I. persulcatus* в мае на данном лугу

еще встречался (был отловлен 1 самец), но после уже не попадался до конца сезона. Что касается абиотических факторов, то влажность, в отличие от температуры, демонстрирует в этом открытом местообитании заметное отрицательное влияние на активность клещей (таблица).

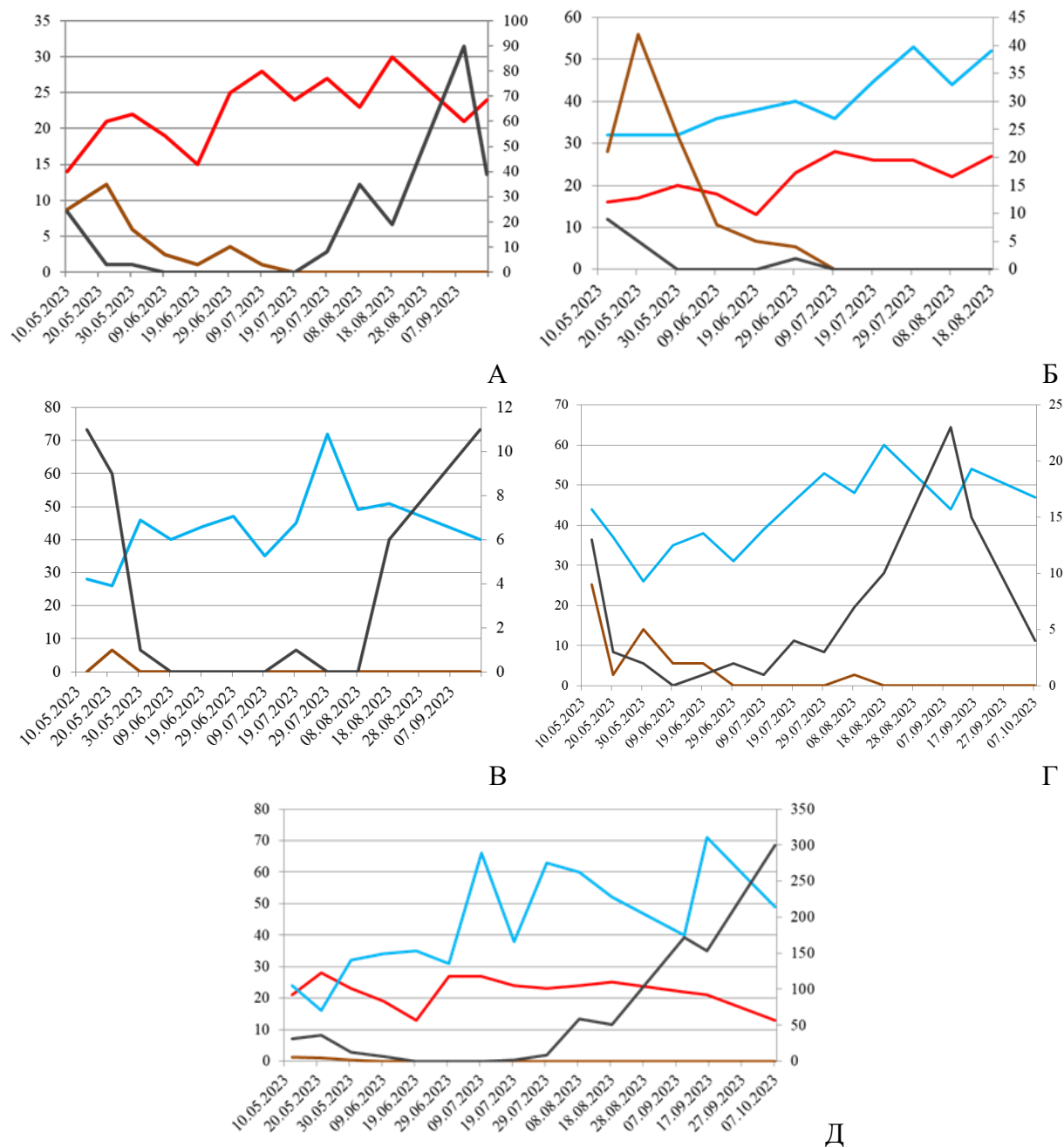


Рис. 3. Динамика сезонной активности *I. persulcatus* (коричневая линия) и *D. reticulatus* (черная линия) в зависимости от влажности (голубая линия) и температуры (красная линия) (левая ось ординат – значения влажности, правая – относительное обилие клещей) по изученным маршрутам: А – опушка темнохвойного леса (маршрут 1); Б – опушка мелколиственного леса (маршрут 2); В – низинный луг (маршрут 3); Г – опушка мелколиственного леса (маршрут 5); Д – злаково-разнотравный луг (маршрут 4)

[Dynamics of seasonal activity of *I. persulcatus* (brown line) and *D. reticulatus* (black line) depending on humidity (blue line) and temperature (red line) (left axis of the ordinate – humidity values, right - relative abundance of ticks) along the studied routes:

А – the edge of a dark coniferous forest (route 1); Б – the edge of a small-leaved forest (mashrut 2); В – a lowland meadow (route 3); Г – the edge of a small-leaved forest (route 5); Д – a grass meadow (route 4)]

На злаково-разнотравном лугу (маршрут 4) *I. persulcatus* в небольших количествах встречался в мае (от 2 до 5 экз./флаго-км), но с начала июня больше не отмечался (рис. 3Д). Здесь также, как и на низин-

ном лугу, доминантом явился *D. reticulatus*, который в мае уже был достаточно активным (от 6 до 40 экз./флаго-км), но, начиная с августа и по октябрь, продемонстрировал мощный подъем своей численности (от 51 до 300 экз./флаго-км).

На опушке мелколиственного леса (маршрут 5) *D. reticulatus* в мае был вполне заметным (от 2 до 13 экз./флаго-км), но в августе-сентябре его численность была выше (от 7 до 23 до экз./флаго-км) (рис. 3Г). *I. persulcatus* демонстрировал типичную динамику – майская активность (от 1 до 9 экз./флаго-км), которая, начиная с середины июня постепенно затухает (рис. 3Г).

Таким образом, наши исследования показали, что в ходе сезонной активности изученных видов иксодид имеются существенные отличия.

Сезонная динамика активности таежного клеща давно и хорошо изучена [Бабенко, 1958; Чигирик, Плещивцева-Ерошкина, 1969; Коренберг, Лебедева, Жуков, 1974; Таежный клещ ..., 1985; Мискевич, Петрова, 2016 и др.]. Половозрелые клещи имеют ярко выраженную весенне-летнюю активность, в которой могут проявляться один или два подъема численности, после которых к концу лета всегда наблюдается спад. Во всех исследованных нами лесных и луговых биотопах мы наблюдали аналогичную картину (рис. 3).

В отличие от таежного, луговой клещ проявлял свою активность дважды за сезон – в мае и с августа вплоть до октября (рис. 3). Известно, что для клещей рода *Dermacentor* характерно наличие двух сезонов паразитирования – первый весенний, второй – осенний [Гапонов, Федорук, Транквилевский, 2008; Гапонов, Солодовникова, Федорук 2011; Ромашова и др., 2017; Глазунов, 2019; Никанорова, 2020]. Но результаты наших наблюдений отличаются от таковых других исследователей. Так, по литературным данным, весенний пик активности *D. reticulatus* характеризуется большей численностью активных имаго, чем осенний [Балашов, 1998; Гапонов, Федорук, Транквилевский, 2008; Гапонов, Солодовникова, Федорук 2011; Глазунов, 2019].

По результатам наших исследований в Большесосновском округе в 2023 г. (рис. 3) и в других округах Пермского края в более ранние годы [Береснев, Ефимик, 2022] осенний пик активности заметно выше весеннего. Вероятно, такую разницу пиков активности можно объяснить более суровыми условиями зимовок *D. reticulatus* в Пермском крае, в результате которых значительная часть клещей погибает. При этом нельзя забывать, что *D. reticulatus* появился на территории Пермского края относительно недавно. По данным полученным от Роспотребнадзора по Пермскому краю, клещи рода *Dermacentor* стали попадать в рекогносцировочных энтомологических учётах только с 2012 г. и только в южных районах Пермского края [Береснев, Ефимик, 2021]. Сейчас луговой клещ уже встречается в западных и центральных округах края. Отсюда можно сделать следующий вывод: *D. reticulatus* – вид для фауны нашего края новый и в результате своей экспансии он на вновь занятой территории подвержен воздействию на него других экологических условий (например, более суровых зим), которые оказывают влияние на появление особенностей в его жизненном цикле.

Заключение

Проведенное акарологическое исследование на территории Большесосновского округа Пермского края с мая по октябрь 2023 г. показало, что на данной территории обитает два вида иксодовых клещей – луговой (*D. reticulatus*) и таежный (*I. persulcatus*). Данные виды могут встречаться в одних и тех же биотопах, но в лесных наиболее активен таежный, а на открытых местообитаниях – луговой клещ. Оценка влияния температуры и влажности на активность клещей показала, что по каждому фактору во всех биотопах и для каждого вида есть умеренная или заметная корреляция параметров среды с изменением активности клещей. Анализ сезонной динамики активности изучаемых видов продемонстрировал, что в мае или начале июня в среднем наблюдается высокая численность взрослых клещей обоих видов, в середине лета их активность падает вплоть до нуля, и только у *D. reticulatus* активность возобновляется в конце лета и в начале осени и становится даже выше весенней.

Список источников

1. Бабенко Л.В. О географической изменчивости сезонного хода активности *Ixodes ricinus* и *Ixodes persulcatus* и о причинах многолетних колебаний их численности // Медицинская паразитология и паразитарные болезни, 1958. № 6. С. 639–653.
2. Балашов Ю.С. Иксодовые клещи – паразиты и переносчики инфекций. СПб.: Наука, 1998. 287 с.
3. Береснев В.В., Ефимик В.Е. Новые данные о распространении *Dermacentor reticulatus* Fabricius, 1794 в Пермском крае // Вестник Пермского университета. Сер. Биология. 2021. Вып. 3. С. 185–190.
4. Береснев В.В., Ефимик В.Е. Особенности экологии клещей *Dermacentor reticulatus* Fabricius, 1794 в Пермском крае // Вестник Пермского университета. Сер. Биология. 2022. Вып. 3. С. 204–211.

5. Гапонов С.П., Солодовникова О.Г., Федорук С.А. Иксодовые клещи (Ixodidae) на урбанизированных территориях Воронежской области // Вестник Нижегородского университета им. Н.И. Лобачевского. 2011. № 2 (2). С. 45–51.
6. Гапонов С.П., Федорук С.А., Транквилевский Д.В. Биоэкология иксодовых клещей (Ixodidae) в г. Воронеже // Вестник Воронежского государственного университета. Сер. Химия. Биология. Фармация. 2008. № 2. С. 71–76.
7. Глазунов Ю.В. Фауна и экология клещей рода *Dermacentor* Koch. в Зауралье // АПК: Инновационные технологии. 2019. 1 (44). С. 6–10.
8. Коренберг Э.И., Лебедева Н.Н., Жуков В.И. Географическая изменчивость и типы сезонной активности взрослых *Ixodes persulcatus* P. Sch. // Бюллетень МОИП. Отд. Биол. 1974. Т.7, вып. 4. С. 34–43.
9. Котеров А.Н. и др. Сила связи. Сообщ. 2. Градации величины корреляции // Медицинская радиология и радиационная безопасность. 2019. Т. 64, № 6. С. 12–24.
10. Кулик И.Л., Винокурова Н.С. Ареал лугового клеща *Dermacentor pictus* в СССР (Ixodidae) // Паразитология. 1983. Т. 17, вып. 3. С. 207–213.
11. Лыков В.А. Материалы по распространению и экологии *Ixodes persulcatus* P. Sch. в Предуралье: автореф. дис. ... канд. биол. наук. Пермь, 1967. 20 с.
12. Лыков В.А., Митрофанова Ю.Г. Материалы по распространению и экологии *Ixodes persulcatus* в Пермской области // Вопросы арахноэнтомологии. Пермь, 1971. С. 10–38.
13. Малунов С.Н., Егоров С.В. Фауна и биотопическое распределение клещей семейства Ixodidae в агроценозах Восточного Верхневолжья // Российский паразитологический журнал. 2008. № 1. С. 1–4.
14. Миронов В.С. О поведении таежного клеща *Ixodes persulcatus* Schulze // Медицинская паразитология и паразитарные болезни. 1939. Т. 8, вып. 1. С. 123–134.
15. Миронов В.С. Биотопы таежного клеща *Ixodes persulcatus* P. Sch. в среднем Прикамье // Медицинская паразитология и паразитарные болезни. 1940. Т. 9, вып. 1–2. С. 93–105.
16. Мискевич И.П., Петрова В.В. Состояние популяции клеща таежного *Ixodes persulcatus* в пределах г. Череповца // Учёные записки Петрозаводского государственного университета. 2016. № 8 (161). С. 75–78.
17. Никанорова А.М. Особенности сезонной активности иксодовых клещей центральной части русской равнины // Актуальные вопросы ветеринарной биологии. 2020. № 2 (46). С. 28–33.
18. Овеснов С.А. Конспект флоры Пермской области. Пермь: Изд-во Перм. ун-та, 1997. 252 с.
19. Пшеничнов А.В., Храмушин А.Е. Наблюдения над сезонными явлениями в жизни клеща *Ixodes persulcatus* в 1940–1942 гг. в пределах Молотовской области // Медицинская паразитология и паразитарные болезни. 1943. Т. 12, вып. 5. С. 78.
20. Ромашова Н.Б. и др. Сезонная активность иксодовых клещей в природных условиях Воронежской области // Теория и практика борьбы с паразитарными болезнями: материалы докл. Междунар. науч. конф. М., 2017. Вып. 18. С. 391–393.
21. Сбор, учет и подготовка к лабораторному исследованию кровососущих членистоногих в природных очагах опасных инфекционных болезней: метод. указания. М.: Федеральный центр гигиены и эпидемиологии Роспотребнадзора, 2012. 55 с.
22. Симкин Г.Н. Биогеоценозы и ландшафты Пермской области как среда существования природных очагов клещевого энцефалита: автореф. дис. ... канд. биол. наук. М., 1967. 24 с.
23. Таежный клещ *Ixodes persulcatus* Schulze (Acarina, Ixodidae): морфология, систематика, экология, медицинское значение. Л.: Наука, 1985. 416 с.
24. Телегина А.А., Ефимик В.Е., Славнова Е.А. Оценка видового состава и зараженности иксодовых клещей в Большесосновском муниципальном округе Пермского края // Фундаментальные и прикладные аспекты биологии. Пермь, 2024. С. 290–294.
25. Чигирик Е.Д., Плещивцева-Ерошкина Е.А. Иксодовые клещи Кемеровской области. Сообщ. II. Сезонные изменения активности клещей // Медицинская паразитология и паразитарные болезни, 1969. № 6. С. 729–733.
26. Шилова С.А. О возможности прогнозирования заболеваемости клещевым энцефалитом // Медицинская паразитология и паразитарные болезни. 1963. Т. 32, вып. 3. С. 296–301.

References

1. Babenko L.V. [On the geographical variability of the seasonal course of activity of *Ixodes ricinus* and *Ixodes persulcatus* and on the causes of long-term fluctuations in their numbers]. *Medicinskaja parazitologija i parazitarnye bolezni*. No. 6 (1958): pp. 639–653 (In Russ.).
2. Balashov Yu.S. *Iksodovye klešči – parazity i perenosčiki infekcij* [Ixodid ticks – parasites and vectors of infections]. St-Peterburg, Nauka Publ., 1998. 287 p. (In Russ.).
3. Beresnev V.V., Efimik V.T. [New data on the distribution of *Dermacentor reticulatus* Fabricius, 1794]. *Vestnik Permskogo universiteta. Biologija*. Iss. 3 (2021): pp. 185–190. (In Russ.).

4. Beresnev V.V., Efimik V.T. [Features of the ecology of ticks *Dermacentor reticulatus* Fabricius, 1794 in the Perm Krai]. *Vestnik Permskogo universiteta. Biologija*. Iss. 3 (2022): pp. 204-211. (In Russ.).
5. Gaponov S.P., Solodovnikova O.G. [Ixodid ticks (Ixodidae) in urbanized territories of the Voronezh region]. *Vestnik Nižegorodskogo universiteta im. N.I. Lobačevskogo*. No. 2, Iss. 2 (2011): pp. 45-51. (In Russ.).
6. Gaponov S.P., Fedoruk S.A., Trankvilelevskiy D.V. [Bioecology of ixodid ticks (Ixodidae) in Voronezh]. *Vestnik Voronežskogo gosudarstvennogo universiteta. Chimija, Biologija, Farmacija*. No. 2 (2008): pp. 71-76. (In Russ.).
7. Glazunov Yu.V. [Fauna and ecology of ticks of the genus *Dermacentor* Koch. in the Trans-Urals]. *APK: Innovacionnye tehnologii*. No. 1 (44) (2019): pp. 6-11. (In Russ.).
8. Korenberg E.I., Lebedeva N.N., Zhukov V.I. [Geographical variability and types of seasonal activity of adult *Ixodes persulcatus* P. Sch.]. *Bulleten MOIP. Otd. Biol.* V. 7, Iss. 4 (1974): pp. 34-43. (In Russ.).
9. Koterov A.N., Ushenkova L.N., Zubenkova E.S., Kalinina M.V., Biryukov A.P., Lastochkina E.M., Molodtsova D.V., Wainson A.A. [Strength of association. Report 2. Graduations of correlation size]. *Medicinskaja radiologija i radiacionnaja bezopasnost'*. V. 64, No. 6 (2019): pp. 12-24. (In Russ.).
10. Kulik I.L., Vinokurova N.S. [The area of the meadow tick *Dermacentor pictus* in the USSR (Ixodidae)] *Parazitologija*. V. 17, Iss. 3 (2013): pp. 207-213. (In Russ.).
11. Lykov V.A. *Materialy po rasprostraneniu i ekologii Ixodes persulcatus P. Sch. v Permskoj oblasti. Avtoref. kand. diss.* [Materials on the distribution and ecology of *Ixodes persulcatus* in the Urals. Abstract Cand. Diss.]. Perm, 1967. 20 p. (In Russ.).
12. Lykov V.A., Mitrofanova Yu.G. [Materials on the distribution and ecology of *Ixodes persulcatus* in the Perm region]. *Voprosy arachnoentomologii* [Questions of arachnoentomology], Perm, 1971, pp. 10-38. (In Russ.).
13. Malunov S.N., Egorov S.V. [Fauna and biotopic distribution of ticks of the Ixodidae family in the agrocenoses of the Eastern Upper Volga region]. *Rissijskij parazitologičeskij žurnal*. No. 1 (2008): pp. 1-4. (In Russ.).
14. Mironov V.S. [About the story of the taiga tick *Ixodes persulcatus* Schulze]. *Medicinskaja parazitologija i parazitarnye bolezni*. V. 8, Iss. 1 (1939): pp. 123-134 (In Russ.).
15. Mironov V.S. [Biotope of the taiga tick *Ixodes persulcatus* P. Sch. in the middle Kama region]. *Medicinskaja parazitologija i parazitarnye bolezni*. V. 9, Iss. 1-2 (1940): pp. 93-105. (In Russ.).
16. Miskevich I.P., Petrova V.V. [The state of the taiga tick population of the *Ixodes persulcatus* within the city of Cherepovets]. *Učenyje zapiski Petrozavodskogo gosudarstvennogo universiteta* No. 8 (161) (2016): pp. 75-78 (In Russ.).
17. Nikonorova A.M. [Features of seasonal activity of ixodic ticks in the central part of the Russian plain] *Aktual'nye voprosy veterinarnoj biologii*. No. 2 (46) (2020): pp. 28-33 (In Russ.).
18. Ovesnov S.A. *Konspekt flory Permskoj oblasti* [Summary of the Perm region flora]. Perm, Perm. universitet Publ., 1997. 252 p. (In Russ.).
19. Pshenichnov A.V., Chramushin A.E. [Observations on seasonal phenomena in the life of the tick *Ixodes persulcatus* in 1940–1942 within the Molotov region]. *Medicinskaja parazitologija i parazitarnye bolezni*. V. 12, Iss. 5 (1943): p. 78. (In Russ.).
20. Romashova N.B., Kvasov D.A., Skogoreva A.M., Manzhurina O.A., Romashov B.V. [Seasonal activity of ixodic ticks in the natural conditions of the Voronezh region]. *Teoria i praktika bor'by s parazitarnymi boleznyami* [Theory and practice of combating parasitic diseases: materials of reports of the International Scientific Conference]. Moscow, 2017, Iss. 18, pp. 391-393 (In Russ.).
21. *Sbor, učet i podgotovka k laboratornomu issledovaniju krovososuščich členistonogich v prirodnyh očagach opasnyh infekcionnyh boleznej* [Collection, accounting and preparation for laboratory examination of blood-sucking arthropods in natural foci of dangerous infectious diseases: Methodological guidelines]. Moscow, 2012. 55 p. (In Russ.).
22. Simkin G.N. *Biogeocenozy I landšafy Permskoj oblasti kak sreda suščestvovanja prirodnyh očagov kleščevogo èncefalita. Avtoref. kand. diss.* [Biogeocenoses and landscapes of the Perm region as an environment for the existence of natural foci of tick-borne encephalitis. Abstract Cand. Diss.]. Moscow, 1967. 24 p. (In Russ.).
23. *Taežnyj klešč Ixodes persulcatus Schulze (Acarina, Ixodidae)* [Taiga tick *Ixodes persulcatus* Schulze (Acarina, Ixodidae): Morphology, systematics, ecology, medical significance]. Leningrad, Nauka Pub., 1985. 416 p. (In Russ.).
24. Telegina A.A., Efimik V.E., Slavnova E.A. [Assessment of the species composition and infestation of ixodic ticks in the Bolshe-Sosnovsky district of the Perm Rrai]. *Fundamentalnye i prikladnye aspekty biologii* [Fundamental and applied aspects of biology]. Perm, 2024, pp. 290-294. (In Russ.).
25. Chigirik E.D., Pleshivceva-Eroshkina E.A. [Ixodic ticks of the Kemerovo region. II. Seasonal changes in tick activity]. *Medicinskaja parazitologija i parazitarnye bolezni*. V. 38, Iss. 6 (1969): pp. 729-733. (In Russ.).

26. Shilova S.A. [On the possibility of predicting the incidence of tick-borne encephalitis]. *Medicinskaja parazitologija i parazitarnye bolezni* V. 32, Iss. 3 (1963): pp. 296-301 (In Russ.).

Статья поступила в редакцию 15.07.2024; одобрена после рецензирования 12.09.2024; принята к публикации 27.09.2024.

The article was submitted 15.07.2024; approved after reviewing 12.09.2024; accepted for publication 27.09.2024.

Информация об авторах

В. Е. Ефимик – канд. биол. наук, заведующий кафедрой зоологии беспозвоночных и водной экологии;

А. А. Телегина – студент биологического факультета.

Information about the authors

V. E. Efimik – candidate of biology, associate professor, Head of the Department of invertebrates zoology and water ecology;

A. A. Telegina – student of the Faculty of Biology.

Вклад авторов:

Ефимик В. Е. – концепция исследования, определение видов, доработка текста; итоговые выводы.

Телегина А. А. – сбор и обработка полевого материала, написание исходного текста; выводы.

Contribution of the authors:

Efimik V. E. – research concept, identification of species, followon revision of the text; final conclusions.

Telegina A. A. – processing and collection of field material, writing the draft; conclusions.

ЗООЛОГИЯ

Научная статья

УДК 591.543.1

JVXZAA

doi: 10.17072/1994-9952-2024-3-278-284



**Некоторые черты термобиологии обыкновенного ужа
Natrix natrix (Linnaeus, 1758) и обыкновенной гадюки
Vipera berus (Linnaeus, 1758) при совместном обитании
в Камском Предуралье**

**Николай Анатольевич Четанов^{1✉, 2}, Николай Антонович Литвинов³,
Светлана Владимировна Ганщук⁴, 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

³ litvinov@pspu.ru

⁴ ganshchuk@pspu.ru

⁵ galiulindm@gmail.com

Аннотация. Представлены данные по температурам тела, поверхности выбираемого субстрата и приземного воздуха для обыкновенного ужа *Natrix natrix* (Linnaeus, 1758) и обыкновенной гадюки *Vipera berus* (Linnaeus, 1758) при синтопии в Камском Предуралье. Определены термопреферендумы и модальные классы для обоих видов по трем термобиологическим параметрам, проведен подробный статистический анализ медиан модальных классов, что позволяет точнее провести анализ различий в температурных предпочтениях видов. Выявлены достоверно более высокие средние температуры тела и окружающей среды для обыкновенной гадюки. Данные особенности, возможно, связаны с выбором конкретных условий в пределах общего биотопа, т.к. обыкновенная гадюка чаще встречается на открытых, хорошо прогреваемых участках.

Ключевые слова: обыкновенный уж *Natrix natrix* (Linnaeus, 1758), обыкновенная гадюка *Vipera berus* (Linnaeus, 1758), температура тела, температура окружающей среды, Камское Предуралье

Для цитирования: Некоторые черты термобиологии обыкновенного ужа *Natrix natrix* (Linnaeus, 1758) и обыкновенной гадюки *Vipera berus* (Linnaeus, 1758) при совместном обитании в Камском Предуралье / Н. А. Четанов, Н. А. Литвинов, С. В. Ганщук, Д. М. Галиулин // Вестник Пермского университета. Сер. Биология. 2024. Вып. 3. С. 278–284. <http://dx.doi.org/10.17072/1994-9952-2024-3-278-284>.

ZOOLOGY

Original article

Some thermobiological features of the grass snake *Natrix natrix* (Linnaeus, 1758) and the common European adder *Vipera berus* (Linnaeus, 1758) in cohabitation in the Kama Cis-Urals

**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

³ litvinov@pspu.ru

⁴ ganshchuk@pspu.ru

⁵ galiulindm@gmail.com

Abstract. The paper presents data on the body temperature, surface temperature of the selected substrate, and ground air temperature for the common grass snake *Natrix natrix* (Linnaeus, 1758) and the common European adder *Vipera berus* (Linnaeus, 1758) during syntopy in the Kama Cis-Urals. Thermal preferences and modal classes have been determined for both species according to three thermobiological parameters, and a detailed

statistical analysis of the median modal classes has been carried out which provides a more accurate analysis of the differences in temperature preferences between the species. It was revealed that the average temperatures of the body and the environment are significantly higher for the common European adder. These features may be associated with the choice of specific conditions within the general biotope, since the common European adder is more often found in open, well-heated areas.

Keywords: grass snake *Natrix natrix* (Linnaeus, 1758), common European adder *Vipera berus* (Linnaeus, 1758), body temperature, ambient temperature, Kama Cis-Urals

For citation: Chetanov N. A., Litvinov N. A., Ganshchuk S. V., Galiulin D. M. [Some thermobiological features of the grass snake *Natrix natrix* (Linnaeus, 1758) and the common European adder *Vipera berus* (Linnaeus, 1758) in cohabitation in the Kama Cis-Urals]. *Bulletin of the Perm University. Biology*. Iss. 3 (2024): pp. 278-284. (In Russ.). <http://dx.doi.org/10.17072/1994-9952-2024-3-278-284>.

Введение

На территории Камского Предуралья достоверно обитает три вида змей: обыкновенный уж *Natrix natrix* (Linnaeus, 1758), обыкновенная медянка *Coronella austriaca* Laurenti, 1768 и обыкновенная гадюка *Vipera berus* (Linnaeus, 1758) [Юшков, Воронов, 1994; Литвинов, Четанов, Ганщук, 2023]. Обыкновенный уж и обыкновенная гадюка широко распространены по территории региона, зачастую обитают синтопически, обладают сопоставимыми линейными размерами, сходной сезонной и суточной активностью, однако даже при их обнаружении в одном биотопе наблюдаются определенные различия как в температуре избираемого змеями субстрата и приземного воздуха, так и в температуре их тела. Мы исходим из того, что нахождение рептилии в том или ином месте не случайно, животное пытается выбрать наиболее комфортные для него условия [Слоним, 1984]. Однако в наших более ранних работах основной акцент ставился только на определение средних арифметических температурных характеристик тела и условий обитания [Литвинов, 2004; Литвинов, Ганщук, Четанов, 2013]. Вместе с тем при использовании средних арифметических величин оценка зачастую оказывается искажена, т.к. далеко не всегда распределение данных соответствует нормальному закону. Данные по термобиологии этих видов при совместном обитании в одном биотопе в других регионах отсутствуют.

Цель данной работы – проведение статистического анализа различий в температурных характеристиках обыкновенной гадюки и обыкновенного ужа при синтопии.

Материал и методы исследования

Материалом послужили данные по температурам тела, поверхности выбираемого змеями субстрата и приземного воздуха, собранные в период с 1996 по 2021 гг. в окрестностях пос. Ергач (Кунгурский р-н Пермского края).

Для обыкновенного ужа объем выборки составил 217 особей (145 самцов и 72 самки), для обыкновенной гадюки – 94 особи (61 самец и 33 самки). Цветовой диморфизм для обыкновенной гадюки не учитывался, т.к. достоверные различия в температурах тела и среды обитания для гадюк «светлой» и «темной» морфы ранее не выявлены [Литвинов, Четанов, Ганщук, 2023].

Учитывались только половозрелые рептилии с близкими размерными характеристиками (для обыкновенного ужа средняя длина тела 567.8 ± 8.03 мм, для обыкновенной гадюки – 481.5 ± 9.02 мм), отловленные при сходных погодных условиях (отсутствие осадков, сильной облачности). В выборки не включены животные, отловленные во время спаривания, переваривания пищи, а также в состоянии утреннего или вечернего нагретия [Черлин, 2010].

Температуры тела, поверхности выбираемого змеями субстрата и приземного воздуха в месте находки измерены термистором МТ-54, отградуированным по электронному термометру Checktemp с ценой деления 0.1°C . Под температурой тела в работе принята температура, измеренная в пищеводе на глубине 6–8 см. Измерение температуры тела проводилось в течение 3–6 с. после отлова, температура поверхности выбираемого змеями субстрата и приземного воздуха – в месте первичного обнаружения рептилии в первые 2–3 мин. после отлова. Температура приземного слоя воздуха измерялась на высоте 1–2 см от поверхности субстрата, т.е. на высоте тела животного.

Все полученные массивы данных разбивались по формуле Стерджесса на классы вариационного ряда; класс с наибольшим количеством вошедших значений признавался модальным [Лакин, 1980]. Помимо этого, вычислялся термопреферендум, под которым понимается интервал предпочитаемых температур, представляющий собой минимальный температурный диапазон, включающий 50% наблюдений. Для всех полных выборок, термопреферендумов и модальных классов определены минимальная и максимальная варианты. Минимальная варианта (*min*) в выборке принята как добровольная минимальная температура, максимальная (*max*) – как добровольная максимальная температура. В связи с тем, что в ряде случаев распределение вариант статистически значимо отличалось от нормального в виде средней вели-

чины применена медиана (Me), для сравнения выборок между собой использован U -критерий Манна-Уитни, для которого приводятся точные значения критерия (U), а также уровень статической значимости (p) [Лакин, 1980].

Результаты и их обсуждение

Основные полученные нами данные по температуре тела обыкновенного ужа и обыкновенной гадюки представлены в табл. 1.

Как видно из данных табл. 1, для температуры тела во всех случаях значительные различия между медианами как полной выборки, так термопреферендума или модального класса отсутствуют. Модальные классы включают в себя от 22.2 до 54.5% наблюдений и располагаются по центру вариационного ряда с небольшим смещением в ряде случаев вправо. При вычислении модального класса для выборки самок обыкновенного ужа возникли сложности, т.к. в трех соседних классах вариационного ряда оказалось одинаковое число наблюдений. По всей видимости, это объясняется относительно малой выборкой и отсутствием жестких температурных предпочтений. В результате в качестве модального класса выбран средний из них.

Таблица 1

Температура тела обыкновенного ужа *Natrix natrix* (Linnaeus, 1758) и обыкновенной гадюки *Vipera berus* (Linnaeus, 1758) при совместном обитании в Камском Предуралье
[Body temperature of the grass snake *Natrix natrix* (Linnaeus, 1758) and the common European adder *Vipera berus* (Linnaeus, 1758) in cohabitation in the Kama Cis-Urals]

Вид	Пол	Полная выборка		Термопреферендум		Модальный класс		
		Me , °C	$min-max$, °C	Me , °C	$min-max$, °C	Me , °C	$min-max$, °C	% вы-борки
Обыкновенный уж	♂ ($n = 145$)	26.8	16.4 – 36.6	26.9	24.7 – 28.8	26.2	25.1 – 27.4	29.0
	♀ ($n = 72$)	26.0	15.2 – 33.2	25.3	22.9 – 27.5	25.7	24.0 – 26.5	22.2
	♂ + ♀ ($n = 217$)	26.4	15.2 – 36.6	26.9	24.7 – 29.2	27.4	26.2 – 28.6	27.6
Обыкновенная гадюка	♂ ($n = 61$)	27.2	11.4 – 35.1	26.1	24.1 – 29.1	28.7	26.9 – 30.2	30.0
	♀ ($n = 33$)	29.2	6.2 – 34.8	29.6	28.3 – 31.9	29.7	28.3 – 32.1	54.5
	♂ + ♀ ($n = 94$)	28.4	6.2 – 35.1	28.8	25.9 – 31.6	29.3	27.4 – 31.0	34.0

При попытке провести сравнения температур тела двух видов выявлены некоторые особенности (табл. 1). При сравнении температур тела полных выборок найдены достоверные различия для самок и объединенных выборок, включающей в себя самцов и самок, в то время как при сравнении температуры тела самцов двух видов статистически значимые различия не обнаружены. Можно сделать вывод, что самки обыкновенной гадюки имеют более высокую температуру тела по сравнению с самками обыкновенного ужа. При сравнении термопреферендумов и модальных классов двух видов получены сходные результаты для самок и объединенных выборок, причем температура тела во всех случаях оказалась выше у обыкновенной гадюки. При сравнении медиан температуры тела самцов двух видов змей достоверных различий в термопреферендумах также не выявлено, однако медианы модальных классов достоверно различаются.

Таким образом, обыкновенная гадюка в среднем поддерживает температуру своего тела на более высоком уровне по сравнению с обыкновенным ужом. Модальные классы у обыкновенной гадюки смещены в сторону более высоких температур, что позволяет считать ее более термофильным видом. Использование модальных классов позволяет провести более точное сравнение температурных особенностей изучаемых видов. Особенно ярко это иллюстрирует сравнение выборок самцов двух видов.

При рассмотрении температуры поверхности субстрата, выбираемого змеями (табл. 2), также заметны близость медиан полных выборок, термопреферендумов и модальных классов для обыкновенного ужа, и относительно большие различия в данных параметрах выборки для обыкновенной гадюки. Термопреферендумы для температуры поверхности выбираемого субстрата практически во всех случаях значительно шире, чем у температуры тела.

При проведении межвидовых сравнений температуры поверхности выбираемого субстрата (табл. 4) не обнаружено статистически значимых различий для полных выборок у самцов, самок и объединенных выборок. Различия в термопреферендумах достоверны на различных уровнях статистической значимости во всех случаях. Значительно интереснее ситуация при проведении сравнения между модальными классами. Для объединенных выборок, включающих в себя самцов и самок обыкновенного ужа и обыкновенной га-

дюки, статистически значимые различия выявлены, а при сравнении отдельно самцов и самок двух видов различия не найдены. При этом модальные классы у температуры поверхности выбираемого субстрата хорошо заметны для самцов обоих видов змей, однако значительно менее выражены для самок.

Таблица 2

Температура поверхности выбираемого субстрата для обыкновенного ужа *Natrix natrix* (Linnaeus, 1758) и обыкновенной гадюки *Vipera berus* (Linnaeus, 1758) при совместном обитании в Камском Предуралье

[Surface temperature of surface of the selected substrate for the grass snake *Natrix natrix* (Linnaeus, 1758) and the common European adder *Vipera berus* (Linnaeus, 1758) in cohabitation in the Kama Cis-Urals]

Вид	Пол	Полная выборка		Термопреферендум		Модальный класс		
		Me, °C	min-max, °C	Me, °C	min-max, °C	Me, °C	min-max, °C	% вы-борки
Обыкновенный уж	♂ (n = 145)	22.2	11.0 – 35.1	23.1	21.6 – 27.0	22.2	21.6 – 24.1	33.1
	♀ (n = 72)	22.2	15.6 – 39.9	22.4	21.6 – 25.2	22.0	21.1 – 24.0	47.2
	♂ + ♀ (n = 217)	22.2	11.0 – 39.9	22.5	21.6 – 26.8	21.6	19.6 – 22.5	30.9
Обыкновенная гадюка	♂ (n = 61)	24.7	7.4 – 38.6	25.3	22.3 – 30.2	22.3	19.3 – 23.0	25.0
	♀ (n = 33)	22.7	3.7 – 39.5	20.9	16.7 – 24.0	22.2	18.9 – 24.0	36.4
	♂ + ♀ (n = 94)	23.4	3.7 – 39.5	25.5	22.3 – 30.4	22.7	20.9 – 24.9	26.6

В целом можно сказать, что серьезных различий в температуре поверхности выбираемого субстрата для обыкновенного ужа и обыкновенной гадюки не отмечено, хотя гадюка при этом поддерживает в среднем более высокую температуру тела. По всей видимости, основным фактором является эффективное использование этим видом солнечной радиации. Обычно в описываемой местности встречи обыкновенной гадюки приурочены к хорошо прогреваемым сухим участкам, в то время как обыкновенный уж демонстрирует значительно меньшую требовательность к освещенности местообитаний, зачастую находки сделаны в тени деревьев или густой траве [Галиулин, Печенкина, Четанов, 2023].

Также следует отметить значительно более широкий диапазон температур поверхности выбираемого субстрата для обыкновенной гадюки, что свидетельствует о большей экологической пластичности вида.

Температура приземного воздуха в месте обнаружения (табл. 3) в принципе дает сходную картину с температурой избираемого субстрата, что вполне ожидаемо, т.к. температура воздуха зависит от подстилающей поверхности. Однако можно отметить некоторые отличия: в модальные классы входит значительно меньше наблюдений, что позволяет говорить о меньшей значимости данного фактора для изучаемых видов.

Таблица 3

Температура приземного воздуха в месте обнаружения для обыкновенного ужа *Natrix natrix* (Linnaeus, 1758) и обыкновенной гадюки *Vipera berus* (Linnaeus, 1758) при совместном обитании в Камском Предуралье

[Surface air temperature at the location of detection for the grass snake *Natrix natrix* (Linnaeus, 1758) and the common European adder *Vipera berus* (Linnaeus, 1758) in cohabitation in the Kama Cis-Urals]

Вид	Пол	Полная выборка		Термопреферендум		Модальный класс		
		Me, °C	min-max, °C	Me, °C	min-max, °C	Me, °C	min-max, °C	% вы-борки
Обыкновенный уж	♂ (n = 145)	22.2	10.9 – 38.5	21.7	18.6 – 25.2	21.1	19.4 – 22.7	28.3
	♀ (n = 72)	20.7	14.1 – 29.6	20.6	18.2 – 22.2	21.0	19.8 – 21.3	25.0
	♂ + ♀ (n = 217)	21.1	10.9 – 38.5	21.1	17.8 – 23.6	20.8	18.8 – 21.9	26.3
Обыкновенная гадюка	♂ (n = 61)	20.2	7.0 – 36.2	22.1	18.2 – 26	19.4	17.7 – 21.1	30.0
	♀ (n = 33)	21.3	5.6 – 32.5	19.6	17.0 – 22.8	19.3	17.0 – 20.8	33.3
	♂ + ♀ (n = 94)	20.6	5.6 – 36.2	19.5	17.0 – 24.0	18.1	15.9 – 19.6	28.7

При проведении межвидовых сравнений (табл. 4) также выявлено отсутствие статистически значимых различий для полных выборок у самцов, самок и объединенных выборок. Различия в термопрефе-

рендумах температуры приземного воздуха в месте обнаружения различаются только для объединенных выборок, зато модальные классы у изучаемых видов достоверно различаются во всех случаях.

Таблица 4

Статистическая значимость различий температур тела, поверхности выбираемого субстрата и приземного воздуха для обыкновенного ужа *Natrix natrix* (Linnaeus, 1758) и обыкновенной гадюки *Vipera berus* (Linnaeus, 1758) при совместном обитании в Камском Предуралье
[Statistical significance of differences in temperatures of body, the surface of the selected substrate and near-ground air for the grass snake *Natrix natrix* (Linnaeus, 1758) and the common European adder *Vipera berus* (Linnaeus, 1758) in cohabitation in the Kama Cis-Urals]

Параметр	<i>U_p</i>								
	Полная выборка			Термопреферендум			Модальный класс		
	♂	♀	♂ + ♀	♂	♀	♂ + ♀	♂	♀	♂ + ♀
Температура тела	3980.5 0.340	697.0* 0.001	8239.5 0.007	992.5 0.349	0.0 0.000	1012.0 0.000	42.0 0.000	0.0 0.000	60.5 0.000
Температура поверхности субстрата	3643.5 0.068	1180.5 0.961	9180.5 0.162	587.0 0.000	184.0 0.021	1044.5 0.000	242.0 0.058	200.0 0.930	257.0 0.000
Температура приземного воздуха	3818.0 0.169	1105.5 0.571	9505.5 0.952	1076.0 0.696	275.5 0.568	729.5 0.000	89.5 0.000	13.0 0.000	101.5 0.000

Примечание. * жирным выделены различия, достоверные на уровне статистической значимости 0.05 или выше.

При сравнении температур тела, поверхности выбираемого субстрата и приземного воздуха получены следующие результаты. Для выборок обыкновенного ужа и обыкновенной гадюки, объединяющей самцов и самок, выявлены статистически достоверные различия для обоих видов змей как при сравнении полных выборок, так и при сравнении термопреферендумов и модальных классов между всеми тремя сравниваемыми параметрами. При этом температура тела во всех случаях выше, чем температура поверхности выбираемого субстрата, а поверхность субстрата, в свою очередь, достоверно выше, чем приземный воздух.

Для выборок, в которые вошли только самцы изучаемых видов, получены сходные результаты, однако различия между температурой поверхности субстрата и приземного воздуха недостоверны для полных выборок обыкновенного ужа, также достоверные различия не выявлены при сравнении термопреферендумов температур тела и поверхности субстрата у обыкновенной гадюки.

Для выборок самок двух видов не обнаружены достоверные различия только при сравнении температур поверхности субстрата и приземного субстрата у обыкновенной гадюки, причем как для полных выборок, так и для термопреферендумов.

Все это, на наш взгляд, свидетельствует о том, что рептилии активно регулируют свою температуру за счет поведенческих механизмов. В Камском Предуралье ни обыкновенный уж, ни обыкновенная гадюка практически не сталкиваются с ситуациями, когда температура окружающей среды превышает оптимальные для них значения, в связи с чем они активно перемещаются, выбирая наиболее прогреваемые участки местности. Подобное поведение неоднократно наблюдалось в дневные часы, однако для проверки данной гипотезы необходимо совмещение наблюдения за поведением рептилии с одновременной фиксацией температуры тела и окружающей среды, как это делалось для обыкновенной гадюки в Карелии [Коросов, Ганюшина, 2020; Ганюшина, Коросов, 2021].

