

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

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

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

Редакционный совет

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

Редакционная коллегия

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

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

© Редакционная коллегия, 2022

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

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

Editorial Board

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

Editors

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

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

© Editorial Board, 2022

Founder and Publisher Address:
614068, Perm, Bukireva, 15;
Tel: 8 (342) 2396435; E-mail: info@psu.ru
For subscription, visit the United catalog of Press of Russia:
<https://www.pressa-ru/cat/1/edition/e41000/>. Index 41000

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

Editorial office address: 614068, Perm, Bukireva, 15;
Tel.: 8 (342) 2396233
E-mail: vestnik_psu_bio@mail.ru
Website: press.psu.ru/index.php/bio

Содержание

Ботаника

- Ефимик Е. Г.* Предложения по организации ООПТ на территории Кунгурской лесостепи Пермского края 257

Зоология

- Есюнин С. Л., Плакшина Е. В.* Структура населения пауков (Arachnida, Araneae) некультивируемой растительности Ботанического сада Пермского государственного национального исследовательского университета 267

Микробиология

- Алексеева Л. П., Якушева О. А., Евдокимова В. В., Яговкин М. Э., Зюзина В. П.* Твердофазный иммуноферментный анализ (прямой вариант) для выявления токсигенных холерных вибрионов O1, O139 серогрупп 280
- Красноперова Ю. Ю., Мехманова С. Ш., Хуснатдинова Е. А.* Результаты выявления поливирулентных штаммов бактерий *Lactobacillus* spp. при ассоциативном взаимодействии с простейшими *Blastocystis hominis in vitro* 288
- Правосудова Н. А., Мельников В. Л., Итяева Л. Н., Пантелеева Е. Н.* Характеристика микрофлоры пациентов онкологического профиля с постоперационными инфекционными осложнениями 294
- Якушева О. А., Алексеева Л. П., Евдокимова В. В., Зюзина В. П., Яговкин М. Э.* Условия и сроки хранения лиофилизированных поли- и моноклональных антитоксических пероксидазных конъюгатов 300

Экология

- Савкина Е. С., Полеицук Е. М., Сидоров Г. Н.* Современные эколого-эпизоотологические и эпидемиологические особенности природных очагов бешенства в Омской области 309
- Янбаев Р. Ю., Бахтина С. Ю., Садыков Х. Х., Янбаев Ю. А.* Анализ взаимосвязи климатических факторов и генетического разнообразия популяций дуба черешчатого в разных частях Республики Башкортостан 327

Нейробиология

- Агафонова О. В., Коркотян Э. А.* Влияние феназепама на паттерны поведения крыс 335
- Гузенко М. К., Коркотян Э. А.* Влияние галоперидола на формирование поведенческих паттернов у взрослых крыс 340
- Сысоев Ю. И., Приходько В. А., Шиц Д. Д., Пучик М. М., Оковитый С. В.* Применение метода фармакоэнцефалографии для оценки нейропротекторной активности лекарственных средств ... 347
- Шиц Д. Д., Пучик М. М., Приходько В. А., Сысоев Ю. И., Оковитый С. В.* Влияние прометазина на амплитудно-спектральные характеристики электрокортикограмм у крыс 352
- Правила оформления статей в Вестник Пермского университета. Серия Биология 357

Contents

Botany

- Efimik E. G.* Proposals on organization of protected areas in the Kungur forest steppe in the Perm Krai . 257

Zoology

- Esyunin S. L., Plakkhina E. V.* Structure of spider assemblages (Arachnida, Araneae) on uncultivated vegetation in Botanical garden of Perm State university 267

Microbiology

- Alekseeva L. P., Yakusheva O. A., Evdokimova V. V., Yagovkin M. E., Zyuzina V. P.* Solid-phase enzyme-linked immunosorbent assay (direct option) for detecting toxigenic vibrio cholerae serogroups O1 and O139 280
- Krasnoperova Yu. Yu., Mehmanova S. Sh., Khusnutdinova E. A.* Results of detection of poly-virulent bacterial strains *Lactobacillus* spp. during associative interaction with protozoa *Blastocystis hominis* *in vivo* 288
- Pravosudova N. A., Melnikov V. L., Ityaeva L. N., Panteleeva E. N.* Microflora characteristics of oncological patients with postoperative infectious complications 294
- Yakusheva O. A., Alekseeva L. P., Evdokimova V. V., Zyuzina V. P., Yagovkin M. E.* Storage conditions and terms of lyophilized poly- and monoclonal antitoxic peroxidase conjugates 300

Ecology

- Savkina E. S., Poleshchuk E. M., Sidorov G. N.* Modern ecological, epizootological and epidemiological features of natural foci of rabies in the Omsk region 309
- Ianbaev R. Yu., Bakhtina S. Y., Sadykov A. K., Yanbaev Yu. A.* Analysis of the relationship between climatic factors and genetic diversity of pedunculate oak populations in different parts of the Republic of Bashkortostan 327

Neurobiology

- Agafonova O. V., Korkotian E.* Effect of Phenazepam on Behavioral Patterns in Rats 335
- Guzenko M. K., Korkotian E.* The effect of haloperidol on the formation of behavioral patterns in adult rats 340
- Sysoev Yu. I., Prikhodko V. A., Shits D. D., Puchik M. M., Okovityi S. V.* Application of the method of pharmacoecephalography for the assessment of neuroprotective drug activity 347
- Shits D. D., Puchik M. M., Prikhodko V. A., Sysoev Yu. I., Okovityi S. V.* Effects of promethazine on the amplitude and spectral characteristics of electrocorticograms in rats 352

БОТАНИКА

Научная статья

УДК 581.5:502.1(470.53)

doi: 10.17072/1994-9952-2022-4-257-266.

Предложения по организации ООПТ на территории Кунгурской лесостепи Пермского края

Елена Герасимовна Ефимик

Пермский государственный национальный исследовательский университет, Пермь, Россия,
efimik.elena@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-9456-2076>

Аннотация. В пределах ботанико-географического района Кунгурской лесостепи Пермского края обнаружены участки, потенциально пригодные для организации особо охраняемых природных территорий (ООПТ). На территориях Октябрьского городского округа, Кисертского и Уинского муниципальных округов были выявлены, а затем описаны уникальные лесостепные флористические комплексы с участием редких и охраняемых растений, включенных в Красные книги России и Пермского края. Дана краткая ботаническая характеристика данных территорий, изложены цели их создания, предложены категории, профиль и значение каждой ООПТ, предлагаемой к организации. На территории проектируемой ООПТ в Октябрьском городском округе обнаружены 3 вида растений, включенных в Красную книгу РФ и 3 вида – в Красную книгу Пермского края. На территории Кисертского муниципального округа в пределах планируемой к организации ООПТ отмечены 2 вида из Красной книги Пермского края. На территории Уинского муниципального округа в пределах планируемой ООПТ выявлены 2 вида из Красной книги РФ и 4 вида из Красной книги Пермского края. Наибольшую ценность на всех трех территориях имеют именно лесостепные флористические комплексы. Только путем организации ООПТ возможно сохранить эти уникальные ботанические объекты.