Заключение

Проведенная работа позволяет сделать некоторые предварительные выводы.

1. Несмотря на достаточно частое обитание в одном биотопе, у обыкновенной гадюки и обыкновенного ужа различаются термобиологические характеристики. Для обыкновенной гадюки отмечены в среднем более высокие температуры тела, а также поверхности выбираемого субстрата и приземного воздуха. Большие максимальные добровольные температуры также отмечены для обыкновенной гадюки, что, скорее всего, указывает на адаптацию данного вида к обитанию при более высоких температурах окружающей среды.

2. В условиях Камского Предуралья средние температуры тела у представителей обоих видов в дневные часы несколько выше, чем средние температуры окружающей среды, что связано с потребностью в дополнительном нагреве и использованием солнечной радиации для повышения температуры тела.

3. Использование модальных классов в определении средних температурных характеристик оправданно, поскольку позволяет выявить реальные температурные характеристики изучаемых объектов.

Список источников

1. Галиулин Д.М., Печенкина К.О., Четанов Н.А. Краткое описание типичных биотопов четырех видов рептилий в Камском Предуралье // Симбиоз–Россия 2022: материалы XIII Междунар. конф. ученых–биологов. Пермь, 2023. С. 677–681.
2. Ганюшина Н.Д., Коросов А.В. Изменчивость параметров терморегуляции обыкновенной гадюки // Труды Зоологического института РАН. 2021. Т. 325, № 1. С. 99–112.
3. Коросов А.В., Ганюшина Н.Д. Методы оценки параметров терморегуляции рептилий (на примере обыкновенной гадюки, *Vipera berus* L.) // Принципы экологии. 2020. № 4 (38). С. 88–103.
4. Лакин Г.Ф. Биометрия. М.: Высшая школа, 1980. 135 с.
5. Литвинов Н.А. Термобиологические исследования // Змеи Волжско-Камского края / А.Г. Бакиев, В.И. Гаранин, Н.А. Литвинов, А.В. Павлов, В.Ю. Ратников Самара: Изд-во СамНЦ РАН, 2004. С. 109–146.
6. Литвинов Н.А., Ганщук С.В., Четанов Н.А. Температура тела рептилий Волжского бассейна и ее взаимосвязь с температурой окружающей среды // Зоологический журнал. 2013. Т. 92, № 5. С. 568–576.
7. Литвинов Н.А., Четанов Н.А., Ганщук С.В. Амфибии и рептилии Камского Предуралья. Пермь: Астер Диджитал, 2023. 242 с.
8. Слоним А.Д. Температура среды обитания и эволюция температурного гомеостаза // Физиология терморегуляции. Л.: Наука, 1984. С. 378–440.
9. Черлин В.А. Термобиология рептилий. Общие сведения и методы исследований (руководство). СПб.: Русско-Балтийский информационный центр "БЛИЦ", 2010. 124 с.
10. Юшков Р.А., Воронов Г.А. Амфибии и рептилии Пермской области: Предварительный кадастр. Пермь: Изд-во Пермского ун-та, 1994. 158 с.

References

1. Galiulin D.M., Pechenkina K.O., Chetanov N.A. [A brief description of typical biotopes occupied by four reptile species in the Kama Cis-Urals]. *Simbioz-Rossija 2022* [Symbioz-Russia 2022: Proceedings of the XIII International Conference of Biologists]. Perm: Perm State University Publ., 2023, pp. 677-681. (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. Korosov A.V., Ganyushina N.D. [Methods for assessing thermoregulation parameters of reptiles (using the example of the common viper, *Vipera berus* L.)]. *Principy ėkologii*. No. 4 (38) (2020): pp. 88-103. (In Russ.).
4. Lakin G.F. *Biometrija* [Biometrics]. Moscow, Vyssaja škola Publ., 1980. 135 p. (In Russ.).
5. Litvinov N.A. [Thermobiological studies]. In: Bakiev A.G., Garanin V.I., Litvinov N.A., Pavlov A.V., Ratnikov V.Yu. *Zmei Volžsko-Kamskogo kraja* [Snakes of the Volga-Kama region]. Samara, Publ. House of the SamNTs RAS, 2004, pp. 109-146. (In Russ.).
6. Litvinov N.A., Ganshchuk S.V., Chetanov N.A. [Body temperature of reptiles of the Volga basin and its relationship with ambient temperature]. *Zoologičeskij žurnal*. V. 92, No. 5 (2013): pp. 568-576. (In Russ.).
7. Litvinov N.A., Ganshchuk S.V., Chetanov N.A. *Amfibii i reptilii Kamskogo Predural'ja* [Amphibians and reptiles of the Kama Cis-Urals]. Perm, Aster Digital Publ., 2023. 242 p. (In Russ.).
8. Slonim A.D. [Temperature of the environment and the evolution of temperature homeostasis]. *Fiziologija termoreguljacji* [Physiology of thermoregulation]. Leningrad, Nauka Publ., 1984, pp. 378-440. (In Russ.).
9. Cherlin V.A. *Termobiologija reptilij* [Thermobiology of reptiles. General information and research methods (manual)]. St-Peterburg, Russian-Baltic Information Center "BLITs" Publ.. 2010. 124 p. (In Russ.).
10. Yushkov R.A., Voronov G.A. *Amfibii i reptilii Permskoj oblasti* [Amphibians and reptiles of the Perm region: Preliminary inventory]. Perm, Perm University Publ., 1994. 158 p. (In Russ.).

Статья поступила в редакцию 22.04.2024; одобрена после рецензирования 13.06.2024; принята к публикации 27.09.2024.

The article was submitted 22.04.2024; approved after reviewing 13.06.2024; accepted for publication 27.09.2024.

Информация об авторах

Н. А. Четанов – канд. биол. наук, доцент;
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, associate professor;
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; final conclusions.

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

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

МИКРОБИОЛОГИЯ

Научная статья

УДК 579.222/579.8

NUDSKX

doi: 10.17072/1994-9952-2024-3-285-299



Разнообразие культивируемых бактерий-деструкторов монохлорированных бифенилов в почвах охраняемого ландшафта

Николай Александрович Королев¹, Татьяна Денисовна Кирьянова²,
Дарья Олеговна Егорова³✉

¹⁻³ Институт экологии и генетики микроорганизмов УрО РАН – филиал ПФИЦ УрО РАН, Пермь, Россия

¹ nicolay.korolyov@outlook.com

² kitadi2101@gmail.com

³✉ daryao@rambler.ru

Аннотация. В работе использованы аэробные бактериальные штаммы из рабочей коллекции лаборатории микробиологии техногенных экосистем «ИЭГМ УрО РАН», выделенные ранее из почв охраняемого ландшафта ООПТ Осинская лесная дача. Наибольший деструктивный потенциал в отношении бифенила и его хлорированных производных выявлен у 16 штаммов. На основании анализа нуклеотидной последовательности гена 16S рРНК установлена филогенетическая принадлежность данных штаммов. Показано, что доля представителей рода *Achromobacter* составила 56.25%, *Rhodococcus* – 18.75%, *Pseudomonas* – 12.5%, *Delftia* и *Stenotrophomonas* – по 6.25%. Штаммы родов *Achromobacter* и *Rhodococcus* осуществляли деструкцию 2-хлор-, 3-хлор- и 4-хлорированных бифенилов с эффективностью 13–100% и 43–100% соответственно. Эффективность деструкции монохлорбифенилов для представителей рода *Pseudomonas* составляла выше 80%, за исключением 69%-го разложения 4-хлорбифенила штаммом *Pseudomonas* sp. Osa 27. Штамм *Stenotrophomonas* sp. Osa 13 наиболее активно (71%) разлагал 4-хлорбифенил, но проявлял наименьшую активность (34%) в отношении 3-хлорированного бифенила. Штамм *Delftia* sp. Osa 20 осуществлял полную деструкцию 3-хлор- и 4-хлорбифенилов, но не осуществлял трансформацию 2-хлорбифенила. Таким образом, аэробные бактериальные культуры, выделенные из почв охраняемого ландшафта, обладают способностью окислять сложные ароматические соединения, опасные для окружающей среды.

Ключевые слова: монохлорированные бифенилы, *Achromobacter*, *Rhodococcus*, *Pseudomonas*, *Stenotrophomonas*, *Delftia*, биодеструкция

Для цитирования: Королев Н. А., Кирьянова Т. Д., Егорова Д. О. Разнообразие бактерий-деструкторов монохлорированных бифенилов, выделенных из почв охраняемого ландшафта // Вестник Пермского университета. Сер. Биология. 2024. Вып. 3. С. 285–299. <http://dx.doi.org/10.17072/1994-9952-2024-3-285-299>.

Благодарности: исследование выполнено в рамках гранта РНФ 24-24-00498.

MICROBIOLOGY

Original article

Diversity of cultivated bacteria decomposers of monochlorinated biphenyls in the soils of a protected landscape

Nikolay A. Korolev¹, Tatyana D. Kir'yanova², Darya O. Egorova³✉

¹⁻³ Institute of Ecology and Genetics of Microorganisms, Ural Branch RAS, Perm, Russia

¹ nicolay.korolyov@outlook.com

² kitadi2101@gmail.com

³✉ daryao@rambler.ru

Abstract. This study examined aerobic bacterial strains from the working collection of the laboratory of microbiology of technogenic ecosystems at "IEGM UB RAS," previously isolated from the soils of the specially protected natural area "Osinskaya Lesnaya Dacha". Sixteen strains demonstrated the highest destructive potential concerning biphenyl and its chlorinated derivatives. Based on the analysis of the nucleotide sequence of the 16S rRNA gene, the phylogenetic affiliation of these strains was established. It was shown that the proportion of rep-

representatives of the genus *Achromobacter* accounted for 56.25%, *Rhodococcus* 18.75%, *Pseudomonas* 12.5%, and *Delftia* and *Stenotrophomonas* both 6.25%. The strains of the genera *Achromobacter* and *Rhodococcus* achieved destruction of 2-chloro-, 3-chloro-, and 4-chlorinated biphenyls with efficiencies of 13–100% and 43–100%, respectively. The efficiency of destruction of monochlorobiphenyls for representatives of the genus *Pseudomonas* was above 80%, except for a 69% decomposition of 4-chlorobiphenyl by the strain *Pseudomonas* sp. Osa 27. The strain *Stenotrophomonas* sp. Osa 13 most actively (71%) degraded 4-chlorobiphenyl but exhibited the lowest activity (34%) regarding 3-chlorobiphenyl. The strain *Delftia* sp. Osa 20 achieved complete destruction of 3-chloro- and 4-chlorobiphenyls but did not transform 2-chlorobiphenyl. Thus, aerobic bacterial cultures isolated from the soils of the protected landscape possess the ability to oxidize complex aromatic compounds that are hazardous to the environment.

Keywords: monochlorinated biphenyls, *Achromobacter*, *Rhodococcus*, *Pseudomonas*, *Stenotrophomonas*, *Delftia*, biodegradation

For citation: Korolev N. A., Kir'yanova T. D., Egorova D. O. [Diversity of bacteria degraders of monochlorinated biphenyls isolated from soils of a protected landscape]. *Bulletin of Perm University. Biology*. Iss. 3 (2024): pp. 285-299. (In Russ.). <http://dx.doi.org/10.17072/1994-9952-2024-3-285-299>.

Acknowledgments: the research was carried out within the framework of the grant of the Russian Scientific Foundation No. 24-24-00498.

Введение

Полихлорированные бифенилы (ПХБ) уже на протяжении нескольких десятилетий являются экологической проблемой глобального масштаба. Подтверждение этому – Международное соглашение от 2001 г. (Стокгольмская конвенция), в котором указана необходимость избавления от ПХБ как в процессах производства, так и в местах складирования и в природных резервуарах [Final act ..., 2001]. Проникновение ПХБ в организмы живых существ в незначительных количествах приводит к ряду негативных последствий, проявляющихся в нарушении целостности и передачи наследственной информации, нарушении работы основных органов и систем. ПХБ обладают высокой липофильностью, за счет чего проникают в жировые ткани и переходят по цепям питания на верхние трофические уровни [Adams et al., 2016; Müller et al., 2017; Warenik-Bany et al., 2019; Reddy et al., 2019; Devi, 2020]. В большинстве работ основное внимание уделяется воздействию на животных и человека высоко хлорированных бифенилов [Adams et al., 2016; Müller et al., 2017; Warenik-Bany et al., 2019; Reddy et al., 2019; Devi, 2020; Negret-Bolagay et al., 2021]. Однако низко хлорированные конгенеры, содержащие от 1 до 3 атомов хлора в молекуле, также могут оказывать воздействие, при этом их содержание в окружающей среде обусловлено не только проникновением в природу из промышленных смесей, но и образованием в результате анаэробной деградации высоко хлорированных бифенилов.

В настоящее время ПХБ выявлены на таких территориях, где никогда не было их производства и они не использовались для промышленных целей [Трегер, 2013; Zhang et al., 2014; Zhu et al., 2020; Negret-Bolagay et al., 2021]. Способность к трансграничному переносу за счет высокой сорбционной составляющей привела к проникновению ПХБ в новые, территориально удаленные друг от друга, биотопы [Трегер, 2013]. Присутствие опасного загрязнителя вызывает изменения в составе ценозов, и в первую очередь, в составе почвенных сообществ [Negret-Bolagay et al., 2021]. Преимущество в выживании получают организмы, обладающие устойчивостью к негативному воздействию поллютанта, либо способные использовать данный поллютант как источник углерода и /или энергии. Основной группой организмов, наиболее быстро адаптирующихся к новым загрязнителям, являются аэробные бактерии [Negret-Bolagay et al., 2021]. Выявление бактерий, осуществляющих разложение/трансформацию ПХБ, происходит с использованием модельных соединений, а именно незамещенного бифенила (встречающегося в природных источниках) и монохлорированных бифенилов (входящих в список ПХБ, но обладающих более низким потенциалом опасности, чем высоко хлорированные бифенилы) [Kim, Picardal, 2000; Park et al., 2001; Natamian-Zarmi et al., 2009].

Способность к разложению ПХБ, в том числе и монохлорированных бифенилов, выявлена у штаммов родов *Achromobacter*, *Alcaligenes*, *Aquamicrobium*, *Arthrobacter*, *Bacillus*, *Brevibacillus*, *Brevibacterium*, *Castellaniella*, *Ceriporia*, *Chitinophaga*, *Comamonas*, *Cupriavidus*, *Enterobacter*, *Hydrogenophaga*, *Janibacter*, *Janthinobacterium*, *Luteibacter*, *Mesorhizobium*, *Ochrobactrum*, *Paenibacillus*, *Pandoraea*, *Phanerochaete*, *Pseudomonas*, *Rhodococcus*, *Shigella*, *Sphingobium*, *Sphingomonas*, *Stenotrophomonas*, *Subtercola*, *Talaromyces* и *Williamsia* [Hou et al., 2000; Pieper, Seeger, 2008; Cao et al., 2011; Ponce et al., 2011; Colbert et al., 2013; Somaraja et al., 2013; Liang et al., 2014; Nam et al., 2014; Ilori et al., 2015; Hu et al., 2015; Atago et al., 2016; Shuai et al., 2016; Kour et al., 2019]. География выделения штаммов-деструкторов ПХБ обширная и охватывает все континенты. Однако преимущественными резервуарами для выявления бактерий с деградационной активностью в отношении ПХБ являются территории, длительное время загрязненные

высокими концентрациями данных поллютантов [Masai et al., 1995; Furukawa, 2000; Sakai et al., 2003; Jia et al., 2008; Xu et al., 2011; Bako et al., 2021].

Цель настоящего исследования – изучение возможности развития штаммов-деструкторов хлорбифенилов в почвах, не подверженных загрязнению ПХБ.

Материалы и методы исследования

Бактериальные штаммы

Для изучения биodeградативной активности к бифенилу и хлорбифенилам были отобраны 54 аэробных бактериальных штамма, ранее выделенные из почв территории ООПТ – охраняемого ландшафта регионального значения Осинская лесная дача в кварталах 11 и 32, и хранящиеся в режиме криоконсервации (15% глицерин, -80°C (Evosafe-series™ VF620-86, SNIJDERS Scientific, Holland)) в лаборатории микробиологии техногенных экосистем «ИЭГМ УрО РАН» [Бузмаков, Гатина, 2009; Егорова и др., 2017].

Реактивы, среды

В работе использовали аналитически чистые химические реактивы: бифенил (>98%), 2-хлорбифенил (2ХБ) (>98%), 3-хлорбифенил (3ХБ) (>98%), 4-хлорбифенил (4ХБ) (>98%), 4-хлорбензойная кислота (4ХБК) (>98%), 3-хлорбензойная кислота (3ХБК) (>98%), 2-хлорбензойная кислота (2ХБК) (>98%) фирмы Sigma-Aldrich (Steinheim, Germany).

Среда LB состава (г/л): дрожжевой экстракт – 5.0, триптон – 10.0, хлорид натрия – 10.0.

Среда K1 состава (г/л): $K_2HPO_4 \times 3H_2O$ - 3.2, $NaH_2PO_4 \times 2H_2O$ - 0.4, $(NH_4)_2SO_4$ - 0.5, $MgSO_4 \times 7H_2O$ - 0.15, $Ca(NO_3)_2$ - 0.01.

Для получения плотной питательной среды вносили агар-агар в концентрации 10 г/л.

Периодическое культивирование на бифениле

Штаммы после криоконсервации восстанавливали на плотной среде LB, и культивировали в термостате сушевоздушном ТС-1/80 СПУ (Санкт-Петербург, Россия) при 28°C, 7 сут. Методом посева с плотной среды в жидкую, культуры далее помещали в колбы Эрленмейера объемом 250 мл, содержащих 100 мл минеральной среды K1. В качестве источника углерода в колбы вносили бифенил до конечной концентрации 1.0 г/л. Культивирование проводили на термостатируемой круговой качалке (Environmental Shaker-Incubator ES 20/60, BioSan, Латвия) при 120 об/мин и 28°C в течение 5 сут. Измерение оптической плотности культуры производили на спектрофотометре BioSpec-mini (Shimadzu, Япония), при длине волны 600 нм (OP_{600}).

Деструкция монохлорированных бифенилов

Разложение монохлорированных бифенилов осуществляли в экспериментах с отмытыми клетками. Бактериальную культуру, предварительно выращенную в минеральной среде K1 с бифенилом в качестве источника углерода до $OP_{600}=1.0$ о.е., центрифугировали при 9 660 g в течение 3 мин. на центрифуге MiniSpin (Eppendorf, Germany). Клетки бактериальной культуры, ресуспендированные в среде K1, центрифугировали до $OP_{600}=2.0$ о.е. и помещали по 1 мл во флаконы с завинчивающимися крышками. Монохлорбифенилы вносили в виде ацетонового раствора до конечной концентрации 50 мг/л. Инкубацию производили на термостатируемой круговой качалке (Environmental Shaker-Incubator ES 20/60, BioSan, Латвия) при 120 об/мин и +28°C. Концентрацию монохлорбифенилов оценивали через 24 ч. инкубации.

Анализ концентрации монохлорбифенилов

Количественный анализ монохлорированных бифенилов проводили в условиях ГХ-МС: газовый хроматограф Agilent 6890N с масс-селективным детектором и кварцевой капиллярной колонкой HP-5MS (длина 30 м, диаметр 0.25 мм) (Agilent Technology, США). При программировании температуры согласно [Hernandez et al., 1997]. Расчет содержания хлорбифенила в каждом исследуемом образце проводили методом внутренней нормализации. На основании полученных расчетных площадей пиков оценивали содержание хлорбифенила после процесса биодеструкции.

Эффективность деструкции рассчитывали по формуле

$$D (\%) = 100 - 2C_{24},$$

где C_{24} – концентрация монохлорбифенила в образце через 24 ч. инкубации, 2 – коэффициент пересчета.

Анализ концентрации монохлорбензойных кислот

Наличие хлорбензойных кислот определяли методом ВЭЖХ. Для анализа культуральную жидкость очищали от бактериальных клеток центрифугированием (9 660 g, 3 мин., центрифуга miniSpin

(Eppendorf, Германия)). Наличие в надосадочной жидкости хлорбензойных кислот определяли на хроматографе LC-20A (Shimadzu, Япония) с колонкой Discovery C18 (150 × 4.6 мм или 250 × 4.6 мм) (Supelco, Sigma-Aldrich, США) и УФ-детектором при 205 нм, а также на хроматографе LicArt (Лабконцепт, Россия) с колонкой Inspire C18 (5мкМ, 250 × 4.6 мм) (Dima Technologies Inc., Китай) и детектором UV-62 при 205 нм. Анализ проводили в системе ацетонитрил-0.1%-ный H₃PO₄ (70:30). Качественную идентификацию производили на основе сравнения времени удержания вещества в экспериментальном образце и времени удержания контрольных соединений (моноклорированных бензойных кислот). Количественную оценку производили методом внутренней нормализации на основании пересчета площадей пиков опытных и контрольных образцов.

Статистический анализ

Все эксперименты проводили в трехкратной повторности. Полученные данные обрабатывали с использованием стандартных пакетов компьютерных программ Microsoft Excel и Statistica 6.0.

Аmplификация гена 16S рРНК

Лизис клеток штаммов для получения матрицы ДНК производили в гидроксиде натрия (100 мкл, 0.1М) с последовательным нагреванием до +98°C и охлаждением до -20°C. Амплификацию генов 16S рРНК на матрице ДНК бактерий осуществляли на приборе C1000 Touch (Bio-Rad, США) с универсальными бактериальными праймерами 27F и 1492R.

Определение нуклеотидной последовательности гена 16S рРНК

Определение нуклеотидных последовательностей гена 16S рРНК проводили с применением набора реактивов «GenSeq-100» (Синтол, Россия) на автоматическом секвенаторе Нанофор 05 (Синтол, Россия) согласно рекомендациям производителя. Анализ полученных последовательностей осуществляли с использованием программ Sequence Scanner v. 2.0, MEGA X (<http://www.megasoftware.net>). Поиск гомологичных последовательностей осуществляли по международной базе данных EzBioCloud (<http://www.ezbiocloud.net>). Для построения филогенетических деревьев использовали метод «neighbor-joining» программы MEGA X. Эволюционные расстояния рассчитывали с использованием метода «p-distance». Статистическую достоверность ветвления («bootstrap»-анализ) оценивали на основе 1000 альтернативных деревьев.

Результаты и их обсуждение

Из лабораторной коллекции были отобраны аэробные бактериальные штаммы, ранее выделенные из почв ООПТ Осинская лесная дача. В результате культивирования в минеральной среде K1 с бифенилом, как единственным источником углерода, установлено, что 32 штамма способны использовать бифенил как ростовой субстрат. Оптическая плотность жидких культур данных штаммов достигала значений 0.5–1.2 о.е. при длине волны 600 нм. В результате дальнейшего скрининга, было установлено, что способностью к разложению моноклорированных бифенилов обладают 16 штаммов.

Анализ гена 16S рРНК показал, что штаммы-деструкторы принадлежат к родам *Achromobacter*, *Rhodococcus*, *Pseudomonas*, *Delftia* и *Stenotrophomonas* (рис. 1–5). Интересно отметить, что основную долю (56.25%) среди отобранных штаммов-деструкторов моноклорбифенилов составляют штаммы рода *Achromobacter* (рис. 1). В литературе описано несколько представителей данного рода, способных осуществлять разложение хлорзамещенных бифенилов. На примере штаммов *Achromobacter* sp. В-218, *Achromobacter* sp. ВРЗ и *Achromobacter* sp. ЗУСЗ показана хромосомная и плазмидная локализация генов деструкции бифенила/ПХБ [Witzig et al., 2006; Hong et al., 2009; Pori et al., 2015]. Наиболее подробно особенности деструкции хлорбифенилов описаны для штамма *Achromobacter xylosoxidans* IR08, который способен утилизировать 4,4'-диХБ без накопления токсичных промежуточных продуктов [Pori et al., 2008a].

Штаммы рода *Rhodococcus* составили 18.75% от общего числа штаммов-деструкторов моноклорбифенилов, выделенных из почв ООПТ Осинская лесная дача (рис. 2), а штаммы рода *Pseudomonas* – 12.5% (рис. 3).

Полученные ранее данные, описанные в литературе, позволяли предположить, что представители родов *Rhodococcus* и *Pseudomonas*, среди выявленных штаммов-деструкторов, должны быть доминирующими [Masai et al., 1995; Furukawa, 2000; Park et al., 2001; Pieper, Seeger, 2008; Hatamian-Zarmi et al., 2009; Nam et al., 2014; Atago et al. 2016; Shuai et al., 2016; Егорова и др., 2017, 2018; Bhattacharya, Khare, 2017; Devi, 2020; Vako et al., 2021]. Однако полученные результаты отличаются от ожидаемых. Доминирующую позицию занимают представители рода *Achromobacter*. В литературе представлены единичные сообщения, о выделении штаммов данного рода, способных разлагать сложные органические соединения, в том числе хлорированные бифенилы, из незагрязненных почв [Flavia et al., 2018; Tarlachkov et al. 2020;

Нара, Takatsuka, 2022]. Большинство известных деструкторов ПХБ рода *Achromobacter* изолированы из почв с различной химической нагрузкой [Witzig et al., 2006; Hong et al., 2009; Iori et al., 2015]. Вероятно, данное различие может быть обусловлено уникальностью территории, на которой производился отбор образцов почв. Данная территория не была подвержена негативному воздействию ПХБ и находится в зоне охраняемого ландшафта, что, по-видимому, способствует развитию уникальных бактериоценозов.

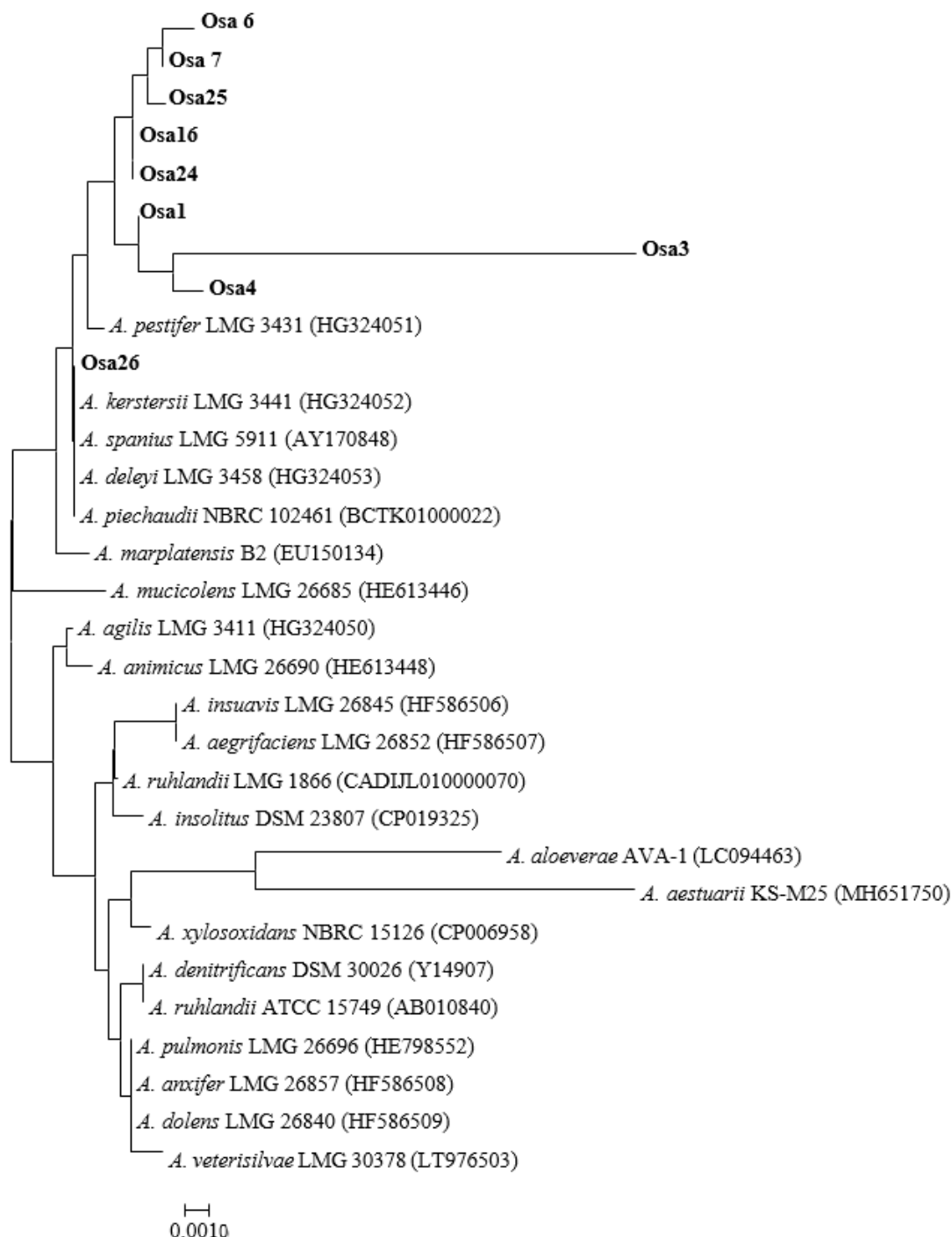


Рис. 1. Филогенетическое дерево, построенное для представителей рода *Achromobacter* на основании анализа нуклеотидной последовательности гена 16S рРНК.

Штаммы, исследованные в настоящей работе, выделены жирным шрифтом. Анализ включал 31 нуклеотидную последовательность. Эволюционный анализ проводился в MEGA X

[Phylogenetic tree constructed for representatives of the genus *Achromobacter* based on analysis of the nucleotide sequence of the 16S rRNA gene.

The strains studied in this work are highlighted in bold. The analysis included 31 nucleotide sequences. Evolutionary analysis was carried out in MEGA X]

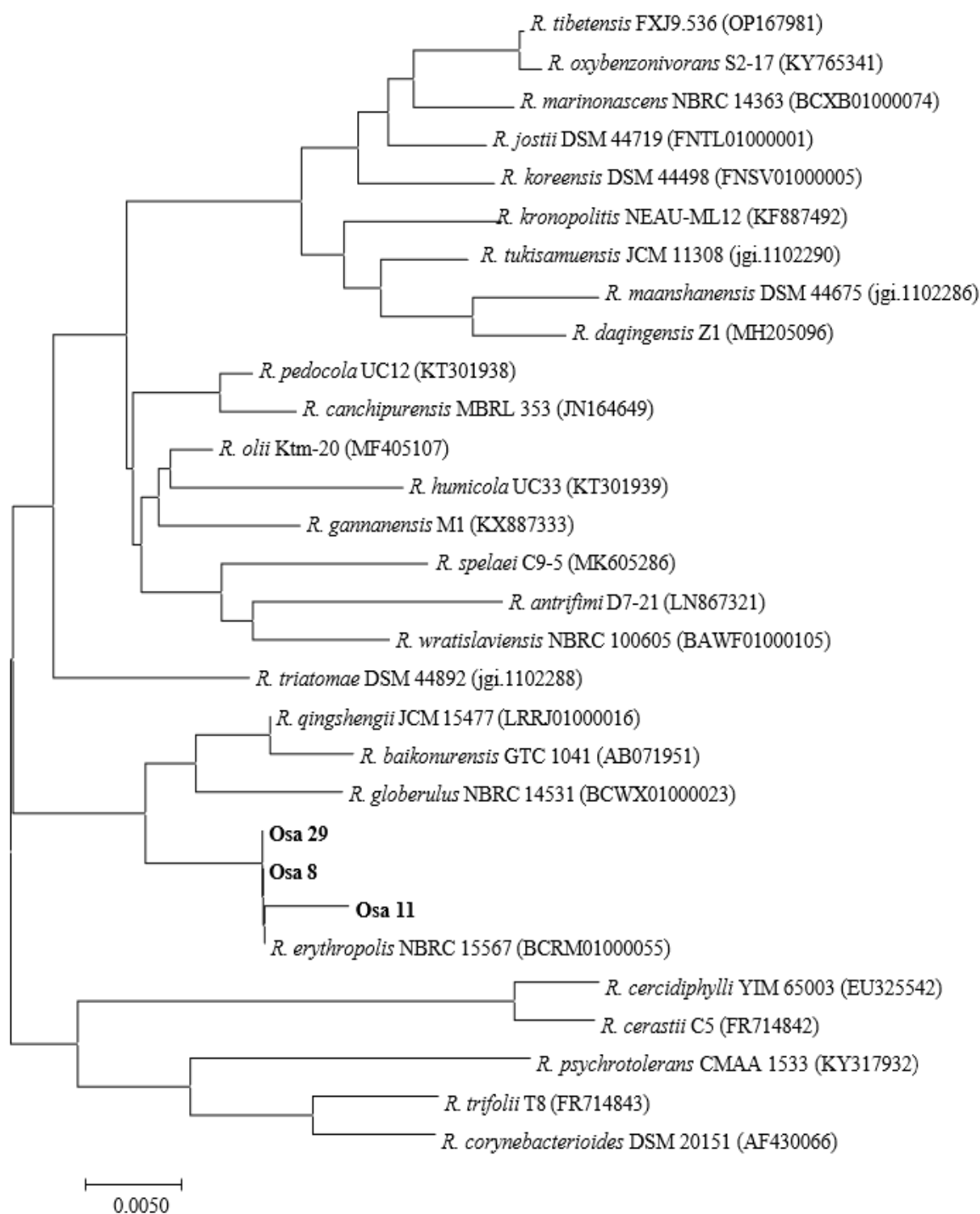


Рис. 2. Филогенетическое дерево, построенное для представителей рода *Rhodococcus* на основании анализа нуклеотидной последовательности гена 16S рPHК.

Штаммы, исследованные в настоящей работе, выделены жирным шрифтом. Анализ включал 30 нуклеотидных последовательностей. Эволюционный анализ проводился в MEGA X

[Phylogenetic tree constructed for representatives of the genus *Rhodococcus* based on analysis of the nucleotide sequence of the 16S rRNA gene.

The strains studied in this work are highlighted in bold. The analysis included 30 nucleotide sequences. Evolutionary analysis was carried out in MEGA X]

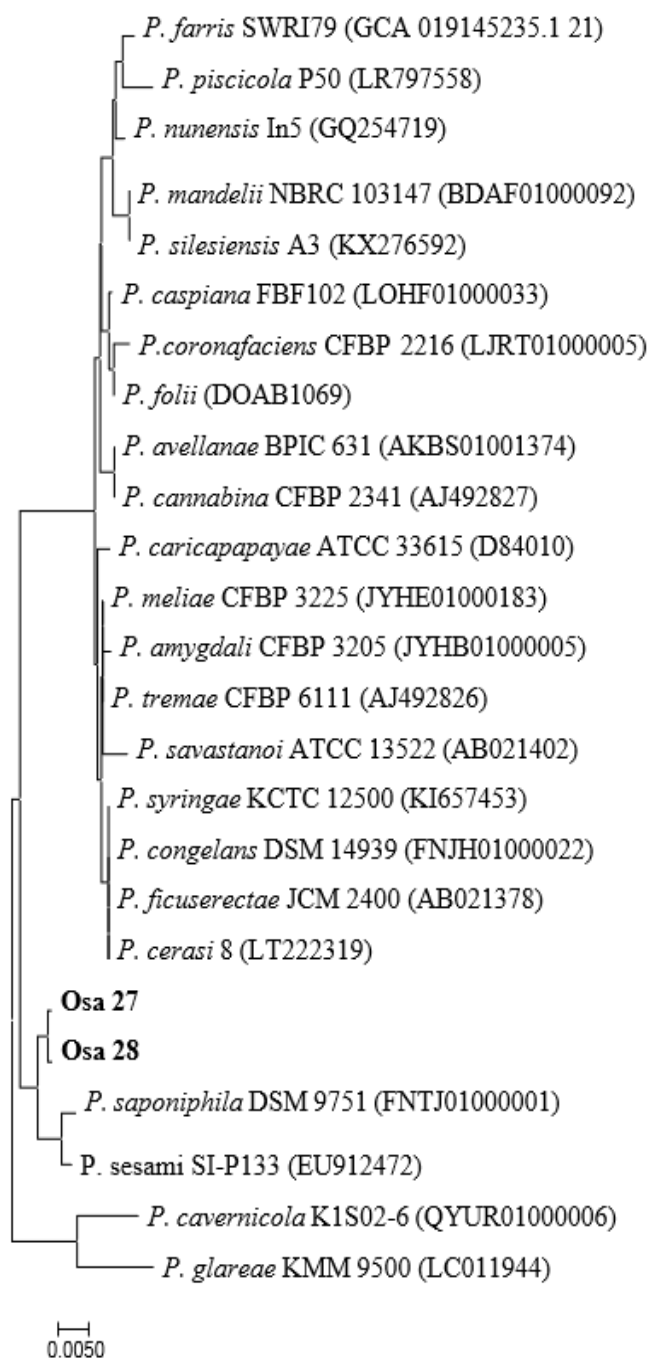


Рис. 3. Филогенетическое дерево, построенное для представителей рода *Pseudomonas* на основании анализа нуклеотидной последовательности гена 16S рРНК.

Штаммы, исследованные в настоящей работе, выделены жирным шрифтом. Анализ включал 25 нуклеотидных последовательностей. Эволюционный анализ проводился в MEGA X

[Phylogenetic tree constructed for representatives of the genus *Pseudomonas* based on analysis of the nucleotide sequence of the 16S rRNA gene.

The strains studied in this work are highlighted in bold. The analysis included 25 nucleotide sequences. Evolutionary analysis was carried out in MEGA X]

Выявлены единичные представители родов *Delftia* и *Stenotrophomonas* (на долю каждого приходится 6.25%) среди отобранных штаммов-деструкторов монохлорированных бифенилов (рис. 4, 5). В литературе описан штамм *Stenotrophomonas maltophilia* GS-103, проявляющий активность в отношении 2-хлорбифенила [Somaraja et al., 2013]. Штаммы рода *Delftia*, осуществляющие разложение монохлорбифенилов, в настоящей работе выявлены впервые.

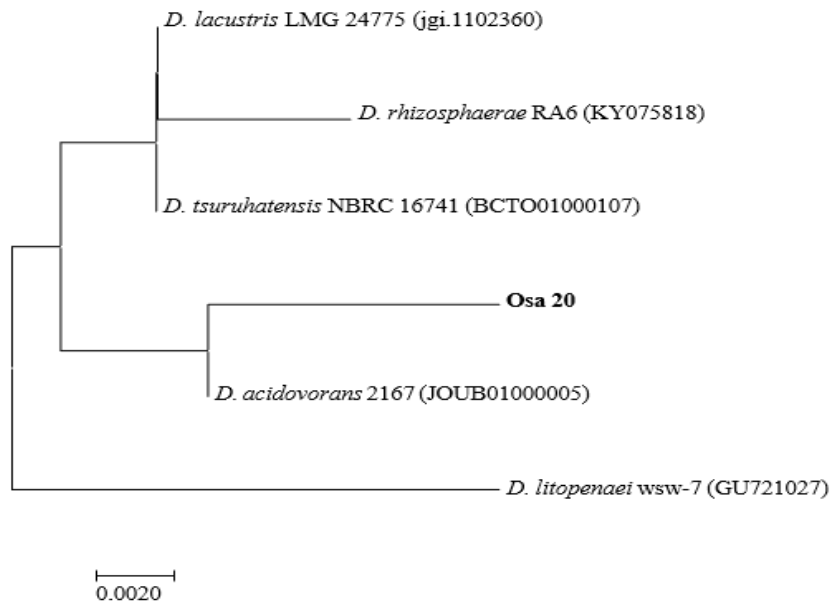


Рис. 4. Филогенетическое дерево, построенное для представителей рода *Delftia* на основании анализа нуклеотидной последовательности гена 16S рРНК. Штаммы, исследованные в настоящей работе, выделены жирным шрифтом. Анализ включал 6 нуклеотидных последовательностей. Эволюционный анализ проводился в MEGA X

[Phylogenetic tree constructed for representatives of the genus *Delftia* based on analysis of the nucleotide sequence of the 16S rRNA gene.

The strains studied in this work are highlighted in bold. The analysis included 6 nucleotide sequences. Evolutionary analysis was carried out in MEGA X]

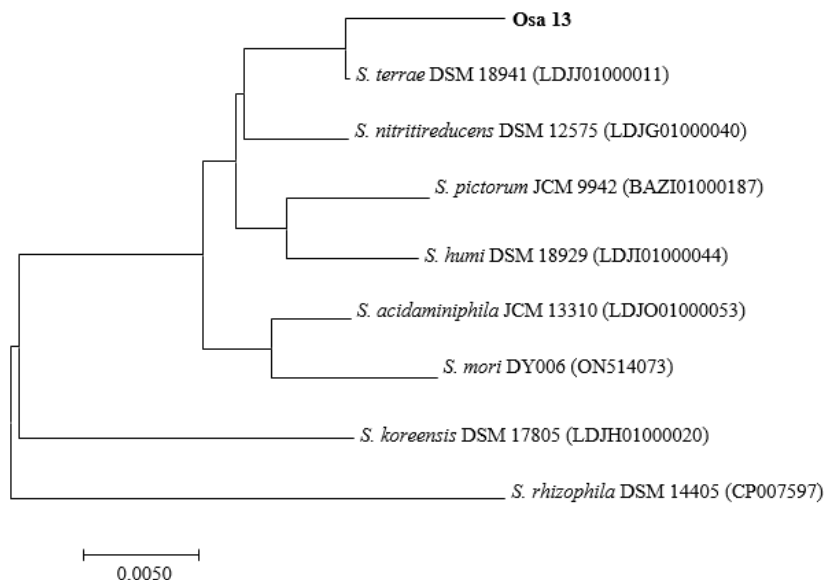


Рис. 5. Филогенетическое дерево, построенное для представителей рода *Stenotrophomonas* на основании анализа нуклеотидной последовательности гена 16S рРНК.

Штаммы, исследованные в настоящей работе, выделены жирным шрифтом. Анализ включал 9 нуклеотидных последовательностей. Эволюционный анализ проводился в MEGA X

[Phylogenetic tree constructed for representatives of the genus *Stenotrophomonas* based on analysis of the nucleotide sequence of the 16S rRNA gene.

The strains studied in this work are highlighted in bold. The analysis included 9 nucleotide sequences. Evolutionary analysis was carried out in MEGA X]

С использованием метода ГХ-МС установлена остаточная концентрация монохлорированных бифенилов в экспериментах по биодеградации с отмытыми клетками (табл. 1). Расчет эффективности деструкции показал, что для 2-хлорбифенила данный показатель составил 22.9–100%, для 3-хлорбифенила – 13.34–100%, а для 4-хлорбифенила – 8.74–100%. Выявлено два штамма *Achromobacter* sp. Osa 3 и *Achromobacter* sp. Osa 24, которые разлагают все три конгенера хлорбифенила на 100%. Следует отметить, что штамм *Delftia* sp. Osa 20 осуществляет 100%-ную деструкцию 3- и 4-хлорбифенилов, при этом не проявляет активности в отношении 2-хлорбифенила. Высокие показатели деструкции характерны для представителей родов *Pseudomonas* и *Rhodococcus*. Штаммы *Rhodococcus ruber* P25 и *Rhodococcus wratislaviensis* KT112-7 осуществляют 100%-ную биоконверсию 2- и 4-хлорбифенилов за 24 ч. [Плотникова и др., 2012; Егорова и др., 2018]. *Pseudomonas* sp. CB-3 разлагает 100% 4-хлорбифенила в начальной концентрации 50 мг/л за 12 ч., а штамм *Burkholderia xenovorans* LB400 (идентифицированный в ранних работах как *Pseudomonas*) осуществляет трансформацию данного субстрата на 98% за 96 ч. [Bhattacharya, Khare, 2017; Xing et al., 2020]. Штаммы, изолированные с территории Нигерии, *Ralstonia* sp. SA-3 и *Ralstonia* sp. SA-4 осуществляют разложение всех конгенов монохлорированных бифенилов на 88–99% за 6–10 ч. при начальной концентрации 100 ppm [Adebusoye et al., 2008]. В работе Plogi с соавторами [2008] показано, что штамм *Achromobacter xylosoxidans* IR08 осуществляет полную биодеградацию 2-хлорбифенила, 3-хлорбифенила и 4-хлорбифенила при начальной концентрации 0.27 ммоль/л за 96 ч. [Plogi et al., 2008b]. Таким образом, исследованные в настоящей работе бактериальные культуры не уступают по своей биодеградативной активности в отношении монохлорированных бифенилов известным штаммам, выделенным из загрязненных биотопов.

Таблица 1

Концентрация (мг/л) монохлорированных бифенилов через 24 ч. биодеградации
[Concentration (mg/l) of monochlorinated biphenyls after 24 hours of biodegradation]

Штамм	2-ХБ	3-ХБ	4-ХБ
Osa 1	23.75±0.01	26.2±0.02	45.63±0.04
Osa 3	0	0	0
Osa 4	38.55±0.02	19.52±0.08	1.98±0.02
Osa 6	9.18±0.02	6.93±0.04	19.55±0.05
Osa 7	0	43.33±0.03	0
Osa 8	19.45±0.05	0	18.51±0.02
Osa 11	13.94±0.03	0	18.23±0.03
Osa 13	24.32±0.05	33.09±0.02	14.26±0.01
Osa 16	15.95±0.04	30.78±0.02	41.52±0.02
Osa 20	50±0.1	0	0
Osa 24	0	0	0
Osa 25	0	22.51±0.04	27.68±0.05
Osa 26	15.61±0.02	19.31±0.04	36.67±0.03
Osa 27	6.83±0.01	6.24±0.03	15.32±0.02
Osa 28	3.81±0.01	5.15±0.05	5.07±0.02
Osa 29	28.71±0.02	27.71±0.03	16.15±0.03

Анализ основных метаболитов бактериальной трансформации монохлорированных бифенилов с применением метода ВЭЖХ показал, что, за исключением разложения 2-хлорбифенила штаммами *Rhodococcus* sp. Osa 11 и *Delftia* sp. Osa 20, в культуральной среде присутствуют монохлорированные бензойные кислоты (табл. 2).

Интересно отметить, что для штаммов *Achromobacter* sp. Osa 3 и *Achromobacter* sp. Osa 24, полностью разлагающих монохлорбифенилы, через 24 ч. инкубации в среде зафиксировано незначительное количество 2-хлорбензойной (0.678–0.889 мг/л) и 3-хлорбензойной кислот (0.014–0.041 мг/л), тогда как 4-хлорбензойная кислота накапливалась в большем количестве (4.081–4.204 мг/л). Можно предположить, что штаммы Osa 3 и Osa 24 осуществляют дальнейшую трансформацию образующихся в качестве метаболитов 2- и 3-хлорбензойных кислот.

Штамм *Rhodococcus* sp. Osa 11 осуществлял деструкцию 2-хлорбифенила на 72.12%, однако в его культуральной среде не обнаружены вероятные метаболиты. Полученный результат свидетельствует о разложении 2-хлорбифенила штаммом Osa 11 до соединений основного обмена клетки.

Анализ образующихся метаболитов позволяет предположить, что процесс деструкции монохлорированных бифенилов штаммами, выделенными из почв ООПТ Осинская лесная дача, происходит по классическому бифенильному пути с окислением под действием бифенил диоксигеназы незамещенного кольца в молекуле хлорбифенила [Egorova et al., 2020].

Концентрация (мг/л) монохлорированных бензойных кислот через 24 ч. биодеструкции
[Concentration (mg/l) of monochlorinated benzoic acids after 24 hours of biodegradation]

Штамм	2-ХБК	3-ХБК	4-ХБК
Osa 1	0.108±0.001	0.164±0.002	0
Osa 3	0.889±0.001	0.014±0.002	4.081±0.004
Osa 4	0.238±0.002	0.174±0.004	2.112±0.002
Osa 6	0.554±0.002	0.039±0.001	1.315±0.002
Osa 7	0.420±0.002	3.391±0.003	3.758±0.002
Osa 8	0.215±0.003	0.093±0.001	2.054±0.001
Osa 11	0	2.304±0.004	0.789±0.001
Osa 13	0.472±0.002	0.123±0.002	1.979±0.003
Osa 16	0.079±0.001	0.104±0.002	3.667±0.002
Osa 20	0	1.346±0.004	1.863±0.002
Osa 24	0.678±0.02	0.041±0.001	4.204±0.004
Osa 25	0.365±0.001	0.192±0.002	1.892±0.003
Osa 26	0.695±0.002	5.369±0.004	3.766±0.003
Osa 27	0.011±0.001	1.430±0.003	3.637±0.003
Osa 28	0.117±0.001	1.016±0.003	2.067±0.002
Osa 29	0.285±0.002	2.748±0.002	4.563±0.003

Заключение

В результате проведенных исследований установлено, что в почвах ООПТ Осинская лесная дача присутствуют аэробные бактерии, обладающие биодеградативным потенциалом в отношении монохлорированных бифенилов. Анализ филогенетического разнообразия показал, что выделенные штаммы-деструкторы принадлежат к родам *Achromobacter*, *Rhodococcus*, *Pseudomonas*, *Stenotrophomonas*, *Delftia*. Эффективность деструкции монохлорированных бифенилов бактериальными культурами варьировала от 8.74% до 100%. Наибольшей биодеградативной активностью характеризовались штаммы *Achromobacter* sp. Osa 3 и *Achromobacter* sp. Osa 24, осуществляющие 100%-ную деструкцию всех конгенов монохлорбифенилов. Образование в качестве основных метаболитов монохлорированных бензойных кислот свидетельствует о том, что трансформация хлорбифенилов выделенными штаммами происходит по классическому бифенильному пути. Таким образом, выделенные из незагрязнённых ПХБ почв бактерии, обладают высоким биодеградативным потенциалом в отношении монохлорированных бифенилов.

Список источников

- Бузмаков С.А., Гатина Е.Л. Зонирование особо охраняемой природной территории «Осинская лесная дача» // Географический вестник. 2009. № 1. С. 51–55. <https://cyberleninka.ru/article/n/zonirovanie-osobo-ohranyaemoy-prirodnoy-territorii-osinskaya-lesnaya-dacha> (дата обращения: 21.06.2024).
- Егорова Д.О. и др. Биоремедиация почвы, длительное время загрязненной дихлордифенилтрихлорэтаном, с использованием аэробного штамма *Rhodococcus wratislaviensis* CH628 // Почвоведение. 2017. № 10. С. 1262–1269. <https://doi.org/10.7868/S0032180X1710001X>.
- Егорова Д.О. и др. Особенности разложения хлорированных бифенилов штаммом *Rhodococcus wratislaviensis* KT112-7 в условиях засоления // Прикладная биохимия и микробиология. 2018. Т. 54, № 3. С. 253–263. <https://doi.org/10.7868/S0555109918030042>.
- Плотникова Е.Г. др. Особенности разложения 4-хлорбифенила и 4-хлорбензойной кислоты штаммом *Rhodococcus ruber* P25 // Микробиология. 2012. Т. 81, № 2. С. 159–170. <https://doi.org/10.1134/S0026261712020117>.
- Трегер Ю. СОЗ – стойкие и очень опасные // The Chemical Journal. 2013. № 1. Р. 30–34. <https://tcj.ru/journal/jan-fev-2013>.
- Adams C.I.M. et al. Toxicological effects of polychlorinated biphenyls (PCBs) on freshwater turtles in the United States // Chemosphere. 2016. Vol. 154. P. 148–154. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2016.03.102>.
- Adebusoye S.A. et al. Characterization of multiple novel aerobic polychlorinated biphenyl (PCB)-utilizing bacterial strains indigenous to contaminated tropical African soils // Biodegradation. 2008. Vol. 19, № 1. P. 145–159. <https://doi.org/10.1007/s10532-007-9122-x>.
- Atago Y. et al. Identification of novel extracellular protein for PCB/biphenyl metabolism in *Rhodococcus jostii* RHA1 // Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry. 2016. Vol. 80, № 5. P. 1012–1019.

<https://doi.org/10.1080/09168451.2015.1127134>.

9. Bako C.M. et al. Biodegradation of PCB congeners by *Paraburkholderia xenovorans* LB400 in presence and absence of sediment during lab bioreactor experiments // *Environmental Pollution*. 2021. Vol. 271. Article 116364. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2020.116364>.

10. Bhattacharya A., Khare S.K. Biodegradation of 4-chlorobiphenyl by using induced cells and cell extract of *Burkholderia xenovorans* // *Bioremediation Journal*. 2017. Vol. 21. P. 109–118. <https://doi.org/10.1080/10889868.2017.1282940>.

11. Cao Y.M. et al. Analysis of PCBs degradation abilities of biphenyl dioxygenase derived from *Enterobacter* sp. LY402 by molecular simulation // *New Biotechnology*. 2011. Vol. 29, № 1. P. 90–98. <https://doi.org/10.1016/j.nbt.2011.08.005>.

12. Colbert C.L. et al. Structural characterization of *Pandoraea pnomenus* B-356 biphenyl dioxygenase reveals features of potent polychlorinated biphenyl-degrading enzymes // *PLoS One*. 2013. Vol. 8, № 1. Article e52550. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0052550>.

13. Devi N.L. Persistent Organic Pollutants (POPs): Environmental risks, toxicological effects, and bioremediation for Environmental Safety and Challenges for Future Research // *Bioremediation of Industrial Waste for Environmental Safety* / G. Saxena, R. Bharagava, eds. Singapore: Springer, 2020. P. 53–76. https://doi.org/10.1007/978-981-13-1891-7_4.

14. Egorova D.O. et al. Biodegradability of hydroxylated derivatives of commercial polychlorobiphenyls mixtures by *Rhodococcus*-strains // *Journal of Hazardous Materials*. 2020. Vol. 400. Article 123328. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2020.123328>.

15. Final act of the Conference of Plenipotentiaries on the Stockholm, 22–23 May // UNEP / POPs/CONF/4. United Nations Environment Programme. Geneva, 2001. 44 p.

16. Flavia A. et al. Degradation of atrazine by *Pseudomonas* sp. and *Achromobacter* sp. isolated from Brazilian agricultural soil // *International Biodeterioration and Biodegradation*. 2018. Vol. 130. P. 17–22. <https://doi.org/10.1016/j.ibiod.2018.03.011>.

17. Furukawa K. Biochemical and genetic bases of microbial degradation of polychlorinated biphenyls (PCBs) // *The Journal of General and Applied Microbiology*. 2000. Vol. 46, № 6. P. 283–296. <https://doi.org/10.2323/jgam.46.283>.

18. Hara T., Takatsuka Y. Aerobic polychlorinated biphenyl-degrading bacteria isolated from the Tohoku region of Japan are not regionally endemic // *Canadian Journal of Microbiology*. 2022. Vol. 68, № 3. P. 191–202. doi: 10.1139/cjm-2021-0056.

19. Hatamian-Zarmi A. et al. Extensive biodegradation of highly chlorinated biphenyl and Aroclor 1242 by *Pseudomonas aeruginosa* TMU56 isolated from contaminated soils // *International Biodeterioration and Biodegradation*. 2009. Vol. 63, № 6. P. 788–794. <https://doi.org/10.1016/j.ibiod.2009.06.009>.

20. Hernandez B.S. et al. Terpene-utilizing isolates and their relevance to enhanced biotransformation of polychlorinated biphenyls in soil // *Biodegradation*. 1997. Vol. 8, № 3. P. 153–158. <https://doi.org/10.1023/A:1008255218432>.

21. Hong Q. et al. Isolation of a biphenyl-degrading bacterium, *Achromobacter* sp. BP3, and cloning of the *bph* gene cluster // *International Biodeterioration and Biodegradation*. 2009. Vol. 63, № 4. P. 365–370. <https://doi.org/10.1016/j.ibiod.2008.10.009>.

22. Hou L.H. et al. Phylogenetic characterization of several *para*- and *meta*-PCB dechlorinating *Clostridium* species: 16s rDNA sequence analyses // *Letters in Applied Microbiology*. 2000. Vol. 30, № 3. P. 238–243. <https://doi.org/10.1046/j.1472-765x.2000.00709.x>.

23. Hu J. et al. *Sphingobium fuliginis* HC3: a novel and robust isolated biphenyl- and polychlorinated biphenyls-degrading bacterium without dead-end intermediates accumulation // *PloS one*. 2015. Vol. 10, № 4. Article e0122740. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0122740>.

24. Ilori M.O. et al. Aerobic mineralization of 4,4'-dichlorobiphenyl and 4-chlorobenzoic acid by a novel natural bacterial strain that grows poorly on benzoate and biphenyl // *World J. Microbiol. Biotechnol.* 2008a. Vol. 24. P. 1259–1265. <https://doi.org/10.1007/s11274-007-9597-y>

25. Ilori M.O. et al. Degradation and mineralization of 2-chloro-, 3-chloro- and 4-chlorobiphenyl by a newly characterized natural bacterial strain isolated from an electrical transformer fluid-contaminated soil // *Journal of Environmental Sciences*. 2008b. Vol. 20, № 10. P. 1250–1257. [https://doi.org/10.1016/s1001-0742\(08\)62217-2](https://doi.org/10.1016/s1001-0742(08)62217-2).

26. Ilori M.O. et al. Catabolic plasmid specifying polychlorinated biphenyl degradation in *Cupriavidus* sp. strain SK-4: Mobilization and expression in a pseudomonad // *Journal of Basic Microbiology*. 2015. Vol. 55, № 3. P. 338–345. <https://doi.org/10.1002/jobm.201200807>.

27. Jia L.Y. et al. Isolation and characterization of comprehensive polychlorinated biphenyl degrading bacterium, *Enterobacter* sp. LY402 // *J. Microbiol. Biotechnol.* 2008. Vol. 18, № 5. P. 952–957. PMID: 18633297.

28. Kim S., Picardal F.W. A novel bacterium that utilizes monochlorobiphenyls and 4-chlorobenzoate as growth substrates // *FEMS Microbiology Letters*. 2000. Vol. 185, № 2. P. 225–229. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6968.2000.tb09066.x>.

29. Kour D. et al. Gene manipulation and regulation of catabolic genes for biodegradation of biphenyl compounds // In New and Future Developments in Microbial Biotechnology and Bioengineering. 2019. P. 1–23. <https://doi.org/10.1016/B978-0-444-63503-7.00001-2>.
30. Liang Y. et al. Potential for polychlorinated biphenyl biodegradation in sediments from Indiana Harbor and Ship Canal // International Biodeterioration and Biodegradation. 2014. Vol. 89. P. 50–57. <https://doi.org/10.1016/j.ibiod.2014.01.005>.
31. Masai E. et al. Characterization of biphenyl catabolic genes of gram-positive polychlorinated biphenyl degrader *Rhodococcus* sp. strain RHA1 // Appl. Environ. Microbiol. 1995. Vol. 61, № 6. P. 2079–2085. <https://doi.org/10.1128/aem.61.6.2079-2085.1995>.
32. Müller M.H.B. et al. Organochlorine pesticides (OCPs) and polychlorinated biphenyls (PCBs) in human breast milk and associated health risks to nursing infants in Northern Tanzania // Environmental research. 2017. Vol. 154. P. 425–434. <https://doi.org/10.1016/j.envres.2017.01.031>.
33. Nam I.H. et al. Biodegradation of biphenyl and 2-chlorobiphenyl by a *Pseudomonas* sp. KM-04 isolated from PCBs-contaminated coal mine soil // Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology. 2014. Vol. 93, № 1. P. 89–94. <https://doi.org/10.1007/s00128-014-1286-6>.
34. Negret-Bolagay D. et al. Persistent organic pollutants: the trade-off between potential risks and sustainable remediation methods // Journal of environmental Management. 2021. Vol. 300. Article 113737. <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2021.113737>.
35. Park S.H. et al. Adaptive and cross-protective responses of *Pseudomonas* sp. DJ-12 to several aromatics and other stress shocks // Current Microbiology. 2001. Vol. 43, № 3. P. 176–181. <https://doi.org/10.1007/s002840010283>.
36. Pieper D.H., Seeger M. Bacterial metabolism of polychlorinated biphenyls // Journal of Molecular Microbiology and Biotechnology. 2008. Vol. 15, № 2–3. P. 121–138. <https://doi.org/10.1159/000121325>.
37. Ponce B.L. et al. Antioxidant compounds improved PCB-degradation by *Burkholderia xenovorans* strain LB400 // Enzyme and Microbial Technology. 2011. Vol. 49, № 6–7. P. 509–516. <https://doi.org/10.1016/j.enzmictec.2011.04.021>.
38. Reddy A.V.B. et al. Polychlorinated biphenyls (PCBs) in the environment: recent updates on sampling, pretreatment, cleanup technologies and their analysis // Chemical Engineering Journal. 2019. Vol. 358. P. 1186–1207. <https://doi.org/10.1016/j.cej.2018.09.205>.
39. Sakai M. et al. 2-Hydroxypenta-2, 4-dienoate metabolic pathway genes in a strong polychlorinated biphenyl degrader, *Rhodococcus* sp. strain RHA1 // Appl. Environ. Microbiol. 2003. Vol. 69, № 1. P. 427–433. <https://doi.org/10.1128/AEM.69.1.427-433.2003>.
40. Shuai J. et al. Regional analysis of potential polychlorinated biphenyl degrading bacterial strains from China // Brazilian Journal of Microbiology. 2016. Vol. 47, № 3. P. 536–541. <https://doi.org/10.1016/j.bjm.2014.12.001>.
41. Somaraja P.K. et al. Molecular characterization of 2-chlorobiphenyl degrading *Stenotrophomonas maltophilia* GS-103 // Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology. 2013. Vol. 91, № 2. P. 148–153. <https://doi.org/10.1007/s00128-013-1044-1>.
42. Tarlachkov S.V. et al. Draft genome sequence of glyphosate-degrading *Achromobacter insolitus* strain Kg 19 (VKM B-3295), isolated from agricultural soil // Microbiology Resource Announcements. 2020. Vol. 9, № 17. Article e00284-20. doi: 10.1128/MRA.00284-20.
43. Wardenik-Bany M. et al. Impact of environmental pollution on PCDD/F and PCB bioaccumulation in game animals // Environmental Pollution. 2019. Vol. 255. Article 113159. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2019.113159>.
44. Witzig R. et al. Assessment of toluene/biphenyl dioxygenase gene diversity in benzene-polluted soils: links between benzene biodegradation and genes similar to those encoding isopropylbenzene dioxygenases // Appl. Environ. Microbiol. 2006. Vol. 72, № 5. P. 3504–3514. <https://doi.org/10.1128/AEM.72.5.3504-3514.2006>.
45. Xing Z. et al. Degradation Mechanism of 4-Chlorobiphenyl by Consortium of *Pseudomonas* sp. Strain CB-3 and *Comamonas* sp. Strain CD-2 // Current Microbiology. 2020. Vol. 77. P. 15–23. <https://doi.org/10.1007/s00284-019-01791-9A>.
46. Xu L. et al. Congener selectivity during polychlorinated biphenyls degradation by *Enterobacter* sp. LY402 // Current Microbiology. 2011. Vol. 62, № 3. P. 784–789. <https://doi.org/10.1007/s00284-010-9792-1>.
47. Zhang P. et al. Distribution and transfer pattern of polychlorinated biphenyls (PCBs) among the selected environmental media of Ny-Alesund, the Arctic: as a case study // Marine Pollution Bulletin. 2014. Vol. 89, № 1–2. P. 267–275.
48. Zhu L. et al. Degradation mechanism of biphenyl and 4,4'-dichlorobiphenyl cis-dihydroxylation by non-heme 2,3 dioxygenases BphA: A QM/MM approach // Chemosphere. 2020. Vol. 247. Article 125844. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2020.125844>.

References

1. Buzmakov S.A., Gatina E.L. [Zoning of the specially protected natural area “Osinskaya Forest Dacha”]. *Geografičeskij vestnik*. No. 1 (2009): pp. 51-55. <https://cyberleninka.ru/article/n/zonirovanie-osobohranyaemoj-prirodnoj-territorii-osinskaya-lesnaya-dacha> (дата обращения: 21.06.2024). (In Russ.).
2. Egorova D.O. et al. [Bioremediation of soil long-term contaminated with dichlorodiphenyltrichloroethane using the aerobic strain *Rhodococcus wratislaviensis* CH628]. *Počvovedenie*. No. 10 (2017): pp. 1262-1269. (In Russ.). <https://doi.org/10.7868/S0032180X1710001X>.
3. Egorova D.O. et al. [Peculiarities of decomposition of chlorinated biphenyls by *Rhodococcus wratislaviensis* strain KT112-7 under salinity conditions]. *Prikladnaja biochimija i mikrobiologija*. V. 54, No. 3 (2018): pp. 253-263. (In Russ.). <https://doi.org/10.7868/S0555109918030042>.
4. Plotnikova E.G. et al. [Features of the decomposition of 4-chlorobiphenyl and 4-chlorobenzoic acid by *Rhodococcus ruber* P25 strain]. *Mikrobiologija*. V. 81, No. 2 (2012): pp. 159-170. (In Russ.). <https://doi.org/10.1134/S0026261712020117>.
5. Treger U. [POPs are persistent and very dangerous]. *The Chemical Journal*. No. 1 (2013): pp. 30-34. (In Russ.). <https://tcj.ru/journal/jan-fev-2013>.
6. Adams C.I.M. et al. Toxicological effects of polychlorinated biphenyls (PCBs) on freshwater turtles in the United States. *Chemosphere*. V. 154 (2016): pp. 148-154. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2016.03.102>.
7. Adebuseye S.A. et al. Characterization of multiple novel aerobic polychlorinated biphenyl (PCB)-utilizing bacterial strains indigenous to contaminated tropical African soils. *Biodegradation*. V. 19, No. 1 (2008): pp. 145-159. <https://doi.org/10.1007/s10532-007-9122-x>.
8. Atago Y. et al. Identification of novel extracellular protein for PCB/biphenyl metabolism in *Rhodococcus jostii* RHA1. *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry*. V. 80, No. 5 (2016): pp. 1012-1019. <https://doi.org/10.1080/09168451.2015.1127134>.
9. Bako C.M. et al. Biodegradation of PCB congeners by *Paraburkholderia xenovorans* LB400 in presence and absence of sediment during lab bioreactor experiments. *Environmental Pollution*. V. 271 (2021): Article 116364. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2020.116364>.
10. Bhattacharya A., Khare S.K. Biodegradation of 4-chlorobiphenyl by using induced cells and cell extract of *Burkholderia xenovorans*. *Bioremediation Journal*. V. 21 (2017): pp. 109-118. <https://doi.org/10.1080/10889868.2017.1282940>.
11. Cao Y.M. et al. Analysis of PCBs degradation abilities of biphenyl dioxygenase derived from *Enterobacter* sp. LY402 by molecular simulation. *New Biotechnology*. V. 29, No. 1 (2011): pp. 90-98. <https://doi.org/10.1016/j.nbt.2011.08.005>.
12. Colbert C.L. et al. Structural characterization of *Pandoraea pnomenus* B-356 biphenyl dioxygenase reveals features of potent polychlorinated biphenyl-degrading enzymes. *PLoS One*. V. 8, No. 1 (2013): Article e52550. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0052550>.
13. Devi N.L. Persistent Organic Pollutants (POPs): Environmental risks, toxicological effects, and bioremediation for Environmental Safety and Challenges for Future Research. In: Saxena G., Bharagava R. (eds) *Bioremediation of Industrial Waste for Environmental Safety*. Springer, Singapore. (2020): pp. 53-76. https://doi.org/10.1007/978-981-13-1891-7_4.
14. Egorova D.O. et al. Biodegradability of hydroxylated derivatives of commercial polychlorobiphenyls mixtures by *Rhodococcus*-strains. *Journal of Hazardous Materials*. V. 400 (2020): Article 123328. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2020.123328>.
15. Final act of the Conference of Plenipotentiaries on the Stockholm, 22-23 May // UNEP / POPs/CONF/4. United Nations Environment Programme. Geneva, 2001. 44 p.
16. Flavia A. et al. Degradation of atrazine by *Pseudomonas* sp. and *Achromobacter* sp. isolated from Brazilian agricultural soil. *Int. Biodeter. Biodegrad.* V. 180 (2018): pp. 17-22. <https://doi.org/10.1016/j.ibiod.2018.03.011>.
17. Furukawa K. Biochemical and genetic bases of microbial degradation of polychlorinated biphenyls (PCBs). *The Journal of General and Applied Microbiology*. V. 46, No. 6 (2000): pp. 283-296. <https://doi.org/10.2323/jgam.46.283>.
18. Hara T., Takatsuka Y. Aerobic polychlorinated biphenyl-degrading bacteria isolated from the Tohoku region of Japan are not regionally endemic. *Can. J. Microbiol.* V. 68, No. 3 (2022): pp. 191-202. doi: 10.1139/cjm-2021-0056.
19. Hatamian-Zarmi A. et al. Extensive biodegradation of highly chlorinated biphenyl and Aroclor 1242 by *Pseudomonas aeruginosa* TMU56 isolated from contaminated soils. *International Biodeterioration and Biodegradation*. V. 63, No. 6 (2009): pp. 788-794. <https://doi.org/10.1016/j.ibiod.2009.06.009>.
20. Hernandez B.S. et al. Terpene-utilizing isolates and their relevance to enhanced biotransformation of polychlorinated biphenyls in soil. *Biodegradation*. V. 8, No. 3 (1997): pp. 153-158. <https://doi.org/10.1023/A:1008255218432>.
21. Hong Q. et al. Isolation of a biphenyl-degrading bacterium, *Achromobacter* sp. BP3, and cloning of the *bph* gene cluster. *International Biodeterioration and Biodegradation*. V. 63, No. 4 (2009): pp. 365-370. <https://doi.org/10.1016/j.ibiod.2008.10.009>.

22. Hou L.H. et al. Phylogenetic characterization of several *para*- and *meta*-PCB dechlorinating *Clostridium species*: 16s rDNA sequence analyses. *Letters in Applied Microbiology*. V. 30, No. 3 (2000): pp. 238-243. <https://doi.org/10.1046/j.1472-765x.2000.00709.x>.
23. Hu J. et al. *Sphingobium fuliginis* HC3: a novel and robust isolated biphenyl- and polychlorinated biphenyls-degrading bacterium without dead-end intermediates accumulation. *PloS one*. V. 10, No. 4 (2015): Article e0122740. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0122740>.
24. Ilori M.O. et al. Aerobic mineralization of 4,4'-dichlorobiphenyl and 4-chlorobenzoic acid by a novel natural bacterial strain that grows poorly on benzoate and biphenyl. *World J. Microbiol. Biotechnol.* V. 24 (2008): pp. 1259-1265. <https://doi.org/10.1007/s11274-007-9597-y>.
25. Ilori M.O. et al. Catabolic plasmid specifying polychlorinated biphenyl degradation in *Cupriavidus* sp. strain SK-4: Mobilization and expression in a pseudomonad. *Journal of Basic Microbiology*. V. 55, No. 3 (2015): pp. 338-345. <https://doi.org/10.1002/jobm.201200807>.
26. Ilori M.O. et al. Degradation and mineralization of 2-chloro-, 3-chloro- and 4-chlorobiphenyl by a newly characterized natural bacterial strain isolated from an electrical transformer fluid-contaminated soil. *Journal of Environmental Sciences*. V. 20, No. 10 (2008): pp. 1250-1257. [https://doi.org/10.1016/s1001-0742\(08\)62217-2](https://doi.org/10.1016/s1001-0742(08)62217-2).
27. Jia L.Y. et al. Isolation and characterization of comprehensive polychlorinated biphenyl degrading bacterium, *Enterobacter* sp. LY402. *J. Microbiol. Biotechnol.* V. 18, No. 5 (2008): pp. 952-957. PMID: 18633297.
28. Kim S., Picardal F.W. A novel bacterium that utilizes monochlorobiphenyls and 4-chlorobenzoate as growth substrates. *FEMS Microbiology Letters*. V. 185, No. 2 (2000): pp. 225-229. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6968.2000.tb09066.x>.
29. Kour D. et al. Gene manipulation and regulation of catabolic genes for biodegradation of biphenyl compounds. In *New and Future Developments in Microbial Biotechnology and Bioengineering*. (2019): pp. 1-23. <https://doi.org/10.1016/B978-0-444-63503-7.00001-2>.
30. Liang Y. et al. Potential for polychlorinated biphenyl biodegradation in sediments from Indiana Harbor and Ship Canal. *International Biodeterioration and Biodegradation*. V. 89 (2014): pp. 50-57. <https://doi.org/10.1016/j.ibiod.2014.01.005>.
31. Masai E. et al. Characterization of biphenyl catabolic genes of gram-positive polychlorinated biphenyl degrader *Rhodococcus* sp. strain RHA1. *Appl. Environ. Microbiol.* V. 61, No. 6 (1995): pp. 2079-2085. <https://doi.org/10.1128/aem.61.6.2079-2085.1995>.
32. Müller M.H.B. et al. Organochlorine pesticides (OCPs) and polychlorinated biphenyls (PCBs) in human breast milk and associated health risks to nursing infants in Northern Tanzania. *Environmental research*. V. 154 (2017): pp. 425-434. <https://doi.org/10.1016/j.envres.2017.01.031>.
33. Nam I.H. et al. Biodegradation of biphenyl and 2-chlorobiphenyl by a *Pseudomonas* sp. KM-04 isolated from PCBs-contaminated coal mine soil. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*. V. 93, No. 1 (2014): pp. 89-94. <https://doi.org/10.1007/s00128-014-1286-6>.
34. Negret-Bolagay D. et al. Persistent organic pollutants: the trade-off between potential risks and sustainable remediation methods. *Journal of Environmental Management*. V. 300 (2021): Article 113737. <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2021.113737>.
35. Park S.H. et al. Adaptive and cross-protective responses of *Pseudomonas* sp. DJ-12 to several aromatics and other stress shocks. *Current Microbiology*. V. 43, No. 3 (2001): pp. 176-181. <https://doi.org/10.1007/s002840010283>.
36. Pieper D.H., Seeger M. Bacterial metabolism of polychlorinated biphenyls. *Journal of Molecular Microbiology and Biotechnology*. V. 15, No. 2-3 (2008): pp. 121-138. <https://doi.org/10.1159/000121325>.
37. Ponce B.L. et al. Antioxidant compounds improved PCB-degradation by *Burkholderia xenovorans* strain LB400. *Enzyme and Microbial Technology*. V. 49, No. 6-7 (2011): pp. 509-516. <https://doi.org/10.1016/j.enzmictec.2011.04.021>.
38. Reddy A.V.B. et al. Polychlorinated biphenyls (PCBs) in the environment: recent updates on sampling, pretreatment, cleanup technologies and their analysis. *Chemical Engineering Journal*. V. 358 (2019): pp. 1186-1207. <https://doi.org/10.1016/j.cej.2018.09.205>.
39. Sakai M. et al. 2-Hydroxypenta-2, 4-dienoate metabolic pathway genes in a strong polychlorinated biphenyl degrader, *Rhodococcus* sp. strain RHA1. *Appl. Environ. Microbiol.* V. 69, No. 1 (2003): pp. 427-433. <https://doi.org/10.1128/AEM.69.1.427-433.2003>.
40. Shuai J. et al. Regional analysis of potential polychlorinated biphenyl degrading bacterial strains from China. *Brazilian Journal of Microbiology*. V. 47, No. 3 (2016): pp. 536-541. <https://doi.org/10.1016/j.bjm.2014.12.001>.
41. Somaraja P.K. et al. Molecular characterization of 2-chlorobiphenyl degrading *Stenotrophomonas maltophilia* GS-103. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*. V. 91, No. 2 (2013): pp. 148-153. <https://doi.org/10.1007/s00128-013-1044-1>.

42. Tarlachkov S.V. et al. Draft genome sequence of glyphosate-degrading *Achromobacter insolitus* strain Kg 19 (VKM B-3295), isolated from agricultural soil. *Microbiol. Res. Announ.* V. 9, No. 17 (2020): Article e00284-20. doi: 10.1128/MRA.00284-20.

43. Warenik-Bany M. et al. Impact of environmental pollution on PCDD/F and PCB bioaccumulation in game animals. *Environmental Pollution.* V. 255 (2019): Article 113159. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2019.113159>.

44. Witzig R. et al. Assessment of toluene/biphenyl dioxygenase gene diversity in benzene-polluted soils: links between benzene biodegradation and genes similar to those encoding isopropylbenzene dioxygenases. *Appl. Environ. Microbiol.* V. 72, No. 5 (2006): pp. 3504-3514. <https://doi.org/10.1128/AEM.72.5.3504-3514.2006>.

45. Xing Z. et al. Degradation Mechanism of 4-Chlorobiphenyl by Consortium of *Pseudomonas* sp. Strain CB-3 and *Comamonas* sp. Strain CD-2. *Current Microbiology.* V. 77 (2020): pp. 15-23 <https://doi.org/10.1007/s00284-019-01791-9A>.

46. Xu L. et al. Congener selectivity during polychlorinated biphenyls degradation by *Enterobacter* sp. LY402. *Current Microbiology.* V. 62, No 3. (2011): pp. 784-789. <https://doi.org/10.1007/s00284-010-9792-1>.

47. Zhang P. et al. Distribution and transfer pattern of polychlorinated biphenyls (PCBs) among the selected environmental media of Ny-Alesund, the Arctic: as a case study. *Marine Pollution Bulletin.* V. 89, No. 1-2 (2014): pp. 267-275.

48. Zhu L. et al. Degradation mechanism of biphenyl and 4,4'-dichlorobiphenyl cis-dihydroxylation by non-heme 2,3 dioxygenases BphA: A QM/MM approach. *Chemosphere.* V. 247 (2020): Article 125844. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2020.125844>.

Статья поступила в редакцию 15.07.2024; одобрена после рецензирования 02.09.2024; принята к публикации 27.09.2024.

The article was submitted 15.07.2024; approved after reviewing 02.09.2024; accepted for publication 27.09.2024.

Информация об авторах

Н. А. Королев – аспирант;

Т. Д. Кирьянова – аспирант;

Д. О. Егорова – доктор биол. наук, доцент, с.н.с.

Information about the authors

N. A. Korolev – graduate student;

T. D. Kir'yanova – graduate student;

D. O. Egorova – Doctor of Biology sciences, docent, senior researcher.

Вклад авторов:

Королев Н. А. – экспериментальное исследование.

Кирьянова Т. Д. – обработка полученных результатов исследования.

Егорова Д. О. – научное руководство; концепция и дизайн исследования; анализ полученных результатов, подготовка рукописи.

Contribution of the authors:

Korolev N. A. – experimental study.

Kir'yanova T. D. – processing of the research results obtained.

Egorova D. O. – scientific leadership; study concept and design; analysis of the results obtained, preparation of the manuscript.

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

The authors declare no conflicts of interests.

Обзорная статья

УДК 579.61

PKDSCA

doi: 10.17072/1994-9952-2024-3-300-308



Межмикробные взаимодействия в бактериально-грибковых ассоциациях

Марина Викторовна Николенко¹, Дарья Сергеевна Сивкова²,
Наталья Викторовна Барышникова^{3✉}, Лидия Валерьевна Сорогина⁴

¹⁻⁴ Тюменский государственный медицинский университет, Тюмень, Россия

¹ nikolenko-marina@mail.ru

² dasivkova@yandex.ru

^{3✉} barnv7600@mail.ru

⁴ sorogina30@mail.ru

Аннотация. Одним из факторов, способствующих росту заболеваемости микозами, является образование межмикробных ассоциаций с условно-патогенной микробиотой. Изменение баланса в таких сообществах может приводить к появлению других сопутствующих заболеваний. Влияние микроорганизмов друг на друга происходит посредством сигнальных молекул и экзометаболитов. Сложные бактериально-грибковые ассоциации возбудителей гнойно-воспалительных инфекций труднее поддаются антимикробной терапии и приводят к более тяжелому клиническому течению или летальному исходу. В данном обзоре рассмотрены особенности бактериально-грибковых взаимодействий *Candida* spp., *Aspergillus* spp., *Cryptococcus* spp. По литературным данным, решающую роль в вирулентной активности грибов в бактериально-грибковых ассоциациях играет видовой состав ассоциантов, участвующих в развитии патологического процесса. Кроме того, необходимо учитывать количественное соотношение микроорганизмов, а также степень вирулентности грибов, которая значительно увеличивается под воздействием метаболитов бактерий-ассоциантов. Поэтому дальнейшее изучение грибково-бактериальных ассоциаций необходимо для понимания фундаментальных вопросов, связанных с эволюцией микробной вирулентности, устойчивости к противомикробным препаратам. Взаимодействия в исследуемых бактериально-грибковых ассоциациях очень динамичны и разнообразны. Характер взаимоотношений микроорганизмов влияет не только на выживание, но и на вирулентность микробных компонентов.

Ключевые слова: бактериально-грибковые ассоциации, *Aspergillus* spp., *Candida* spp., *Cryptococcus* spp., экзометаболиты, антагонизм

Для цитирования: Межмикробные взаимодействия в бактериально-грибковых ассоциациях / М. В. Николенко, Д. С. Сивкова, Н. В. Барышникова, Л. В. Сорогина // Вестник Пермского университета. Сер. Биология. 2024. Вып. 3. С. 300–308. <http://dx.doi.org/10.17072/1994-9952-2024-3-300-308>.

MICROBIOLOGY

Review article

Intermicrobial interactions in bacterial-fungal associations

Marina V. Nikolenko¹, Darya S. Sivkova², Natalya V. Baryshnikova^{3✉},
Lidiya V. Sorogina⁴

¹⁻⁴ Tyumen State Medical University, Tyumen, Russia

¹ nikolenko-marina@mail.ru

² dasivkova@yandex.ru

^{3✉} barnv7600@mail.ru

⁴ sorogina30@mail.ru

Abstract. One of the factors contributing to the increase in the incidence of mycoses is the formation of intermicrobial associations with opportunistic microbiota. Changing the balance in such communities may cause the emergence of other associated diseases. The influence of microorganisms on each other occurs through signaling molecules and exometabolites. Complex bacterial and fungal associations of pathogens of purulent-

inflammatory infections are more difficult to respond to antimicrobial therapy and lead to a more severe clinical course or death. This review examines the features of bacterial-fungal interactions of *Candida* spp., *Aspergillus* spp., *Cryptococcus* spp. According to literature, the decisive role in the virulent activity of fungi in bacterial-fungal associations is played by the species composition of associates involved in the development of the pathological process. In addition, it is necessary to take into account the quantitative ratio of microorganisms, as well as the degree of virulence of fungi, which increases significantly under the influence of metabolites of associated bacteria. Therefore, further study of fungal-bacterial associations is necessary to understand fundamental issues related to the evolution of microbial virulence and antimicrobial resistance. The interactions in the studied bacterial-fungal associations are very dynamic and diverse. The nature of the relationships between microorganisms affects not only survival, but also the virulence of each other.

Keywords: bacterial-fungal associations, *Aspergillus* spp., *Candida* spp., *Cryptococcus* spp., exometabolites, antagonism

For citation: Nikolenko M. V., Sivkova D. S., Baryshnikova N. V., Sorogina L. V. [Intermicrobial interactions in bacterial-fungal associations]. *Bulletin of the Perm University. Biology*. Iss. 3 (2024): pp. 300-308. (In Russ.). <http://dx.doi.org/10.17072/1994-9952-2024-3-300-308>.

Введение

По данным ВОЗ, ежегодно микозы уносят жизни более полутора миллионов человек [Алыбаева, Олейникова, Елубаева, 2020]. Факторами, способствующими росту числа данных инфекций, являются повышение резистентности к антимикотикам и способность образовывать межмикробные ассоциации с условно-патогенной микробиотой хозяина. Влияние микроорганизмов друг на друга происходит посредством сигнальных молекул и экзометаболитов [Kim, 2016; Rodrigues, Gomes, Rodrigues, 2020; Martins-Santana et al., 2023]. Сложные бактериально-грибковые ассоциации возбудителей гнойно-воспалительных инфекций труднее поддаются антимикробной терапии и приводят к более тяжелому клиническому течению или летальному исходу [Шаталова, Парахина, Летова, 2019; Belvoncikova et al., 2022]. Взаимодействия в бактериально-грибковых микросимбиозах очень динамичны и разнообразны. Изменение баланса в таких сообществах может приводить к появлению других сопутствующих заболеваний [Wang et al. 2020; Martins-Santana et al., 2023]. Таким примером может служить исследование, в котором установлена связь между бактериально-грибковыми взаимодействиями в кишечнике новорожденных, включая продукцию SCFAs, и развитием астмы. Дисбактериоз в этом случае характеризовался общим увеличением патогенных грибов в кишечнике с преобладанием *Candida krusei* (*C. krusei*) и снижением уровня SCFAs в кале, что связано, вероятно, с угнетением бактерий, продуцирующих короткоцепочечные жирные кислоты [Sharma et al. 2019; Voutin et al. 2021]. Взаимодействие между микроорганизмами может влиять и на чувствительность к антибиотикам, при этом исследования показывают, что образование бактериально-грибковых ассоциаций в большинстве случаев повышает устойчивость к данной группе препаратов [Köhler et al., 2017; Krüger et al., 2019]. Помимо традиционных типов взаимоотношений, между микроорганизмами возможно проявление кворум сенсинга (quorum sensing, QS). Это тип межклеточной передачи сигналов, зависящий от плотности популяции, который запускает изменения в поведении, когда популяция достигает критической плотности. Системы QS основаны на производстве и восприятии внеклеточных сигналов. Как правило, микробы постоянно генерируют сигнал, начиная с низкой концентрации. По мере увеличения плотности популяции сигнал накапливается, и при достижении пороговой концентрации происходит взаимодействие с белком-рецептором, вызывающее скоординированное изменение экспрессии генов в популяции [Abisado et al., 2018].

Цель исследования – систематизировать имеющуюся информацию об особенностях взаимодействия микроорганизмов в бактериально-грибковых ассоциациях *Candida* spp., *Aspergillus* spp., *Cryptococcus* spp.