Ключевые слова: особо охраняемая природная территория, Пермский край, охраняемые виды, Красная книга, Кунгурская лесостепь

Для цитирования: Ефимик Е. Г. Предложения по организации ООПТ на территории Кунгурской лесостепи Пермского края // Вестник Пермского университета. Сер. Биология. 2022. Вып. 4. С. 257–266. <http://dx.doi.org/10.17072/1994-9952-2022-4-257-266>.

BOTANY

Original article

Proposals on organization of protected areas in the Kungur forest steppe in the Perm Krai

Elena G. Efimik

Perm State University, Perm, Russia, efimik.elena@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-9456-2076>

Abstract. Several sites potentially suitable for organizing specially protected natural areas were found within the botanical-geographical region of the Kungur forest steppe of the Perm Krai. The article describes unique forest-steppe floristic complexes with rare and protected plants listed in the Red Books of Russia and the Perm Krai, located in the territories of the Oktyabrsky urban district, Kishertsky and Uinsky municipal districts of the Perm Krai. The article gives a brief botanical description of these territories, outlines the goals of the projected territories, and suggests categories, profile and significance of each protected area proposed for organization. 3 species of plants listed in the Red Book of the Russian Federation and 3 species listed in the Red Book of the Perm Krai were found in the territory of the projected protected area in the Oktyabrsky urban district, and 2 species from the Red Book of the Perm Krai were found in the territory of the Kishertsky municipal district, within the boundaries of the projected protected area. 2 species listed in the Red Book of the Russian Federation and 4 species listed in the Red Book of the Perm Krai were found in the territory of the Uinsky municipal district, within the boundaries of the projected protected area. The forest-steppe floristic complexes are of the greatest value in all three territories. These unique botanical objects could be preserved only by means of arranging special protected areas.

Keywords: protected area, Perm Krai, protected species, Red Book, Kungur forest steppe

For citacion: Efimik E. G. [Proposals on organization of protected areas in the Kungur forest steppe in the Perm Krai]. *Bulletin of Perm University. Biology*. Iss. 4 (2022): pp. 257-266. (In Russ.). <http://dx.doi.org/10.17072/1994-9952-2022-4-257-266>.

Введение

С момента подготовки первого издания Красной книги Пермского края [2008] и по настоящее время нами ведется активная работа по мониторингу охраняемых видов растений региона [Ефимик, 2015] и по изучению биоразнообразия растений ООПТ края [Овеснов, Ефимик, 2018; Ефимик, Овеснов, 2022]. Как правило, мониторинг уже известных ценопопуляций охраняемых растений дополняется постоянными маршрутными исследованиями для поиска новых локалитетов. Более чем за 10 лет это позволило выявить большое количество новых локальных популяций редких видов и даже несколько новых видов для Пермского края [Ефимик, 2009; Ефимик, Зенкова, 2018], изменить статус ряда видов в Красной книге Пермского края [2018], исключить некоторые виды из основного списка и др. Во время полевых исследований на территории ботанико-географического района Кунгурской лесостепи в трех муниципальных образованиях Пермского края нами были обнаружены интересные лесостепные участки с высокой концентрацией «краснокнижников». Сохранение здесь данных видов возможно только при сохранении этих уникальных местообитаний, что возможно путем организации ООПТ на этих территориях.

Материал и методика

Маршрутные исследования проводились на территориях Октябрьского городского округа, Кишертского и Уинского муниципальных округов ежегодно, начиная с 2009 г. Полевые обследования флористического состава и растительности осуществляли по общепринятым методикам [Толмачев, 1959; Корчагин, 1964; Методы изучения ..., 2002], видовой состав растений определялся как непосредственно на местности, так и в камеральных условиях на кафедре ботаники и генетики растений ПГНИУ. Номенклатура видов дана по «Иллюстрированному определителю растений Пермского края» [2007].

В соответствии с ботанико-географическим районированием Пермского края [Овеснов, 2000], все предлагаемые к организации ООПТ находятся на территории Кунгурской островной лесостепи, представляющей собой совершенно уникальный участок самых северных в Европе ковыльных степей [Овеснов, 2009]. На сегодняшний день здесь организовано 23 ООПТ площадью 51.6 км² [Атлас особо охраняемых ..., 2017], что является самым низким показателем среди всех природных районов Пермского края [Санников, 2014; Санников, Гатина, Назаров, 2014].

Результаты и их обсуждение

1. Скальные обнажения в окрестностях с. Низкое

Участок каменистой лесостепи (рис. 1) на скальных обнажениях юго-западной экспозиции и на осыпях поблизости в окрестностях с. Низкое в Кишертском муниципальном округе. Первоначальная рекомендация по приданию статуса ООПТ данному скальному обнажению была дана нами ранее [Ефимик, Зенкова, 2018]. Примерные границы предлагаемой к организации ООПТ представлены на рис. 2.

Предлагаемое название: Низкое

Категория: Памятник природы

Профиль: Ботанический

Значение: Региональное

Цель создания: охрана уникального петрофитного лесостепного комплекса с участием редких и охраняемых растений, включенных в Красную книгу Пермского края [2018].

Описание: Участок расположен в Кишертском муниципальном округе Пермского края, к югу от с. Низкое. Представляет собой скальное обнажение юго-западной экспозиции, окруженное преимущественно пихтово-еловым лесом (*Abies sibirica* Ledeb., *Picea obovata* Ledeb.) с некоторым участием сосны обыкновенной (*Pinus sylvestris* L.). Сосны также отмечаются по карнизу обнажения. Береза повислая (*Betula pendula* Roth) присутствует преимущественно на осыпающемся склоне. Из кустарников встречаются ракитник русский (*Chamaecytisus ruthenicus* (Fisch. ex Woloszcz.) Klaskova) и можжевельник обыкновенный (*Juniperus communis* L.).

В травяно-кустарничковом ярусе на склоне отмечены в основном лесостепные виды: астра альпийская – *Aster alpinus* L., оносма простейшая – *Onosma simplicissima* L., полынь холодная – *Artemisia frigida* Willd., мордовник русский – *Echinops ruthenicus* Bieb., бурачок обратнойцевидный – *Alyssum obovatum* (С.А. Мей.) Turcz., тимьян уральский – *Thymus uralensis* Klok., качим высокий – *Gypsophyla altissima* L., вероника колосистая – *Veronica spicata* L., астрагал бороздчатый – *Astragalus sulcatus* L., ясменник скальный, или каменный – *Asperula petraea* V.I. Krecz. ex Klovov, гвоздика иглолистная – *Dianthus*

acicularis Fisch. ex Ledeb., дремлик темно-красный – *Epipactis atrorubens* (Hoffm. ex Bernh.) Bess., горошек тонколистый – *Vicia multicaulis* Ledeb., ленец преломленный – *Thesium refractum* C.A. Mey., купена душистая – *Polygonatum odoratum* (Mill.) Druce и мн. др.