В обзоре приведены данные исследований российских и зарубежных авторов об особенностях взаимодействия микроорганизмов в изучаемых бактериально-грибковых ассоциациях. Для поиска научной литературы использовались электронные базы PubMed, eLibrary.

Бактериально-грибковые взаимоотношения в ассоциациях с *Candida* spp.

Грибы рода *Candida* представляет собой условно-патогенные микроорганизмы, которые существуют как комменсалы у большинства людей и являются частой причиной инфекций слизистых оболочек и системных инфекций [d'Enfert et al., 2021]. Современные исследования по анализу микобиома выявили 66 родов грибов, присутствующих в образцах стула человека, из которых наиболее распространены *Saccharomyces* spp., *Candida* spp. и *Cladosporium* spp. [Karitan et al., 2019]. Изучение микобиоты новорожденных показало, что наиболее многочисленными видами грибов, обнаруженными в кишечном тракте, были *Candida parapsilosi*, *C. tropicalis*, *C. albicans*, *Saccharomyces cerevisiae* и *Candida orthopsilosis*, соответствующие микробиоте влагалища матери. У детей, рожденных естественным путем, *C. albicans* была наиболее доминирующим грибом на

коже [Ward et al., 2018]. В исследовании Heisel T. et cetera выявили, что наиболее многочисленными и распространенными видами грибов, наблюдаемыми в грудном молоке, были *Paecilomyces dactylethromorphus*, *Fusarium equiseti*, *Malassezia limited* и *C. albicans*. В фекалиях младенцев обнаруживались *P. dactylethromorphus* и *C. albicans* в возрасте 1 и 6 месяцев. *C. parapsilosis* преобладал в фекалиях младенцев также в возрасте 1 и 6 месяцев [Abisado et al., 2018; Heisel et al., 2022].

Одним из наиболее изученных примеров антагонистических отношений *Candida* spp. является их взаимодействие с *Lactobacillus* spp., для которых характерна способность ферментировать глюкозу до молочной кислоты, продуцировать бактериоцины и противогрибковые пептиды. Разные виды *Lactobacillus* spp. обладают отличной бактериостатической функцией при формировании биопленки [Parolin et al., 2021]. *Lactobacillus* spp. проявляют антагонизм к грибам за счет продукции короткоцепочечных жирных кислот, в основном ацетата, пропионата и бутирата. SCFAs не только способствуют функции кишечного барьера, но также было показано, что они ингибируют филаментацию *C. albicans* и, следовательно, инвазивность. Однако, например, в толстой кишке *Lactobacillus* spp. обычно составляют менее 2% от общей микробиоты, и большинство SCFAs продуцируются несколькими другими таксонами и видами бактерий. Наиболее важным продуцентом пропионата является разлагающая слизь бактерия *Akkermansia muciniphila*, в то время как бутират в основном производится *Ruminococcus bromii* при разрушении резистентного крахмала [Fox et al., 2014; Baldewijns et al., 2021].

Липопептид, секретлируемый *Bacillus* spp., ингибирует образование грибковой биопленки благодаря своим поверхностно-активным свойствам и уменьшению экспрессии специфических генов формирования биопленки, таких как *hwp1* и *als3*. *Bacillus safensis* может снижать вирулентность *C. albicans* и угнетать образование биопленки за счет ингибирования грибкового меланоза и эксфолиации меланина при контакте. Кроме того, хитиназа, продуцируемая *B. safensis*, является жизненно важным активным веществом, которое повреждает целостность клеточных стенок грибов и влияет на выработку факторов вирулентности [Ashrit et al., 2022; Pohl, 2022; Oliveira et al., 2023].

Взаимодействие *Acinetobacter baumannii* с *C. albicans* также было описано как антагонистическое. Во время совместной инкубации *in vitro* бактерия может связываться с гифами *C. albicans* через белок A внешней мембраны (OmpA), что приводит к апоптозу гиф [Tan et al., 2016]. Синтез *n*-крезола *Clostridium difficile* также оказывает антагонистическое действие на гифы *Candida* spp. [van Leeuwen et al., 2016]. *Salmonella typhimurium* ингибирует процесс филаментации клеток *C. albicans*. После проведения соинкубации *in vitro* *S. typhimurium* способна значительно снижать жизнеспособность грибов и ингибировать их способность образовывать биопленку [Bratburd et al., 2018].

Синергетический эффект в ассоциациях на *Candida* spp. оказывает *Staphylococcus* spp. Оба этих микроорганизма обычно совместно колонизируют слизистые оболочки человека, например, слизистую оболочку женского репродуктивного тракта, полости рта и верхних дыхательных путей, а иногда и кожу. Они также часто встречаются совместно при некоторых заболеваниях, включая муковисцидоз, инфекции мочевыводящих путей, диабетическую стопу и ожоговые раны, а также инфекции, опосредованные биопленками, связанные с протезами, имплантатами, катетерами и эндотрахеальными трубками, вследствие чего происходит распространение грибов в кровотоки и грибковый сепсис [Maas, Penders, Venema, 2023]. *Staphylococcus aureus* повышает толерантность *C. albicans* к ванкомицину как *in vitro*, так и *in vivo*. Механизмы, лежащие в основе снижения чувствительности к антибиотику, кроются во влиянии фарнезола, секретлируемого *S. aureus*, а также защитного действия компонентов внеклеточного матрикса, таких как β -1,3-глюкан *C. albicans* [He et al., 2017; Little, Black, Smith, 2021].

Маннаны, расположенные на внешней поверхности клеток *C. albicans*, опосредуют связывание экзофермента GtfB (β -глюкозилтрансферазы) *Streptococcus mutans*, чтобы контролировать развитие биопленки *in vivo* и улучшать продукцию матрикса глюкана, регулируя бактериально-грибковую ассоциацию [Bose et al., 2023; Lueyar et al., 2023]. В дополнение к обеспечению мест адгезии *Streptococcus* spp. выделяют лактат, который может действовать как источник углерода для роста дрожжей, что, в свою очередь, снижает напряжение кислорода до уровней, предпочтительных для самих *Streptococcus* spp., и обеспечивает факторы, стимулирующие рост бактерий [Metwalli et al., 2013].

Porphyromonas gingivalis и *C. albicans* могут коадгезировать как в суспензии, так и в «сидячих» сообществах, их связывание в обоих случаях опосредуется внутренним белком семейства InlJ на поверхности *P. gingivalis*, взаимодействующим с кандидозным белком гиф Als3 [Sztukowska et al., 2018]. Способность *C. albicans* продуцировать протеолитические ферменты, такие как аспартилпротеиназы (Saps), способствующие адгезии и деградации дентина посредством коллагенолиза, является важным фактором прогрессирования кариеса [Metwalli et al., 2013].

В некоторых случаях наблюдается смешанный тип взаимодействия бактерий с *Candida* sp. Так, *Escherichia coli* оказывает разные эффекты на *C. albicans*. Недавно было обнаружено, что штамм *E. coli* MG1655 секретрует фунгицидную молекулу, подавляющую *C. albicans* во время совместного культивирования *in vitro* в условиях дефицита магния. Напротив, энтерогеморрагическая *E. coli* (EHEC) приводила к усиленной инвазии *C. albicans* и повреждению энтероцитов *in vitro* во время коинфекции, вероятно, опосредованной активацией генов, связанных с гифами, таких как EFG1 и HWP1 [Krishnamoorthy et al., 2020].

При комбинированных инфекциях, вызванных *Pseudomonas aeruginosa* и *C. albicans*, часто формируется полимикробная биопленка, однако существуют разные данные о взаимодействии этих микроорганизмов. С одной стороны, некоторые исследователи считают, что микросимбионты способствуют росту друг друга, причем гифы *C. albicans* имеют решающее значение для прикрепления *P. aeruginosa*, а не самих дрожжевых клеток. Когда *P. aeruginosa* прикрепляется к гифам *C. albicans*, это обеспечивает достаточно питания для пролиферации и роста *P. aeruginosa*, и последующего формирования полимикробной биопленки. Основной механизм взаимодействия при этом связан с молекулами, чувствительными к кворуму, и феназином, которые могут вызывать образование гиф *C. albicans*. С другой стороны, несколько экспериментов показали, что *P. aeruginosa* ингибирует метаболические процессы *C. albicans* за счет продуцируемых феназинов. Липосахариды, секретируемые *P. aeruginosa*, также могут ингибировать образование гиф, влияя на экспрессию ключевых генов в процессе формирования биопленки и таким образом подавлять образование биопленки *C. albicans*. Напротив, *C. albicans* влияет на абсорбцию ионов металлов, ингибируя экспрессию пиовердина и связанных с трансферрином генов у *P. aeruginosa*. Это снижает инвазивную вирулентность *P. aeruginosa*, демонстрируя антагонистические эффекты в данной бактериально-грибковой ассоциации. Ионы Fe^{2+} и Cu^{2+} являются незаменимыми питательными веществами для роста *C. albicans*. Однако *P. aeruginosa* может воздействовать на рост грибов, модулируя процессы их абсорбции [Nogueira et al., 2019; Hattab, Dagher, Wheeler, 2022].

Бактериально-грибковые взаимоотношения в ассоциациях с *Aspergillus* spp.

Грибы рода *Aspergillus* являются возбудителями нескольких форм грибкового риносинусита (ФРС), таких как острые инвазивные, хронически-инвазивные и гранулематозно-инвазивные типы, а также неинвазивные формы: аспергиллома, аллергический ФРС (АФРС), эозинофильный ФРС и эозинофильный муциновый риносинусит.

Синергетическая ассоциация *Aspergillus fumigatus* с *S. aureus* наблюдалась в случаях неинвазивного хронического риносинусита, особенно АФРС [Kumari, Singh, 2019]. Также важно отметить, что низкомолекулярные аминокислоты, а именно оксалат, цитрат, малат, формиат, ацетат и сукцинат, продуцируемые *A. fumigatus*, способствуют снижению уровня pH среды. Патогенные грибы подкисляют окружающую среду, чтобы повысить активность ферментов, а также повредить ткани организма человека [Mishra, Bukavina, Ghannoum, 2021; Palmieri et al., 2022].

P. aeruginosa часто выделяется вместе с различными условно-патогенными грибами человека у пациентов с муковисцидозом и является частой причиной инфекций у этих пациентов. В недавних исследованиях взаимоотношения между *P. aeruginosa* и *A. fumigatus* были описаны как антагонистические. Совместное культивирование *P. aeruginosa* и *A. fumigatus* приводит к высвобождению диффундирующих внеклеточных молекул, что снижает грибковую филаментацию, образование биопленки и биомассу конидий [Lai, Tan, Pavelka, 2019; Santus, Devlin, Behnsen, 2021]. Способность *P. aeruginosa* ингибировать образование биопленок грибов *A. fumigatus* объясняется продукцией молекул, чувствительных к кворуму LasIR. Выделяемые феназин, деканол, пирролнитрин, пиоцианин и 3-оксо-С12-гомосеринлактон влияют на развитие гиф путем образования высокотоксичных активных форм кислорода.

Обратное антагонистическое действие *A. fumigatus* на *P. aeruginosa* осуществляется путем продукции глиотоксина, который также оказывает ингибирующее действие и на *S. aureus*, и на *A. baumannii*. Конкуренция за железо в качестве субстрата также играет важную роль во взаимодействии *A. fumigatus* и *P. aeruginosa*. *A. fumigatus* продуцирует сидерофоры, которые помогают грибу защищаться от хелатирования железа *P. aeruginosa*. В свою очередь, *P. aeruginosa* обладает способностью продуцировать летучие соединения, которые стимулируют рост *A. fumigatus* на расстоянии, а не путем прямого контакта [Briard, Heddergott, Latgé, 2016; Mogavero et al., 2016].

K. pneumoniae может ингибировать прорастание спор, рост гиф и образование биопленок у нескольких видов *Aspergillus* sp. (*A. fumigatus*, *A. terreus*, *A. niger* и *A. flavus*) *in vitro* [Lai et al., 2019].

В исследовании M. Balhara et al. [2014] у *E. coli* был обнаружен антиаспергиллезный белок (ААР), имеющий структурное сходство с бактериальным белком, участвующим в биосинтезе грибковых сидерофоров. Этим объясняется антагонистический эффект *E. coli* в опосредованном сидерофорами процессе поглощения и транспорта железа, вследствие чего снижается рост и вирулентность *Aspergillus* spp.

Бактериально-грибковые взаимоотношения в ассоциациях с *Cryptococcus* spp.

Cryptococcus spp. представляют собой инкапсулированный условно-патогенный дрожжевой патоген, обнаруживаемый преимущественно в почве, содержащей экскременты голубей. Передается он обычно воздушно-капельным путем при вдыхании из окружающей среды с последующим гематогенным распространением в ЦНС, что приводит к инфицированию мозговых оболочек и тканей головного мозга [Palmieri et al., 2022]. *Staphylococcus epidermidis* ингибирует рост колонии грибов *Cryptococcus neoformans* путем прикрепления к полисахаридной капсуле клеток *C. neoformans*, что активизирует митохондриальный

путь апоптоза, приводя клетки гриба к гибели [Ikeda, 2013; Sam, Chang, Chai, 2017]. Супернатанты бактериальных культур, клеточные экстракты, убитые нагреванием бактерии, не влияют на жизнеспособность *C. neoformans* при сокультивировании. Это явление, по-видимому, специфично для данной бактериально-грибковой комбинации, поскольку воздействие на *C. neoformans* других бактерий, таких как *Streptococcus pyogenes* и *E. coli*, или воздействие *S. epidermidis* на другие виды грибов, такие как *C. albicans* и *Saccharomyces cerevisiae*, не вызывает подобных эффектов.

Прикрепление *S. aureus* к *C. neoformans* опосредуется триозофосфатизомеразой, гликолитическим ферментом, присутствующим на поверхности бактериальной клетки, который взаимодействует с α -(1,3)-связанными манноолигосахаридами в глюкуроноксиломаннановом компоненте бактериальной клетки [Ikeda et al., 2007; Todd, Peters, 2019; Hu et al., 2021].

Отношения между *Bacillus* spp. и *Cryptococcus* spp. являются антагонистическими и характеризуются снижением выработки меланина у *C. neoformans*. Лактаза, секретируемая *Bacillus* spp., может снижать вирулентность *C. neoformans*. Этот фермент является одним из важных факторов, влияющих на выработку меланина. Кроме того, хитиназа, продуцируемая *Bacillus* spp., является еще одним ингибитором, который может нарушать структурную стабильность клеточных стенок и ингибировать образование капсулы гриба [Mayer, Kronstad, 2017].

A. baumannii секретирует специфические факторы, влияющие на грибок, и индуцирует образование криптококковой капсулы и биопленки во время совместного культивирования [Abdulkareem et al., 2015].

Синергетические взаимоотношения *C. neoformans* проявляет при сокультивировании с *Klebsiella aerogenes*. Используя дофамин, выделяемый *K. aerogenes* в качестве предшественника для синтеза меланина, гриб обеспечивает себе защиту от макрофагов, увеличивая при этом вирулентность [Mayer, Kronstad, 2019].

Заключение

Таким образом, анализ результатов исследований показал, что решающую роль в вирулентной активности грибов в бактериально-грибковых ассоциациях играет видовой состав ассоциантов, участвующих в развитии патологического процесса. Кроме того, необходимо учитывать количественное соотношение микроорганизмов, а также степень вирулентности грибов; последняя значительно увеличивается под воздействием метаболитов бактерий-ассоциантов. Дальнейшее изучение грибково-бактериальных ассоциаций необходимо для понимания фундаментальных вопросов, связанных с эволюцией микробной вирулентности, устойчивости к противомикробным препаратам [Rodrigues, Gomes, Rodrigues, 2020].

Список источников

1. Алыбаева А.Ж., Олейникова Е.А., Елубаева М.Е. Межмикробные взаимодействия в бактериально-грибковых ассоциациях условно-патогенных микроорганизмов // Вестник Науки и Творчества. 2020. № 7(55). С. 19–25.
2. Шаталова Е.В., Парахина О.В., Летова Ю.С. Персистентный потенциал значимых возбудителей нозокомиальных инфекций в условиях ассоциации с грибами рода *Candida* // Проблемы медицинской микологии. 2019. № 3. С. 46–48.
3. Abdulkareem A.F. et al. Fungal serotype-specific differences in bacterial-yeast interactions // Virulence. 2015. Vol. 6(6). P. 652–657.
4. Abisado R.G. et al. Bacterial quorum sensing and microbial community interactions // mBio. 2018. Vol. 9(3). Art. e02331-17.
5. Ashrit P. et al. Polymicrobial biofilm dynamics of multidrug-resistant *Candida albicans* and ampicillin-resistant *Escherichia coli* and antimicrobial inhibition by aqueous garlic extract // Antibiotics. 2022. Vol. 11. Art. 573.
6. Baldewijns S. et al. The role of fatty acid metabolites in vaginal health and disease: Application to candidiasis // Front. Microbiol. 2021. Vol. 12. Art. 705779.
7. Balhara M. et al. An anti-*Aspergillus* protein from *Escherichia coli* DH5 α : utative inhibitor of siderophore biosynthesis in *Aspergillus fumigatus* // Mycoses. 2014. Vol. 57(3). P. 153–162.
8. Belvoncikova P. et al. The human mycobiome: Colonization, composition and the role in health and disease // J. Fungi. 2022. Vol. 8. Art. 1046.
9. Bose S. et al. *Escherichia coli*, but not *Staphylococcus aureus*, functions as a chelating agent that exhibits antifungal activity against the pathogenic yeast *Candida albicans* // J. Fungi. 2023. Vol. 9(3). Art. 286.
10. Boutin R.C. et al. Bacterial-fungal interactions in the neonatal gut influence asthma outcomes later in life // Elife. 2021. Vol. 10. Art. e67740.
11. Bratburd J.R. et al. Gut microbial and metabolic responses to *Salmonella enterica* serovar *typhimurium* and *Candida albicans* // mBio. 2018. Vol. 9(6). Art. e02032-18.
12. Briard B., Heddergott C., Latgé J.P. Volatile compounds emitted by *Pseudomonas aeruginosa* stimulate growth of the fungal pathogen *Aspergillus fumigatus* // mBio. 2016. Vol. 7(2). Art. e00219.

13. d'Enfert C. et al. The impact of the fungus-host-microbiota interplay upon *Candida albicans* infections: Current knowledge and new perspectives // FEMS Microbiol. Rev. 2021. Vol. 45(3). Art. fuaa060.
14. Fox E.P. et al. Anaerobic bacteria grow within *Candida albicans* biofilms and induce biofilm formation in suspension cultures // Curr. Biol. 2014. Vol. 24(20). P. 2411–2416.
15. Hattab S., Dagher A.M., Wheeler R.T. Pseudomonas synergizes with fluconazole against *Candida* during treatment of polymicrobial infection // Infect Immun. 2022. Vol. 90(4). Art. e0062621.
16. He J. et al. RNA-seq reveals enhanced sugar metabolism in *Streptococcus mutans* co-cultured with *Candida albicans* within mixed-species biofilms // Front. Microbiol. 2017. Vol. 8. Art. 1036.
17. Heisel T. et al. Bacterial, fungal, and interkingdom microbiome features of exclusively breastfeeding dyads are associated with infant age, antibiotic exposure, and birth mode // Front. Microbiol. 2022. Vol. 13. Art. 1050574.
18. Hu Y. et al. *Staphylococcus aureus* synergized with *Candida albicans* to increase the pathogenesis and drug resistance in cutaneous abscess and peritonitis murine models // Pathogens. 2021. Vol. 10. Art. 1036.
19. Ikeda R. Apoptosis-like cell death of *Cryptococcus neoformans* mediated by *Staphylococcus aureus* contact. *Med. Mycol. J.* Vol. 54(1) (2013): pp. 49-52.
20. Ikeda R. et al. Contribution of the mannan backbone of cryptococcal glucuronoxylomannan and a glycolytic enzyme of *Staphylococcus aureus* to contact-mediated killing of *Cryptococcus neoformans* // J. Bacteriol. 2007. Vol. 189(13). P. 4815–4826.
21. Kapitan M. et al. Fungi as part of the microbiota and interactions with intestinal bacteria // Curr. Top. Microbiol. Immunol. 2019. Vol. 422. P. 265–301.
22. Kim J.Y. Human fungal pathogens: Why should we learn? // J. Microbiol. 2016 Vol. 54(3). P. 145–148.
23. Köhler J.R. et al. Fungi that infect humans // Microbiol. Spectr. 2017. Vol. 5(3). 10.1128/microbiolspec.funk-0014-2016.
24. Krishnamoorthy A.L. et al. Interactions between *Candida albicans* and *Enterococcus faecalis* in an organotypic oral epithelial model // Microorganisms. 2020. Vol. 8. Art. 1771.
25. Krüger W. et al. Fungal-bacterial interactions in health and disease // Pathogens. 2019. Vol. 8(2). Art. 70.
26. Kumari A., Singh R. Medically important interactions of staphylococci with pathogenic fungi // Future Microbiol. 2019. Vol. 14. P. 1159–1170.
27. Lai G.C., Tan T.G., Pavelka N. The mammalian mycobiome: A complex system in a dynamic relationship with the host // Wiley Interdiscip. Rev. Syst. Biol. Med. 2019. Vol. 11(1). Art. e1438.
28. Little W., Black C., Smith A.C. Clinical implications of polymicrobial synergism effects on antimicrobial susceptibility // Pathogens. 2021. Vol. 10(2). Art. 144.
29. Lueyar T.K. et al. Dynamic interactions between *Candida albicans* and different streptococcal species in a multispecies oral biofilm // Microbiologyopen. 2023. Vol. 12(5). Art. e1381.
30. Maas E., Penders J., Venema K. Studying fungal-bacterial relationships in the human gut using an *in vitro* model (TIM-2) // J. Fungi. 2023 Vol. 9. Art. 174.
31. Martins-Santana L. et al. Addressing microbial resistance worldwide: Challenges over controlling life-threatening fungal infections // Pathogens. 2023. Vol. 12. Art. 293.
32. Mayer F.L., Kronstad J.W. Disarming Fungal pathogens: *Bacillus safensis* inhibits virulence factor production and biofilm formation by *Cryptococcus neoformans* and *Candida albicans* // mBio. 2017. Vol. 8(5). Art. e01537-17.
33. Mayer F.L., Kronstad J.W. The spectrum of interactions between *Cryptococcus neoformans* and bacteria // J. Fungi. 2019. Vol. 5(2). Art. 31.
34. Metwalli K.H. et al. Streptococcus mutans, *Candida albicans*, and the human mouth: a sticky situation // PLoS Pathog. 2013. Vol. 9(10). Art. e1003616.
35. Mishra K., Bukavina L., Ghannoum M. Symbiosis and dysbiosis of the human mycobiome // Front. Microbiol. 2021. Vol. 12. Art. 636131.
36. Mogavero S. et al. Enemies and brothers in arms: *Candida albicans* and gram-positive bacteria // Cell Microbiol. 2016. Vol. 18(12). P. 1709–1715.
37. Nogueira F. et al. Pathogenetic impact of bacterial-fungal interactions // Microorganisms. 2019. Vol. 7(10). Art. 459.
38. Oliveira M. et al. Clinical manifestations of human exposure to fungi // J. Fungi. 2023. Vol. 9(3). Art. 381.
39. Palmieri F. et al. Recent advances in fungal infections: From lung ecology to therapeutic strategies with a focus on *Aspergillus* spp. // Front. Med. 2022. Vol. 9. Art. 832510.
40. Parolin C. et al. *Lactobacillus* biofilms influence anti-*Candida* activity // Front. Microbiol. 2021. Vol. 12. Art. 750368.
41. Pohl C.H. Competition for iron during polymicrobial infections may Increase antifungal drug susceptibility-Hhw will it impact treatment options? // Infect. Immun. 2022. Vol. 90(4). Art. e0005722.
42. Rodrigues M.E., Gomes F., Rodrigues C.F. *Candida* spp. Bacteria mixed biofilms // J. Fungi. 2020. Vol. 6(1). Art. 5.

43. Sam Q.H., Chang M.W., Chai L.Y. The fungal mycobiome and its interaction with gut bacteria in the host // *Int. J. Mol. Sci.* 2017. Vol. 18(2). Art. 330.
44. Santus W., Devlin J.R., Behnsen J. Crossing kingdoms: How the mycobiota and fungal-bacterial interactions impact host health and disease // *Infect Immun.* 2021. Vol. 89(4). Art. e00648-20.
45. Sharma A. et al. Associations between fungal and bacterial microbiota of airways and asthma endotypes // *J. Allergy Clin. Immunol.* 2019. Vol. 144(5). P. 1214–1227. Art. e7.
46. Sztukowska M.N. et al. Community development between *Porphyromonas gingivalis* and *Candida albicans* mediated by InlJ and Als3 // *mBio.* 2018. Vol. 9(2). Art. e00202-18.
47. Tan X. et al. *Candida albicans* airway colonization facilitates subsequent *Acinetobacter baumannii* pneumonia in a rat model // *Antimicrob. Agents Chemother.* 2016. Vol. 60(6). P. 3348–3354.
48. Todd O.A., Peters B.M. *Candida albicans* and *Staphylococcus aureus* pathogenicity and polymicrobial interactions: Lessons beyond Koch's postulates // *J. Fungi.* 2019. Vol. 5. Art. 81.
49. van Leeuwen P.T. et al. Interspecies interactions between *Clostridium difficile* and *Candida albicans* // *mSphere.* 2016. Vol. 1(6). Art. e00187-16.
50. Wang F. et al. Interactions between invasive fungi and symbiotic bacteria // *World J. Microbiol. Biotechnol.* 2020. Vol. 36(9). Art. 137.
51. Ward T.L. et al. Development of the human mycobiome over the first month of life and across body sites // *mSystems.* 2018. Vol. 3(3). Art. e00140-17.

References

1. Alybaeva A.Zh., Oleynikova E.A., Elubaeva M.E. [Intermicrobial interactions in bacterial-fungal associations of opportunistic microorganisms]. *Vestnik Nauki i Tvorčestva.* No. 7(55) (2020): pp. 19-25.
2. Shatalova E.V., Parakhina O.V., Letova Yu.S. [Persistent potential of significant pathogens of nosocomial infections in association with fungi of the genus *Candida*] *Problemy medicinskoj mikoologii.* No. 3 (2019): pp. 46-48. (In Russ.).
3. Abdulkareem A.F., Lee H.H., Ahmadi M., Martinez L.R. Fungal serotype-specific differences in bacterial-yeast interactions. *Virulence.* V. 6(6) (2015): pp. 652-657.
4. Abisado R.G., Benomar S., Klaus J.R., Dandekar A.A., Chandler J.R. Bacterial quorum sensing and microbial community interactions. *mBio.* V. 9(3) (2018): e02331-17.
5. Ashrit P., Sadanandan B., Shetty K., Vaniyampambath V. Polymicrobial biofilm dynamics of multidrug-resistant *Candida albicans* and ampicillin-resistant *Escherichia coli* and antimicrobial inhibition by aqueous garlic extract. *Antibiotics.* V. 11 (2022): 573.
6. Baldewijns S., Sillen M., Palmans I., Vandecruys P., Van Dijck P., Demuyser L. The role of fatty acid metabolites in vaginal health and disease: Application to candidiasis. *Front. Microbiol.* V. 12 (2021): 705779.
7. Balhara M., Ruhil S., Kumar M., Dhankhar S., Chhillar A.K. An anti-*Aspergillus* protein from *Escherichia coli* DH5 α : Putative inhibitor of siderophore biosynthesis in *Aspergillus fumigatus*. *Mycoses.* V. 57(3) (2014): pp. 153-162.
8. Belvoncikova P., Splichalova P., Videnska P., Gardlik R. The human mycobiome: Colonization, composition and the role in health and diseases. *J. Fungi.* V. 8 (2022): 1046.
9. Bose S., Singh D.V., Adhya T.K., Acharya N. *Escherichia coli*, but not *Staphylococcus aureus*, functions as a chelating agent that exhibits antifungal activity against the pathogenic yeast *Candida albicans*. *J. Fungi.* V. 9(3) (2023): 286.
10. Boutin R.C., Petersen C., Woodward S.E., Serapio-Palacios A., Bozorgmehr T., Loo R. et al. Bacterial-fungal interactions in the neonatal gut influence asthma outcomes later in life. *Elife.* V. 10 (2021): e67740.
11. Bratburd J.R., Keller C., Vivas E., Gemperline E., Li L., Rey F.E., Currie C.R. Gut Microbial and Metabolic Responses to *Salmonella enterica* serovar typhimurium and *Candida albicans*. *mBio.* V. 9(6) (2018): e02032-18.
12. Briard B., Heddergott C., Latgé J.P. Volatile Compounds Emitted by *Pseudomonas aeruginosa* stimulate growth of the fungal pathogen *Aspergillus fumigatus*. *mBio.* V. 7(2) (2016): e00219.
13. d'Enfert C., Kaune A.K., Alaban L.R., Chakraborty S., Cole N., Delavy M. et al. The impact of the fungus-host-microbiota interplay upon *Candida albicans* infections: Current knowledge and new perspectives. *FEMS Microbiol. Rev.* V. 45(3) (2021): fuaa060.
14. Fox E.P., Cowley E.S., Nobile C.J., Hartooni N., Newman D.K., Johnson A.D. Anaerobic bacteria grow within *Candida albicans* biofilms and induce biofilm formation in suspension cultures. *Curr. Biol.* V. 24(20) (2014): pp. 2411-2416.
15. Hattab S., Dagher A.M., Wheeler R.T. *Pseudomonas* synergizes with fluconazole against *Candida* during treatment of polymicrobial infection. *Infect. Immun.* V. 90(4) (2022): e0062621.
16. He J., Kim D., Zhou X., Ahn S.J., Burne R.A., Richards V.P., Koo H. RNA-seq reveals enhanced sugar metabolism in *Streptococcus mutans* co-cultured with *Candida albicans* within mixed-species biofilms. *Front. Microbiol.* V. 8 (2017): 036.

17. Heisel T., Johnson A.J., Gonia S., Dillon A., Skalla E., Haapala J. et al. Bacterial, fungal, and interkingdom microbiome features of exclusively breastfeeding dyads are associated with infant age, antibiotic exposure, and birth mode. *Front. Microbiol.* V. 13 (2022): 1050574.
18. Hu Y., Niu Y., Ye X., Zhu C., Tong T., Zhou Y. et al. *Staphylococcus aureus* synergized with *Candida albicans* to increase the pathogenesis and drug resistance in cutaneous abscess and peritonitis murine models. *Pathogens.* V. 10 (2021): 1036.
19. Ikeda R. Apoptosis-like cell death of *Cryptococcus neoformans* mediated by *Staphylococcus aureus* contact // *Med. Mycol. J.* 2013. V. 54(1). P. 49–52.
20. Ikeda R., Saito F., Matsuo M., Kurokawa K., Sekimizu K., Yamaguchi M., Kawamoto S. Contribution of the mannan backbone of cryptococcal glucuronoxylomannan and a glycolytic enzyme of *Staphylococcus aureus* to contact-mediated killing of *Cryptococcus neoformans*. *J. Bacteriol.* V. 189(13) (2007): pp. 4815-4826.
21. Kapitan M., Niemiec M.J., Steimle A., Frick J.S., Jacobsen I.D. Fungi as part of the microbiota and interactions with intestinal bacteria. *Curr. Top. Microbiol. Immunol.* V. 422 (2019): pp. 265-301.
22. Kim J.Y. Human fungal pathogens: Why should we learn? *J. Microbiol.* V. 54(3) (2016): pp. 145-148.
23. Köhler J.R., Hube B., Puccia R., Casadevall A., Perfect J.R. Fungi that infect humans. *Microbiol. Spectr.* V. 5(3) (2017). 10.1128/microbiolspec.funk-0014-2016.
24. Krishnamoorthy A.L., Lemus A.A., Solomon A.P., Valm A.M., Neelakantan P. Interactions between *Candida albicans* and *Enterococcus faecalis* in an organotypic oral epithelial model. *Microorganisms.* V. 8 (2020): 1771.
25. Krüger W., Vielreicher S., Kapitan M., Jacobsen I.D., Niemiec M.J. Fungal-bacterial interactions in health and disease. *Pathogens.* V. 8(2) (2019): 70.
26. Kumari A., Singh R. Medically important interactions of staphylococci with pathogenic fungi. *Future Microbiol.* V. 14 (2019): pp. 1159-1170.
27. Lai G.C., Tan T.G., Pavelka N. The mammalian mycobiome: A complex system in a dynamic relationship with the host. *Wiley Interdiscip. Rev. Syst. Biol. Med.* V. 11(1) (2019): e1438.
28. Little W., Black C., Smith A.C. Clinical implications of polymicrobial synergism effects on antimicrobial susceptibility. *Pathogens.* V. 10(2) (2021): 144.
29. Lueyar T.K., Karygianni L., Attin T., Thurnheer T. Dynamic interactions between *Candida albicans* and different streptococcal species in a multispecies oral biofilm. *Microbiologyopen.* V. 12(5) (2023): e1381.
30. Maas E., Penders J., Venema K. Studying fungal-bacterial relationships in the human gut using an *in vitro* model (TIM-2). *J. Fungi.* V. 9 (2023): 174.
31. Martins-Santana L., Rezende C.P., Rossi A., Martinez-Rossi N.M., Almeida, F. Addressing microbial resistance worldwide: Challenges over controlling life-threatening fungal infections. *Pathogens.* V. 12 (2023): 293.
32. Mayer F.L., Kronstad J.W. Disarming fungal pathogens: *Bacillus safensis* inhibits virulence factor Production and Biofilm Formation by *Cryptococcus neoformans* and *Candida albicans*. *mBio.* V. 8(5) (2017): e01537-17.
33. Mayer F.L., Kronstad J.W. The spectrum of interactions between *Cryptococcus neoformans* and bacteria. *J. Fungi.* V. 5(2) (2019): 31.
34. Metwalli K.H., Khan S.A., Krom B.P., Jabra-Rizk M.A. *Streptococcus mutans*, *Candida albicans*, and the human mouth: a sticky situation. *PLoS Pathog.* V. 9(10) (2013): e1003616.
35. Mishra K., Bukavina L., Ghannoum M. Symbiosis and dysbiosis of the human mycobiome. *Front. Microbiol.* V. 12 (2021): 636131.
36. Mogavero S., Dräger A., Graf K., Polke M., Jacobsen I.D., Hube B. Enemies and brothers in arms: *Candida albicans* and gram-positive bacteria. *Cell Microbiol.* V. 18(12) (2016): pp. 1709-1715.
37. Nogueira F., Sharghi S., Kuchler K., Lion T. Pathogenetic impact of bacterial-fungal interactions. *Microorganisms.* V. 7(10) (2019): 459.
38. Oliveira M., Oliveira D., Lisboa C., Boechat J.L., Delgado L. Clinical manifestations of human exposure to fungi. *J. Fungi.* V. 9(3) (2023): 381.
39. Palmieri F., Koutsokera A., Bernasconi E., Junier P., von Garnier C., Ubags N. Recent advances in fungal infections: From lung ecology to therapeutic strategies with a focus on *Aspergillus* spp. *Front. Med.* V. 9 (2022): 832510.
40. Parolin C., Croatti V., Laghi L., Giordani B., Tondi M.R., De Gregorio P.R. et al. *Lactobacillus* biofilms influence anti-*Candida* activity. *Front. Microbiol.* V. 12 (2021): 750368.
41. Pohl C.H. Competition for iron during polymicrobial infections may increase antifungal drug susceptibility-how will it impact treatment options? *Infect. Immun.* V. 90(4) (2022): e0005722.
42. Rodrigues M.E., Gomes F., Rodrigues C.F. *Candida* spp. Bacteria mixed biofilms. *J. Fungi.* V. 6(1) (2020): 5.
43. Sam Q.H., Chang M.W., Chai L.Y. The fungal mycobiome and its interaction with gut bacteria in the host. *Int. J. Mol. Sci.* V. 18(2) (2017): 330.

44. Santus W., Devlin J.R., Behnsen J. Crossing kingdoms: How the mycobiota and fungal-bacterial interactions impact host health and disease. *Infect. Immun.* V. 89(4) (2021): e00648-20.
45. Sharma A., Laxman B., Naureckas E.T., Hogarth D.K., Sperling A.I., Solway J. et al. Associations between fungal and bacterial microbiota of airways and asthma endotypes. *J. Allergy Clin. Immunol.* V. 144(5) (2019): pp. 1214-1227. e7.
46. Sztukowska M.N., Dutton L.C., Delaney C., Ramsdale M., Ramage G., Jenkinson H.F. et al. Community Development between *Porphyromonas gingivalis* and *Candida albicans* mediated by InIJ and Als3. *mBio.* V. 9(2) (2018): e00202-18.
47. Tan X., Chen R., Zhu S., Wang H., Yan D., Zhang X. et al. *Candida albicans* airway colonization facilitates subsequent *Acinetobacter baumannii* pneumonia in a rat model. *Antimicrob. Agents Chemother.* V. 60(6) (2016): pp. 3348-3354.
48. Todd O.A., Peters B.M. *Candida albicans* and *Staphylococcus aureus* pathogenicity and polymicrobial interactions: Lessons beyond Koch's postulates. *J. Fungi.* V. 5 (2019): 81.
49. van Leeuwen P.T., van der Peet J.M., Bikker F.J., Hoogenkamp M.A., Oliveira Paiva A.M., Kostidis S. et al. Interspecies interactions between *Clostridium difficile* and *Candida albicans*. *mSphere.* V. 1(6) (2016): e00187-16.
50. Wang F., Xin C., Liu J., Ran Z., Zhao C., Song Z. Interactions between invasive fungi and symbiotic bacteria. *World J. Microbiol. Biotechnol.* V. 36(9) (2020): 137.
51. Ward T.L., Dominguez-Bello M.G., Heisel T., Al-Ghalith G., Knights D., Gale C.A. Development of the human mycobiome over the first month of life and across body sites. *mSystems.* V. 3(3) (2018): e00140-17.

Статья поступила в редакцию 06.05.2024; одобрена после рецензирования 07.06.2024; принята к публикации 27.09.2024.

The article was submitted 06.05.2024; approved after reviewing 07.06.2024; accepted for publication 37.09.2024.

Информация об авторах

М. В. Николенко – д-р биол. наук, доцент, профессор кафедры микробиологии, заведующий лабораторией микробиома, регенеративной медицины и клеточных технологий;

Д. С. Сивкова – ассистент кафедры микробиологии, м.н.с. лаборатории микробиома, регенеративной медицины и клеточных технологий;

Н. В. Барышникова – старший преподаватель кафедры микробиологии;

Л. В. Сорогина – студент 4 курса Института клинической медицины.

Information about the authors

M. V. Nikolenko – doctor of biology, associate professor, professor of the Department of microbiology, Head of the Laboratory of microbiome, regenerative medicine and cell technologies;

D. S. Sivkova – assistant at the Department of microbiology, junior researcher at the Laboratory of microbiome, regenerative medicine and cell technologies;

N. V. Baryshnikova – senior lecturer at the Department of microbiology;

L. V. Sorogina – 4th year student of the Institute of Clinical Medicine.

Вклад авторов:

Николенко М. В. – научное руководство; итоговые выводы.

Сивкова Д. С. – написание исходного текста.

Барышникова Н. В. – доработка текста.

Сорогина Л. В. – написание исходного текста.

Contribution of the authors:

Nikolenko M. V. – research supervision; final conclusions.

Sivkova D. S. – writing the draft.

Baryshnikova N. V. – text revision.

Sorogina L. V. – writing the draft.

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

The authors declare no conflicts of interests.

МИКРОБИОЛОГИЯ

Научная статья

УДК 579.26: 579.222

PKQBVU

doi: 10.17072/1994-9952-2024-3-309-317



Выделение и характеристика штамма-деструктора дибутилфталата *Rhodococcus* sp. 5A-K4

Анна Александровна Пьянкова^{1✉}, Александра Валерьевна Краева²,
Юлия Игоревна Нечаева^{3, 4}, Елена Генриховна Плотникова^{5, 6}

^{1, 3, 5} Институт экологии и генетики микроорганизмов УрО РАН – филиал ПФИЦ УрО РАН, Пермь, Россия

^{2, 4, 6} Пермский государственный национальный исследовательский университет, Пермь, Россия

^{1✉} annpjankva@mail.ru

² akraeva2002@gmail.com

^{3, 4} ulia-2012@mail.ru

^{5, 6} peg_el@mail.ru

Аннотация. Изучена способность бактериального штамма 5A-K4, выделенного из ризосферы растений бескильницы расставленной (*Puccinellia distans* (Jacq.) Parl.), произрастающих на территории промышленных разработок Верхнекамского месторождения солей (Пермский край), к росту на дибутилфталате (ДФФ) в качестве единственного источника углерода и энергии. Штамм 5A-K4 идентифицирован как представитель рода *Rhodococcus*. Анализ гена 16S рПНК исследуемого штамма показал наибольший уровень сходства (99.86%) с гомологичным геном *R. erythropolis* NBRC 15567^T. Штамм эффективно рос на ДБФ в качестве субстрата в присутствии до 30 г/л NaCl в среде культивирования. Показано, что *Rhodococcus* sp. 5A-K4 способен к росту на высоких концентрациях ДБФ (до 12 г/л). В геноме штамма выявлены гены *dpeH* и *treH*, продукты которых участвуют на начальных этапах разложения ДБФ. Нуклеотидные последовательности генов *dpeH* и *treH* гомологичны последовательностям генов α/β гидролаз штаммов – представителей классов *Actinomycetes* и *Bacilli*. На основании полученных данных предложен путь разложения ДБФ штаммом 5A-K4. Таким образом, ризосферный штамм-деструктор *Rhodococcus* sp. 5A-K4 может быть использован в качестве бактериального агента при разработке методов фиторемедиации почв, загрязненных фталатами.

Ключевые слова: бескильница расставленная, ризосфера, дибутилфталат, деструкция, *Rhodococcus*

Для цитирования: Выделение и характеристика штамма-деструктора дибутилфталата *Rhodococcus* sp. 5A-K4 / А. А. Пьянкова, А. В. Краева, Ю. И. Нечаева, Е. Г. Плотникова // Вестник Пермского университета. Сер. Биология. 2024. Вып. 3. С. 309–37. <http://dx.doi.org/10.17072/1994-9952-2024-3-309-317>.