Рис. 1. Скальные обнажения в окрестностях с. Низкое

[Rock outcrops near the village of Nizkoe]

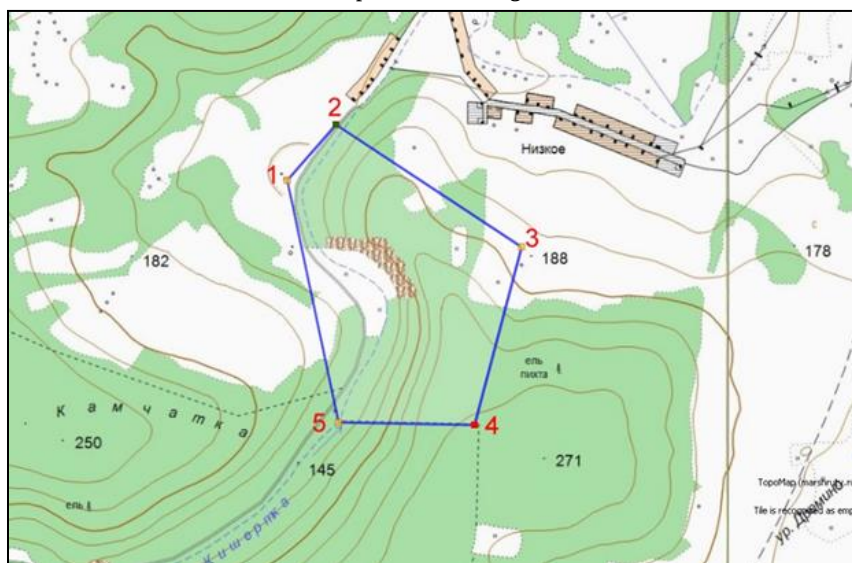


Рис. 2. Примерные границы предлагаемой к организации ООПТ (окрестности с. Низкое)

[Approximate boundaries of the proposed protected area (outskirts of the village Nizkoe)]

Координаты угловых точек [Coordinates of corner points]:

1 – N 57°18'56.83", E 57°13'34.54"; 2 – N 57°19'00.51", E 57°13'43.20"; 3 – N 57°18'50.32", E 57°14'17.03";
4 – N 57°18'33.14", E 57°14'08.53"; 5 – N 57°18'33.30", E 57°13'43.97"

Из охраняемых и редких видов растений нами отмечены:

1. Красная книга Пермского края: ясменник скальный, или каменный – *Asperula petraea*, I категория редкости (рис. 3); гвоздика иглолистная – *Dianthus acicularis*, III категория редкости (рис. 4).

2. Приложение к Красной книге Пермского края: ленец преломленный – *Thesium refractum*, астра альпийская – *Aster alpinus*, дремлик темно-красный – *Epipactis atrorubens*, астрагал бороздчатый – *Astragalus sulcatus* и др.

Ценопопуляции большинства охраняемых и редких видов на скальном обнажении малочисленны, преимущественно нестабильны. Основным лимитирующим фактором в настоящее время для всех видов

здесь является естественное разрушение местообитания. При воздействии человека процесс сокращения численности большинства уязвимых видов может стать необратимым. Создание ООПТ позволит исключить промышленную разработку данного скального обнажения.



Рис. 3. Ясменник скальный – *Asperula petraea*
V.I. Krecz. ex Klokov
[*Asperula petraea* V.I. Krecz. ex Klokov]



Рис. 4. Гвоздика иглолистная – *Dianthus acicularis* Fiscg. ex Ledeb.
[*Dianthus acicularis* Fiscg. ex Ledeb.]

2. Сосново-березовая лесостепь на склонах к р. Сухой Телёс

Участок сосново-березовой лесостепи (рис. 5) на южном, западном и юго-западном склонах к р. Сухой Телёс в Октябрьском городском округе. Первоначальная рекомендация по приданию статуса ООПТ данному участку была дана нами ранее [Ефимик, Зенкова, 2018]. Примерные границы предлагаемой к организации ООПТ представлены на рис. 6.

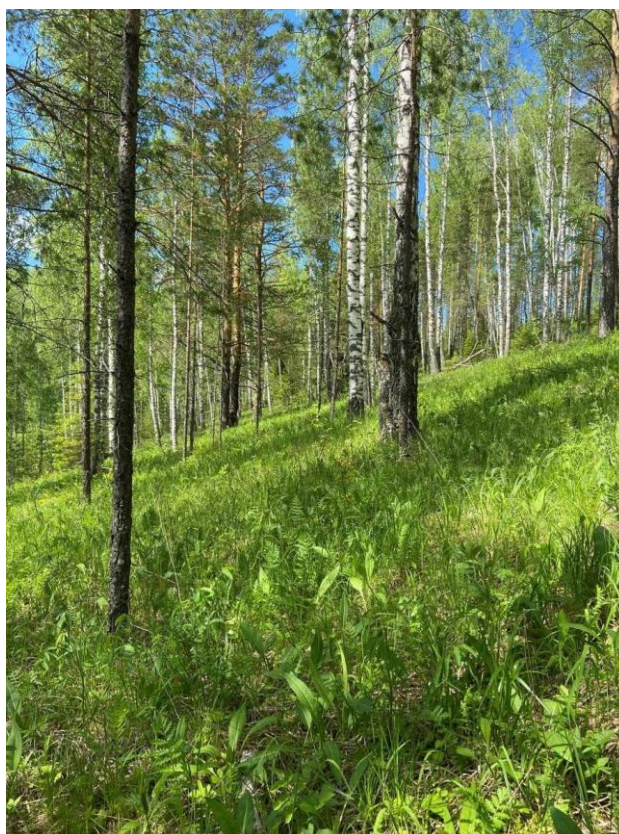


Рис. 5. Сосново-березовая лесостепь на склонах к р. Сухой Телёс
[Pine and birch forest-steppe on the slopes of the river Suchoy Telyos]

Предлагаемое название: Сухой Телёс

Категория: Памятник природы

Профиль: Ботанический
Значение: Региональное

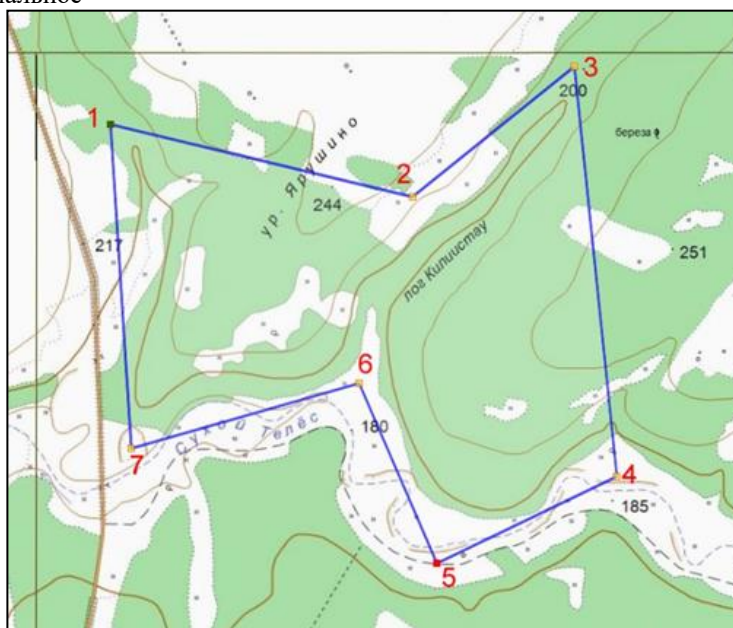


Рис. 6. Примерные границы предлагаемой к организации ООПТ (склоны к р. Сухой Телёс)
[Approximate boundaries of the proposed protected area (slopes of the river Suchoy Telyos)]

Координаты угловых точек [Coordinates of corner points]:

1 – N 56°49'54.57", E 57°00'06.85"; 2 – N 56°49'47.98", E 57°00'58.45"; 3 – N 56°50'00.07", E 57°01'26.26";
4 – N 56°49'21.94", E 57°01'33.53"; 5 – N 56°49'13.74", E 57°01'02.63"; 6 – N 56°49'30.48", E 57°00'49.49";
7 – N 56°49'24.56", E 57°00'10.72"

Цель создания: Охрана уникального лесостепного комплекса с участием редких и охраняемых растений, включенных в Красные книги России и Пермского края, расположенного в пределах участка леса высокой природоохранной ценности (березово-сосновый лес Кунгурской лесостепи).