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

MICROBIOLOGY

Original article

Isolation and characterization of dibutyl phthalate-degrading strain *Rhodococcus* sp. 5A-K4

Anna A. Pyankova^{1✉}, Alexandra V. Kraeva², Yulia I. Nechaeva^{3, 4},
Elena G. Plotnikova^{5, 6}

^{1, 3, 5} Institute of Ecology and Genetics of Microorganisms, Perm, Russia

^{2, 4, 6} Perm State University, Perm, Russia

^{1✉} annpjankva@mail.ru

² akraeva2002@gmail.com

^{3, 4} ulia-2012@mail.ru

^{5, 6} peg_el@mail.ru

Abstract. The study is devoted to the ability of the bacterial strain 5A-K4, isolated from the rhizosphere of *Puccinellia distans* (Jacq.) Parl. plants, growing on the territory of industrial development of the Verkhnekamsk

salt deposit (Perm krai), to grow on dibutyl phthalate (DBP) as the single carbon source was studied. Based on analysis of the 16S rRNA gene, the strain was identified as a representative of the genus *Rhodococcus*. Strain 5A-K4 had the highest level of the 16S rRNA gene similarity (99.86%) with *Rhodococcus erythropolis* NBRC 15567^T. The strain grew effectively on a DBP substrate without addition of salt and at a content of 30 g/L NaCl in the cultivation medium. It has been shown that *Rhodococcus* sp. 5A-K4 is capable of growth at high concentrations of DBP (up to 12 g/L). The genome of the strain 5A-K4 contained the *dpeH* and *mpeH* genes, the products of which are involved in the initial stages of DBP degradation. The nucleotide sequences of the *dpeH* and *mpeH* genes are homologous to the sequences of the α/β hydrolase genes of strains of the classes *Actinomycetes* and *Bacilli*. Based on the data obtained, a pathway for the degradation of DBP by strain 5A-K4 was proposed. Thus, the rhizosphere DBP degrading strain *Rhodococcus* sp. 5A-K4 can be used as a bacterial agent in the development of phytoremediation methods for soils contaminated with phthalates.

Keywords: *Puccinellia distans*, rhizosphere, dibutyl phthalate, degradation, *Rhodococcus*

For citation: Pyankova A. A., Kraeva A. V., Nechaeva Yu. I., Plotnikova E. G. [Isolation and characterization of dibutyl phthalate-degrading strain *Rhodococcus* sp. 5A-K4]. *Bulletin of Perm University. Biology*. Iss. 3 (2024): pp. 309-317. (In Russ.). <http://dx.doi.org/10.17072/1994-9952-2024-3-309-317>.

Acknowledgments: the work was carried out within the Russian Science Foundation (project No. 23-24-00308).

Введение

Эфиры фталевой кислоты (ЭФК) – класс токсичных антропогенных соединений, которые преимущественно использовались в качестве добавок или пластификаторов для увеличения гибкости, прозрачности и долговечности пластиковых материалов [Lu M. et al., 2020]. Дибутилфталат (ДБФ) является одним из наиболее широко используемых ЭФК, применяется при производстве инсектицидов, упаковочных материалов, косметики, покрытий, одежды и изоляторов для электрооборудования [He, Niu, Lu, 2014]. ЭФК обладают потенциальной канцерогенностью, тератогенностью и мутагенностью [Gardner et al., 2016], в связи с чем, внесены Агентством по охране окружающей среды США, Европейским Союзом и Национальным центром экологического мониторинга Китая в список приоритетных загрязнителей [Lu M. et al., 2020].

В настоящее время ЭФК обнаружены во всем мире в различных средах, таких как вода, воздух, ил, почва и донные отложения [Gao, Wen, 2016]. Значительные концентрации фталатов выявлены в районах работы предприятий горнодобывающей промышленности в составе глинисто-солевых шламов, избыточных рассолов и отходов калийного производства, вследствие применения реагентов, продуктами трансформации которых являются фталаты [Бачурин, Одинцова, 2006].

Одним из основных путей деградации ЭФК в окружающей среде считается разложение с помощью микроорганизмов. Биodeградация ЭФК является эффективным, недорогим, безопасным и экологически чистым методом [Gao, Wen, 2016; Lu M. et al., 2020]. Среди штаммов, способных осуществлять деструкцию ДБФ, описаны бактерии рода *Rhodococcus* [Aleshchenkova et al., 1996; Li, Gu, 2005; Li et al., 2006; Chao, Cheng, 2007; Lu Y. et al., 2009; Jin et al., 2010; He, Niu, Lu, 2014; Yang et al., 2018; Wang et al., 2022]. Путь деградации эфиров фталевой кислоты у большинства аэробных бактерий, в том числе у представителей рода *Rhodococcus*, аналогичен и включает гидролиз диэфиров фталата до моноэфиров и последующую их деструкцию до *орто*-фталевой кислоты и бутанола [Chao et al., 2006; Wang et al., 2022]. Дальнейший путь разложения осуществляется через *орто*-фталевую кислоту, которая метаболизируется через образование протокатеховой кислоты и, далее – до основных продуктов жизнедеятельности микробной клетки [Vamsee-Krishna, Phale, 2008; Gao, Wen, 2016]. Однако, несмотря на растущее количество сообщений о штаммах, разлагающих ЭФК, генах и ферментах, связанных с деградацией, механизм гидролиза ЭФК требует дальнейшего изучения. Исследование механизмов деградации ЭФК, а также поиск эффективных штаммов-деструкторов будет способствовать разработке новых подходов к восстановлению окружающей среды.

Цель работы – характеристика штамма-деструктора дибутилфталата, выделенного из ризосферы растений бескильницы расставленной, произрастающих в районе промышленных разработок Верхнекамского месторождения солей (Пермский край).

Материалы и методы

Объекты исследования. В работе использован штамм 5A-K4, выделенный из ризосферы растений бескильницы расставленной (*Puccinellia distans* (Jacq.) Parl.), произрастающих на территории Верхнекамского промышленного региона (Пермский край). Образцы растений были отобраны на расстоянии 8 м от солеотвала (г. Соликамск, Пермский край, Россия), координаты участка отбора проб: N59.633686°, E56.760206°. Почва исследуемого участка супесчаная подзолистая, отличается повышенным содержанием хлоридов, сульфатов, бикарбонатов. Содержание ионов Na⁺, K⁺, Ca²⁺ составляло 17, 26, 88 мг/кг, соот-

ветственно. В исследуемой почве выявлено наличие дибутилфталата/диоктилфталата в концентрации 1.0/1.4 мг/кг [Nazarov et al., 2024].

Среды и условия культивирования. Для культивирования бактерий использовали минеральную среду Раймонда (МСР) [Raymond, 1961]. В качестве субстратов использовали дибутилфталат (ДБФ), диметилфталат, диэтилфталат, орто-фталевою, протокатеховую, бензойную кислоты, нафталин, бифенил и бутанол в концентрации 1.0 г/л, а также салициловую и гентизиновую кислоты в концентрации 0.5 г/л. Для приготовления богатой среды Раймонда (БСР) в МСР добавляли 5 г/л триптона («VWR Life Science Amresco», США) и 2.5 г/л дрожжевого экстракта («Biospringer», Франция) в качестве ростовых субстратов. В работе использовали среды без добавления соли, а также среды с концентрацией NaCl до 70 г/л. Для приготовления плотных сред вносили агар («Helicon», Россия) до конечной концентрации 15 г/л.

Накопительное культивирование и выделение бактерий. 5 г образца ризосферной почвы ресуспендировали в 10 мл МСР, затем 100 мкл полученной суспензии помещали в 15 мл МСР (30 г/л NaCl) с ДБФ в качестве единственного источника углерода и энергии (1 г/л) в колбу объемом 50 мл. Культивирование проводили на термостатируемом шейкере Environmental Shaker Incubator ES-20/60 («BioSan», Латвия) при 100 об./мин. в течение 3 месяцев, после чего осуществляли высев суспензии на агаризованную БСР с содержанием 30 г/л NaCl и инкубировали при 28°C до появления колоний.

Описание морфологии колоний бактерий проводили на седьмой день культивирования на агаризованной БСР (30 г/л NaCl).

Выделение ДНК из чистой культуры бактерий проводили общепринятым методом [Ausbel et al., 1995].

Аmplификацию гена 16S рРНК проводили с универсальными бактериальными праймерами 27F и 1492R [Lane, 1991] на амплификаторе C1000 Touch™ Thermal Cycler («Bio-Rad Laboratories», США).

Исследование генов деструкции ДБФ осуществляли путем амплификации фрагментов генов *dpeH* и *treH*, кодирующих дибутил- и монобутилэстеразу, соответственно, с последующим секвенированием и анализом полученных нуклеотидных последовательностей. Амплификацию генов *dpeH* и *treH* осуществляли с использованием праймеров: *dpeH*-F 5'-TAAGAAGGAGATATACA TATGCAGATCGTACTGGTGCACG-3', *dpeH*-R 5'-GTGGTGGTGGTGGTGGTCTCGAGGGCAATGACGG GCGTTCGAG-3' и *treH*-F 5'-TAAGAAGGAGATATACATATGGATTTCGATTTTCACGCCC-3', *treH*-R 5'-GTGGTGGTGGTGGTGGTCTCGAGGAGCGCCGTGATCCACCG-3', соответственно [Lu et al., 2020].

Для детекции ПЦР-продуктов использовали горизонтальный электрофорез в 1%-ном агарозном геле с использованием 1× буфера TBE (Трис – 10.8 г/л, борная кислота – 5.5 г/л, 0.5 М ЭДТА – 4 мл, вода дистиллированная – 79.7 мл/л) при комнатной температуре, напряжении 5–15 В/см в течение 20–40 мин. Агарозные гели окрашивали раствором бромистого этидия (0.5 мкг/мл) в течение 15 мин. и фотографировали в УФ-свете с помощью системы гелъдокументирования BioDocAnalyze («Bio-Rad Laboratories», США). Для определения размеров полученных фрагментов использовали маркер длин ДНК 100+ bp DNA Ladder («Евроген», Россия).

Секвенирование и анализ генов. Определение нуклеотидных последовательностей генов 16S рРНК, *dpeH* и *treH* проводили с применением набора реактивов «GenSeq-100» («Синтол», Россия) на автоматическом секвенаторе Нанофор 05 («Синтол», Россия) согласно рекомендациям производителя. Анализ полученных последовательностей осуществляли с использованием программ Sequence Scanner v. 2.0, MEGA v. 7.0 (<http://www.megasoftware.net>). Поиск гомологичных последовательностей осуществляли по международным базам данных EzBioCloud (<http://www.ezbiocloud.net>) и GenBank (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov>). Для построения филогенетических деревьев использовали метод «neighbor-joining» программы MEGA v. 7.0. Эволюционные расстояния рассчитывали с использованием метода «p-distance». Статистическую достоверность ветвления («bootstrap»-анализ) оценивали на основе 1 000 альтернативных деревьев (приведены значения выше 50%).

Рост бактерий на ДБФ оценивали при культивировании в жидкой МСР. Субстрат вносили до конечной концентрации 1.0, 3.0, 5.0, 7.0, 9.0, 10.0, 11.0, 12.0 г/л. В качестве инокулята добавляли культуру (ОП₆₀₀=1.0), выращенную в жидкой МСР с ДБФ в концентрации 1.0 г/л. Культивирование осуществляли в колбах объемом 250 мл (объем среды – 100 мл) на термостатируемом шейкере Environmental Shaker Incubator ES-20/60 («BioSan», Латвия) при температуре 28°C и скорости вращения 140 об./мин. Оптическую плотность (ОП) культуральной жидкости определяли на спектрофотометре UV-Visible BioSpec-mini («Shimadzu», Япония) при длине волны 600 нм в кювете с длиной оптического пути 1 см. Удельную скорость роста (μ , ч⁻¹) рассчитывали по стандартной формуле

$$\mu = (\ln B_2 - \ln B_1) / (t_2 - t_1),$$

где B_1 и B_2 – оптические плотности культуры в моменты времени t_1 и t_2 , соответственно [Нетрусов, 2005].

Статистическая обработка результатов. Все эксперименты были выполнены в трехкратной повторности. Для обработки полученных данных использовали программу Microsoft Excel 2007.

Результаты и их обсуждение

Методом накопительного культивирования на МСР с 30 г/л NaCl и ДБФ в качестве субстрата из ризосферы растений бескильницы расставленной, отобранных с территории солеразработок (г. Соликамск, Пермский край), был изолирован бактериальный штамм 5А-К4.

При культивировании на богатой среде (БСР) штамм имел бежевые округлые непрозрачные колонии диаметром 2–3 мм с ровным краем, гладкой блестящей поверхностью, выпуклым профилем, мелкозернистой структурой и мягкой консистенцией. На основе анализа фрагмента гена 16S рРНК (735 п.н.) штамм 5А-К4 имел наибольшее сходство, на уровне 99.86%, со штаммом *Rhodococcus erythropolis* NBRC 15567^T.

При культивировании на БСР при различных концентрациях NaCl в среде, показано, что штамм растет как на среде без добавления соли, так и при содержании NaCl до 50 г/л.

Поскольку штамм был выделен из накопительной культуры с ДБФ в качестве субстрата, была проверена его способность к росту на фталатах и на возможных продуктах их разложения (*орто*-фталевой, протокатеховой кислотах и бутаноле). Установлено, что штамм способен к эффективному росту на среде с дибутилфталатом, диметилфталатом, диэтилфталатом, бутанолом и протокатеховой кислотой, но не растет на *орто*-фталевой кислоте. Также штамм может использовать в качестве единственного источника углерода бензойную, салициловую и гентизиновую кислоты.

Исследованы ростовые характеристики штамма при культивировании на ДБФ в качестве субстрата без соли, а также при различных концентрациях NaCl в среде (табл. 1). Наиболее высокие показатели максимальной ОП и удельной скорости штамм имел при росте на среде без соли. При культивировании в среде с добавлением 30 г/л NaCl штамм также демонстрировал эффективный рост (табл. 1). При добавлении в среду 40 г/л NaCl рост штамма на среде с ДБФ не наблюдался.

Таблица 1

Параметры роста штамма 5А-К4 в МСР с ДБФ (1.0 г/л) при разных концентрациях NaCl
[Growth parameters of the strain 5A-K4 in MMR and DBP (1.0 g/L) at different concentrations of NaCl]

Концентрация NaCl, г/л	Удельная скорость роста, ч ⁻¹	Максимальное значение ОП ₆₀₀
без NaCl	0.038±0.002	1.41
30	0.021±0.001	0.81

Так как штамм 5А-К4 демонстрировал эффективный рост на ДБФ в качестве субстрата (табл. 1), были исследованы ростовые характеристики штамма при культивировании с высокими концентрациями ДБФ в среде МСР без добавления соли. Показано, что штамм способен к росту при содержании ДБФ до 12 г/л (табл. 2). При увеличении концентрации ДБФ в среде культивирования лаг-фаза изменялась незначительно. Максимальное значение ОП зафиксировано при содержании 3 г ДБФ/л, а максимальное значение удельной скорости роста – при 1 г ДБФ/л (табл. 2).

Таблица 2

Параметры роста штамма 5А-К4 в МСР при разных концентрациях ДБФ
[Growth parameters of the strain 5A-K4 in MMR at different concentrations of DBP]

Концентрация ДБФ, г/л	Удельная скорость роста, ч ⁻¹	Максимальное значение ОП ₆₀₀
1	0.084±0.004	1.13
3	0.060±0.003	1.89
5	0.047±0.002	1.76
7	0.042±0.003	1.57
9	0.028±0.002	1.38
10	0.016±0.002	1.15
11	0.010±0.001	1.02
12	0.007±0.001	0.72

Проведена амплификация генов *dpeH* и *treH*, продукты которых участвуют в двух последовательных стадиях гидролиза ДБФ [Lu et al., 2020]. С использованием праймеров, описанных [Lu M. et al., 2020], у исследуемого штамма 5А-К4 выявлено наличие обоих генов (рис. 1).

Проведены секвенирование и анализ амплифицированных генов *dpeH* и *treH*. Сравнение гена *dpeH* штамма 5А-К4 с гомологичными последовательностями из базы данных GenBank показало, что данная последовательность имеет наиболее сходство с последовательностями α/β гидролаз бактерий – представителей классов *Actinomycetes* и *Bacilli*. Сходство на уровне 99.85% сравниваемая последовательность

имеет с геном α/β гидролазы штамма *Rhodococcus pyridinivorans* 5Ap, который был изолирован из ливийской почвы, загрязненной нефтью [Чернявская и др., 2016]. На филогенетическом дереве транслированных аминокислотных последовательностей (ТАП) данный штамм формирует отдельный кластер с исследуемым штаммом *Rhodococcus* sp. 5A-K4 (рис. 2). Также ген *dpeH* штамма 5A-K4 имеет сходство (99.54%) с гомологичными генами *Bacillus subtilis* DK01 и штаммами семейства *Micrococcaceae* (уровень сходства 99.39%) – *Glutamicibacter* sp. ZJUTW, *Microbacterium paraoxydans* 70447 и *Microbacterium schleiferi* A32-1 (рис. 2). Стоит отметить, что штамм *Glutamicibacter* sp. ZJUTW, выделенный из активного ила (Китай), использовался в составе бактериального консорциума для одновременного и эффективного разложения шести эфиров фталевой кислоты и демонстрировал наибольшую активность при деградации короткоцепочечных эфиров [Liu et al., 2023].

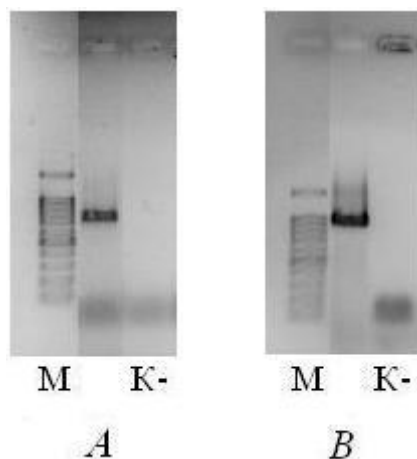


Рис. 1. Электрофореграмма результатов амплификации генов *mpeH* (A) и *dpeH* (B) штамма 5A-K4.

M – маркер 100+ bp DNA Ladder («Евроген», Россия), K- – отрицательный контроль

[Electropherogram of the *mpeH* (A) and *dpeH* (B) amplification results of the strain 5A-K4.

M – 100+ bp DNA Ladder marker (“Evrogen”, Russia), K- – negative control]

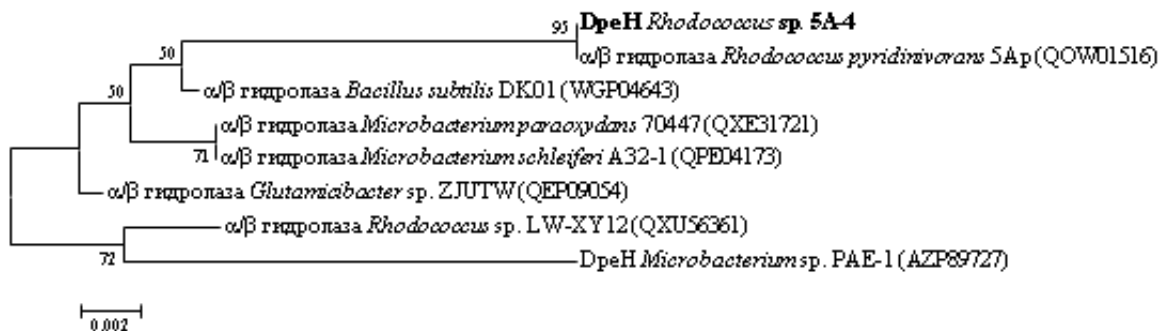


Рис. 2. Положение *dpeH*-гена штамма *Rhodococcus* sp. 5A-K4 на филогенетическом дереве, построенном на основании сравнительного анализа ТАП генов α/β гидролаз.

Масштаб соответствует 5 аминокислотным заменам на каждые 1000 аминокислот. В скобках указаны номера в базе данных GenBank

[Positions of the gene *dpeH* of the strain *Rhodococcus* sp. 5A-K4 in the phylogenetic tree based on comparison of the amino acid sequences translated from α/β hydrolase genes.

The scale bar corresponds to 5 amino acid substitutions per 1000 amino acids. The GenBank accession numbers are given in parentheses]

Еще один кластер на филогенетическом дереве формируют ТАП α/β гидролаз штаммов *Rhodococcus* sp. LW-XY12 и *Microbacterium* sp. PAE-1. Уровень сходства нуклеотидной последовательности гена *dpeH* штамма 5A-K4 и последовательностей штаммов, входящих в этот кластер, составлял 98.47–98.93%. Штамм *Rhodococcus* sp. LW-XY12, изолированный из активного ила (Китай), способен к эффективному разложению ЭФК [Song et al., 2022]. Штамм *Microbacterium* sp. PAE-1, выделенный из сточных вод заво-

да по производству пластмасс, способен к разложению ДБФ до *орто*-фталевой кислоты через монобутилфталат посредством двух последовательных стадий гидролиза с участием продуктов генов *dpeH* и *mpeH* [Lu M. et al., 2020]. Анализ полученной последовательности гена *mpeH* штамма 5А-К4 показал, что данная последовательность имеет наибольшее сходство с генами *mpeH* тех же штаммов (представителей классов *Actinomycetes* и *Bacilli*), с которыми близка и последовательность гена *dpeH* (рис. 2, 3). Кроме штаммов, с которыми выявлено сходство по гену *dpeH*, нуклеотидная последовательность гена *mpeH* штамма *Rhodococcus* sp. 5А-К4 имеет высокий процент сходства (98.97%) и с нуклеотидной последовательностью α/β гидролазы штамма *Rhodococcus ruber* YС-YT1, способного к эффективному разложению эфиров фталевой кислоты [Yang et al., 2018].

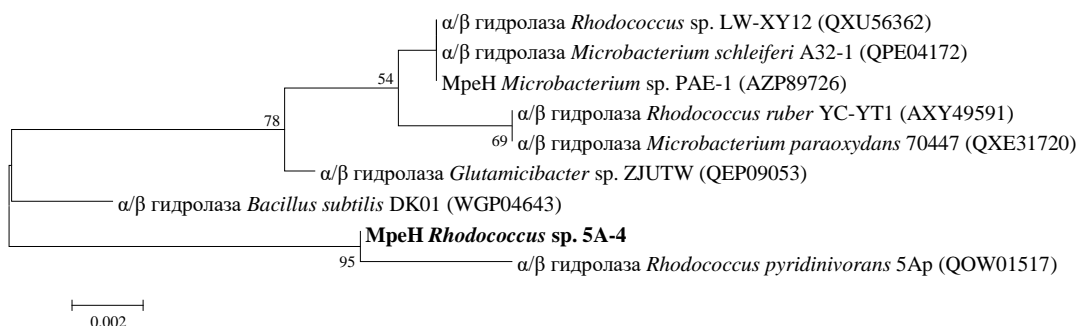


Рис. 3. Положение *mpeH*-гена штамма *Rhodococcus* sp. 5А-К4 на филогенетическом дереве, построенном на основании сравнительного анализа ТАП генов α/β гидролаз.

Масштаб соответствует 2 аминокислотным заменам на каждые 1000 аминокислот. В скобках указаны номера в базе данных GenBank

[Positions of the gene *mpeH* of the strain *Rhodococcus* sp. 5А-К4 in the phylogenetic tree based on comparison of the amino acid sequences translated from α/β hydrolase genes.

The scale bar corresponds to 2 amino acid substitutions per 1000 amino acids. The GenBank accession numbers are given in parentheses]

Таким образом, у исследуемого штамма *Rhodococcus* sp. 5А-К4 показано наличие генов *dpeH* и *mpeH*, продукты которых участвуют в двух последовательных стадиях гидролиза ДБФ через монобутилфталат до *орто*-фталевой кислоты (рис. 4).

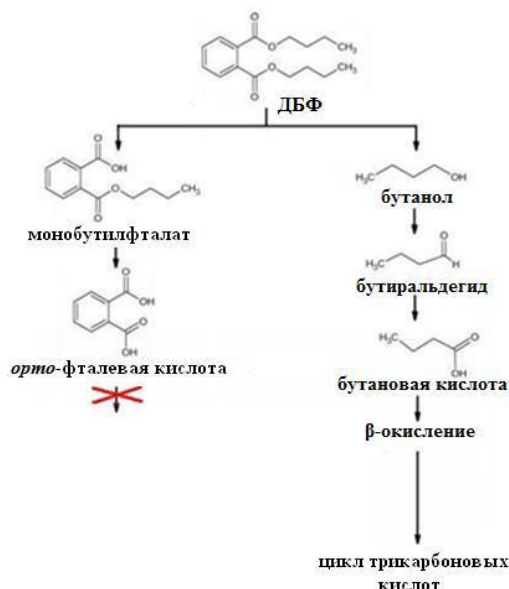


Рис. 4. Схема вероятного пути разложения ДБФ

[A scheme of probable degradation pathway of DBP]

Установлено, что штамм 5А-К4 не способен к росту на *орто*-фталевой кислоте – основном промежуточном метаболите разложения ДБФ у бактерий [Gao, Wen, 2016]. Было зафиксировано накопление

орто-фталевой кислоты в культуральной жидкости при росте исследуемого штамма в МСР с ДБФ в качестве субстрата (данные не представлены). Поэтому можно предположить, что деструкция ДБФ у *Rhodococcus* sp. 5A-K4 идет по пути, представленному на рис. 4, через промежуточный продукт метаболизма ДБФ – бутанол [Mahajan et al., 2019]. Это предположение также подтверждается способностью штамма *Rhodococcus* sp. 5A-K4 к эффективному росту на бутаноле в качестве субстрата.

Заключение

В результате проведенных исследований из ризосферы растений бескильницы расставленной (*Puccinellia distans* (Jacq.) Parl.), произрастающих на загрязненных/засоленных почвах района разработок Верхнекамского месторождения солей (Пермский край), изолирован штамм-деструктор дибutilфталата *Rhodococcus* sp. 5A-K4. Штамм способен к эффективному росту на среде с дибutilфталатом, а также диметил- и диэтилфталатом, бутанолом, протокатеховой, бензойной, салициловой и гентизиновой кислотами в качестве субстрата. В геноме штамма выявлены гены *dpeH* и *mpeH*, продукты которых участвуют в гидролизе ДБФ. Нуклеотидные последовательности генов *dpeH* и *mpeH* сходны с последовательностями генов α/β гидролаз бактерий – представителей классов *Actinomycetes* и *Bacilli*. Интересен факт, что штамм не растет на *орто*-фталевой кислоте, являющейся ключевым метаболитом при деструкции ДБФ у большинства изученных бактерий-деструкторов ЭФК. На основании полученных данных предложен путь разложения ДБФ штаммом 5A-K4 с использованием бутанола в качестве ключевого метаболита. *Rhodococcus* sp. 5A-K4 может использовать в качестве единственного источника углерода и энергии ДБФ при содержании 30 г/л NaCl в среде, а также способен к эффективному росту при концентрации ДБФ до 12 г/л. Таким образом, ризосферный деструктор ДБФ *Rhodococcus* sp. 5A-K4 представляет интерес для дальнейших исследований и возможности использования его в качестве бактериального агента при разработке методов фиторемедиации почв, загрязненных фталатами.

Список источников

1. Бачурин Б.А., Одинцова Т.А. Стойкие органические загрязнители в отходах горного производства // Современные экологические проблемы Севера. Апатиты: Изд-во Кольского НЦ РАН, 2006. Ч. 2. С. 7–9.
2. Нетрусов А.И. Практикум по микробиологии. М.: Академия, 2005. 608 с.
3. Чернявская М.И. и др. Первичный анализ генома бактерий-деструкторов нефти *Rhodococcus pyridinivorans* 5Ap // Труды БГУ. 2016. Т. 11, ч. 1. С. 219–223.
4. Aleshchenkova Z.M. et al. The degradation of plasticizers by *Rhodococcus erythropolis* 40F // Mikrobiol. Z. 1996. Vol. 58(4). P. 34–38.
5. Ausbel F.M. Short Protocols in Molecular Biology. 3rd ed. N.Y.: John Wiley & Sons, 1995. 450 p.
6. Chao W.L., Cheng C.-Y. Effect of introduced phthalate-degrading bacteria on the diversity of indigenous bacterial communities during di-(2-ethylhexyl) phthalate (DEHP) degradation in a soil microcosm // Chemosphere. 2007. Vol. 67(3). P. 482–488.
7. Chao W.L. et al. Degradation of di-butyl-phthalate by soil bacteria // Chemosphere. 2006. Vol. 63(8). P. 1377–1383.
8. Gao D.-W., Wen Z.-D. Phthalate esters in the environment: a critical review of their occurrence, biodegradation, and removal during wastewater treatment processes // Science of the Total Environment. 2016. Vol. 541. P. 986–1001.
9. Gardner S.T. et al. Assessing differences in toxicity and teratogenicity of three phthalates, diethyl phthalate, di-*n*-propyl phthalate, and di-*n*-butyl phthalate, using *Xenopus laevis* embryos // Journal of Toxicology and Environmental Health. 2016. Vol. 79(2). P. 71–82.
10. He Z., Niu C., Lu Z. Individual or synchronous biodegradation of di-*n*-butyl phthalate and phenol by *Rhodococcus ruber* strain DP-2 // Journal of Hazardous Materials. 2014. Vol. 273. P. 104–109.
11. Jin D.-C. et al. Biodegradation of di-*n*-butyl phthalate by *Rhodococcus* sp. JDC-11 and molecular detection of 3,4-phthalate dioxygenase gene // Journal of Microbiology and Biotechnology. 2010. Vol. 20(10) P. 1440–1445.
12. Lane D.J. 16S/23S rRNA sequencing // Nucleic acid techniques in bacterial systematics. 1991. P. 115–175.
13. Li J. et al. Bioremediation of environmental endocrine disruptor di-*n*-butyl phthalate ester by *Rhodococcus ruber* // Chemosphere. 2006. Vol. 65(9). P. 1627–1633
14. Li K., Gu J. Biodegradation of di-*n*-butyl phthalate by mangrove microorganism *Rhodococcus ruber* 1K // Ying Yong Sheng Tai Xue Bao. 2005. Vol. 16(8). P. 1566–1574.
15. Liu T. et al. Synthetic bacterial consortia enhanced the degradation of mixed priority phthalate ester pollutants // Environmental Research. 2023. Vol. 235. P. 116–121.

16. Lu M. et al. Degradation of dibutyl phthalate (DBP) by a bacterial consortium and characterization of two novel esterases capable of hydrolyzing PAEs sequentially // *Ecotoxicology and Environmental Safety*. 2020. Vol. 195. P. 1–9.
17. Lu Y. et al. Biodegradation of dimethyl phthalate, diethyl phthalate and di-*n*-butyl phthalate by *Rhodococcus* sp. L4 isolated from activated sludge // *Journal of Hazardous Materials*. 2009. Vol. 168(2-3). P. 938–943.
18. Mahajan R. et al. Biodegradation of di-*n*-butyl phthalate by psychrotolerant *Sphingobium yanoikuyae* strain P4 and protein structural analysis of carboxylesterase involved in the pathway // *International Journal of Biological Macromolecules*. 2019. Vol. 122. P. 806–816.
19. Nazarov A.V. et al. Soil bacterial communities in the affected zone of salt dump (Solikamsk, Perm krai) // *Eurasian Soil Science*, 2024, Vol. 57(8). P. 1353–1361.
20. Raymond R.L. Microbial oxidation of *n*-paraffinic hydrocarbons // *Developments in Industrial Microbiology*. 1961. Vol. 2(1). P. 23–32.
21. Song X. et al. Biodegradation of phthalate acid esters by a versatile PAE-degrading strain *Rhodococcus* sp. LW-XY12 and associated genomic analysis // *International Biodeterioration and Biodegradation*. 2022. Vol. 170. P. 1–12.
22. Vamsee-Krishna C., Phale P.S. Bacterial degradation of phthalate isomers and their esters // *Indian Journal of Microbiology*. 2008. Vol. 48. P. 19–34.
23. Wang L. et al. Analysis of the performance of the efficient di-(2-ethylhexyl) phthalate-degrading bacterium *Rhodococcus pyridinovorans* DNHP-S2 and associated catabolic pathways // *Chemosphere*. 2022. Vol. 306. P. 135–142.
24. Yang T. et al. Biodegradation of di-(2-ethylhexyl) phthalate by *Rhodococcus ruber* YC-YT1 in contaminated water and soil // *International Journal of Environmental Research and Public Health*. 2018. Vol. 15(5). P. 1–20.

References

1. Bachurin B.A., Odincova T.A. [Persistent organic pollutants in mining waste]. *Sovremennye èkologièskie problemy Severa* [Modern environmental problems of the North]. Apatity, Kol'skij NC RAN Publ., 2006, P. 2, pp. 7-9. (In Russ).
2. Netrusov A.I. *Praktikum po mikrobiologii* [Practicum on microbiology]. Moscow, Akademija Publ., 2005. 608 p. (In Russ.).
3. Charniauskaya M.I., Buklyarevich H.A., Akhremchuk A.E., Valentovich L.N., Titok M.A. [Primary genomics analysis of oil-degrading bacteria *Rhodococcus pyridinovorans* strain 5Ap]. *Trudy BGU*. V. 11, P. 1 (2016): pp. 219-223. (In Russ.).
4. Aleshchenkova Z.M., Samsonova A.S., Baïkova S.V., Kukulianskaia T.A. The degradation of plasticizers by *Rhodococcus erythropolis* 40F. *Mikrobiol. Z.* V. 58(4) (1996): pp. 34-38.
5. Ausbel F.M. *Short Protocols in Molecular Biology*. 3rd ed. N.Y., John Wiley & Sons, 1995. 450 p.
6. Chao W.-L., Cheng C.-Y. Effect of introduced phthalate-degrading bacteria on the diversity of indigenous bacterial communities during di-(2-ethylhexyl) phthalate (DEHP) degradation in a soil microcosm. *Chemosphere*. V. 67(3) (2007): pp. 482-488.
7. Chao W.L., Lin C.M., Shiung I.I., Kuo Y.L. Degradation of di-butyl-phthalate by soil bacteria. *Chemosphere*. V. 63(8) (2006): pp. 1377-1383.
8. Gao D.-W., Wen Z.-D. Phthalate esters in the environment: a critical review of their occurrence, biodegradation, and removal during wastewater treatment processes. *Science of the Total Environment*. V. 541 (2016): pp. 986-1001.
9. Gardner S.T., Wood A.T., Lester R., Onkst P.E., Burnham N., Perygin D.H., Rayburn J. Assessing differences in toxicity and teratogenicity of three phthalates, diethyl phthalate, di-*n*-propyl phthalate, and di-*n*-butyl phthalate, using *Xenopus laevis* embryos. *Journal of Toxicology and Environmental Health*. V. 79(2) (2016): pp. 71-82.
10. He Z., Niu C., Lu Z. Individual or synchronous biodegradation of di-*n*-butyl phthalate and phenol by *Rhodococcus ruber* strain DP-2. *Journal of Hazardous Materials*. V. 273 (2014): pp. 104-109.
11. Jin D.-C., Liang R.-X., Dai Q.-Y., Zhang R.-Y., Wu X.-L., Chao W.-L. Biodegradation of di-*n*-butyl phthalate by *Rhodococcus* sp. JDC-11 and molecular detection of 3,4-phthalate dioxygenase gene. *Journal of Microbiology and Biotechnology*. V. 20(10) (2010): pp. 1440-1445.
12. Lane D.J. 16S/23S rRNA sequencing. *Nucleic acid techniques in bacterial systematics*. (1991): pp. 115-175.
13. Li J., Chen J.-A., Zhao Q., Li X., Shu W. Bioremediation of environmental endocrine disruptor di-*n*-butyl phthalate ester by *Rhodococcus ruber*. *Chemosphere*. V. 65(9) (2006): pp. 1627-1633.
14. Li K., Gu J. [Biodegradation of di-*n*-butyl phthalate by mangrove microorganism *Rhodococcus ruber* 1K]. *Ying Yong Sheng Tai Xue Bao*. V. 16(8) (2005): pp. 1566-1574. (In Chinese).

15. Liu T., Ning L., Mei C., Li S., Zheng L., Qiao P. et al. Synthetic bacterial consortia enhanced the degradation of mixed priority phthalate ester pollutants. *Environmental Research*. V. 235 (2023): pp. 116-121.
16. Lu M., Jiang W., Gao Q., Zhang M., Hong Q. Degradation of dibutyl phthalate (DBP) by a bacterial consortium and characterization of two novel esterases capable of hydrolyzing PAEs sequentially. *Ecotoxicology and Environmental Safety*. V. 195 (2020): pp. 1-9.
17. Lu Y., Tang F., Wang Y., Zhao J., Zeng X., Luo O., Wang L. Biodegradation of dimethyl phthalate, diethyl phthalate and di-*n*-butyl phthalate by *Rhodococcus* sp. L4 isolated from activated sludge. *Journal of Hazardous Materials*. V. 168(2-3) (2009): pp. 938-943.
18. Mahajan R., Verma S., Kushwaha M., Singh D., Akhter Y., Chatterjee S. Biodegradation of di-*n*-butyl phthalate by psychrotolerant *Sphingobium yanoikuyae* strain P4 and protein structural analysis of carboxylesterase involved in the pathway. *International Journal of Biological Macromolecules*. V. 122 (2019): pp. 806-816.
19. Nazarov A.V., Nechaeva Yu.I., Korsakova E.S., Pyankova A.A., Plotnikova E.G. Soil bacterial communities in the affected zone of salt dump (Solikamsk, Perm krai). *Eurasian Soil Science*. V. 57(8) (2024): pp. 1353-1361.
20. Raymond R.L. Microbial oxidation of *n*-paraffinic hydrocarbons. *Develop. Ind. Microbiol.* V. 2(1) (1961): pp. 23-32.
21. Song X., Zhang Z., Dai Y., Cun D., Cui B., Wang Y. et al. Biodegradation of phthalate acid esters by a versatile PAE-degrading strain *Rhodococcus* sp. LW-XY12 and associated genomic analysis. *International Biodeterioration and Biodegradation*. V. 170 (2022): pp. 1-12.
22. Vamsee-Krishna C., Phale P.S. Bacterial degradation of phthalate isomers and their esters. *Indian Journal of Microbiology*. V. 48 (2008): pp. 19-34.
23. Wang L., Gan D., Gong L., Zhang Y., Wang J., Guan R. et al. Analysis of the performance of the efficient di-(2-ethylhexyl) phthalate-degrading bacterium *Rhodococcus pyridinovorans* DNHP-S2 and associated catabolic pathways. *Chemosphere*. V. 306 (2022): pp. 135-142.
24. Yang T., Ren L., Jia Y., Fan S., Wang J., Wang J. et al. Biodegradation of di-(2-ethylhexyl) phthalate by *Rhodococcus ruber* YC-YT1 in contaminated water and soil. *International Journal of Environmental Research and Public Health*. V. 15(5) (2018): pp. 1-20.

Статья поступила в редакцию 21.06.2024; одобрена после рецензирования 24.07.2024; принята к публикации 27.09.2024.

The article was submitted 21.06.2024; approved after reviewing 24.07.2024; accepted for publication 27.09.2024.

Информация об авторах

А. А. Пьянкова – младший научный сотрудник;

А. В. Краева – студент;

Ю. И. Нечаева – инженер ИЭГМ УрО РАН, аспирант ПГНИУ;

Е. Г. Плотникова – доктор биологических наук, доцент, зав. лабораторией ИЭГМ УрО РАН, профессор ПГНИУ.

Information about the authors

A. A. Pyankova – junior researcher;

A. V. Kraeva – student;

Yu. I. Nechaeva – engineer IEGM UB RAS, postgraduate student PSU;

E. G. Plotnikova – doctor of biological sciences, associate professor, head of laboratory IEGM UB RAS, professor PSU.

Вклад авторов:

Пьянкова А. А. – экспериментальная работа; статистическая обработка материала; написание исходного текста.

Краева А. В. – экспериментальная работа; статистическая обработка материала.

Нечаева Ю. И. – экспериментальная работа; доработка текста.

Плотникова Е. Г. – научное руководство, концепция исследования, доработка текста.

Contribution of the authors:

Pyankova A. A. – experimental work; statistical processing of material; writing the source text.

Kraeva A. V. – experimental work; statistical processing of material.

Nechaeva Yu. I. – experimental work; text revision.

Plotnikova E. G. – research supervision, research concept, text revision.

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

The authors declare no conflicts of interests.

ГЕНЕТИКА

Научная статья
УДК 575.224.22

QLASKI

doi: 10.17072/1994-9952-2024-3-318-326



Полногеномный поиск ассоциаций однонуклеотидных полиморфизмов с шириной груди у овец Северокавказской мясо-шерстной породы

**Роман Владимирович Зуев¹✉, Александр Юрьевич Криворучко^{2, 3},
Наталья Геннадьевна Лиховид⁴, Ольга Николаевна Криворучко⁵**

^{1, 3, 4} Северо-Кавказский федеральный университет, Ставрополь, Россия

^{2, 5} Всероссийский научно-исследовательский институт овцеводства и козоводства, филиал Северо-Кавказского федерального научного аграрного центра, Михайловск, Россия

¹✉ romus00@yandex.ru

² rcvm@yandex.ru

⁴ ikhovid@rambler.ru

⁵ nizov-olga@yandex.ru

Аннотация. Растущий в мире спрос на баранину ставит перед селекционерами задачу повышения мясной продуктивности пород овец. Она зависит от совокупного воздействия большого числа генов, влияющих на развитие мышечной ткани. Многие из них на данный момент ещё не описаны как гены-кандидаты продуктивных качеств, т.к. влияние генов может различаться в зависимости от породы и условий обитания животных. Одним из наиболее эффективных методов поиска таких генов является полногеномный поиск ассоциаций (GWAS). В статье представлены результаты GWAS для параметра «ширина груди», связанного с мясной продуктивностью у овец Северокавказской мясо-шерстной породы. Генотипирование животных проведено с использованием ДНК-биочипов Illumina Ovine Infinium HD BeadChip 600K. Контроль качества генотипирования и GWAS проведены с помощью программного обеспечения PLINK V.1.07. Визуализация и построение графиков выполнены с использованием пакета «Qqman» на языке программирования «R». В результате удалось выявить 9 однонуклеотидных замен (SNP), показавших достоверную связь с изучаемым признаком фенотипа. Восемь замен локализованы в интронах белок-кодирующих генов, а замена rs417623542 – в экзоне. На этом основании нами предложено 5 генов-кандидатов, ассоциированных с изучаемым параметром: *DPYD*, *FSHR*, *PRR16*, *SLC19A3* и *BMPR1B*. Гены *DPYD* и *SLC19A3* играют важную роль в обмене веществ, гены *FSHR*, *PRR16* и *BMPR1B* участвуют в регуляции роста клеток и клеточной дифференцировки. Последующие исследования должны быть направлены на изучение структуры данных генов для выявления механизма их влияния на параметры мясной продуктивности животных. SNP, выявленные в ходе исследования, могут использоваться как молекулярные маркеры при селекции овец.

Ключевые слова: овцеводство, Северокавказская мясо-шерстная порода, полногеномный поиск ассоциаций, однонуклеотидные замены, GWAS, SNP, гены-кандидаты

Для цитирования: Полногеномный поиск ассоциаций однонуклеотидных полиморфизмов с шириной груди у овец Северокавказской мясо-шерстной породы / Р. В. Зуев, А. Ю. Криворучко, Н. Г. Лиховид, О. Н. Криворучко // Вестник Пермского университета. Сер. Биология. 2024. Вып. 3. С. 318–326. <http://dx.doi.org/10.17072/1994-9952-2024-3-318-326>.

GENETICS

Original article

Genome-wide association study with of single nucleotide polymorphisms with chest width in in Severocavcazskaya sheep breed

**Roman V. Zuev¹✉, Alexander Yu. Krivoruchko^{2, 3}, Natalia G. Likhovid⁴,
Olga N. Krivoruchko⁵**

^{1, 3, 4} North Caucasus Federal University, Stavropol, Russia

^{2, 5} North Caucasus Federal Agricultural Research Center, Stavropol, Russia

¹✉ romus00@yandex.ru

² rcvm@yandex.ru

⁴ ikhovid@rambler.ru

⁵ nizov-olga@yandex.ru

Abstract. The growing global demand for lamb poses the challenge for breeders to increase the meat productivity of existing sheep breeds. It depends on the combined influence of a large number of genes influencing the development of muscle tissue. Many of them have not yet been described as candidate genes for productive qualities, since the influence of genes may vary depending on the breed and living conditions of the animals. One of the most effective methods for searching for such genes is genome-wide association study (GWAS). The article presents GWAS results for the parameter “chest width” associated with meat productivity in sheep of the Severocavcazskaya sheep breed. Animal genotyping was carried out using Illumina Ovine Infinium HD Bead-Chip 600K DNA biochips. Quality control of genotyping and GWAS were carried out using PLINK V.1.07 software. Visualization and plotting were performed using the “QQman” package in the “R” programming language. As a result, it was possible to identify 9 single nucleotide polymorphisms (SNPs) that showed a significant connection with the studied phenotypic trait. Eight substitutions are localized in the introns of protein-coding genes, and the rs417623542 substitution is located in the exon. On this basis, we proposed 5 candidate genes associated with the studied parameter: *DPYD*, *FSHR*, *PRR16*, *SLC19A3* and *BMPR1B*. The *DPYD* and *SLC19A3* genes play an important role in metabolism; the *FSHR*, *PRR16* and *BMPR1B* genes are involved in the regulation of cell growth and cell differentiation. Subsequent studies should be aimed at studying the structure of these genes to identify the mechanism of their influence on the parameters of animal meat productivity. The SNPs identified during the study can be used as molecular markers in sheep breeding.

Keywords: sheep breeding, Severocavcazskaya sheep breed, genome wide association study, single nucleotide polymorphism, GWAS, SNP, candidate genes

For citation: Zuev R. V., Krivoruchko A. Yu., Likhovid N. G., Krivoruchko O. N. [Genome-wide association study with of single nucleotide polymorphisms with chest width in in Severocavcazskaya sheep breed]. *Bulletin of the Perm University. Biology*. Iss. 3 (2024): pp. 318-326. (In Russ.). <http://dx.doi.org/10.17072/1994-9952-2024-3-318-326>.

Введение

Растущий в мире спрос на баранину ставит перед селекционерами задачу повышения мясной продуктивности имеющихся пород овец. Одним из перспективных подходов к решению этой задачи является использование методов маркер-ассоциированной селекции по аллелям генов, влияющих на мясную продуктивность. Ранее был выявлен ряд генов, связанных с количественными и качественными признаками мясной продуктивности овец: *MSTN* (myostatin) [Aiello et al., 2018; Osman et al., 2021], *MYOD1* (myogenic differentiation 1) [Sousa-Junior et al., 2022], *FST* (follistatin) [Nissinen et al., 2021] и др. Однако кроме них в развитии мышечной ткани участвует большое число генов, влияние которых может быть относительно невелико. Многие из них на данный момент ещё не выявлены, т.к. параметры мясной продуктивности в значительной степени зависят от факторов окружающей среды, что маскирует эффект экспрессии отдельных генов [Tobar et al., 2020].

Одним из наиболее эффективных методов поиска новых генов-кандидатов является полногеномный поиск ассоциаций (GWAS). Он основывается на обработке результатов генотипирования животных по отдельным однонуклеотидным полиморфизмам (SNP), проведённого с использованием ДНК-биочипов [Benavides et al., 2018]. С его помощью на данный момент удалось выявить ряд геномных регионов и предложить гены-кандидаты, ассоциированные с экономически важными признаками у овец [Gebreselassie et al., 2019].

Поскольку для овец характерна высокая экологическая пластичность, генетические маркеры продуктивности могут отличаться у отдельных пород из-за того, что их селекция проводилась в разных условиях окружающей среды. В связи с этим перспективным является поиск генов-кандидатов у пород, приспособленных к определенным условиям содержания и кормления [Яцык, 2017].

Одной из таких пород, разводимых на территории Ставропольского края, является Северокавказская мясо-шерстная, выведенная в условиях засушливых степей Юга России. Овцы этой породы легко приспособляются к различным условиям разведения и характеризуются достаточно высокой мясной продуктивностью: бараны-производители имеют среднюю массу более 100 кг, а ярки – 60 кг. Для породы характерна дисперсия фенотипа мясных форм, что указывает на высокое генетическое разнообразие и возможности селекции в направлении увеличения мясной продуктивности животных [Омаров, Гадашов, 2021]. Одним из важных промеров, характеризующих мясную продуктивность у овец, является ширина груди, определяющая поперечный размер туши и степень развития сердечно-легочной системы у животного. Он важен для оценки овец при селекционном отборе, и выявление его генетической основы позволит использовать новые молекулярные маркеры для улучшения породы.

В связи с вышеизложенным, целью нашего исследования стали поиск SNP, ассоциированных с параметром «ширина груди» и выявление новых генов-кандидатов продуктивности у овец Северокавказской мясо-шерстной породы.

Объекты и методы исследования

Объектом исследования служили бараны ($n=50$) Северокавказской мясо-шерстной породы в возрасте 12 месяцев, разводимые в СПК «Племенной завод Восток» Степновского р-на Ставропольского края. Все животные были клинически здоровы, не стрижены, содержались в оптимальных условиях и получали полноценный рацион [Абонеев и др., 2009]. Забор крови для выделения ДНК проводился Зуевым Р.В. и Криворучко О.Н. в феврале-марте 2018 г. Кровь, отобрали из яремной вены в асептических условиях.

Лабораторные исследования проведены Криворучко А.Ю. и Лиховид Н.Г. на базе лабораторий ВНИИОК – филиала ФГБНУ «Северо-Кавказский ФНАЦ» и ФГБОУ ВО «Ставропольский государственный аграрный университет».

Выделение тотальной ДНК проводилось при помощи набора Pure Link Genomic DNA MiniKit (Invitrogen Life Technologies, США) согласно протоколу производителя. Генотипирование животных осуществляли с использованием ДНК-биочипов Ovine Infinium HD BeadChip 600K (Illumina Inc., Калифорния, США) в соответствии с протоколом производителя. Первоначальная обработка результатов генотипирования проведена с помощью программы Genome Studio 2.0 (Illumina Inc., Калифорния, США).

Контроль качества генотипирования выполнен с помощью программы PLINK V.1.07. В обработку данных были включены образцы с показателем количества обнаруженных SNP (Call Rate) более 0,95, полиморфизмы, имеющие физическую локализацию и частоту минорных аллелей более 0,01. Из 606 006 генотипированных SNP для дальнейшего анализа было использовано 562 549 полиморфизмов.

GWAS выполняли с помощью программного обеспечения PLINK V.1.07, функция – qassoc [Purcell, Neale, Todd-Brown, 2007]. Достоверными считали различия при $-\log_{10}(p) > 5$. Визуализацию и построение графиков производили с применением пакета «Qqman» на языке программирования «R».

Картирование SNP проведено с помощью сборки генома Oar_v3.1. Поиск ближайших генов-кандидатов выполняли в области 250 000 п.н. вокруг SNP, показавших достоверную связь с шириной спины у животных исследуемой группы. Аннотации генов выполнялись с использованием геномного браузера Ensemble (www.ensembl.org).

Результаты исследования и их обсуждение

При проведении GWAS для параметра «ширина груди» было выявлено 9 однонуклеотидных замен, преодолевших порог достоверности $-\log_{10}(p) = 5$ (рис. 1). Эти SNP были расположены на 1, 2, 3, 5 и 6-й хромосомах.

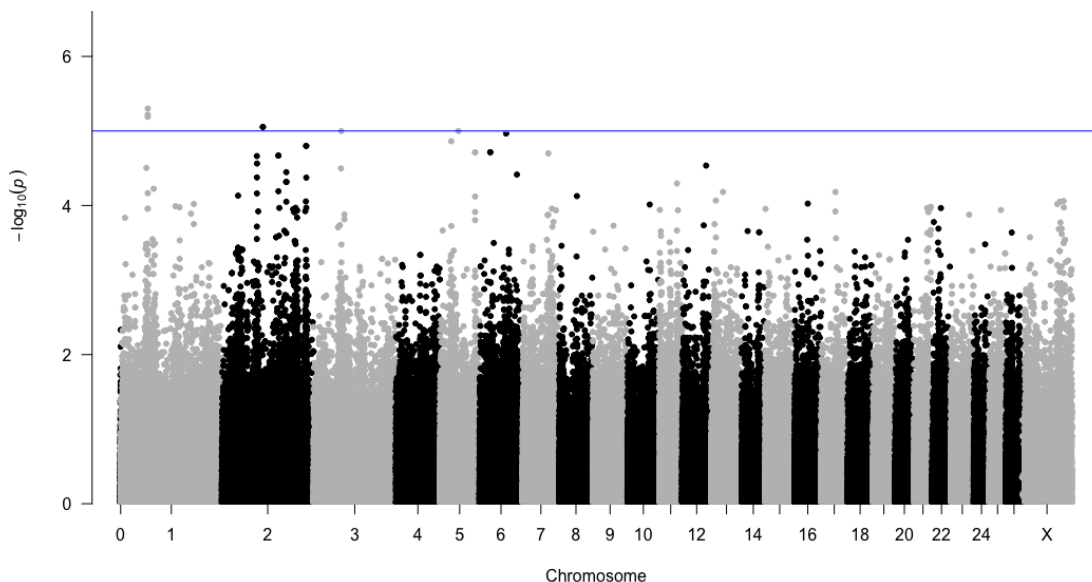


Рис. 1. Манхэттенский график результатов GWAS с набором значений $-\log_{10}(p)$ для исследуемых SNP.

Горизонтальная линия обозначает порог достоверности различий при значении $-\log_{10}(p) = 5$

[Manhattan plot of GWAS results with a set of $-\log_{10}(p)$ values for the studied SNPs.

The horizontal line indicates a difference reliability threshold at $-\log_{10}(p) = 5$]

На представленном квантиль-квантиль графике показаны результаты оценки распределения достоверностей различий. Отклонение от теоретически ожидаемого распределения в случае подтверждения нулевой гипотезы наблюдается, начиная с $-\log_{10}(p) > 5$ (рис. 2).

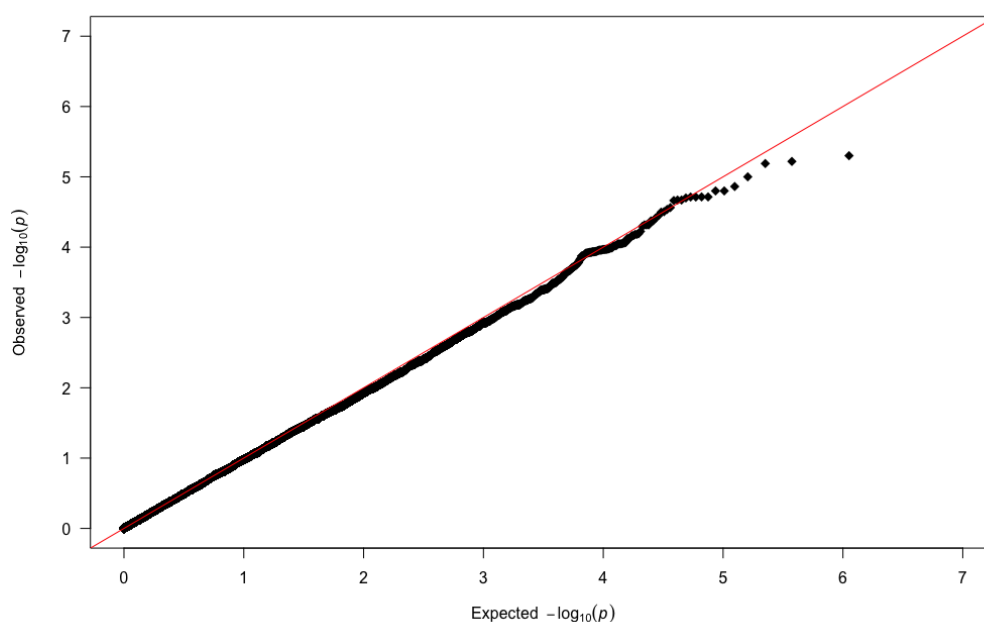


Рис. 2. Q-Q график для вероятностей распределения достоверности оценок однонуклеотидных полиморфизмов

[Q-Q plot for the probability distribution of reliability in single nucleotide polymorphism estimates]

В областях локализации выявленных SNP, достоверно ассоциированных с шириной спины, были обнаружены 5 генов-кандидатов, предположительно влияющих на продуктивные показатели овец. Восемь замен были локализованы в интронах белок-кодирующих генов, одна – в экзоне (таблица).

Характеристики однонуклеотидных замен, ассоциированных с шириной груди у овец Северокавказской мясо-шерстной породы

[Characteristics of single nucleotide substitutions associated with chest width in sheep of the Severocavcazskaya sheep breed]

№	SNP	Хромосома/позиция	P	Ген/расстояние до гена
1	rs412308293	1/73858834	5.007e-06	DPYD/intron
2	rs400857844	1/73648184	6.042e-06	DPYD/intron
3	rs399781046	1/73672374	6.473e-06	DPYD/intron
4	rs398315636	3/75299649	1.000e-05	FSHR/intron
5	rs405039164	5/30848833	1.373e-05	PRR16/intron
6	rs417623542	2/228929830	1.586e-05	SLC19A3/exon
7	rs423233667	2/228930690	1.586e-05	SLC19A3/intron
8	rs424473282	6/29385966	1.930e-05	BMPRI1B/intron
9	rs403874313	6/29386809	1.930e-05	BMPRI1B/intron

На хромосоме 1 нами выявлено 3 замены, все они находятся в интронах гена *DPYD* (dihydropyrimidine dehydrogenase). Фермент, кодируемый этим геном, участвует в катаболизме пиримидинов и синтезе β-аланина [Wei et al., 1998]. Последний является предшественником в скелетных мышцах карнозина – дипептида, выступающего в роли pH буфера в мышцах, повышая их производительность и замедляя время наступления нервно-мышечного утомления [Artioli et al., 2010]. Предыдущие исследования крупного рогатого скота и свиней указали *DPYD* как ген-кандидат, ассоциированный с развитием мышц и качеством мяса. Так, GWAS на бычках зебувидных пород показал, что этот ген ассоциирован с размерами мышечного глазка [Santana et al., 2015]. Методом анализа сети коэкспрессии генов была продемонстрирована связь *DPYD* с мраморностью говядины [Lim et al., 2014]. В полногеномном ассоциативном исследовании у свиней породы дюрок *DPYD* рассматривается как ген-кандидат, связанный с развитием внутримышечного жира [Ding et al., 2019]. Таким образом, учитывая предыдущие исследования и важную роль *DPYD* в обмене веществ, мы считаем его геном-кандидатом, ассоциированным с параметром «ширина груди» у овец.

Две значимые замены были выявлены на хромосоме 2. Обе локализованы в гене *SLC19A3* (solute carrier family 19 member 3). SNP rs423233667 расположена в интроне, а rs417623542 – синонимичная замена во втором экзоне. *SLC19A3* кодирует один из белков-переносчиков тиамин (витамина B₁) [Rajgopal et al., 2001]. Тиамин входит в состав простетических групп многих ферментов, участвующих в катаболизме углеводов, у животных, грибов, растений и бактерий. Он играет важную роль в развитии и функционировании нервной и иммунной систем, почек и мышц у человека и животных [Manzetti et al., 2014]. У чёрных тибетских овец ген *SLC19A3* указывался как один из важных регуляторов развития мышечной ткани в эмбриональном периоде и молодом возрасте [Wu et al., 2023]. Таким образом, мы считаем *SLC19A3* перспективным геном-кандидатом, ассоциированным с параметром «ширина груди» у овец.

На хромосоме 3 выявлен полиморфизм rs398315636, локализованный в интроне гена *FSHR* (follicle stimulating hormone receptor). Продукт этого гена представляет собой рецептор и отвечает за возможность клеток реагировать на фолликулостимулирующий гормон. *FSHR* напрямую связан с развитием яичников и семенников, сперматогенезом и женским репродуктивным циклом [Suocheng et al., 2017; Su et al., 2023]. У овец данный ген ассоциирован с размером помёта и фертильностью [Wang et al., 2015; Xiaoyun et al., 2022]. Кроме того, в последнее время появляются данные о внегонадной экспрессии *FSHR* в различных тканях, например в хондроцитах, плюрипотентных клетках костного мозга и эндотелии кровеносных сосудов [Kong et al., 2018; Bhartiya et al., 2021b; Utami et al., 2023]. Дисфункция подобных клеток может являться причиной возникновения некоторых онкологических заболеваний [Bhartiya, Patel, 2021a] и иных нарушений, например артериовенозных мальформаций [Utami et al., 2023]. Учитывая важную роль *FSHR* в размножении и индивидуальном развитии, мы считаем его важным геном-кандидатом, влияющим на продуктивность овец.

SNP rs405039164 расположен на хромосоме 5 в интроне гена *PRR16* (proline rich 16). Этот ген кодирует белок Largen, который участвует в регуляции размеров клеток млекопитающих и стимулирует трансляцию специфических мРНК, связанных, в том числе, с функциями митохондрий. Повышенная экспрессия *PRR16* приводит к увеличению размеров клеток, а также к повышению количества и активности митохондрий [Yamamoto et al., 2014]. У гибридов коммерческих пород свиней (Duroc x Landrace x Large White) *PRR16* указывался как ген-кандидат, ассоциированный с цветом мяса [Li et al., 2022]. Исходя из вышесказанного, мы можем считать *PRR16* геном-кандидатом, ассоциированным с исследуемым признаком.

На хромосоме 6 выявлено 2 значимых полиморфизма: rs424473282 и rs403874313. Они оба расположены в локусе FecB в интронах гена *BMPRI1B* (bone morphogenetic protein receptor type 1B). Продукт этого гена является рецептором к костным морфогенетическим белкам (BMP) и играет важную роль в развитии хрящевой ткани в период эмбрионального и постэмбрионального развития [Mang et al., 2020]. Кроме того, *BMPRI1B* экспрессируется в яичниках и влияет на развитие ооцитов и овуляцию. У овец породы Бурула мутация FecB^B в данном гене приводит к гиперплодовитости [Fabre et al., 2003]. Согласно исследованиям породы Китайский меринос, эта мутация также положительно влияет на прирост массы тела и ширину груди ягнят в первые 3 месяца после рождения [Guan et al., 2007]. Схожий эффект был показан на особях линии МЕГА (меринос X гарут), гетерозиготных по данной мутации [Margawati et al., 2023]. GWAS у мериносовых овец европейских пород показал, что *BMPRI1B* ассоциирован с параметром «масса тела» [Tuersuntuoheti et al., 2023]. Учитывая важную роль выявленного гена в формировании костно-мышечной системы, мы можем считать его геном-кандидатом, ассоциированным с шириной груди у овец.

Ранее исследования связи локусов генома с показателем ширины спины были проведены для пород Джалгинский меринос и Российский мясной меринос [Krivoruchko et al., 2022; Криворучко и др., 2023]. Оказалось, что с шириной груди у всех трёх пород, включая Северокавказскую мясо-шерстную, были ассоциированы разные гены-кандидаты. Отсутствие общих генов, предположительно связанных с исследуемым признаком, показывает, с одной стороны, что количественные фенотипические признаки зависят от большого числа генов, а с другой стороны, это ещё раз подтверждает тезис о различии генетических маркеров для разных пород овец.

Заключение

Таким образом, в результате проведённого нами исследования были выявлены достоверные ассоциации между шириной груди и девятью SNP на 1, 2, 3, 5 и 6-й хромосомах у овец Северокавказской мясо-шерстной породы. Полиморфизм rs417623542 был расположен в экзоне, а остальные – в интронах белок-кодирующих генов. Картирование выявленных замен позволило предложить 5 новых генов-кандидатов, ассоциированных с изучаемым параметром: *DPYD*, *FSHR*, *PRR16*, *SLC19A3* и *BMPRI1B*. Гены *DPYD* и *SLC19A3* играют важную роль в обмене веществ, гены *FSHR*, *PRR16* и *BMPRI1B* участвуют в регуляции роста клеток и клеточной дифференцировки.

Последующие исследования должны быть направлены на проверку влияния данных генов на параметры мясной продуктивности животных, а SNP, выявленные в ходе исследования, могут использоваться как молекулярные маркеры при селекционной работе.

Список источников

1. Абонеев В.В., Квитко Ю.Д., Селькин И.И. Методика оценки мясной продуктивности овец. Ставрополь: СНИИЖК. 2009. 34 с.
2. Криворучко А.Ю. и др. Гены-кандидаты, связанные с шириной груди у овец породы российский мясной меринос // Сельскохозяйственный журнал. 2023. № 16(4). С. 2687–1254. <https://doi.org/10.48612/FARC/2687-1254/015.4.16.2023>
3. Омаров А.А., Гайдашов С.И. Продуктивные показатели овец Северокавказской мясо-шерстной породы и их взаимосвязь с основными селекционируемыми признаками // Вестник Алтайского государственного аграрного университета. 2021. № 2(196). С. 66–72.
4. Яцык О.А. Сравнительная оценка показателей мясной продуктивности мериносовых овец российских пород // Вестник Курганской ГСХА. 2017. № 3(23). С. 58–60.
5. Aiello D., Patel K., Lasagna E. The myostatin gene: An overview of mechanisms of action and its relevance to livestock animals // Animal Genetics. 2018. Vol. 49, № 6. P. 505–519. <https://doi.org/10.1111/age.12696>
6. Artioli G.G. et al. Role of beta-alanine supplementation on muscle carnosine and exercise performance // Medicine & Science in Sports & Exercise. 2010. Vol. 42(6). P. 1162–1173. <https://doi.org/10.1249/mss.0b013e3181c74e38>
7. Benavides M.V., Souza C.J.H., Moraes J.C.F. How efficiently Genome-Wide Association Studies (GWAS) identify prolificacy-determining genes in sheep // Genetics and Molecular Research. 2018. Vol. 17(2). P. 9–14. <http://dx.doi.org/10.4238/gmr16039909>
8. Bhartiya D., Patel H. An overview of *FSH-FSHR* biology and explaining the existing conundrums // Journal of Ovarian Research. 2021a. Vol. 14(1). Art. 144. <https://doi.org/10.1186/s13048-021-00880-3>
9. Bhartiya D. et al. Endogenous, tissue-resident stem/progenitor cells in gonads and bone marrow express *FSHR* and respond to *FSH* via *FSHR-3* // Journal of Ovarian Research. 2021b. Vol. 14(1). Art. 145. <https://doi.org/10.1186/s13048-021-00883-0>
10. Ding R. et al. Single-Locus and Multi-Locus Genome-Wide Association Studies for Intramuscular Fat in Duroc Pigs // Frontiers in genetics. 2019. Vol. 10. Art. 619. <https://doi.org/10.3389/fgene.2019.00619>
11. Fabre S. et al. The Booroola mutation in sheep is associated with an alteration of the bone morphogenetic protein receptor-IB functionality // Journal of endocrinology. 2003. Vol. 177(3). P. 435–444. <https://doi.org/10.1677/joe.0.1770435>
12. Gebreselassie G. et al. Review on Genomic Regions and Candidate Genes Associated with Economically Important Production and Reproduction Traits in Sheep (*Ovis aries*) // Animals. 2019. Vol. 10, № 1. Art. 33. <https://doi.org/10.3390/ani10010033>
13. Guan F. et al. Polymorphism of *FecB* gene in nine sheep breeds or strains and its effects on litter size, lamb growth and development // Animal reproduction science. 2007. Vol. 99(1-2). P. 44–52. <https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2006.04.048>
14. Kong D. et al. Expression of *FSHR* in chondrocytes and the effect of *FSH* on chondrocytes // Biochemical and biophysical research communications. 2018. Vol. 495(1). P. 587–593. <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2017.11.053>
15. Krivoruchko A. et al. Genome-Wide Search for Candidate Genes of Meat Production in Jalgin Merino Considering Known Productivity Genes // Genes. 2022. Vol. 13(8). Art. 1337. <https://doi.org/10.3390/genes13081337>
16. Li H. et al. Genome-Wide Association Studies for Flesh Color and Intramuscular Fat in (Duroc × Landrace × Large White) Crossbred Commercial Pigs // Genes. 2022. Vol. 13(11). Art. 2131. <https://doi.org/10.3390/genes13112131>
17. Lim D. et al. Characterization of genes for beef marbling based on applying gene coexpression network // International journal of genomics. 2014. Vol. 2014. Art. 708562. <https://doi.org/10.1155/2014/708562>
18. Mang T. et al. *BMPRIA* is necessary for chondrogenesis and osteogenesis, whereas *BMPRIB* prevents hypertrophic differentiation // Journal of cell science. 2020. Vol. 133(16). Art. jcs246934. <https://doi.org/10.1242/jcs.246934>
19. Manzetti S., Zhang J., van der Spoel D. Thiamin function, metabolism, uptake, and transport // Biochemistry. 2014. Vol. 53(5). P. 821–835. <https://doi.org/10.1021/bi401618y>
20. Margawati E.T. et al. Detection of carrier Booroola (*FecB*) allele in *BMPRIB* gene of MEGA (Merino × Garut) sheep and its association with growth traits // Journal, genetic engineering & biotechnology. 2023. Vol. 21(1). Art. 19. <https://doi.org/10.1186/s43141-023-00475-z>
21. Nissinen T.A. et al. Muscle follistatin gene delivery increases muscle protein synthesis independent of periodical physical inactivity and fasting // FASEB journal: official publication of the Federation of American Societies for Experimental Biology. 2021. Vol. 35(3). Art. e21387. <https://doi.org/10.1096/fj.202002008r>
22. Osman N.M. et al. Genetic variations in the Myostatin gene affecting growth traits in sheep // Veterinary World. 2021. Vol. 14, № 2. Art. 475. <https://doi.org/10.14202/vetworld.2021.475-482>

23. Purcell S., Neale B., Todd-Brown K. PLINK: a tool set for whole-genome association and population-based linkage analyses // *American Journal of Human Genetics*. 2007. Vol. 81. P. 559–575. <https://doi.org/10.14202/vetworld.2021.475-482>
24. Rajgopal A. et al. *SLC19A3* encodes a second thiamine transporter ThTr2 // *Biochimica et biophysica acta*. 2001. Vol. 1537(3). P. 175–178. [https://doi.org/10.1016/s0925-4439\(01\)00073-4](https://doi.org/10.1016/s0925-4439(01)00073-4)
25. Santana M.H. et al. A genomewide association mapping study using ultrasound-scanned information identifies potential genomic regions and candidate genes affecting carcass traits in Nellore cattle // *Journal of animal breeding and genetics*. 2015. Vol. 132(6). P. 420–427. <https://doi.org/10.1111/jbg.12167>
26. Sousa-Junior L.P.B. et al. Variants in myostatin and *MyoD* family genes are associated with meat quality traits in Santa Inês sheep // *Animal biotechnology*. 2022. Vol. 33, № 2. P. 201–213. DOI: 10.1080/10495398.2020.1781651
27. Su J. et al. Study on the changes of *LHR*, *FSHR* and *AR* with the development of testis cells in Hu sheep // *Animal reproduction science*. 2023. Vol. 256. Art. 107306. <https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2023.107306>
28. Suocheng W. et al. Maturation rates of oocytes and levels of *FSHR*, *LHR* and *GnRHR* of COCs response to *FSH* concentrations in IVM media for sheep // *Journal of Applied Biomedicine*. 2017. Vol. 15(3). P. 180–186. <https://doi.org/10.1016/j.jab.2017.01.001>
29. Tobar K.M.C., Alvarez D.C.L., Franco L. Á.Á. Genome-wide association studies in sheep from Latin America. Review // *Revista Mexicana de Ciencias Pecuarias*. 2020. Vol. 11(3). P. 859–883. <https://doi.org/10.22319/rmcp.v11i3.5372>
30. Tuersuntuoheti M. et al. Exploring the growth trait molecular markers in two sheep breeds based on Genome-wide association analysis // *PLoS One*. 2023. Vol. 18(3). Art. e0283383. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0283383>
31. Utami A.M. et al. Relative expression of hormone receptors by endothelial and smooth muscle cells in proliferative and non-proliferative areas of congenital arteriovenous malformations // *European journal of medical research*. 2023. Vol. 28(1). Art. 449. <https://doi.org/10.1186/s40001-023-01436-5>
32. Wang W. et al. Polymorphisms of the Ovine *BMPR-1B*, *BMP-15* and *FSHR* and Their Associations with Litter Size in Two Chinese Indigenous Sheep Breeds // *International journal of molecular sciences*. 2015. Vol. 16(5). P. 11385–11397. <https://doi.org/10.3390/ijms160511385>
33. Wei X. et al. Characterization of the human dihydropyrimidine dehydrogenase gene // *Genomics*. 1998. Vol. 51 (3). P. 391–400. <https://doi.org/10.1006/geno.1998.5379>
34. Wu Z. et al. Regulation mechanism and functional verification of key functional genes regulating muscle development in black Tibetan sheep // *Gene*. 2023. Vol. 868. Art. 147375. <https://doi.org/10.1016/j.gene.2023.147375>
35. Xiaoyun H. et al. Expression and Polymorphism of *FSHR* Gene in Sheep with Different Fecundity // *Pakistan Journal of Zoology*. 2022. Vol. 54. P. 667–675. <https://dx.doi.org/10.17582/journal.pjz/20190215010208>
36. Yamamoto K. et al. Lagen: a molecular regulator of mammalian cell size control // *Molecular cell*. 2014. Vol. 53(6). P. 904–915. <https://doi.org/10.1016/j.molcel.2014.02.028>

References

1. Aboneev V.V., Kvitko Yu.D., Sel'kin I.I. *Metodika ocenki mjasnoj produktivnosti ovec* [Methodology for assessing the meat productivity of sheep]. Stavropol', SNIIZhK Publ., 2009. 34 p. (In Russ.).
2. Krivoruchko A.Yu., Safaryan E.Yu., Kanibolotskaya A.A., Stepanenko V.A. [Candidate genes associated with chest width in the Russian meat merino sheep]. *Sel'skokochozjajstvennyj žurnal*. No. 16(4) (2023): pp. 2687-1254. (In Russ.). <https://doi.org/10.48612/FARC/2687-1254/015.4.16.2023>
3. Omarov A.A., Gaidashov S.I. [Productive indicators of sheep of the north caucasian meat and wool breed and their relationship with the main selected traits]. *Vestnik Altajskogo gosudarstvennogo agrarnogo universiteta*. No. 2(196) (2021): pp. 66-72. (In Russ.).
4. Yatsyk O.A. [The comparative estimation of meat productivity parameters of Merino sheep of Russian breed]. *Vestnik Kurganskoj GSChA*. No. 3(23) (2017): pp. 58-60. (In Russ.).
5. Aiello D., Patel K., Lasagna E. The myostatin gene: An overview of mechanisms of action and its relevance to livestock animals. *Animal Genetics*. V. 49, No. 6 (2018): pp. 505-519. <https://doi.org/10.1111/age.12696>
6. Artioli G.G., Gualano B., Smith A., Stout J., Lancha A.H. Jr. Role of beta-alanine supplementation on muscle carnosine and exercise performance. *Medicine & Science in Sports & Exercise*. V. 42(6) (2010): pp. 1162-1173. <https://doi.org/10.1249/mss.0b013e3181c74e38>
7. Benavides M.V., Souza C.J.H., Moraes J.C.F. How efficiently Genome-Wide Association Studies (GWAS) identify prolificity-determining genes in sheep. *Genetics and Molecular Research*. V. 17(2) (2018): pp. 9-14. <http://dx.doi.org/10.4238/gmr16039909>
8. Bhartiya D., Patel H. An overview of *FSH-FSHR* biology and explaining the existing conundrums. *Journal of Ovarian Research*. V. 14(1) (2021a): 144. <https://doi.org/10.1186/s13048-021-00880-3>
9. Bhartiya D., Patel H., Kaushik A., Singh P., Sharma D. Endogenous, tissue-resident stem/progenitor cells in gonads and bone marrow express *FSHR* and respond to *FSH* via *FSHR-3*. *Journal of Ovarian Research*. V. 14(1) (2021b): 145. <https://doi.org/10.1186/s13048-021-00883-0>

10. Ding R., Yang M., Quan J., Li S., Zhuang Z., Zhou S. et al. Single-Locus and Multi-Locus Genome-Wide Association Studies for Intramuscular Fat in Duroc Pigs. *Frontiers in genetics*. V. 10 (2019): 619. <https://doi.org/10.3389/fgene.2019.00619>
11. Fabre S., Pierre A., Pisselet C., Mulsant P., Lecerf F., Pohl J. et al. The Booroola mutation in sheep is associated with an alteration of the bone morphogenetic protein receptor-IB functionality. *Journal of endocrinology*. V. 177(3) (2003): pp. 435-444. <https://doi.org/10.1677/joe.0.1770435>
12. Gebreselassie G., Berihulay H., Jiang L., Ma Y. Review on Genomic Regions and Candidate Genes Associated with Economically Important Production and Reproduction Traits in Sheep (*Ovis aries*). *Animals*. V. 10(1) (2019): 33. <https://doi.org/10.3390/ani10010033>
13. Guan F., Liu S.R., Shi G.Q., Yang L.G. Polymorphism of *FecB* gene in nine sheep breeds or strains and its effects on litter size, lamb growth and development. *Animal reproduction science*. V. 99(1-2) (2007): pp. 44-52. <https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2006.04.048>
14. Kong D., Guan Q., Li G., Xin W., Qi X., Guo Y. et al. Expression of *FSHR* in chondrocytes and the effect of *FSH* on chondrocytes. *Biochemical and biophysical research communications*. V. 495(1) (2018): pp. 587-593. <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2017.11.053>
15. Krivoruchko A., Surov A., Skokova. A., Kanibolotskaya A., Saprikina T., Kukharuk M., Yatsyk O. A Genome-Wide Search for Candidate Genes of Meat Production in Jalgin Merino Considering Known Productivity Genes. *Genes*. V. 13(8) (2022): 1337. <https://doi.org/10.3390/genes13081337>
16. Li H., Xu C., Meng F., Yao Z., Fan Z., Yang Y. et al. Genome-Wide Association Studies for Flesh Color and Intramuscular Fat in (Duroc × Landrace × Large White) Crossbred Commercial Pigs. *Genes*. V. 13(11) (2022): 2131. <https://doi.org/10.3390/genes13112131>
17. Lim D., Kim N.K., Lee S.H., Park H.S., Cho Y.M., Chai H.H., Kim H. Characterization of genes for beef marbling based on applying gene coexpression network. *International journal of genomics*. V. 2014 (2014): 708562. <https://doi.org/10.1155/2014/708562>
18. Mang T., Kleinschmidt-Doerr K., Ploeger F., Schoenemann A., Lindemann S., Gigout A. *BMPRIA* is necessary for chondrogenesis and osteogenesis, whereas *BMPR1B* prevents hypertrophic differentiation. *Journal of cell science*. V. 133(16) (2020): jcs246934. <https://doi.org/10.1242/jcs.246934>
19. Manzetti S., Zhang J., van der Spoel D. Thiamin function, metabolism, uptake, and transport. *Biochemistry*. V. 53(5) (2014): pp. 821-835. <https://doi.org/10.1021/bi401618y>
20. Margawati E.T., Putra W.P.B., Rizki M., Soetrismo E., Raadsma H.W. Detection of carrier Booroola (*FecB*) allele in *BMPR1B* gene of MEGA (Merino × Garut) sheep and its association with growth traits. *Journal, genetic engineering & biotechnology*. V. 21(1) (2023): 19. <https://doi.org/10.1186/s43141-023-00475-z>
21. Nissinen T.A., Hentilä J., Fachada V., Lautaoja J.H., Pasternack A., Ritvos O. et al. Muscle follistatin gene delivery increases muscle protein synthesis independent of periodical physical inactivity and fasting. *FASEB journal: official publication of the Federation of American Societies for Experimental Biology*. V. 35(3) (2021): e21387. <https://doi.org/10.1096/fj.202002008r>
22. Osman N.M., Shafey H.I., Abdelhafez M.A., Sallam A.M., Mahrous K.F. Genetic variations in the Myostatin gene affecting growth traits in sheep. *Veterinary World*. V. 14(2) (2021): 475. <https://doi.org/10.14202/vetworld.2021.475-482>
23. Purcell S., Neale B., Todd-Brown K. PLINK: a tool set for whole-genome association and population-based linkage analyses. *American Journal of Human Genetics*. V. 81 (2007): pp. 559-575. <https://doi.org/10.14202/vetworld.2021.475-482>
24. Rajgopal A., Edmondson A., Goldman I.D., Zhao R. *SLC19A3* encodes a second thiamine transporter ThTr2. *Biochimica et biophysica acta*. V. 1537(3) (2001): pp. 175-178. [https://doi.org/10.1016/s0925-4439\(01\)00073-4](https://doi.org/10.1016/s0925-4439(01)00073-4)
25. Santana M.H., Ventura R.V., Utsunomiya Y.T., Neves H.H., Alexandre P.A., Oliveira Junior G.A. et al. A genomewide association mapping study using ultrasound-scanned information identifies potential genomic regions and candidate genes affecting carcass traits in Nellore cattle. *Journal of animal breeding and genetics*. V. 132(6) (2015): pp. 420-427. <https://doi.org/10.1111/jbg.12167>
26. Sousa-Junior L.P.B., Meira A.N., Azevedo H.C., Muniz E.N., Coutinho L.L., Mourão G.B. et al. Variants in myostatin and *MyoD* family genes are associated with meat quality traits in Santa Inês sheep. *Animal biotechnology*. V. 33(2): (2022): pp. 201-213. <https://doi.org/10.1080/10495398.2020.1781651>
27. Su J., Song Y., Yang Y., Li Z., Zhao F., Mao F. et al. Study on the changes of *LHR*, *FSHR* and *AR* with the development of testis cells in Hu sheep. *Animal reproduction science*. V. 256 (2023): 107306. <https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2023.107306>
28. Suocheng W., Zhuandi G., Li S., Haoqin L., Lujun L., Yingying D. Maturation rates of oocytes and levels of *FSHR*, *LHR* and *GnRHR* of COCs response to *FSH* concentrations in IVM media for sheep. *Journal of Applied Biomedicine*. V. 15(3) (2017): pp. 180-186. <https://doi.org/10.1016/j.jab.2017.01.001>
29. Tobar K.M.C., Álvarez D.C.L., Franco L.A.Á. Genome-wide association studies in sheep from Latin America. Review. *Revista Mexicana de Ciencias Pecuarias*. V. 11(3) (2020): pp. 859-883. <https://doi.org/10.22319/rmcp.v11i3.5372>

30. Tuersuntuoheti M., Zhang J., Zhou W., Zhang C.L., Liu C., Chang Q., Liu S. Exploring the growth trait molecular markers in two sheep breeds based on Genome-wide association analysis . *PLoS One*. V. 18(3) (2023): e0283383. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0283383>

31. Utami A.M., Halfwerk J.B.G., de Boer O.J., Mackaaij C., Pabittei D.R., van der Horst C.M.A.M. et al. Relative expression of hormone receptors by endothelial and smooth muscle cells in proliferative and non-proliferative areas of congenital arteriovenous malformations. *European journal of medical research*. V. 28(1) (2023): 449. <https://doi.org/10.1186/s40001-023-01436-5>

32. Wang W., Liu S., Li F., Pan X., Li C., Zhang X. et al. Polymorphisms of the Ovine *BMPR-1B*, *BMP-15* and *FSHR* and Their Associations with Litter Size in Two Chinese Indigenous Sheep Breeds. *International journal of molecular sciences*. V. 16(5) (2015): pp. 11385-11397. <https://doi.org/10.3390/ijms160511385>

33. Wei X., Elizondo G., Sapone A., McLeod H.L., Raunio H., Fernandez-Salguero P., Gonzalez F.J. Characterization of the human dihydropyrimidine dehydrogenase gene. *Genomics*. V. 51(3) (1998). pp. 391-400. <https://doi.org/10.1006/geno.1998.5379>

34. Wu Z., Liu M., Yan M., Dong S., Wu S. Regulation mechanism and functional verification of key functional genes regulating muscle development in black Tibetan sheep. *Gene*. V. 868 (2023): pp. 147375. <https://doi.org/10.1016/j.gene.2023.147375>

35. Xiaoyun H., Yongfu L., Jinxin W., Ran D., Qiuyue L., Xiangyu W. et al. Expression and Polymorphism of FSHR Gene in Sheep with Different Fecundity. *Pakistan Journal of Zoology*. V. 54 (2022): pp. 667-675. <https://dx.doi.org/10.17582/journal.pjz/20190215010208>

36. Yamamoto K., Gandin V., Sasaki M., McCracken S., Li W., Silvester J.L. et al. Lagen: a molecular regulator of mammalian cell size control. *Molecular cell*. V. 53(6) (2014): pp. 904-915. doi: 10.1016/j.molcel.2014.02.028

Статья поступила в редакцию 15.04.2024; одобрена после рецензирования 28.05.2024; принята к публикации 27.09.2024.

The article was submitted 15.04.2024; approved after reviewing 28.05.2024; accepted for publication 37.09.2024.

Информация об авторах

Р. В. Зуев – научный сотрудник лаборатории биологической и медицинской информатики медико-биологического факультета;

А. Ю. Криворучко – д-р биол. наук, профессор базовой кафедры генетики и селекции медико-биологического факультета, зав. отделом генетики и биотехнологии;

Н. Г. Лиховид – д-р биол. наук, и.о. зав. базовой кафедрой генетики и селекции медико-биологического факультета;

О. Н. Криворучко – аспирант отдела генетики и биотехнологии.

Information about the authors

R. V. Zuev – researcher at the laboratory of biological and medical informatics, Faculty of Medicine and Biology;

A. Yu. Krivoruchko – doctor of biology, Professor of the Base Department of Genetics and Selection, Faculty of Medicine and Biology, head of Department of Genetics and Biotechnology;

N. G. Likhovid – doctor of biology, Professor, head of Department of Genetics and Selection, Faculty of Medicine and Biology;

O. N. Krivoruchko – postgraduate student, Department of Genetics and Biotechnology.

Вклад авторов:

Зуев Р. В. – забор крови у объектов исследования; написание исходного текста; итоговые выводы.

Криворучко А. Ю. – научное руководство; концепция исследования; выделение ДНК и генотипирование, развитие методологии; доработка текста; итоговые выводы.

Лиховид Н. Г. – выделение ДНК и генотипирование, доработка текста; итоговые выводы.

Криворучко О. Н. – забор крови у объектов исследования, статистическая обработка материала.

Contribution of the authors:

Zuev R. V. – blood sampling, writing the draft; final conclusions.

Krivoruchko A. Yu. – research supervision; research concept; methodology development; , DNA extraction and genotyping; text revision; final conclusions.