Описание: Участок, перспективный для организации ООПТ, расположен в Октябрьском муниципальном округе и представляет собой сосново-березовую лесостепь на южном, западном и юго-западном склонах р. Сухой Телёс между с. Алтынное и с. Харино Озеро (рис. 6). Древесный ярус представлен редкостойными соснами (*Pinus sylvestris*) и березами (*Betula pendula*) в разных соотношениях: на большей части территории это сосново-березовый лес, отмечены участки березово-соснового леса, а также участки практически чистых березняков и сосняков. Из кустарников отмечены ракитник русский и вишня кустарниковая (*Cerasus fruticosa* Pall.).

Среди разнотравья отмечены: пиретрум щитковый – *Pyretrum corymbosum* (L.) Scop., купена душистая – *Polygonatum odoratum*, клевер горный – *Trifolium montanum* L., овсец пушистый – *Helictotrichon pubescens* (Huds.) Pilg., ветреница лесная – *Anemone sylvestris* L., пахучеколосник душистый – *Anthoxanthum odoratum* L., таволга обыкновенная – *Filipendula vulgaris* Moench, клевер люпиновый – *Trifolium lupinaster* L., вероника дубравная – *Veronica hamaedrys* L., косяника – *Rubus saxatilis* L., прострел желтеющий – *Pulsatilla flavescens* (Zucc.) Juz., лютик едкий – *Ranunculus acris* L. и л. многоцветковый – *R. polyanthemos* L., герань ложносибирская – *Geranium pseudosibiricum* J. Mayer, осока горная – *Carex montana* L., колокольчик волжский – *Campanula volgensis* P. Smirn., герань кроваво-красная – *Geranium sanguineum* L., медуница мягкая – *Pulmonaria mollis* Wulf. ex Hornem., адонис весенний – *Adonis vernalis* L., фиалка коротковолосистая – *Viola hirta* L., подорожник ланцетовидный – *Plantago lanceolata* L. и ряд других.

Охраняемые и редкие виды растений, обнаруженные на данной территории:

1. Красная книга РФ: ятрышник шлемоносный – *Orchis militaris* L., III категория редкости (рис. 7), венерин башмачок настоящий – *Cypripedium calceolus* L., III категория редкости (рис. 8), венерин башмачок крупноцветковый – *Cypripedium macranthos* Sw., III категория редкости (рис. 9).

2. Красная книга Пермского края: козелец пурпуровый – *Scorzonera purpurea* L., I категория редкости, герань кроваво-красная – *Geranium sanguineum*, III категория редкости, горичвет весенний – *Adonis vernalis*, III категория редкости.

3. Приложение к Красной книге Пермского края: бубенчик лилиелистный – *Adenophora lilifolia* (L.) A. DC., овсец пушистый – *Helictotrichon pubescens*, прострел желтеющий – *Pulsatilla flavescens*, солнц-

цвет монетолистный – *Helianthemum nummularium* (L.) Mill., наперстянка крупноцветковая – *Digitalis grandiflora* Mill., вишня кустарниковая – *Cerasus fruticosa* и др.



Рис. 7. Ятрышник шлемоносный – *Orchis militaris* L.
[*Orchis militaris* L.]



Рис. 8. Венерин башмачок настоящий – *Cypripedium calceolus* L.
[*Cypripedium calceolus* L.]



Рис. 9. Венерин башмачок крупноцветковый – *Cypripedium macranthon* Sw.
[*Cypripedium macranthon* Sw.]

В 2017–2021 гг. на территории отмечалась вырубка леса в непосредственной близости, а также выборочная рубка сосен непосредственно на территории произрастания охраняемых видов. Все они подвержены угрозе уничтожения. Необходимо создание ООПТ для сохранения леса высокой природоохранной ценности и комплекса редких и охраняемых растений в его пределах.

3. Лесостепь в окрестностях с. Иштеряки

Участок разнотравной лесостепи (рис. 10) на склонах южной и западной экспозиции в окрестностях с. Иштеряки в Уинском муниципальном округе. Примерные границы предлагаемой к организации ООПТ представлены на рис. 11.

Предлагаемое название: Иштеряки

Категория: Памятник природы

Профиль: Ботанический

Значение: Региональное

Цель создания: Охрана уникального лесостепного комплекса с участием редких и охраняемых растений, включенных в Красные книги России и Пермского края.

Описание: Участок, перспективный для организации ООПТ, расположен в Уинском муниципальном округе в окрестностях с. Иштеряки (рис. 11), представляет собой разнотравную лесостепь в разреженном

березняке на склонах южной и западной экспозиции. На вершине холма расположены посадки сосны обыкновенной.



Рис. 10. Лесостепь в окрестностях с. Иштерьяки

[Forest steppe near the village of Ishteryaki]

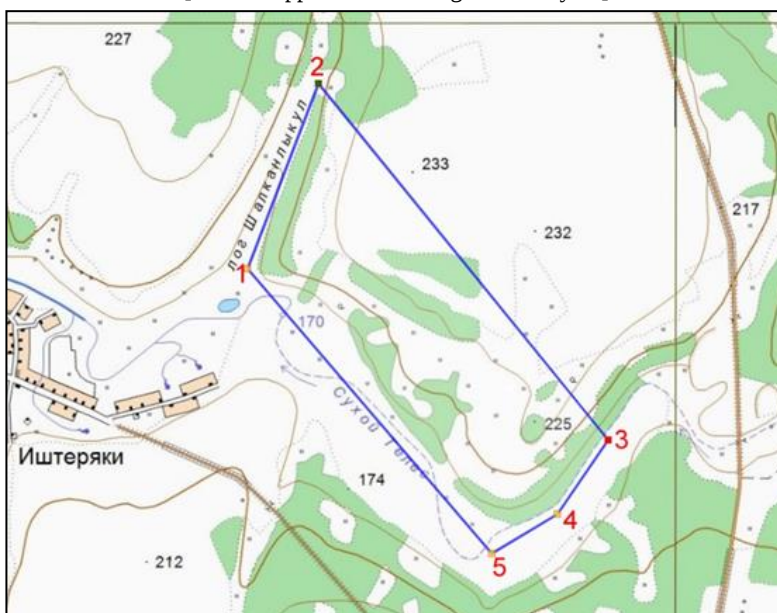


Рис. 11. Примерные границы предлагаемой к организации ООПТ (окрестности с. Иштерьяки)

[Approximate boundaries of the proposed protected area (near the village of Ishteryaki)]

Координаты угловых точек [Coordinates of corner points]:

1 – N 56°49'37.75", E 56°58'38.64"; 2 – N 56°49'55.67", E 56°58'51.00"; 3 – N 56°49'21.18", E 56°59'42.45";
4 – N 56°49'13.91", E 56°59'33.33"; 5 – N 56°49'10.02", E 56°59'21.75"

В травяном ярусе на склонах отмечены преимущественно лесостепные виды: качим высокий – *Gypsophyla altissima*, таволга обыкновенная – *Filipendula vulgaris* Moench, пиетрум щитковый – *Pyretrum corymbosum*, ветреница лесная – *Anemone sylvestris*, купена душистая – *Polygonatum odoratum*, оносма простейшая – *Onosma simplicissima*, горицвет весенний – *Adonis vernalis*, овсец пушистый – *Helictotrichon pubescens*, прострел желтеющий – *Pulsatilla flavescens*, василек сибирский – *Centaurea sibirica*, ясменник красильный – *Asperula tinctoria* L., а также лазурник трехлопастной – *Laser trilobum*, козелец пурпуровый – *Scorzonera purpurea*, герань кроваво-красная – *Geranium sanguineum* и мн. др. Из кустарников обычно вишня степная – *Cerasus fruticosa* и ракитник русский – *Chamaecytisus ruthenicus*.