Likhovid N. G. – text revision; final conclusions, DNA extraction and genotyping.

Krivoruchko O. N. – blood sampling, statistical processing of the material.

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

The authors declare no conflicts of interests.

ГЕНЕТИКА

Научная статья

УДК 577.21

QPOVTH

doi: 10.17072/1994-9952-2024-3-327-334



Экспрессия транскрипционных факторов CBF (C-REPEAT BINDING FACTOR) у проростков ржи посевной (*Secale cereale* L.) при холодовом стрессе

Виктория Андреевна Печенкина^{1, 2✉}, Алиса Сергеевна Шестиперстова³,
Юлия Сергеевна Васильева⁴, Светлана Витальевна Боронникова⁵

^{1, 3, 4, 5} Пермский государственный национальный исследовательский университет, Пермь, Россия

^{2✉} Пермский федеральный исследовательский центр УрО РАН, Пермь, Россия, p_viktoria2@mail.ru

³ a.lupinaa@mail.ru

⁴ yulianechaeva@mail.ru

⁵ svboronnikova@yandex.ru

Аннотация. Рожь озимая является одной из важных продовольственных культур в мире. Благодаря своей высокой адаптивности, зимостойкости и способности давать урожай на низкоплодородных почвах, рожь озимая позволяет стабилизировать валовый сбор зерна. Для большинства культурных злаков основным фактором внешней среды, вызывающим стресс, является температура, особенно ее нижние значения в областях возделывания. Ответ на воздействие низких температур у растений формируется на клеточном уровне, путем активации экспрессии генов и факторов транскрипции, ответственных за устойчивость к холоду. Действие транскрипционных факторов из семейства CBF (*C-repeat Binding Factor*) в ответ на холодовый стресс является одним из путей активации адаптивной реакции ржи на холод. Целью данной работы являлось выявление уровня экспрессии генов семейства *ScCBF* (*ScCBF1*, *ScCBF4*, *ScCBF14*, *ScCBF18*) у проростков ржи посевной (*Secale cereale* L.) в условиях холодового стресса. Проростки *S. cereale* были разделены на четыре группы по продолжительности воздействия холодового стресса (в течение 1, 6, 12, 24 ч.). Одна из групп (контрольная) не подвергалась холодовому стрессу. РНК проростков разных групп воздействия холодовым стрессом были проанализированы методом ПЦР в реальном времени. В результате исследования показано, что уровни экспрессии генов *ScCBF1*, *ScCBF4*, *ScCBF14* и *ScCBF18* в разной степени изменяются в ответ на воздействие низкой положительной температуры. Наибольший уровень нормализованной экспрессии генов *ScCBF1* и *ScCBF14* наблюдался при воздействии холодовым стрессом в течение 6 ч. Наибольший уровень гена *ScCBF4*, его нормализованной экспрессии наблюдался при воздействии холодовым стрессом в течение 24 ч. Уровень нормализованной экспрессии гена *ScCBF18* достигал пика при воздействии стрессом в течение 12 ч.

Ключевые слова: рожь озимая, *Secale cereale* L., низкотемпературный стресс, экспрессия, ПЦР-РВ, CBF

Для цитирования: Экспрессия транскрипционных факторов CBF (C-REPEAT BINDING FACTOR) у проростков ржи посевной (*Secale cereale* L.) при холодовом стрессе / В. А. Печенкина, А. С. Шестиперстова, Ю. С. Васильева, С. В. Боронникова // Вестник Пермского университета. Сер. Биология. 2024. Вып. 3. С. 327–334. <http://dx.doi.org/10.17072/1994-9952-2024-3-327-334>.

Благодарности: авторы выражают благодарность за консультации и помощь при сборе материала сотрудникам «Пермского НИИСХ» – филиала Пермского федерального исследовательского центра УрО РАН Денису Станиславовичу Фомину, Дмитрию Станиславовичу Фомину и Римме Ивановне Вяткиной.

GENETICS

Original article

Expression of some transcription factors CBF (C-REPEAT BINDING FACTOR) in rye seedlings (*Secale cereale* L.) under cold stress

Viktoriia A. Pechenkina^{1, 2✉}, Alisa S. Shestiperstova³, Yulia S. Vasileva⁴,
Svetlana V. Boronnikova⁵

^{1, 3, 4, 5} Perm State University, Perm, Russia

² Perm Agricultural Research Institute – Branch of Perm Federal Research Center Ural Branch Russian Academy of Sciences, Perm, Russia, p_viktoria2@mail.ru

³ a.lupinaa@mail.ru

⁴ yulianechaeva@mail.ru

⁵ svboronnikova@yandex.ru

Abstract. Winter rye is one of the most important food crops in the world. Due to its high adaptability, winter hardiness and ability to yield on low-fertility soils, winter rye helps stabilize the gross grain harvest. For the vast majority of crop plants, the main stress-causing environmental factor is temperature. This is especially true for its lower values in cultivation areas. The response to low temperatures in plants is formed at the cellular level. Genes and transcription factors responsible for cold resistance are activated, which ensure plant survival. One of the most important mechanisms capable of activating the adaptive response of rye to cold is the *CBF* (*C-repeat Binding Factor*) family of transcription factors. The aim of this work was to identify the expression level of some genes of the *ScCBF* family (*ScCBF1*, *ScCBF4*, *ScCBF14*, *ScCBF18*) in seedlings of sowing rye (*Secale cereale* L.) under cold stress. *S. cereale* seedlings were divided into four groups based on the duration of cold stress (1, 6, 12, 24 h). One control group was not exposed to cold stress. RNA of seedlings from different cold stress groups was analyzed by real-time PCR. The study showed that the expression levels of *ScCBF1*, *ScCBF4*, *ScCBF14*, and *ScCBF18* genes changed to varying degrees in response to low positive temperature. The highest level of normalized expression of *ScCBF1* and *ScCBF14* genes was observed under 6-hour cold stress. In the case of *ScCBF4* gene, the highest level of its normalized expression was observed under 24-hour cold stress. The level of normalized expression of *ScCBF18* gene reached its peak under 12-hour stress.

Keywords: winter rye, *Secale cereale* L., low-temperature stress, expression, PCR-RT, *CBF*

For citation: Pechenkina V. A., Shestiperstova A.S., Vasilyeva Y. S., Boronnikova S. V. [Expression of some transcription factors CBF (C-REPEAT BINDING FACTOR) in rye (*Secale cereale* L.) seedlings under cold stress]. *Bulletin of Perm University. Biology*. Iss. 3 (2024): pp. 327-334. (In Russ.). <http://dx.doi.org/10.17072/1994-9952-2024-3-327-334>.

Acknowledgments: the team of authors expresses gratitude for consultations and assistance in collecting material to the staff of the Perm Agricultural Research Institute – Branch of Perm Federal Research Center Ural Branch Russian Academy of Sciences Denis S. Fomin, Dmitrii S. Fomin and Rimma I. Vyatkina.

Введение

Важной тенденцией в мировой генетике, селекции и экологии при изменении климата является учет адаптивных характеристик популяций растений и сортов сельскохозяйственных культур [Трущелев, 2020]. Этот подход важен для поддержания продовольственной безопасности страны [Бракк, 2023]. При оценке адаптации сортов зерновых культур к условиям региона необходимо учитывать генетический полиморфизм и экспрессию генов, имеющих адаптивное значение. Экспрессия генов определяет, как именно генетическая информация реализуется в физических характеристиках растения, что в свою очередь влияет на его устойчивость, рост и продуктивность [Трущелев, 2020].

Для абсолютного большинства культурных злаковых растений основным фактором внешней среды, вызывающим стресс, является температура. Особенно это касается ее нижних значений в областях возделывания злаковых. Температура оказывает существенное влияние на метаболизм растений, определяя их продуктивность и стабильную урожайность [Люсиков и др., 2022]. Понимание механизмов реакций на абиотический стресс важно для обеспечения устойчивого урожая [Федорева и др., 2023].

Рожь озимая является одной из важнейших продовольственных культур в мире. В сельском хозяйстве Российской Федерации рожь озимая имеет исключительно важное значение. В первую очередь это объясняется нестабильными метеорологическими условиями на территориях ее возделывания. Благодаря своей высокой адаптивности, зимостойкости и способности давать урожай на низко плодородных почвах рожь озимая позволяет стабилизировать валовый сбор зерна [Кобяков, Оразаева, 2021]. Однако за последние годы посевные площади ржи на территории России сократились более чем наполовину. В 2019 г. по сравнению с 1990 г. посевные площади ржи сократились в 9.4 раза, а урожайность снизилась в 1.2 раза, что привело к сокращению валового сбора зерна в 11.5 раза [Мелешкина, Бундина, 2020]. Исходя из полезных характеристик озимой ржи и ориентируясь на глобальные и локальные изменения климата, большое значение приобретают сорта, способные с наименьшими потерями выдерживать действие биотических и абиотических стрессов. При этом высоко ценятся те сорта, которые способны обеспечивать стабильный урожай зерна высокого качества [Пономарева, 2020].

Одним из важных факторов для получения высокого урожая ржи озимой является ее высокая устойчивость к холодному стрессу. Действие транскрипционных факторов из семейства *CBF* (*C-repeat Binding Factor*) в ответ на холодный стресс является одним из путей активации адаптивной реакции ржи на холод [Wang et al., 2017; Barrero-Gil, Salinas, 2018]. Гены *CBF* принадлежат к семейству факторов

транскрипции AP2/ERF (Apetala2/Ethylene-Responsive Element Binding Protein), ассоциированных с устойчивостью к низким температурам [Mizoi, Shinozaki, Yamaguchi-Shinozaki, 2012].

Экспрессия генов *CBF* индуцируется холодом и повышается в течение 15 мин. после воздействия пониженной температуры, что, в свою очередь, приводит к активации экспрессии генов *COR* (*Cold Regulated Genes*) [Medina et al., 1999]. Большое число генов *ScCBF* высоко чувствительны к холодovому стрессу. Экспрессия генов транскрипционных факторов *CBF* взаимосвязана, а некоторые из ранее экспрессированных генов этого семейства могут регулировать экспрессию других генов [Федорева и др., 2023].

В течение последних двух десятилетий число генов *CBF*, идентифицированных у видов трибы *Triticeae*, возросло. У ржи посевной первоначально было идентифицировано только 12 генов *CBF*. На сегодняшний день у ржи идентифицирован уже 21 ген из семейства *CBF* [Caccialupi et al., 2023]. Роль *CBF*-генов в реакции на снижение температуры состоит в том, чтобы интегрировать ряд стрессовых сигналов и при необходимости инициировать транскрипционный ответ, который позволяет растению повысить его устойчивость к замерзанию [Сизенцова, Омелянчук, Миронова, 2021; Люсикив и др., 2022]. Понимание сложных механизмов регуляции кластера генов *CBF* открывает значительный потенциал для улучшения качеств ржи [Caccialupi et al., 2023].

Цель данной работы – выявление уровня экспрессии группы генов семейства *ScCBF* у проростков ржи посевной (*Secale cereale* L.) в условиях холодovого стресса.

Материал и методы исследования

Для анализа экспрессии генов *CBF* были использованы семена ржи посевной (*Secale cereale* L.), выращенной на опытном поле Пермского научно-исследовательского института сельского хозяйства «Пермский федеральный исследовательский центр Уральского отделения Российской академии наук» (Пермский НИИСХ – филиал ПФИЦ УрО РАН; Пермский край). Молекулярно-генетический анализ был проведен на кафедре ботаники и генетики растений Пермского государственного национального исследовательского университета (ПГНИУ, Пермь).

Материалом для выделения РНК послужили 40 проростков из семян ржи озимой сорта 'Графиня'. Проращивание семян было произведено в чашках Петри на фильтровальной бумаге в соответствии с ГОСТ¹. Проращивание осуществлялось в течение 8 дней при комнатной температуре. Проростки были разделены на четыре варианта опыта, один из которых, контрольный, находился в описанных выше условиях. Каждый вариант опыта был представлен 8 проростками. После прорастания чашки Петри были помещены в холодильную камеру с температурой +4°C в одно и то же время. Первый вариант опыта подвергался холодovому стрессу в течение 1 ч., второй вариант опыта – 6 ч., третий – 12 ч., четвертый – 24 ч. Отбор проростков осуществлялся на 0, 1, 6, 12, 24 ч. Проростки были отделены от семян в стерильных условиях. Генетический материал (РНК) был выделен из 15 проб (по 3 из каждого варианта опыта) проростков *S. cereale*.

Тотальная РНК была выделена из проростков *S. cereale* в стерильных условиях с использованием набора для выделения РНК-ЭКСТРАН (Синтол, Россия) в соответствии с протоколом производителя. Принцип выделения РНК с использованием набора РНК-ЭКСТРАН основан на кислой фенольной экстракции по П. Хомчинскому, при которой в водной фазе остается только РНК, а ДНК в комплексе с белками переходит в органическую фазу [Chomczynski, Sacchi, 1987]. В качестве лизирующего и денатурирующего клеточные нуклеазы агента используется гуанидин тиоцианат [Пономарева, 2020]. Определение концентрации РНК было проведено с помощью прибора Spectrofotometr™ «NanoDrop 2000» (Thermo Fisher Scientific, США). В среднем выделенная РНК характеризовалась соотношением $D(A260/A280) \geq 1.8$, что соответствует ее высокому качеству. Из выделенной тотальной РНК была синтезирована кДНК с использованием набора реагентов для проведения обратной транскрипции (Синтол, Россия); кДНК синтезировали с праймерами олиго(dT) и Random-6. Обратная транскрипция (ОТ) была проведена в буфере, содержащем ингибитор РНКаз, смесь дезоксирибонуклеотидов и обратную транскриптазу M-MLV. В лунки было внесено по 10 мкл РНК исследуемого образца. Протокол проведения ОТ включал в себя 2 цикла: 1) при температуре 41°C, 60 мин.; 2) 92°C, 5 мин.

Определение влияния холодovого стресса на экспрессию генов *ScCBF* производилось с помощью метода ПЦР в реальном времени. ПЦР-РВ проводили в термоциклере CFX-96 (Bio-Rad, США) с использованием реактивов производства ООО «НПФ Синтол». Набор реактивов состоял из: 2.5x реакционной смеси, содержащей интеркалирующий краситель EVA Green; MgCl₂, 25 мМ; dd H₂O (деионизированная вода). В лунки было внесено по 2 мкл кДНК исследуемого образца. Для каждого праймера было использовано по две повторности. Для постановки ПЦР-РВ использовались следующие праймеры: *ScCBF1*,

¹ ГОСТ 12038-84: Семена сельскохозяйственных культур. Методы определения всхожести. М.: Стандартинформ, 2011. 31 с.

ScCBF4, *ScCBF14*, *ScCBF18* (табл. 1) [Jung, Seo, 2019]. В качестве референсного гена для выравнивания вносимых в разные пробы количеств транскриптов использовался ген актина.

Таблица 1

Последовательности праймеров для выявления уровней экспрессии генов транскрипционных факторов *CBF* у проростков *S. cereale* при холодном стрессе
[Primer sequences for detecting the expression levels of CBF transcription factor genes in *S. cereale* seedlings under cold stress]

Название праймера	Праймеры для ПЦР-РВ
<i>ScCBF1</i>	F: TCGACGTACATGACGGTCTC R: CACGGCCACATTGCTCTGAT
<i>ScCBF4</i>	F: GGGCGTACCAAGTTCCATGAG R: GCGGGCTACTGGAAGAATGATCTG
<i>ScCBF14</i>	F: AGCATCCATCTCTCTCAAGC R: CCAGCGACTCCGTGAACAT
<i>ScCBF18</i>	F: CTATCGACCGGCAGCCAT R: CGGACGTCGGTGAGGTTT

Примечание. F – forward (прямой), R – reverse (обратный); *ScCBF* – *Secale cereale* C-repeat binding factor.

Нормализованный уровень экспрессии исследуемых генов определяли по методу $2^{(-\Delta\Delta CT)}$ [Rao et al., 2013]. Коэффициент корреляции Пирсона был рассчитан по формуле

$$r = (n \sum(XY) - \sum X \sum Y) / \sqrt{((n \sum X^2 - (\sum X)^2)(n \sum Y^2 - (\sum Y)^2))},$$

где r – коэффициент корреляции Пирсона, n – количество наблюдений, Σ – сумма значений, X и Y – переменные, связь между которыми устанавливается [Desrosiers, Karupis, 2011]. Коэффициент корреляции Пирсона может принимать значения от -1 до 1 , где 1 означает идеальную положительную корреляцию, -1 – идеальную отрицательную корреляцию, а 0 – отсутствие корреляции [Кузмицкая, Королева, Урбанович, 2024].

Результаты и обсуждение

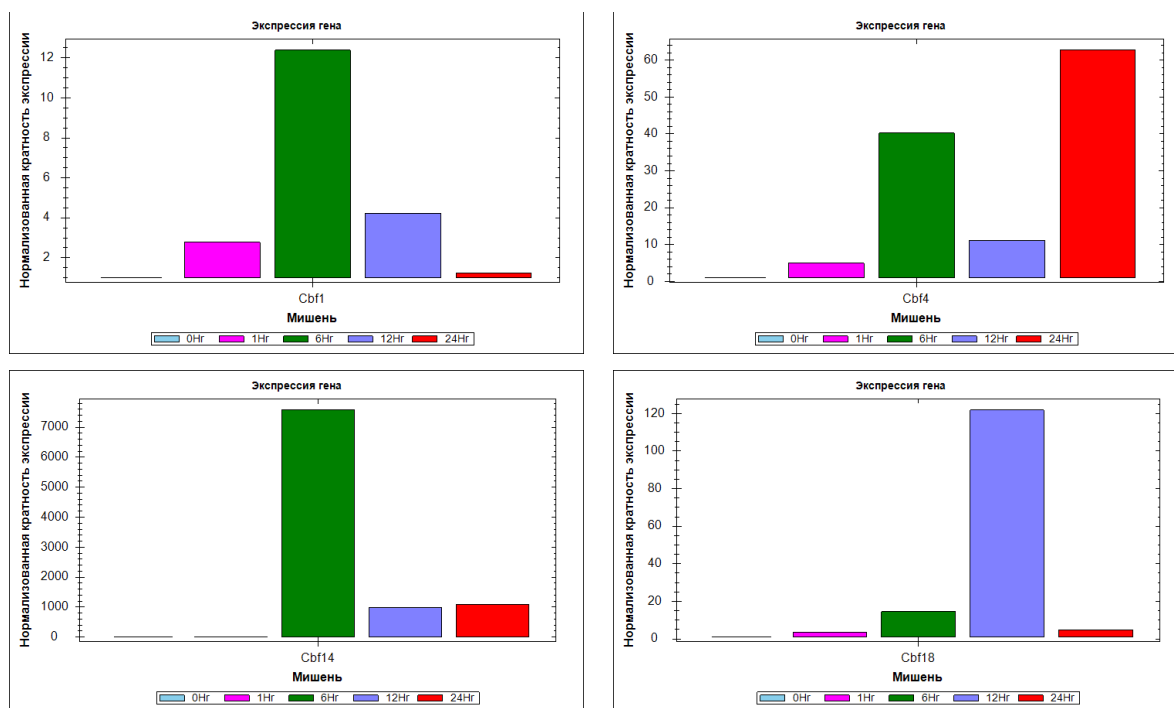
По результатам ПЦР-анализа (рисунок) можно заметить, что в условиях пониженной температуры наблюдается значительное увеличение экспрессии анализируемых генов по сравнению с началом воздействия.

Наибольший уровень нормализованной экспрессии генов *ScCBF1* и *ScCBF14* наблюдается при воздействии холодным стрессом в течение 6 часов. Кратность их экспрессии при таком воздействии возрастает в 12 (для *ScCBF1*) и 7 000 раз (для *ScCBF14*) относительно контроля. В случае гена *ScCBF4*, наибольший уровень его нормализованной экспрессии наблюдается при воздействии холодным стрессом в течение 24 часов. При таком воздействии холода кратность экспрессии гена *ScCBF4* возрастает в 60 раз относительно контроля. Уровень нормализованной экспрессии гена *ScCBF18* достигает пика при воздействии стрессом в течение 12 часов. Кратность экспрессии гена *ScCBF18* при таком воздействии больше в 120 раз относительно контроля. В контрольных группах проб, не подверженных воздействию холодного стресса (0 часов), уровень экспрессии всех четырех анализируемых генов минимален (рисунок).

Для каждой пары генов были рассчитаны значения коэффициента корреляции Пирсона на основе значений их нормализованных уровней экспрессии (табл. 2). Исследуемые гены (*ScCBF1*, *ScCBF4*, *ScCBF14*, *ScCBF18*) имеют как положительную, так и отрицательную взаимосвязь друг с другом при низкой положительной температуре. Самую сильную положительную линейную связь имеют гены *ScCBF1* и *ScCBF14*, коэффициент корреляции которых равен 0.95. Более слабая положительная линейная связь наблюдается между генами *ScCBF4* и *ScCBF14* (0.34). Наиболее сильная отрицательная корреляция (-0.44) наблюдается между генами *ScCBF4* и *ScCBF18*. С остальными генами (*ScCBF1* и *ScCBF14*) *ScCBF18* имеет слабые отрицательные линейные связи (табл. 2).

Положительная корреляция между уровнями экспрессии генов *ScCBF1*, *ScCBF4* и *ScCBF14* может быть обусловлена несколькими факторами. Так, поскольку существует вероятность участия коэкспрессированных генов в одних и тех же онтогенетических или биохимических путях, корреляция экспрессии данных генов может свидетельствовать о том, что они вовлечены в один и тот же функциональный процесс [Кузмицкая, Королева, Урбанович, 2024]. К положительной корреляции экспрессии генов также могут приводить и генетические факторы. Гены с похожим профилем экспрессии имеют тенденцию к кластеризации, что может отражать динамику структуры и компактности хроматина [Ghanbarian, Hurst, 2015]. Факторы окружающей среды, в том числе, могут оказывать влияние на совместную экспрессию генов, принимающих участие в формировании стрессового ответа [Barah et al., 2013]. Исходя из этого

можно предположить, что гены *ScCBF*, имеющие высокие положительные коэффициенты корреляции, имеют сходные функции при формировании ответа на действие холодового стресса. Отрицательная корреляция уровня экспрессии гена *ScCBF18* с генами *ScCBF1*, *ScCBF4* и *ScCBF14* может свидетельствовать о том, что данный ген вовлечен в другой функциональный путь и отвечает за другие функции при формировании ответа на холодный стресс.



Нормализованная экспрессия четырех (*ScCBF1*, *ScCBF4*, *ScCBF14*, *ScCBF18*) генов относительно контрольной группы (0 часов) у проростков *S. cereale* при разной длительности холодового стресса.

Цвета, соответствующие группам продолжительности воздействия холодным стрессом (мишень):
0 ч. – голубой, 1 ч. – розовый, 6 ч. – зеленый, 12 ч. – фиолетовый, 24 ч. – красный

[Normalized expression of four (*ScCBF1*, *ScCBF4*, *ScCBF14*, *ScCBF18*) genes relative to the control group (0 hours) in *S. cereale* seedlings with different duration of cold stress.

0 hours – blue, 1 hour – pink, 6 hours – green, 12 hours – purple, 24 hours – red]

Таблица 2

Коэффициенты корреляции Пирсона между уровнями экспрессии генов *ScCBF* у проростков ржи посевной (*S. cereale* L.) в условиях воздействия холодового стресса

[Pearson correlation coefficients of *ScCBF* gene expression levels in rye (*S. cereale* L.) seedlings under cold stress]

Ген	<i>ScCBF1</i>	<i>ScCBF4</i>	<i>ScCBF14</i>	<i>ScCBF18</i>
<i>ScCBF1</i>	–	0.59	0.95	–0.04
<i>ScCBF4</i>	0.59	–	0.34	–0.44
<i>ScCBF14</i>	0.95	0.34	–	–0.18
<i>ScCBF18</i>	–0.04	–0.44	–0.18	–

Примечание. *ScCBF1* (C-repeat Binding Factor 1), *ScCBF4* (C-repeat Binding Factor 4), *ScCBF14* (C-repeat Binding Factor 14), *ScCBF18* (C-repeat Binding Factor 18); цифры в таблице – коэффициент корреляции Пирсона [Barah et al., 2013].

Известно, что ген *CBF1* у *Arabidopsis thaliana* (L.) Heynh. и *Camellia sinensis* (L.) Kuntze отвечает за адаптацию к холоду, поскольку экспрессия данного гена наблюдалась при +4°C. Ген *CBF4* *Arabidopsis thaliana* (L.) Heynh отвечает за устойчивость к засухе, а *CBF14* у *Triticum aestivum* L. повышает холодоустойчивость [Ерастенкова, Тихонова, Ухатова, 2023]. Также изучение экспрессии генов *CBF* у *S. cereale* группой ученых из Кореи [Jung, Seo, 2019] показало, что *CBF1* и *CBF14* имеют схожие реакции на холодный стресс и достигают пика экспрессии при 6-часовой обработке холодом; *CBF4* отчетливо реагирует на обработку холодом постепенным повышением экспрессии генов, достигая пика

экспрессии при воздействии стресса в течение 6 ч.; а экспрессия гена *CBF18* постепенно увеличивается и достигает пика после 24-часовой обработки холодом. Наше исследование показывает, что данные гены (*ScCBF1*, *ScCBF4*, *ScCBF14*, *ScCBF18*) включаются в работу при +4°C и различаются по уровню экспрессии при разной длительности воздействия холодным стрессом. Соотнося полученные данные с исследованием группы ученых из Кореи, можно констатировать, что *CBF1* и *CBF14* в исследованиях показали схожие реакции на обработку холодом, тогда как два других гена (*CBF4* и *CBF18*) имеют различные реакции на холодный стресс в данных исследованиях. Необходимы дальнейшие исследования семейства транскрипционных факторов *CBF* (*C-repeat Binding Factor*) при воздействии холодного стресса.

Заключение

Холодовый стресс является одним из важнейших абиотических факторов, влияющий на урожайность озимых сортов ржи посевной. В результате исследования показано, что уровни экспрессии генов *ScCBF1*, *ScCBF4*, *ScCBF14* и *ScCBF18* в разной степени изменяются в ответ на воздействие низкой положительной температуры. Так, были выявлены и проанализированы уровни экспрессии исследуемых генов и корреляция между ними. Полученные данные, касающиеся оценки корреляции уровней экспрессии генов *ScCBF1*, *ScCBF4*, *ScCBF14* и *ScCBF18* при воздействии низкой положительной температурой, могут быть использованы как для характеристики ржи озимой, так и для селекции новых сортов с устойчивостью к холодному стрессу. Также представленные результаты в совокупности могут способствовать более глубокому пониманию молекулярно-генетических механизмов ответа озимых сортов ржи посевной на низкотемпературный стресс. Тем не менее, очевидна необходимость дальнейшего изучения путей, посредством которых различные гены регулируют устойчивость озимых сортов ржи посевной к холодному стрессу.

Список источников

1. Браак Д.Г. Продовольственная безопасность в условиях климатических трансформаций // Экономическая безопасность. 2023. Т. 6, № 1. С. 367–384. DOI: 10.18334/ecsec.6.1.117557.
2. Ерастенкова М.В., Тихонова Н.Г., Ухатова Ю.В. Изучение молекулярных механизмов устойчивости винограда (*Vitis vinifera* L.) к низкотемпературному стрессу // Биотехнология и селекция растений. 2023. Т. 6, № 4. С. 48–60.
3. Кобяков А.С., Оразаева И.В. Хозяйственно-биологические признаки сортов и гибридов озимой ржи в условиях ЦЧР // Горинские чтения. Инновационные решения для АПК: материалы междунар. науч.-практ. студ. конф. Майский, 2021. С. 33.
4. Кузмицкая П.В., Королева Е.С., Урбанович О.Ю. Влияние некоторых абиотических факторов на профили экспрессии генов, кодирующих стресс-ассоциированные белки яблони // Известия Национальной академии наук Беларуси. Сер. биологических наук. 2024. Т. 69, № 2. С. 143–152.
5. Люсикив О.М. и др. Молекулярно-генетические аспекты устойчивости озимой пшеницы (*Triticum* L.) к низкотемпературному стрессу // Молекулярная и прикладная генетика. 2022. Т. 33. С. 137–150.
6. Мелешкина Е.П., Бундина О.И. Производство, переработка и потребление зерна ржи в России: направления развития // Пищевая промышленность. 2020. № 12. С. 55–59.
7. Пономарева М.Л. Современные реалии производства ржи и задачи селекционной науки // Генофонд и селекция растений: материалы сател. симпозиума V Междунар. конф. Новосибирск, 2020. С. 85–89.
8. Сизенцова Я.Г., Омелянчук Н.А., Миронова В.В. Мета-анализ данных транскриптомов выявил гены-кандидаты устойчивости к низким положительным температурам у *Arabidopsis thaliana* L. // Биотехнология в растениеводстве, животноводстве и сельскохозяйственной микробиологии: сб. тез. докл. 21-ой Всерос. молодеж. науч. конф. М., 2021. С. 12.
9. Трущелев А.Б. Селекция растений в условиях меняющегося климата // Балтийский морской форум: материалы VIII Междунар. Балт. мор. форума. Калининград, 2020. Т. 1. С. 156–160.
10. Федореева Л.И. и др. Сравнительная характеристика и адаптивные механизмы солеустойчивости у разных генотипов твердой и мягкой пшеницы // Сельскохозяйственная биология. 2023. Т. 58, № 3. С. 510–524.
11. Barah P. et al. Genome-scale cold stress response regulatory networks in ten *Arabidopsis thaliana* ecotypes // BMC genomics. 2013. Vol. 14. P. 1–16.
12. Barrero-Gil J., Salinas J. Gene Regulatory Networks Mediating Cold Acclimation: The CBF Pathway // Iwaya-Inoue M., Sakurai M., Uemura M. (eds). Survival Strategies in Extreme Cold and Desiccation. Advances in Experimental Medicine and Biology. 2018. Vol. 1081. P. 3–22. https://doi.org/10.1007/978-981-13-1244-1_1.
13. Desrosiers C., Karypis G. A Comprehensive Survey of Neighborhood-Based Recommendation Methods. Recommender Systems Handbook. Springer, 2011. P. 107–144.
14. Caccialupi, G. et al. The *Triticeae* CBF Gene Cluster – To Frost Resistance and Beyond // Cells. 2023. Vol. 12, № 22. Art. 2606.

15. Chomczynski P., Sacchi N. Single-step method of RNA isolation by acid guanidinium thiocyanate-phenol-chloroform extraction // *Analytical biochemistry*. 1987. Vol. 162, № 1. P. 156–159.
16. Ghanbarian A.T., Hurst L.D. Neighboring genes show correlated evolution in gene expression // *Molecular biology and evolution*. 2015. Vol. 32, № 7. P. 1748–1766.
17. Jung W.J., Seo Y.W. Identification of novel C-repeat binding factor (CBF) genes in rye (*Secale cereale* L.) and expression studies // *Gene*. 2019. Vol. 684. P. 82–94.
18. Medina J. et al. The Arabidopsis CBF gene family is composed of three genes encoding AP2 domain-containing proteins whose expression is regulated by low temperature but not by abscisic acid or dehydration // *Plant physiology*. 1999. Vol. 119, № 2. P. 463–470.
19. Mizoi J., Shinozaki K., Yamaguchi-Shinozaki K. AP2/ERF family transcription factors in plant abiotic stress responses // *Biochimica et Biophysica Acta*. 2012. Vol. 1819(2). P. 86–96. DOI: 10.1016/j.bbagr.2011.08.004.
20. Rao X. et al. An improvement of the $2^{-\Delta\Delta CT}$ method for quantitative real-time polymerase chain reaction data analysis // *Biostat Bioinforma Biomath*. 2013. Vol. 3, № 3. P. 71–85.
21. Wang D.Z. et al. Gene regulation and signal transduction in the ICE–CBF–COR signaling pathway during cold stress in plants // *Biochemistry (Moscow)*. 2017. Vol. 82. P. 1103–1117. <https://doi.org/10.1134/S0006297917100030>.

References

1. Brakk D.G. [Food security in the context of climatic transformations]. *Ėkonomičeskaja bezopasnost'*. V. 6, No. 1 (2023): pp. 367-384. (In Russ.). DOI: 10.18334/ecsec.6.1.117557.
2. Erastenkova M.V., Tikhonova N.G., Ukhatova Yu.V. [Study of molecular mechanisms of grape (*Vitis vinifera* L.) resistance to low-temperature stress]. *Biotehnologija i selekcija rasytnij*. V. 6. No. 4 (2023): pp. 48-60. (In Russ.).
3. Kobayakov A.S., Orazaeva I.V. [Economic and biological characteristics of winter rye varieties and hybrids in the conditions of the Central Chernozem Region]. *Gorinskie čtenija* [Gorinskie readings. Innovative solutions for the agro-industrial complex: materials of the International scientific and practical student conf.]. Majskij, 2021, p. 33.
4. Kuzmitskaya P.V., Koroleva E.S., Urbanovich O.Yu. [The influence of some abiotic factors on the expression profiles of genes encoding stress-associated proteins of apple]. *Izvestija Nacional'noj akademii nauk Belarusi. Serija biologičeskich nauk*. V. 69, No. 2 (2024): pp. 143-152. (In Russ.).
5. Lyusikov O.M., Gordey I.S., Shimko V.E. et al. [Molecular genetic aspects of winter wheat (*Triticum* L.) resistance to low-temperature stress]. *Molekuljarnaja i prikladnaja genetika*. V. 33 (2022): pp. 137-150. (In Russ.).
6. Meleshkina E.P., Bundina O.I. [Production, processing and consumption of rye grain in Russia: directions of development]. *Piščevaja promyšlennost'*. No. 12 (2020): pp. 55-59. (In Russ.).
7. Ponomareva M.L. [Modern realities of rye production and tasks of breeding science]. *Genofond i selekcija rastytnij* [Gene pool and plant breeding: materials of the satellite symposium of the V International Conference]. Novosibirsk, 2020, pp. 85-89. (In Russ.).
8. Sizenkova Ya.G., Omelyanchuk N.A., Mironova V.V. [Meta-analysis of transcriptome data revealed candidate genes for resistance to low positive temperatures in *Arabidopsis thaliana* L.]. *Biotehnologija v rastenievodstve, životnovodstve i sel'skochozjajstvennoj mikrobiologii* [Biotechnology in plant growing, animal husbandry and agricultural microbiology]. Moscow, 2021, p. 12. (In Russ.).
9. Trushchelev A.B. [Plant breeding in a changing climate]. *Baltijskij morskij forum* [Baltic Maritime Forum: Proceedings of the VIII International Baltic Maritime Forum]. Kaliningrad, 2020, V. 1, pp. 156-160. (In Russ.).
10. Fedoreeva L.I., Besaliev I.N., Shelepova O.V., Kononenko N.V. [Comparative characteristics and adaptive mechanisms of salt tolerance in different genotypes of durum and soft wheat]. *Sel'skochozjajstvennaja biologija*. V. 58, No. 3 (2023): pp. 510-524. (In Russ.).
11. Barah P., Jayavelu N.D., Rasmussen S. et al. Genome-scale cold stress response regulatory networks in ten *Arabidopsis thaliana* ecotypes. *BMC genomics*. V. 14 (2013): pp. 1-16.
12. Barrero-Gil J., Salinas J. Gene Regulatory Networks Mediating Cold Acclimation: The CBF Pathway. In: Iwaya-Inoue M., Sakurai M., Uemura M. (eds). *Survival Strategies in Extreme Cold and Desiccation*. Advances in Experimental Medicine and Biology 1081. Springer, Singapore, 2018, 3-22. https://doi.org/10.1007/978-981-13-1244-1_1.
13. Desrosiers C., Karypis G. A Comprehensive Survey Of Neighborhood-Based Recommendation Methods. *Recommender Systems Handbook*. Springer, 2011, pp. 107–144.
14. Caccialupi G., Milc J., Caradonia F. et al. The *Triticeae* CBF Gene Cluster – To Frost Resistance and Beyond. *Cells*. V. 12, No. 22 (2023): 2606.
15. Chomczynski P., Sacchi N. Single-step method of RNA isolation by acid guanidinium thiocyanate-phenol-chloroform extraction. *Analytical biochemistry*. V. 162, No. 1 (1987): pp. 156-159.

16. Ghanbarian A.T., Hurst L.D. Neighboring genes show correlated evolution in gene expression. *Molecular biology and evolution*. V. 32, No. 7 (2015): pp. 1748-1766.
17. Jung W.J., Seo Y.W. Identification of novel C-repeat binding factor (CBF) genes in rye (*Secale cereale* L.) and expression studies. *Gene*. V. 684 (2019): pp. 82-94.
18. Medina J., Bargues M., Terol J. et al. The Arabidopsis CBF gene family is composed of three genes encoding AP2 domain-containing proteins whose expression is regulated by low temperature but not by abscisic acid or dehydration. *Plant physiology*. V. 119, No. 2 (1999): pp. 463-470.
19. Mizoi J., Shinozaki K., Yamaguchi-Shinozaki K. AP2/ERF family transcription factors in plant abiotic stress responses. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)*. V. 1819(2) (2012): pp. 86-96. DOI: 10.1016/j.bbagr.2011.08.004.
20. Rao X., Huang X., Zhou Z. et al. An improvement of the $2^{-\Delta\Delta CT}$ method for quantitative real-time polymerase chain reaction data analysis. *Biostat Bioinforma Biomath*. V. 3, No. 3 (2013): pp. 71-85.
21. Wang D.Z., Jin Y.N., Ding X.H. et al. Gene regulation and signal transduction in the ICE-CBF-COR signaling pathway during cold stress in plants. *Biochemistry (Moscow)*. V. 82 (2017): pp. 1103-1117. <https://doi.org/10.1134/S0006297917100030>.

Статья поступила в редакцию 02.08.2024; одобрена после рецензирования 12.09.2024; принята к публикации 27.09.2024.

The article was submitted 02.08.2024; approved after reviewing 12.09.2024; accepted for publication 27.09.2024.

Информация об авторах

- В. А. Печенкина – аспирант и ассистент кафедры ботаники и генетики растений, младший научный сотрудник лаборатории агробиофотоники;
- А. С. Шестиперстова – студент бакалавриата;
- Ю. С. Васильева – канд. биол. наук, доцент кафедры ботаники и генетики растений;
- С. В. Боронникова – д-р биол. наук, профессор, заведующий кафедрой ботаники и генетики растений.

Information about the authors

- V. A. Pechenkina – Postgraduate student and assistant of the Department of Botany and Plant Genetics, Junior researcher Laboratory of Photonics;
- A. S. Shestiperstova – Bachelor's student;
- Yu. S. Vasilieva – Candidate of biology; assistant professor of the Department of Botany and Plant Genetics;
- S. V. Boronnikova – Doctor of Biological Sciences, Professor, Head of the Department of Botany and Plant Genetics.

Вклад авторов:

- Печенкина В. А. – сбор материала, лабораторный анализ; написание исходного текста.
- Шестиперстова А. С. – сбор материала, лабораторный анализ; написание исходного текста.
- Васильева Ю. С. – научное консультирование.
- Боронникова С. В. – научное консультирование; обобщение результатов, итоговые выводы.

Contribution of the authors:

- Pechenkina V. A. – collecting material, laboratory analysis; writing the source text.
- Shestiperstova A.S. – collecting material, laboratory analysis; writing the source text.
- Vasilieva Yu. S. – scientific consulting;
- Boronnikova S. V. – scientific consulting; generalization of results, final conclusions.

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

The authors declare no conflicts of interests.

Научная статья
УДК 612.8; 632.938

RZFLUS

doi: 10.17072/1994-9952-2024-3-335-343



Профили экспрессии микроРНК в лейкоцитах крови как маркеры тяжести расстройств аутистического спектра у детей

Анна Сергеевна Алексеева^{1✉}, Юлия Юрьевна Филиппова²,
Александра Леонидовна Бурмистрова³

¹⁻³ Челябинский государственный университет, Челябинск, Россия

¹✉ 96_anya@mail.ru

² julse@rambler.ru

³ burmal@csu.ru

Аннотация. Расстройства аутистического спектра (РАС) – это гетерогенная группа нарушений нейроразвития с неизвестной этиологией. Показано, что иммунная дисфункция может быть вовлечена в этиологию и патогенез аутизма. Одними из регуляторов взаимодействий нервной и иммунной систем выступают микроРНК, которые могут рассматриваться как ключевые игроки в патогенезе и биомаркеры для диагностики заболевания. В данной работе был проведен поиск взаимосвязи уровней лейкоцитарной экспрессии микроРНК: микроРНК-155, микроРНК-146а, микроРНК-124, микроРНК-21 и микроРНК-9, с концентрацией цитокинов в плазме крови у детей с РАС для выявления биологических маркеров заболевания и степени его тяжести. Установлено, что у детей с легким течением аутизма уровни экспрессии изученных микроРНК в лейкоцитах крови не отличались от аналогичных значений детей с нормотипичным развитием. В лейкоцитах детей с тяжелым течением расстройств аутистического спектра снижена экспрессия микроРНК-124 и микроРНК-146а по сравнению с нормотипичными детьми, а также микроРНК-146а – по сравнению с детьми с легким течением аутизма. В группе детей с легким течением аутизма выявлены две значимые положительные корреляции между микроРНК-9/IFN γ и микроРНК-124/TNF α на фоне отрицательного взаимодействия между микроРНК-155 и TNF α . У детей с тяжелым течением расстройств аутистического спектра обнаружены четыре значимые отрицательные связи между микроРНК-9/IFN γ ; микроРНК-146а/IFN γ ; микроРНК-146а/IL-6 и микроРНК-155/IL-10. Уровень экспрессии микроРНК-146а в лейкоцитах меньше 0.0035 у.е. с 86.7% чувствительностью и 89.6% специфичностью может свидетельствовать о тяжелом течении аутизма у детей. Таким образом, у детей с тяжелым течением РАС нами выявлены нарушения в уровнях экспрессии важных негативных регуляторов воспаления и участников нейроиммунных взаимодействий – микроРНК-146а и микроРНК-124.

Ключевые слова: микроРНК, микроРНК-146а, лейкоциты, цитокины, расстройства аутистического спектра, дети, диагностика

Для цитирования: Алексеева А. С., Филиппова Ю. Ю., Бурмистрова А. Л. Профили экспрессии микроРНК в лейкоцитах крови как маркеры тяжести расстройств аутистического спектра у детей // Вестник Пермского университета. Сер. Биология. 2024. Вып. 3. С. 335–343. <http://dx.doi.org/10.17072/1994-9952-2024-3-335-343>.