Охраняемые и редкие виды растений, обнаруженные на данной территории:

1. Красная книга РФ: пыльцеголовник красный – *Cephalanthera rubra* (L.) Rich., III категория редкости (рис. 12), венерин башмачок настоящий – *Cypripedium calceolus*, III категория редкости.

2. Красная книга Пермского края: козелец пурпуровый – *Scorzonera purpurea*, I категория редкости (рис. 13), лазурник трехлопастной – *Laser trilobum*, III категория редкости, герань кроваво-красная – *Geranium sanguineum*, III категория редкости (рис. 14), горицвет весенний – *Adonis vernalis*, III категория редкости.

3. Приложение к Красной книге Пермского края: овсец пушистый – *Helictotrichon pubescens*, прострел желтеющий – *Pulsatilla flavescens*, василек сибирский – *Centaurea sibirica*, дремлик темно-красный – *Epipactis atrorubens*, вишня степная – *Cerasus fruticosa* и др.



Рис. 12. Пыльцеголовник красный – *Cephalanthera rubra* (L.) Rich.
[*Cephalanthera rubra* (L.) Rich.]

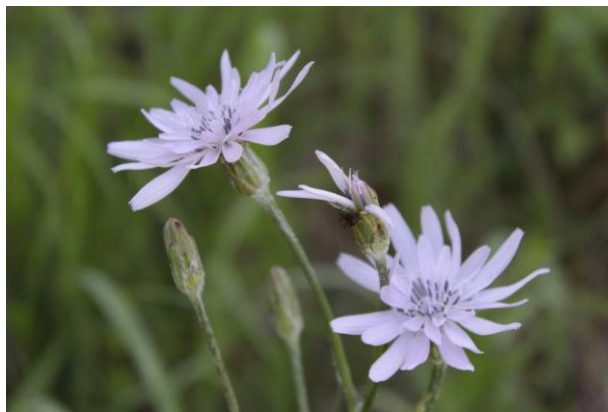


Рис. 13. Козелец пурпуровый – *Scorzonera purpurea* L.
[*Scorzonera purpurea* L.]



Рис. 14. Герань кроваво-красная – *Geranium sanguineum* L.
[*Geranium sanguineum* L.]

Заключение

В пределах ботанико-географического района Кунгурской лесостепи Пермского края обнаружены участки, потенциально пригодные для организации особо охраняемых природных территорий.

На территориях Октябрьского городского округа, Кишертского и Уинского муниципальных округов описаны уникальные лесостепные флористические комплексы с участием редких и охраняемых растений, включенных в Красные книги России и Пермского края. На территории проектируемой ООПТ в Октябрьском округе отмечены 3 вида растений, включенных в Красную книгу РФ (*Orchis militaris*, *Cypripedium calceolus*, *Cypripedium macranthon*) и 3 вида, включенных в Красную книгу Пермского края (*Scorzonera purpurea*, *Geranium sanguineum*, *Adonis vernalis*). На территории Кишертского округа в пределах планируемой к организации ООПТ выявлены 2 вида Красной книги Пермского края (*Asperula petraea*, *Dianthus acicularis*). На территории Уинского округа в пределах планируемой ООПТ – 2 вида Красной книги РФ (*Cephalanthera rubra*, *Cypripedium calceolus*) и 4 вида, включенных в Красную книгу Пермского края (*Scorzonera purpurea*, *Laser trilobum*, *Geranium sanguineum*, *Adonis vernalis*).

Все три ООПТ предлагаются к организации как ботанические памятники природы регионального значения. Наибольшую ценность на всех трех территориях имеют именно лесостепные флористические комплексы, которые могут быть нарушены при возрастающей антропогенной нагрузке. Только путем организации ООПТ возможно сохранение этих уникальных ботанических объектов.

Список источников

1. Атлас особо охраняемых природных территорий Пермского края / под ред. С.А. Бузмакова. Пермь: Астер, 2017. 512 с.
2. Ефимик Е.Г. О мониторинге некоторых видов растений Пермского края // Актуальные проблемы сохранения биоразнообразия в регионах Российской Федерации. Красная книга как объект государственной экологической экспертизы: материалы межрегион. науч.-практ. конф. Пермь, 2015. С. 81–84.
3. Ефимик Е.Г. О новых и редких видах с территории Пермского края // Ботанические исследования на Урале: материалы регион. с междунар. участием науч. конф., посвящ. памяти П.Л. Горчаковского / отв. ред. С.А. Овеснов; Перм. ун-т. Пермь, 2009. С. 114–115.
4. Ефимик Е.Г., Зенкова Н.А. О новых и редких видах с территории Пермского края // Вестник Пермского университета. Сер. Биология. 2018. Вып. 2. С. 139–143.
5. Ефимик Е.Г., Овеснов С.А. Итоги и перспективы изучения биоразнообразия сосудистых растений на особо охраняемых природных территориях // Исследования в области ботаники, генетики и микологии: материалы Всерос. науч. конф., посвященной 105-летию кафедры ботаники и генетики растений ПГНИУ и памяти заслуженных профессоров ПГНИУ В.А. Верещагиной и Е.И. Демьяновой / отв. редактор С.А. Овеснов. Пермь, 2022. С. 13–18.
6. Иллюстрированный определитель растений Пермского края / под ред. С.А. Овеснова. Пермь: Книжный мир, 2007. 743 с.
7. Корчагин А.А. Видовой (флористический) состав растительных сообществ и методы его изучения // Полевая геоботаника, 1964. Т. 3. С. 39–62.
8. Красная книга Пермского края / науч. ред. А.И. Шепель. Пермь: Кн. мир, 2008. 256 с.
9. Красная книга Пермского края / под общ. ред. М.А. Бакланова. Пермь: Алдари, 2018. 232 с.
10. Красная книга Российской Федерации (растения и грибы). М.: Тов-во науч. изд. КМК, 2008. 885 с.
11. Методы изучения лесных сообществ. СПб.: НИИХимии СПбГУ, 2002. 240 с.
12. Овеснов С.А. Ботанико-географическое районирование Пермской области // Вестник Пермского университета. 2000. Вып. 2. Биология. С. 13–21.
13. Овеснов С.А. Кунгурская лесостепь: феномен или фантом? // Ботанические исследования на Урале: материалы регион. с междунар. участием науч. конф. Пермь, 2009. С. 270–275.
14. Овеснов С.А., Ефимик Е.Г. Изучение биоразнообразия растений на особо охраняемых природных территориях // Экология и география растений и растительных сообществ: материалы IV Междунар. науч. конф. Екатеринбург, 2018. С. 625–629.
15. Санников П.Ю. Оценка репрезентативности сети ООПТ Пермского края // Вестник Удмуртского университета. Сер. Биология. Науки о Земле. 2014. № 3. С. 14–26.
16. Санников П.Ю., Гатина Е.Л., Назаров А.В. Сохранение Кунгурской лесостепи // Вестник Удмуртского университета. Сер. Биология. Науки о Земле. 2014. № 2. С. 30–40.
17. Толмачев А.И. Изучение флоры при геоботанических исследованиях // Полевая геоботаника, 1959. Т. 1. С. 369–383.

References

1. Buzmakov S.A., ed. *Atlas osobo ochranjaemych prirodnich territorij Permskogo kraja* [Atlas of specially protected natural areas of Perm Krai]. Perm, Aster Publ., 2017. 512 p. (In Russ.).
2. Efimik E.G. [About monitoring of some plant species of the Perm Region]. *Aktual'nye problemy sochranenija bioraznoobrazija v regionach Rossijskoj Federacii. Krasnaja kniga kak ob"ekt gosudarstvennoj ekologičeskoj ekspertizy* [Actual problems of biodiversity conservation in the regions of the Russian Federation. The Red Book as an object of state environmental expertise. Materials of the interregional scientific and practical conference]. Perm, 2015, pp. 81–84. (In Russ.).
3. Efimik E.G. [About new and rare species from the territory of Perm Krai]. *Botaničeskie issledovanija na Urale* [Botanical research in the Urals. Materials of a regional scientific conference with international participation dedicated to the memory of P.L. Gorchakovskij]. Perm, 2009, pp. 114–115. (In Russ.).
4. Efimik E.G., Zenkova N.A. [About new and rare species from the territory of the Perm region]. *Vestnik Permskogo universiteta. Biologija*. Iss. 2 (2018): pp. 139–143. (In Russ.).
5. Efimik E.G., Ovesnov S.A. [Results and prospects of studying the biodiversity of vascular plants in specially protected natural areas]. *Issledovanija v oblasti botaniki, genetiki i mikologii* [Research in the field of botany, genetics and mycology. Materials of the All-Russian Scientific Conference dedicated to the 105th anni-

versary of the Department of Botany and Plant Genetics of PSNIU and the memory of Honored Professors of PSNIU V.A. Vereshchagina and E.I. Demyanova]. Perm, 2022, pp. 13-18. (In Russ.).

6. Ovesnov S.A., ed. *Illustrirovannyj opredelitel' rastenij Permskogo kraja* [Illustrated Key of Plants of Perm Region]. Perm, Knizhnyi Mir Publ., 2007. 743 p. (In Russ.).

7. Korchagin A.A. [Species (floristic) composition of plant communities and the methods of its investigation]. *Polevaja geobotanika* [Field geobotany]. Moscow, Leningrad, AN SSSR Publ., 1964, V. 3, pp. 39-62. (In Russ.).

8. Schepel A.I., ed. *Krasnaya kniga Permskogo kraja* [The Red Data Book of the Perm Region]. Perm, Knizhny mir Publ., 2018. 256 p. (In Russ.).

9. Baklanov M.A., ed. *Krasnaya kniga Permskogo kraja* [The Red Data Book of the Perm Region]. Perm, Aldari Publ., 2018. 232 p. (In Russ.).

10. Trutnev Yu.P., ed. *Krasnaya kniga Rossijskoj Federacii (rasteniya i griby)* [The Red Data Book of the Russian Federation (plants and mushrooms)]. Moscow, KMK Publ., 2008. 885 p. (In Russ.).

11. *Metody izučeniya lesnykh soobščestv* [Methods of studying forest communities]. St-Peterburg, NIChimii SPBGU Publ., 2002. 240 p. (In Russ.).

12. Ovesnov S.A. [Botanical and geographical zoning of the Perm region]. *Vestnik Permskogo universiteta*. Iss. 2 (2000): pp. 13-21. (In Russ.).

13. Ovesnov S.A. [Kungur forest-steppe: a phenomenon or a phantom?]. *Botaničeskie issledovaniya na Urale* [Botanical research in the Urals. Materials of a regional scientific conference with international participation dedicated to the memory of P.L. Gorchakovsky]. Perm, 2009, pp. 270-275. (In Russ.).

14. Ovesnov S.A., Efimik E.G. [Study of plant biodiversity in specially protected natural areas]. *Èkologija i geografija rastenij i rastitel'nykh soobščestv* [Ecology and geography of plants and plant communities, Proceedings of the IV International Scientific Conference]. Ekaterinburg, 2018, pp. 625-629. (In Russ.).

15. Sannikov P.Yu. [Evaluation of representativeness of the specially protected natural areas system in Perm region]. *Vestnik Udmurtskogo universiteta. Seriya Biologiya. Nauki o zemle*. Iss. 3 (2014): pp. 14-26. (In Russ.).

16. Sannikov P.Yu., Gatina E.L., Nazarov A.L. [Conservation of Kungur forest-stepp]. *Vestnik Udmurtskogo universiteta. Seriya Biologiya. Nauki o zemle*. Iss. 2 (2014): pp. 30-40. (In Russ.).

17. Tolmachev A.I. [Floristic studies in the course of the geobotanical investigations]. *Polevaja geobotanika* [Field geobotany]. Moscow, Leningrad, AN SSSR Publ., 1959, V. 1, pp. 369-383. (In Russ.).

Статья поступила в редакцию 05.10.2022; одобрена после рецензирования 19.10.2022; принята к публикации 29.11.2022.

The article was submitted 05.10.2022; approved after reviewing 19.10.2022; accepted for publication 29.11.2022.

Информация об авторе

Е. Г. Ефимик – канд. биол. наук, доцент кафедры ботаники и генетики растений.

Information about the author

E. G. Efimik – candidate of biological sciences, associate professor of the Department of Botany and Plant Genetics.

ЗООЛОГИЯ

Научная статья

УДК 595.44:[574.34:58.006] (470.53)

doi: 10.17072/1994-9952-2022-4-267-279.

**Структура населения пауков (Arachnida, Araneae)
некультивируемой растительности Ботанического сада
Пермского государственного национального
исследовательского университета**

Сергей Леонидович Есюнин^{1✉}, Евгения Валерьевна Плакхина²

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

^{1✉} esyunin@psu.ru, <https://orcid.org/0000-0002-6648-4947>

² plakkhinaev@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0002-6448-1136>

Аннотация. Группировки герпетобионтных пауков двух участков с некультивируемой растительностью были изучены на территории Ботанического сада Пермского государственного национального исследовательского университета в период с апреля по ноябрь 2012 г. методом почвенных ловушек с фиксатором (4%-ный формалин). Всего за период исследования собрано 998 особей. В населении пауков многочисленны луговые виды, представлены лесные и два синантропных вида. Попадаемость, количество видов и показатели разнообразия населения пауков существенно различаются между площадками и фено сезонами. Конкретные пробы населения пауков группируются в три сезонные кластера, что позволяет выделить аспекты населения пауков. Весенний аспект характеризуется высокой динамичностью видового состава и основных параметров населения. В этот период в населении преобладают пауки-волки, составляющие не менее $\frac{3}{4}$ всех пойманных особей, на обоих площадках доминирует *Trochosa ruricola*, присутствуют общие условно весенние виды. Для летнего аспекта характерны максимальное видовое разнообразие и попадаемость пауков, которые незначительно различаются в конкретные фено-сезоны. Летом упрощается доминантный комплекс, на обоих площадках обильна *T. ruricola*; в аранео-комплексах наряду с многочисленными условно летними видами присутствуют синантропные виды *Steatoda grossa* и *Tegenaria domestica*. Осенний аспект характеризуется исключительно низким видовым разнообразием и попадаемостью пауков. В сезонной динамике попадаемости пауков зафиксированы предвесенний и летний пики активности.