IMMUNOLOGY

Original article

MicroRNA expression profiles in blood leukocytes as autism spectrum disorder severity markers in children

Anna S. Alekseeva^{1✉}, Yuliya Yu. Filippova², Aleksandra L. Burmistrova³

¹⁻³ Chelyabinsk State University, Chelyabinsk, Russia

¹✉ 96_anya@mail.ru

² julse@rambler.ru

³ burmal@csu.ru

Abstract. Autism spectrum disorders are a heterogeneous group of neurodevelopmental disorders with unknown etiology. Immune dysfunction may be involved in the etiology and pathogenesis of autism. One of the regulators of interactions between the nervous and immune systems are microRNAs, which can be considered as key players in pathogenesis and diagnostic biomarkers. The present study is devoted to a search for the relationship between leukocyte expression of microRNAs: microRNA-155, microRNA-146a, microRNA-124, microRNA-21 and microRNA-9, and the concentration of cytokines in the blood plasma of autistic children, which was carried out to detect biological markers of the disease and its severity. It was found that in children with mild autism, the expression levels of the studied microRNAs in blood leukocytes did not differ from similar values in children with normotypical development. In leukocytes of children with severe autism spectrum disorders, the expression of microRNA-124 and microRNA-146a is reduced compared to normotypical children, and microRNA-146a is reduced compared to children with mild autism. Two significant positive correlations between microRNA-9/IFN γ and microRNA-124/TNF α against the background of a negative interaction between microRNA-155 and TNF α were identified in the group of children with mild autism. Four significant negative relationships between microRNA-9/IFN γ ; microRNA-146a/IFN γ ; miR-146a/IL-6 and miR-155/IL-10 were found in children with severe autism spectrum disorders. The expression level of microRNA-146a in leukocytes less than 0.0035 c.u. with 86.7% sensitivity and 89.6% specificity may indicate severe autism in children. Thus, we have identified disturbances in the expression levels of important negative regulators of inflammation and participants in neuro-immune interactions – microRNA-146a and microRNA-124.

Keywords: microRNAs, microR-146a, leukocytes, cytokines, autism spectrum disorder, child, diagnosis

For citation: Alekseeva A. S., Filippova Yu. Yu., Burmistrova A. L. [MicroRNA expression profiles in blood leukocytes as autism spectrum disorder severity markers in children]. *Bulletin of Perm University. Biology.* Iss. 3 (2024): pp. 335-343. (In Russ.). <http://dx.doi.org/10.17072/1994-9952-2024-3-335-343>.

Введение

Расстройства аутистического спектра (РАС) относятся к нарушениям нейроразвития, для которых характерна клиническая и генетическая гетерогенность. Базовые симптомы РАС: недостаточность многих социальных функций, стереотипия и ограниченные интересы, появляются в раннем детстве и прогрессируют в течение взрослой жизни [Eissa et al., 2020].

Этиология РАС неизвестна. Однако, по мнению ряда авторов, она является результатом комплексных взаимодействий и комбинаций генетических aberrаций с влиянием факторов окружающей среды. Среди последних значимую роль играет активация иммунитета матери на ранних сроках беременности в результате инфекции [Liu X. et al., 2023]. В соответствии с этой теорией, иммунная система матери изменяет фетальное окружение плода на воспалительное, что вносит вклад в нарушение сетевых взаимодействий в мозге у потомства матерей с активацией иммунной системы. В дальнейшем это находит отражение в дезорганизации когнитивного развития, aberrациях в активности мозга у потомства и может приводить к психическим нарушениям, включая РАС и шизофрению [Белокоскова и др., 2023; Brown et al., 2014; Vilbo, 2009]. Вместе с тем, пре/перинатальное воспаление в центральной нервной системе (ЦНС) создает условия для формирования хронического воспаления на периферии, которое сохраняется при РАС в течение жизни [Hu et al., 2018]. На сегодня известно, что нейровоспаление опосредовано сложным взаимодействием между клетками ЦНС и периферическими клетками иммунной системы. Одними из ключевых регуляторов этих взаимодействий выступают микроРНК [Slota, Booth, 2019].

МикроРНК относятся к классу малых некодирующих РНК, основными функциями которых являются регулирование экспрессии матричных РНК (мРНК), дестабилизация и регулирование уровней протеинов [Powdrill et al., 2016]. Изменяя локальную генную экспрессию, микроРНК способны контролировать функции клеток, в том числе клеток мозга: нейрогенез, миграцию, нейронную поляризацию, развитие синапса и синаптическую пластичность. Показано, что микроРНК играют важную роль в этиологии и/или поддержании неврологических и иммунных нарушений, а также путей коммуникации иммунной и нервной систем [Foller, Cremer, Véclin, 2014]. На сегодняшний день наиболее важными и хорошо изученными микроРНК в контексте нейровоспаления являются микроРНК-155, микроРНК-146а, микроРНК-124, микроРНК-21 и микроРНК-9. Все они демонстрируют совокупные модулирующие эффекты на иммунную и нервную системы через прямые и непрямые изменения сигналов воспалительных путей [Slota, Booth, 2019; Soreq, Wolf, 2011]. Однако экспрессия этих микроРНК в клетках крови (лейкоцитах) у лиц с РАС изучена недостаточно. Кроме того, остается вопрос, могут ли уровни экспрессии микроРНК в лейкоцитах периферической крови использоваться как персональные биомаркеры в диагностике РАС и степени их тяжести [Бурмистрова и др., 2022].

Цель данной работы – выявление взаимосвязи уровней лейкоцитарной экспрессии микроРНК: микроРНК-155, микроРНК-146а, микроРНК-124, микроРНК-21 и микроРНК-9, с концентрацией цитокинов в плазме крови у детей с РАС для поиска биологических маркеров заболевания и степени его тяжести.

Материал и методика

Дизайн исследования

Исследования выполнены на базе научной лаборатории Инновационных биотехнологий биологического факультета ФГБОУ ВО ЧелГУ. Отбор участников исследования проводился психотерапевтами в рамках Соглашения о сотрудничестве № 92 от 16.04.2016 г. с Комитетом социальной политики города Челябинска и МБУ СО Социально-реабилитационным центром Здоровье.

В исследование включено 126 детей, проживающих в г. Челябинске. Основная группа – 81 ребенок с диагностированными РАС различной степени тяжести: 51 ребенок – с легким течением РАС, 30 детей – с тяжелым течением РАС. Диагноз РАС поставлен психотерапевтами реабилитационного центра Здоровье на основании МКБ-10. Степень тяжести аутизма определяли с помощью рейтинговой шкалы детского аутизма (Childhood Autism Rating Scale, CARS). Группа сравнения («Нормотипичное развитие») – 45 детей, посещающих детские дошкольные учреждения и школы пос. Первомайский Челябинской обл.

Этическая экспертиза

В рамках работы было получено информированное согласие на проведение комплексного обследования и обработку персональных данных. Исследование одобрено этическим комитетом Челябинского государственного университета (протокол № 2 от 27.08.2019 г.) и выполнено с учетом положения Хельсинкской декларации Всемирной медицинской ассоциации (2013) [Бурмистрова и др., 2022].

Методы

Материалом для исследования служили лейкоциты периферической крови. Фракцию клеток получали из венозной крови с К₃ЭДТА центрифугированием в течение 10 мин. при 3000 об/мин, с последующим лизированием осадка эритроцитов раствором NH₄Cl [Бурмистрова и др., 2022].

В лейкоцитах периферической крови была проведена оценка уровней экспрессии: микроРНК-9, микроРНК-21, микроРНК-124-3р, микроРНК-146а-5р и микроРНК-155. Общую РНК выделяли фенол-хлороформным методом с помощью реагента TRIzol («ThermoFisher Scientific», США). Концентрацию и чистоту выделения РНК анализировали на флуориметре Quantus («Promega», США). Реакцию обратной транскрипции (ОТ) микроРНК в кДНК и полимеразную цепную реакцию в реальном времени (ПЦР-РВ) проводили наборами реагентов: «ОТ-1» и «Набор реагентов для проведения ПЦР-РВ с SYBR Green» НПК «Синтол» (Россия), согласно инструкциям производителей, на приборной базе ДТ-прайм («ДНК-технология», Россия) [Бурмистрова и др., 2022]. Экспрессию генов-мишеней нормализовали по «гену домашнего хозяйства» – гену малой ядерной РНК (U6). Первичные нуклеотидные последовательности праймеров по типу «стебель-петля» для ОТ и праймеров для ПЦР-РВ синтезированы НПК «Синтол» согласно данным: микроРНК-9 – Tavakolian S. с соавторами [Tavakolian et al., 2020]; микроРНК-21 – Xu с соавторами [Xu et al., 2012]; микроРНК-124-3р – Liu Y.X. с соавторами [Liu Y.X. et al., 2016]; микроРНК-146а-5р – Zhang R.X. с соавторами [Zhang et al., 2017]; микроРНК-155 и U6, а также параметры программ ОТ и ПЦР-РВ – Yang L.H. с соавторами [Yang et al., 2014]. Уровень мРНК рассчитывали в относительных единицах по методу $2^{-(\Delta\Delta CT)}$ с учетом эффективности реакции [Livak, Schmittgen, 2001].

Статистический анализ

Статистическая обработка данных выполнена в программах: PAST (v. 3.15) и MedCalc (v. 10.2.0), графические построения выполнены в пакете «corrplot» программно-статистической среды R (v. 3.6.1). Нормальность распределения величин в выборке оценивали по критерию Колмогорова–Смирнова. Данные имели непараметрическое распределение. Для приведения значений к нормальному распределению была проведена трансформация Бокса-Кокса. Такой подход дает возможность выявить более «тонкие» различия между группами, т.к. анализу подвергаются как непосредственные значения, так и относительные расстояния между показателями на линейной шкале, тогда как в рамках порядковой статистики рассматриваются не сами значения, а их ранги и нелинейная шкала не позволяет учесть разницу расстояний. После наивной ретрансформации для каждого показателя рассчитывали средние значения и 95% доверительный интервал (ДИ). Для сравнения выборок применяли однофакторный дисперсионный анализ (one way ANOVA) с апостериорными попарными сравнениями по методу Фримана-Тьюки [Филиппова, Алексеева, Бурмистрова, 2023]. Корреляции между уровнями экспрессии микроРНК в лейкоцитах периферической крови и концентрацией цитокинов в плазме оценивали с помощью коэффициента ранговой корреляции Спирмена отдельно для каждой исследуемой группы, и визуализировали в виде тепловой карты корреляций. Для оценки диагностической значимости микроРНК в качестве потенциальных маркеров аутизма и его тяжести использовали ROC-анализ, с вычислением площади под ROC-кривой и «точки отсечения». Во всех случаях эффекты считали статистически значимыми при $P \leq 0,05$.

Результаты и обсуждение

Проведено клиническое и лабораторное обследование 45 детей с нормотипичным развитием и 81 ребенка с РАС. Группы детей были сопоставимы по полу (соотношение мальчики:девочки – 4:1). Возраст детей обеих групп варьировал в диапазоне от 3 до 13 лет, тем не менее, медианный возраст детей с нормотипичным развитием (9.0 лет) был значимо выше медианного возраста детей с РАС (6.0 лет). Значимых различий в уровнях экспрессии изученных микроРНК при делении детей согласно возрастной периодизации по ВОЗ (до 6 лет, 7–12 и 13 лет и старше) не обнаружено. Дети с РАС в зависимости от тяжести состояния (согласно CARS) были разделены психотерапевтами на группы с легким (баллы по CARS 29–36) и тяжелым течением (баллы по CARS 36–60).

Экспрессию микроРНК: микроРНК-155, микроРНК-146а, микроРНК-124, микроРНК-21 и микроРНК-9 оценивали в лейкоцитах периферической крови детей с легким/тяжелым течением РАС и нормотипичным развитием. Данные представлены в таблице.

Обнаружено: 1. Уровни экспрессии микроРНК в лейкоцитах крови детей с легким течением РАС не отличались от значений детей с нормотипичным развитием; 2. У детей с тяжелым течением РАС в лейкоцитах периферической крови была значимо снижена экспрессия микроРНК-124, по сравнению с аналогичным показателем группы «Нормотипичное развитие», и микроРНК-146а – как по отношению к значениям нормотипичных детей, так и детей группы «Легкое течение РАС» (таблица).

Уровни экспрессии микроРНК в лейкоцитах у детей с легким течением РАС, тяжелым течением РАС и нормотипичным развитием, М [95%ДИ]

[MicroRNA expression levels in leukocytes of children with a mild ASD, severe ASD and normotypical development, M [95% CI]]

Показатели, у.е.	Нормотипичное развитие n = 45	Легкое течение РАС n = 51	Тяжелое течение РАС n = 30
Возраст, лет	9.0 [4.0-13.0]	6.0 [3.0-13.0]	6.0 [3.0-13.0]
Баллы по CARS	-	32.0 [29.0-36.0]	40.0 [37.0-55.0]
МикроРНК-9	0.54 [0.36; 0.77]	0.55 [0.41; 0.73]	0.49 [0.34; 0.71]
МикроРНК-21	0.12 [0.08; 0.16]	0.13 [0.10; 0.16]	0.12 [0.08; 0.16]
МикроРНК-124	0.13 [0.10; 0.18]	0.13 [0.11; 0.17]	0.09 [0.07; 0.13] $P_{3-1}=0.049$
МикроРНК-146а	0.008 [0.005; 0.012]	0.006 [0.004; 0.008]	0.004 [0.002; 0.006] $P_{3-1}<0.001$ $P_{3-2}=0.002$
МикроРНК-155	0.002 [0.002; 0.004]	0.003 [0.001; 0.005]	0.002 [0.001; 0.003]

Примечание. Данные представлены в виде средних значений и 95% доверительных интервалов. P_{3-1} - различия между показателями групп «Нормотипичное развитие» и «Тяжелое течение РАС». P_{3-2} - различия между показателями групп «Легкое течение РАС» и «Тяжелое течение РАС». Статистически значимыми считались различия при $P \leq 0.05$.

Ранее нами было показано [Филиппова, Алексеева, Бурмистрова, 2023], что дети с РАС имеют различия в уровнях цитокинов в плазме крови в зависимости от тяжести состояния. Дети с легким течением РАС демонстрируют высокие уровни IL-4, что может носить компенсаторный характер. У детей с тяжелым течением РАС в плазме крови установлены значимо высокие уровни основного цитокина Tх1 – IFN γ , и IL-6, на фоне низких уровней важного противовоспалительного цитокина – IL-10 и провоспалительных «цитокинов тревоги»: TNF α и IL-1 β [Филиппова, Алексеева, Бурмистрова, 2023]. Как показано G. Oхenkrug, сдвиг гомеостатического баланса про- / противовоспалительных цитокинов Tх1/Tх2 в сторону Tх1 (прежде всего, повышения уровней IFN γ), на фоне продолжительного действия стрессовых факторов различной природы, приводит к развитию системного хронического воспаления низкой степени тяжести [Oхenkrug, 2011]. На основании полученных результатов, для выявления ассоциации уровней экспрессии микроРНК в лейкоцитах периферической крови с наличием/отсутствием системного хронического воспаления и тяжестью РАС, нами был проведен корреляционный анализ. Результаты анализа представлены на рисунке.

В группе детей с нормотипичным развитием все корреляции между уровнями экспрессии микроРНК и цитокинами плазмы имели слабую силу, статистически значимых взаимодействий не обнаружено (рисунок, А).

При оценке межсистемных связей в группе детей с легким течением РАС установлены две значимые положительные корреляции между: микроРНК-9 и $IFN\gamma$ ($\rho = 0.28$, $P = 0.048$); микроРНК-124 и $TNF\alpha$ ($\rho = 0.29$, $P = 0.044$); и одно отрицательное взаимодействие между микроРНК-155 и $TNF\alpha$ ($\rho = -0.31$, $P = 0.035$) (рисунок, Б).

В группе детей с тяжелым течением аутизма выявлены четыре значимые корреляции средней силы, которые были отрицательными: между микроРНК-9 и $IFN\gamma$ ($\rho = -0.43$, $P = 0.016$); микроРНК-146а и $IFN\gamma$ ($\rho = -0.37$, $P = 0.042$); микроРНК-146а и IL-6 ($\rho = -0.36$, $P = 0.048$); микроРНК-155 и IL-10 ($\rho = -0.46$, $P = 0.011$) (рисунок, В).

	IL-6	IFN γ	IL-1b	TNF α	IL-10	IL-4
miR-9	0.24	0.20	-0.18	-0.22	0.15	0.14
miR-21	0.01	0.09	-0.18	-0.22	0.08	-0.16
miR-124	0.01	0.16	-0.10	-0.12	0.02	-0.15
miR-146a	-0.20	0.08	-0.04	0.08	-0.11	-0.23
miR-155	0.25	-0.05	-0.05	-0.09	-0.12	-0.08

А. Нормотипичное развитие

	IL-6	IFN γ	IL-1b	TNF α	IL-10	IL-4
miR-9	-0.08	0.28	0.06	0.04	0.20	0.08
miR-21	-0.26	0.12	0.26	0.21	-0.10	0.12
miR-124	-0.22	0.13	0.23	0.29	-0.01	0.13
miR-146a	-0.06	-0.06	0.07	0.02	0.09	-0.20
miR-155	0.05	-0.17	-0.18	-0.31	-0.23	-0.15

Б. Легкое течение РАС

	IL-6	IFN γ	IL-1b	TNF α	IL-10	IL-4
miR-9	-0.22	-0.43	0.33	0.08	-0.10	-0.04
miR-21	-0.13	-0.33	0.27	-0.08	0.25	0.01
miR-124	-0.02	-0.29	0.23	-0.11	0.15	0.01
miR-146a	-0.36	-0.37	0.13	0.26	-0.07	-0.32
miR-155	-0.15	0.12	-0.31	-0.08	-0.46	-0.07

В. Тяжелое течение РАС

Структура корреляционных связей между уровнем экспрессии микроРНК в лейкоцитах и концентрацией цитокинов в плазме крови детей с легким/тяжелым течением РАС и нормотипичным развитием.

Цифрами показана сила связи (ρ), а также её направленность – отрицательная и положительная.

Статистически значимые корреляционные взаимодействия ($P \leq 0.05$) показаны серым цветом

[The correlations structure between microRNA expression levels in leukocytes and cytokine levels in blood plasma of children with a mild/severe ASD and normotypical development.

Note: The numbers in the figures show the strength of the association (ρ), as well as its direction – negative and positive. Statistically significant correlations ($p \leq 0.05$) are shown in gray]

Таким образом, у детей с тяжелым течением аутизма микроРНК146а демонстрирует низкие уровни экспрессии в лейкоцитах периферической крови и высокую корреляционную активность с цитокинами плазмы, а именно наличие значимых отрицательных связей с IL-6 и $IFN\gamma$.

Для оценки диагностической значимости экспрессии микроРНК-146а в лейкоцитах периферической крови в качестве маркера тяжести течения РАС у детей был проведен ROC-анализ. Показано, что уровень экспрессии микроРНК-146а в лейкоцитах меньше 0.0035 у.е. (чувствительность: 86.7%, специфичность 89.6%, площадь под ROC-кривой: 0.836 ± 0.0362 , 95%ДИ: 0.760–0.896) может свидетельствовать о тяжелом течении аутизма у детей.

Результаты исследований последних лет свидетельствуют, что иммунная дисрегуляция, в частности дисбаланс про-/противовоспалительного фенотипов иммунных клеток, и хроническое нейровоспаление выступают значимыми характеристиками РАС [Moazz et al., 2019]. Недавно продемонстрировано, что интенсивность воспаления на клеточном уровне, как в ЦНС, так и в клетках врожденной и адаптивной иммунной системы, регулируют микроРНК, прежде всего, микроРНК-9, микроРНК-21, микроРНК-124, микроРНК-146а и микроРНК-155. Авторы подчеркивают, что эти микроРНК имеют перекрестные мишени в нервной и иммунной системах и обеспечивают механизмы коммуникации этих систем в норме и при патологии [Slova, Booth, 2019; Li, Lei, Sun, 2023].

В нашей работе проведена оценка различий в уровнях экспрессии пяти микроРНК: микроРНК-146а, микроРНК-124, микроРНК-21, микроРНК-9 и микроРНК-155, в лейкоцитах периферической крови детей с РАС в зависимости от тяжести состояния и степени выраженности системного воспаления, а также изучен вопрос о возможности использования показателей микроРНК в качестве биологических маркеров для диагностики РАС. Лейкоциты рассматривались нами как итог комплексного взаимодействия микроРНК–мРНК в общей совокупности клеток иммунной системы периферической крови, в определенной точке времени в условиях гомеостаза – нормотипичного развития, и системного хронического воспаления низкой степени тяжести – тяжелое течение РАС (наличие его показано нами ранее [Филиппова и др., 2022]).

В результате работы в группе детей с легким течением РАС, на фоне отсутствия различий в уровнях экспрессии микроРНК с показателями детей с нормотипичным развитием, нами выявлено наличие трех значимых корреляций слабой силы между системами микроРНК лейкоцитов и цитокинов плазмы крови. Положительное взаимодействие микроРНК-9/IFN γ может отражать обнаруженный T. Amado с соавторами эффект усиления экспрессии микроРНК-9 в Tх1 после активации инфекционными и стрессовыми стимулами, который приводит к увеличению выработки IFN γ этими клетками [Amado et al., 2015]. Отрицательная корреляция между уровнями экспрессии микроРНК-155 в лейкоцитах и концентрацией провоспалительного цитокина – TNF α в плазме крови может быть связана с ключевой ролью микроРНК-155 в негативной регуляции сигнальных путей воспалительных иммунных ответов [Saba, Sorensen, Booth, 2014]. Объяснение положительной связи между микроРНК-124 и TNF α носит дискуссионный характер, т.к. в норме микроРНК-124 является важнейшим модулятором воспаления и врожденного иммунитета, который поддерживает противовоспалительный M2 фенотип тканевых резидентных макрофагов и переключение баланса Tх1/Tх2 в сторону Tх2 [Qin et al., 2016; Moazz et al., 2019]. У лиц с РАС изменение экспрессии микроРНК-124 рассматривается авторами в контексте регуляции функций клеток ЦНС, т.к. она экспрессируется во всех нервных клетках всех регионов мозга, за исключением гипофиза, и регулирует синаптическую пластичность и сигнальные молекулы памяти [Han et al., 2020]. Литературные данные о роли микроРНК-124 в иммунной дисфункции при РАС нами не обнаружены. Мы предполагаем, что у детей с легкой степенью тяжести РАС, показанные нами ранее высокие концентрации ИЛ-4 в плазме крови [Филиппова и др., 2022], поддерживают экспрессию микроРНК-9, микроРНК-124, и микроРНК-155 в лейкоцитах на уровне детей с нормотипичным развитием, что приводит к отсутствию в плазме детей с легким течением РАС воспалительного профиля.

В группе детей с тяжелым течением РАС наиболее важные данные, как мы считаем, были получены для микроРНК-146а. Так, в лейкоцитах детей с тяжелым течением РАС уровни экспрессии микроРНК-146а были значимо снижены, по отношению к показателям детей с нормотипичным развитием и лиц с легким течением РАС. Кроме того, микроРНК-146 была задействована в отрицательных корреляциях с основными провоспалительными цитокинами – IFN γ и IL-6, уровни которых в плазме крови были повышены, что отражало состояние системного хронического воспаления низкой степени тяжести у детей с тяжелым течением РАС. Авторами показано [Taganov et al., 2006; Saba et al., 2014], что микроРНК-146а негативно регулирует воспалительные процессы в нейронах, микроглии, астроцитах, таким образом ограничивая воспаление внутри ЦНС, в результате активации транскрипционного фактора NF- κ B. Во врожденном иммунном ответе микроРНК-146а модулирует поляризацию макрофагов в направлении M2 фенотипа через Notch1 путь [Taganov et al., 2006; Saba, Sorensen, Booth, 2014]. Особый интерес представляет отрицательная взаимосвязь микроРНК-146а/IL-6. Во-первых, транскрипция микроРНК-146а и IL-6 проходит под контролем NF- κ B, даже если обе молекулы играют антагонистическую роль в воспалительном процессе. Высказаны предположения, что при физиологических условиях ось микроРНК-146/IL-6 поддерживает функциональный баланс, но в присутствии соответствующих провоспалительных стимулов уровни IL-6 «драматически» увеличиваются, а уровни микроРНК-146а – снижаются [Olivieri et al., 2021]. Более того, нами показано, что уровень экспрессии микроРНК-146а в лейкоцитах меньше 0,0035 у.е. с чувствительностью 86.7% и специфичностью 89.6%, позволяет выделить из общей когорты детей с РАС группу детей с тяжелым течением заболевания.

Заключение

Таким образом, у детей с тяжелым течением РАС нами выявлены нарушения в системе регуляции воспаления (на уровне экспрессии микроРНК): значимое снижение уровней экспрессии важных негативных регуляторов воспаления и участников нейро-иммунных взаимодействий – микроРНК-146а и микроРНК-124. Корреляционные связи между экспрессией микроРНК в лейкоцитах и концентрациями про/провоспалительных цитокинов в плазме крови (прежде всего, отрицательные взаимодействия: микроРНК-146а/IL-6 и микроРНК-146а/IFN γ), вероятно, могут отражать возможные пути, посредством которых системное хроническое воспаление низкой степени тяжести может регулировать цитокиновый потенциал лейкоцитов у детей с тяжелым течением РАС. Наконец, нами продемонстрирована связь между низкими уровнями экспрессии микроРНК-146а в лейкоцитах и тяжестью РАС. При расширении исследований уровни экспрессии микроРНК-146а в лейкоцитах периферической крови могут быть предложены как дополнительные маркеры для диагностики тяжелого течения аутизма у детей. Тем не менее, конкретные механизмы участия изученных нами микроРНК в иммунной дисфункции при РАС требуют более детального изучения, т.к., согласно данным литературы, одна микроРНК может связывать сотни различных мРНК, а единственная мРНК может выступать мишенью многих микроРНК. В результате микроРНК–мРНК формируют комплексные генные сети, которые регулируют различные биологические функции [Plotnikova, Baranova, Skoblov, 2019].

Список источников

1. Белокосова С.Г. и др. Содержание BDNF и активность каталазы в крови детей с расстройствами аутистического спектра // Медицинский академический журнал. 2023. Т. 23, № 2. С. 119–128. doi: 10.17816/MAJ112295.
2. Бурмистрова А.Л. и др. Лейкоцитарная сигнатура микроРНК в контексте хронического системного воспаления при сосудистой деменции // Российский иммунологический журнал. 2022. Т. 25, № 4. С. 399–404. doi: 10.46235/1028-7221-1187-MSO.
3. Филиппова Ю.Ю., Алексеева А.С., Бурмистрова А.Л. Экспрессия цитокинов лейкоцитами в ассоциации с тяжестью аутизма у детей // Российский иммунологический журнал. 2023. Т. 26, № 4. С. 593–598. doi: 10.46235/1028-7221-13911-LCE.
4. Филиппова Ю.Ю. и др. Цитокины и нейротрофические факторы в оценке степени тяжести аутизма у детей // Клиническая лабораторная диагностика. 2022. Т. 67, № 11. С. 647–651.
5. Amado T. et al. Cross-regulation between cytokine and microRNA pathways in T cells // European journal of immunology. 2015. Vol. 45, № 6. P. 1584–1595. DOI: 10.1002/eji.201545487.
6. Bilbo S.D. Early-life programming of later-life brain and behavior: a critical role for the immune system // Frontiers in behavioral neuroscience. 2009. Vol. 3. Art. 14. DOI: 10.3389/neuro.08.014.2009.
7. Brown A.S. et al. Elevated maternal c-reactive protein and autism in a national birth cohort // Molecular psychiatry. 2014. Vol. 19. P. 259–264. DOI: 10.1038/mp.2012.19.
8. Eissa N. et al. Role of Neuroinflammation in Autism Spectrum Disorder and the Emergence of Brain Histaminergic System. Lessons Also for BPSD? // Frontiers in pharmacology. 2020. Vol. 11. Art. 886. DOI: 10.3389/fphar.2020.00886.
9. Follert P., Cremer H., Béclin C. MicroRNAs in brain development and function: a matter of flexibility and stability // Frontiers in molecular neuroscience. 2014. Vol. 7. 7:5. DOI: 10.3389/fnmol.2014.00005.
10. Han D. et al. MiR-124 and the Underlying Therapeutic Promise of Neurodegenerative Disorders // Frontiers in pharmacology. 2020. Vol. 10. Art. 1555. DOI: 10.3389/fphar.2019.01555.
11. Hu C.C. et al. Alterations in plasma cytokine levels in Chinese children with autism spectrum disorder // Autism research. 2018. Vol. 11. P. 989–999. DOI: 10.1002/aur.1940.
12. Li S., Lei Z., Sun T. The role of microRNAs in neurodegenerative diseases: a review // Cell biology and toxicology. 2023. Vol. 39, № 1. P. 53–83. DOI: 10.1007/s10565-022-09761-x.
13. Liu X. et al. Preeclampsia promotes autism in offspring via maternal inflammation and fetal NF κ B signaling // Life science alliance. 2023. Vol. 6, № 8. Art. e202301957. DOI: 10.26508/lsa.202301957.
14. Liu Y.X. et al. MiR-124-3p/B4GALT1 axis plays an important role in SOCS3-regulated growth and chemosensitivity of CML // Journal of hematology & oncology. 2016. Vol. 9, № 1. Art. 69. DOI: 10.1186/s13045-016-0300-3.
15. Livak K.J., Schmittgen T.D. Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the 2 $^{-\Delta\Delta CT}$ method // Methods. 2001. Vol. 25, № 4. P. 402–408. DOI: 10.1006/meth.2001.1262.
16. Moaaz M. et al. Th17/Treg cells imbalance and their related cytokines (IL-17, IL-10 and TGF- β) in children with autism spectrum disorder // Journal of neuroimmunology. 2019. Vol. 337. Art. 577071. DOI: 10.1016/j.jneuroim.2019.577071.
17. Olivieri F. et al. MiR-21 and miR-146a: The microRNAs of inflammaging and age-related diseases // Ageing research reviews. 2021. Vol. 70. Art. 101374. DOI: 10.1016/j.arr.2021.101374.
18. Oxenkrug G. Interferon-gamma - Inducible Inflammation: Contribution to Aging and Aging-Associated Psychiatric Disorders // Aging and disease. 2011. Vol. 2, № 6. P. 474–486. URL: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3295064/> (дата обращения: 27.03.2024)

19. Plotnikova O., Baranova A., Skoblov M. Comprehensive Analysis of Human microRNA–mRNA Interactome // *Frontiers in genetics*. 2019. Vol. 10. Art. 933. DOI: 10.3389/fgene.2019.00933.
20. Powdrill M.H. et al. The role of microRNAs in metabolic interactions between viruses and their hosts // *Current opinion in virology*. 2016. Vol. 19. P. 71–76. DOI: 10.1016/j.coviro.2016.07.005.
21. Qin Z. et al. MiRNA-124 in Immune System and Immune Disorders // *Frontiers in immunology*. 2016. Vol. 7. Art. 406. DOI: 10.3389/fimmu.2016.00406.
22. Saba R., Sorensen D.L., Booth S.A. MicroRNA-146a: A Dominant, Negative Regulator of the Innate Immune Response // *Frontiers in immunology*. 2014. Vol. 5. Art. 578. DOI: 10.3389/fimmu.2014.00578.
23. Slota J.A., Booth S.A. MicroRNAs in neuroinflammation: implications in disease pathogenesis, biomarker discovery and therapeutic applications // *Noncoding RNA*. 2019. Vol. 5, № 2. Art. 35. DOI: 10.3390/ncrna5020035.
24. Soreq H., Wolf Y. NeurimmiRs: microRNAs in the neuroimmune interface // *Trends in molecular medicine*. 2011. Vol. 17, № 10. P. 548–555. DOI: 10.1016/j.molmed.2011.06.009.
25. Taganov K.D. et al. NF- κ B-dependent induction of microRNA miR-146, an inhibitor targeted to signaling proteins of innate immune responses // *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 2006. Vol. 103, № 33. P. 12481–12486. DOI: 10.1073/pnas.0605298103.
26. Tavakolian S. et al. Evaluation of microRNA-9 and -192 expression levels as biomarkers in patients suffering from breast cancer // *Biomedical reports*. 2020. Vol. 12, № 1, P. 30–34. DOI: 10.3892/br.2019.1257.
27. Xu X.M. et al. Expression of miR-21, miR-31, miR-96 and miR-135b is correlated with the clinical parameters of colorectal cancer // *Oncology letters*. 2012. Vol. 4, № 2. P. 339–345. DOI: 10.3892/ol.2012.714.
28. Yang L.H. et al. Universal stem-loop primer method for screening and quantification of microRNA // *PLoS One*. 2014. Vol. 9, № 12. Art. e115293. DOI: 10.1371/journal.pone.0115293.
29. Zhang R.X. et al. Both plasma and tumor tissue miR-146a high expression correlates with prolonged overall survival of surgical patients with intrahepatic cholangiocarcinoma // *Medicine (Baltimore)*. 2017. Vol. 96, № 44. Art. e8267. DOI: 10.1097/MD.00000000000008267.

References

1. Belokoskova S.G., Malsagova E.M., Ivleva I.S., Karpenko M.N., Tsikunov S.G. [BDNF content and catalase activity in the blood of children with autism spectrum disorders]. *Medicinskiy akademičeskij žurnal*. V. 23, No. 2 (2023): pp. 119-128. (In Russ.). doi: 10.17816/MAJ112295.
2. Burmistrova A.L., Alekseeva A.S., Cazaux M.E., Filippova Y.Y. [MicroRNA signature of leukocytes in the context of chronic systemic inflammation in vascular dementia]. *Rossijskij immunologičeskij žurnal*. V. 25, No. 4 (2022): pp. 399-404. (In Russ.). doi: 10.46235/1028-7221-1187-MSO.
3. Filippova Y.Y., Alekseeva A.S., Burmistrova A.L. [Leukocyte cytokine expression is associated with severity of autism in children]. *Rossijskij immunologičeskij žurnal*. V. 26, No. 4 (2023): pp. 593-598. (In Russ.). doi: 10.46235/1028-7221-13911-LCE.
4. Filippova Yu.Yu., Devyatova E.V., Alekseeva A.S., Burmistrova A.L. [Cytokines and neurotrophic factors in assessing the severity of autism in children]. *Kliničeskaja laboratornaja diagnostica*. V. 67, No. 11 (2022): pp. 647-651. (In Russ.). DOI: 10.51620/0869-2084-2022-67-11-647-651.
5. Amado T., Schmolka N., Metwally H. et al. Cross-regulation between cytokine and microRNA pathways in T cells. *European journal of immunology*. V. 45, No. 6 (2015): pp. 1584-1595. DOI: 10.1002/eji.201545487.
6. Bilbo S.D. Early-life programming of later-life brain and behavior: a critical role for the immune system. *Frontiers in behavioral neuroscience*. V. 3 (2009): 14. DOI: 10.3389/neuro.08.014.2009.
7. Brown A.S., Sourander A., Hinkka-Yli-Salomaki S. et al. Elevated maternal c-reactive protein and autism in a national birth cohort. *Molecular psychiatry*. V. 19 (2014): pp. 259-264. DOI: 10.1038/mp.2012.19.
8. Eissa N., Sadeq A., Sasse A., Sadek B. Role of Neuroinflammation in Autism Spectrum Disorder and the Emergence of Brain Histaminergic System. Lessons Also for BPSD? *Frontiers in pharmacology*. V. 11 (2020): 886. DOI: 10.3389/fphar.2020.00886.
9. Follert P., Cremer H., Béclin C. MicroRNAs in brain development and function: a matter of flexibility and stability. *Frontiers in molecular neuroscience*. V. 7 (2014). DOI: 10.3389/fnmol.2014.00005.
10. Han D., Dong X., Zheng D., Nao J. MiR-124 and the Underlying Therapeutic Promise of Neurodegenerative Disorders. *Frontiers in pharmacology*. V. 10 (2020): 1555. DOI: 10.3389/fphar.2019.01555.
11. Hu C.C., Xu X., Xiong G.L. et al. Alterations in plasma cytokine levels in Chinese children with autism spectrum disorder. *Autism research: official journal of the International Society for Autism Research*. V. 11 (2018): pp. 989–999. DOI: 10.1002/aur.1940.
12. Li S., Lei Z., Sun T. The role of microRNAs in neurodegenerative diseases: a review. *Cell biology and toxicology*. V. 39, No. 1 (2023): pp. 53-83. DOI: 10.1007/s10565-022-09761-x.
13. Liu X., Liu H., Gu N. et al. Preeclampsia promotes autism in offspring via maternal inflammation and fetal NF κ B signaling. *Life science alliance*. V. 6, No. 8 (2023): e202301957. DOI: 10.26508/lsa.202301957.
14. Liu Y.X., Wang L., Liu W.J. et al. MiR-124-3p/B4GALT1 axis plays an important role in SOCS3-regulated growth and chemo-sensitivity of CML. *Journal of hematology & oncology*. V. 9, No. 1 (2016): 69. DOI: 10.1186/s13045-016-0300-3.

15. Livak K.J., Schmittgen T.D. Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the 2- $\Delta\Delta$ CT method. *Methods*. V. 25, No. 4 (2001): pp. 402-408. DOI: 10.1006/meth.2001.1262.
16. Moaaz M., Youssry S., Elfatraty A., El Rahman M.A. Th17/Treg cells imbalance and their related cytokines (IL-17, IL-10 and TGF- β) in children with autism spectrum disorder. *Journal of neuroimmunology*. V. 337 (2019): 577071. DOI: 10.1016/j.jneuroim.2019.577071.
17. Olivieri F., Prattichizzo F., Giuliani A. et al. MiR-21 and miR-146a: The microRNAs of inflammaging and age-related diseases. *Ageing research reviews*. V. 70 (2021): 101374. DOI: 10.1016/j.arr.2021.101374.
18. Oxenkrug G. Interferon-gamma - Inducible Inflammation: Contribution to Aging and Aging-Associated Psychiatric Disorders. *Aging and disease*. V. 2, No. 6 (2011): pp. 474-486. Available at: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3295064/> (accessed 27.03.2024).
19. Plotnikova O., Baranova A., Skoblov M. Comprehensive Analysis of Human microRNA-mRNA Interactome. *Frontiers in genetics*. V. 10 (2019): 933. DOI: 10.3389/fgene.2019.00933.
20. Powdrill M.H., Desrochers G.F., Singaravelu R., Pezacki J.P. The role of microRNAs in metabolic interactions between viruses and their hosts. *Current opinion in virology*. V. 19 (2016): pp. 71-76. DOI: 10.1016/j.coviro.2016.07.005.
21. Qin Z., Wang P.Y., Su D.F., Liu X. MiRNA-124 in Immune System and Immune Disorders. *Frontiers in immunology*. V. 7 (2016): 406. DOI: 10.3389/fimmu.2016.00406.
22. Saba R., Sorensen D.L., Booth S.A. MicroRNA-146a: A Dominant, Negative Regulator of the Innate Immune Response. *Frontiers in immunology*. V. 5 (2014): 578. DOI: 10.3389/fimmu.2014.00578.
23. Slota J.A., Booth S.A. MicroRNAs in neuroinflammation: implications in disease pathogenesis, biomarker discovery and therapeutic applications. *Noncoding RNA*. V. 5, No. 2 (2019): 35. DOI: 10.3390/ncrna5020035.
24. Soreq H., Wolf Y. NeurimmiRs: microRNAs in the neuroimmune interface. *Trends in molecular medicine*. V. 17, No. 10 (2011): pp. 548-555. DOI: 10.1016/j.molmed.2011.06.009.
25. Taganov K.D., Boldin M.P., Chang K.J., Baltimore D. NF- κ B-dependent induction of microRNA miR-146, an inhibitor targeted to signaling proteins of innate immune responses. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. V. 103, No. 33 (2006): pp. 12481-12486. DOI: 10.1073/pnas.0605298103.
26. Tavakolian S., Goudarzi H., Torfi F., Faghihloo E. Evaluation of microRNA-9 and -192 expression levels as biomarkers in patients suffering from breast cancer. *Biomedical reports*. V. 12, No. 1 (2020): pp. 30-34. DOI: 10.3892/br.2019.1257.
27. Xu X.M., Qian J.C., Deng Z.L. et al. Expression of miR-21, miR-31, miR-96 and miR-135b is correlated with the clinical parameters of colorectal cancer. *Oncology letters*. V. 4, No. 2 (2012): pp. 339-345. DOI: 10.3892/ol.2012.714.
28. Yang L.H., Wang S.L., Tang L.L. et al. Universal stem-loop primer method for screening and quantification of microRNA. *PLoS One*. V. 9, No. 12 (2014): e115293. DOI: 10.1371/journal.pone.0115293.
29. Zhang R.X., Zheng Z., Li K. et al. Both plasma and tumor tissue miR-146a high expression correlates with prolonged overall survival of surgical patients with intrahepatic cholangiocarcinoma. *Medicine (Baltimore)*. V. 96, No. 44 (2017): e8267. DOI: 10.1097/MD.0000000000008267.

Статья поступила в редакцию 11.06.2024; одобрена после рецензирования 13.06.2024; принята к публикации 27.09.2024.

The article was submitted 11.06.2024; approved after reviewing 13.06.2024; accepted for publication 27.09.2024.

Информация об авторах

А. С. Алексеева – ассистент кафедры микробиологии, иммунологии и общей биологии;
 Ю. Ю. Филиппова – д-р биол. наук, профессор кафедры микробиологии, иммунологии и общей биологии;
 А. Л. Бурмистрова – д-р мед. наук, профессор, зав. кафедрой микробиологии, иммунологии и общей биологии.

Information about the authors

A. S. Alekseeva – Assistant, Department of Microbiology, Immunology and General biology;
 Yu. Yu. Filippova – PhD (Biology), Professor, Department of Microbiology, Immunology and General biology;
 A. L. Burmistrova – PhD, MD (Medicine), Professor, Head, Department of Microbiology, Immunology and General Biology.

Вклад авторов:

Алексеева А. С. – сбор и обработка материала, статистическая обработка данных.
 Филиппова Ю. Ю. – концепция и дизайн исследования, написание текста.
 Бурмистрова А. Л. – написание текста, редактирование, утверждение окончательного варианта статьи, ответственность за целостность всех частей статьи.

Contribution of the authors:

Alekseeva A. S. – collection and processing of material, statistical data processing.
 Filippova Yu. Yu. – concept and design of the study, writing the text.
 Burmistrova A. L. – writing the text, editing, approving the final version of the article, responsibility for the integrity of all parts of the article.

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

The authors declare no conflicts of interests.

**Вестник Пермского университета.
Серия БИОЛОГИЯ =
2024. Выпуск 3**

**Bulletin of Perm University.
BIOLOGY
2024. Issue 3**

Научное издание

Редактор *А. С. Беляева*

Корректор *Е. Г. Ефимик*

Компьютерная верстка *С. А. Овеснова*

Подписано в печать 27.09.2024. Выход в свет 01.11.2024.
Формат 60×84/8. Усл. печ. л. 11,2. Тираж 28 экз. Заказ № 1660.
Распространяется бесплатно.

Издательский центр Пермского государственного
национального исследовательского университета
614068, г. Пермь, ул. Букирева, 15

Отпечатано с готового оригинал-макета в типографии издательства
Пермского национального исследовательского политехнического университета
614990, г. Пермь, Комсомольский пр., 29, к. 113.

Подписка на журнал осуществляется онлайн на сайте агентства «Урал-Пресс»
<https://www.ural-press.ru/catalog/97266/8940022/>
Подписной индекс 41000