Ключевые слова: пауки, структура населения, сезонная динамика, ботанический сад

Для цитирования: Есюнин С. Л., Плакхина Е. В. Структура населения пауков (Arachnida, Araneae) некультивируемой растительности Ботанического сада Пермского государственного национального исследовательского университета // Вестник Пермского университета. Сер. Биология. 2022. Вып. 4. С. 267–279. <http://dx.doi.org/10.17072/1994-9952-2022-4-267-279>.

Благодарности: авторы глубоко признательны директору Ботанического сада ПГНИУ С.А. Шумихину за всестороннюю поддержку нашей работы.

ZOOLOGY

Original article

**Structure of spider assemblages (Arachnida, Araneae) on
uncultivated vegetation in Botanical garden of Perm State
University**

Sergei L. Esyunin^{1✉}, Evgeniya V. Plakkhina²

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

^{1✉} esyunin@psu.ru, <https://orcid.org/0000-0002-6648-4947>

² plakkhinaev@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0002-6448-1136>

Abstract. The assemblages of herpetobiont spiders from two sites with uncultivated vegetation were studied in the Botanical Garden of the Perm State University from April to November 2012. The method of soil traps with a fixative (4% formalin) was used. A total of 998 specimens of spider were collected during the study period. The meadow species are numerous in the spider assemblages; forest and two synanthropic species are also

present. The abundance, number of species, and biological diversity rates of spider assemblages vary significantly between sites and phenoseasons. The original samples are distributed into three seasonal clusters, which makes it possible to highlight the seasonal aspects of the spider assemblage. The spring aspect is characterized by high dynamism of the species composition and the main parameters of the population. The wolf spiders predominate in the assemblage in this period; they make up at least $\frac{3}{4}$ of all specimens caught here. *Trochosa ruricola* dominates in both sites, and, in addition, common conditionally spring species are present here. The summer aspect is characterized by the maximum species diversity and the abundance of spiders, which slightly differ between phenoseasons. In summer, the dominant complex becomes simpler; *T. ruricola* is abundant on both sites. In araneocomplexes, along with numerous conditionally summer species, there are synanthropic species *Steatoda grossa* and *Tegenaria domestica*. The autumn aspect is characterized by exceptionally low species diversity and the abundance of spiders. Pre-spring and summer peaks of spider activity were recorded in the seasonal dynamics.

Keywords: spiders, structure of assemblage, seasonal dynamics, botanic garden

For citation: Esyunin S. L., Plakkhina E. V. [Structure of spider assemblages (Arachnida, Araneae) on uncultivated vegetation in Botanical garden of Perm State university]. *Bulletin of Perm University. Biology*. Iss. 4 (2022): pp. 267-279. (In Russ.). <http://dx.doi.org/10.17072/1994-9952-2022-4-267-279>.

Acknowledgments: the authors are deeply grateful to S.A. Shumikhin, Director of the Botanical Garden of PSU, for the comprehensive support of our work.

Введение

В последние десятилетия в мире наметился интерес к изучению животных на урбанизированных территориях [Клаустнитцер, 1990; Животные в городе, 2000; Ecology of the city ..., 2004; Большаков и др., 2006; Растительный ..., 2019]. Как правило, объектами таких исследований выступают позвоночные животные, гораздо реже беспозвоночные.

Большинство работ, где модельной группой являются членистоногие, посвящены изучению комплексов беспозвоночных в градиенте урбанизации [Сидоренко, 2001; Alaruiikka et al., 2002; Magura, Horvath, Tothmeresz, 2010; Varet, Pe'tillon J., Burel, 2011; Воробейчик и др., 2012; Otoshi, Bichier, Philpott, 2015; Lowel et. al., 2018; Lövei et al., 2019], реже исследованию фауны городских насаждений [Moorhead, Philpott, 2013; Burkman, Gardiner, 2015; Маслова, Прокопенко, 2019; Trigos-Peral et al., 2020]. В отечественной арахнологической литературе основное внимание уделяется инвентаризации фауны пауков ботанических садов [Лапаева, 2005; Михайлов, Кривохатский, 2012; Белослудцев, 2016; Пономарев, Шаповалов, Лаптева, 2017; Пономарев, 2021; Пономарев, Чумаченко, Шматко, 2022]. Данные о населении пауков зеленых насаждений городов [Белослудцев, 2017; Hnykin, Ivantsova, 2021] и ботанических садов [Прокопенко, 2003, 2013; Hajariyah et al., 2020; Trigos-Peral et al., 2020; Krumpalova et al., 2021; Dipsikha, Phalgun, 2022] немногочисленны. При этом, как правило, не учитываются сезонные особенности (аспекты) населения пауков. В этом плане интересна работа С.И. Павлова с соавторами [Павлов и др., 2019], в которой описаны сезонные варианты фауны г. Самары.

Ботанические сады являются удобной площадкой для изучения комплексов беспозвоночных животных городов, т.к. в садах имеется значительное разнообразие местообитаний, а воздействия на окружающую среду (кошение, полив, инсектицидные обработки и т.д.) регламентированы и потому предсказуемы. Предварительные данные о пауках ООПТ Ботанический сад Пермского государственного национального исследовательского университета (ПГНИУ) приведены нами ранее [Плакхина, 2013, 2022]. Цель данной статьи – описание сезонных особенностей комплексов пауков двух модельных участков некультивируемой растительности Ботанического сада ПГНИУ.

Материал и методы

Материал, обсуждаемый в данной статье, собран на основной территории Учебного ботанического сада им. проф. А.Г. Генкеля ПГНИУ. Общая площадь основной территории – 1.97 га [Шумихин, 2015]. Территория зонирована на экспозиционную, производственную и научную [Ботанический сад ..., 2021].

Герпетобионтные пауки собраны при помощи почвенных ловушек (ловушки Барбера) – пластиковых стаканчиков (объемом 150 мл, диаметром 70 мм), на треть наполненные фиксатором (4%-ный формалин). На исследуемых участках устанавливалось по 10 ловушек в линию на расстоянии 2 м. Продолжительность экспонирования ловушек – 10 дней. Были обследованы два участка с некультивируемой растительностью (рис. 1): рудеральная растительность вдоль теплотрассы и участок с естественным злаковым травостоем под березами. В составе рудеральной растительности преобладает крапива; поверхность почвы голая. Участок с естественным травостоем покрыт обильным листовым опадом; травостой невысокий и разреженный на протяжении всего сезона.

Материал собирался в течение бесснежного периода 2012 г. с 13 апреля по 20 ноября. Предварительный кластерный анализ показал наличие сезонных групп проб. Поэтому при описании структуры населения конкретные пробы (т.е. животные, отловленные за 10 дней) объединили в выборку (сезонную пробу), характеризующую определенный фенологический сезон. Фенологические сезоны выделены по Б.Н. Котюкову и Н.Я. Ковязину [2009]: предвесенье (8–23.IV), ранняя весна (24.IV–23.V), разгар весны (24.V–22.VI), раннее лето (23.VI–13.VII), полное лето (14.VII–17.VIII), ранняя осень (18.VIII–2.IX), глубокая осень (3.IX–3.X).



Рис. 1. Общий вид участков с рудеральной растительностью (А) и естественным злаковым травостоем (Б) в сентябре 2022 г.

[General view of sites with ruderal vegetation (A) and natural grass stand (B) in September 2022]

В качестве показателя доминирования использовалась пятибалльная, ограниченная сверху логарифмическая шкала, предложенная Ю.А. Песенко [1982]. Структура населения пауков проанализирована посредством алгоритмов Detrended correspondence analysis (DCA; безтрендовый анализ соответствия) в программе PAST [Hammer, Harper, Ryan, 2001].

Результаты исследования

Население участка с рудеральной растительностью

Всего на участке с рудеральной растительностью было обнаружено 40 видов пауков из 11 семейств (табл. 1). Более половины видового разнообразия составляют представители двух семейств: Linyphiidae и Lycosidae (по 12 видов). Здесь многочисленны луговые виды (например, виды рода *Erigone*, *O. apicatus*), кроме того, представлены лесные и два синантропных вида (*T. domestica*, *S. grossa*).

Таблица 1

Видовой состав, попадаемость (экз./100 лов. сут.) и некоторые показатели населения пауков на участке с рудеральной растительностью по фено сезонам

[Species composition, abundance (ind./100 trap-days) and some indicators of spider assembles at the site with ruderal vegetation by phenoseasons]

Таксон	Феносезон						
	ПВ	PHB	РЗВ	PHЛ	ПЛ	РО	ГО
Agelenidae							
<i>Tegenaria domestica</i> (Clerck, 1757)	-	-	-	-	0.2	-	-
Clubionidae							
<i>Clubiona</i> sp. неполовозрелые	-	-	-	0.5	0.2	-	-
Gnaphosidae							
<i>Haplodrassus signifier</i> (C. L. Koch, 1839)	-	-	0.3	-	-	-	-
<i>Drassyllus pusillus</i> (C. L. Koch, 1833)	-	0.3	0.6	-	0.5	-	-

Таксон	Феносезон						
	ПВ	РНВ	РЗВ	РНЛ	ПЛ	РО	ГО
<i>Micaria pulicaria</i> (Sundevall, 1831)	-	-	0.6	-	0.2	-	-
Linyphiidae							
<i>Agyneta affinis</i> (Kuleczyński, 1898)	-	-	1.0	2.0	1.5	-	-
<i>Agyneta rurestris</i> (C. L. Koch, 1836)	1.0	-	0.3	-	-	-	-
<i>Bathyphantes gracilis</i> (Blackwall, 1841)	-	-	0.3	-	-	0.5	6.0
<i>Diplocephalus cristatus</i> (Blackwall, 1833)	2.0	-	0.3	-	0.2	-	-
<i>Diplostyla concolor</i> (Wider, 1834)	-	0.3	-	0.5	-	-	-
<i>Dicymbium nigrum</i> (Blackwall, 1834)	2.0	-	-	-	-	-	-
<i>Erigone atra</i> (Blackwall, 1833)	-	-	0.3	-	0.2	-	-
<i>Erigone dentipalpis</i> (Wider, 1834)	1.0	-	1.3	20.5	10.7	-	-
<i>Neriere clathrata</i> (Sundevall, 1830)	-	0.3	-	-	-	-	-
<i>Oedothorax apicatus</i> (Blackwall, 1850)	-	-	-	0.5	-	-	-
<i>Porrhoma pallidum</i> (Jackson, 1913)	-	-	-	0.5	-	-	-
<i>Troxochrus scabriculus</i> (Westring, 1851)	11.0	-	0.6	-	0.2	-	0.5
Lycosidae							
<i>Alopecosa pulverulenta</i> (Clerck, 1757)	-	0.3	-	-	-	-	-
<i>Pardosa agrestis</i> (Westring, 1861)	-	-	4.0	1.0	-	-	-
<i>Pardosa amentata</i> (Clerck, 1751)	8.0	6.6	9.3	3.5	0.5	-	-
<i>Pardosa fulvipes</i> (Collett, 1876)	-	0.3	6.6	1.5	-	-	-
<i>Pardosa lugubris</i> (Walckenaer, 1802)	-	0.6	1.0	1.0	2.7	-	-
<i>Pardosa paludicola</i> (Clerck, 1757)	2.0	0.6	1.3	-	-	-	-
<i>Pardosa palustris</i> (Linnaeus, 1758)	-	-	1.6	-	1.0	-	-
<i>Pardosa plumipes</i> (Thorell, 1875)	-	-	0.3	-	0.2	0.2	-
<i>Pardosa</i> sp. неполовозрелые	-	-	-	3.0	10.7	1.0	1.5
<i>Pirata piraticus</i> (Clerck, 1757)	-	0.3	-	-	-	-	-
<i>Pirata hygrophilus</i> (Thorell, 1872)	-	-	-	0.5	-	-	-
<i>Trochosa ruricola</i> (De Geer, 1778)	53.0	7.3	2.0	19.0	25.0	1.2	0.5
<i>Xerolycosa miniata</i> (C.L. Koch, 1834)	1.0	-	3.3	1.0	2.5	0.2	-
Philodromidae							
<i>Thanatus</i> sp. неполовозрелые	-	-	-	-	0.2	-	-
Phrurolithidae							
<i>Phrurolithus festivus</i> (C. L. Koch, 1835)	-	-	-	0.5	0.2	-	-
Salticidae							
<i>Evarcha arcuata</i> (Clerck, 1757)	-	-	-	0.5	-	-	-
Tetragnathidae							
<i>Pachygnatha degeeri</i> (Sundevall, 1830)	1.0	0.6	-	1.5	0.2	0.2	-
<i>Pachygnatha listeri</i> (Sundevall, 1830)	-	-	-	-	0.2	-	-
Theridiidae							
<i>Episinus truncatus</i> (Latreille, 1809)	-	-	-	-	0.2	-	-
<i>Euryopsis flavomaculata</i> (C. L. Koch, 1836)	-	-	0.6	-	0.2	-	-
<i>Steatoda grossa</i> (C. L. Koch, 1838)	-	-	-	0.5	-	-	-
Thomisidae							
<i>Ozyptila praticola</i> (C. L. Koch, 1837)	1.0	4.0	2.3	2.0	1.2	-	1.0
<i>Xysticus cristatus</i> (Clerck, 1757)	-	-	0.3	-	-	-	-
<i>Xysticus kochi</i> (Thorell, 1875)	-	0.3	1.3	0.5	0.2	0.2	1.0
<i>Xysticus</i> sp. неполовозрелые	-	-	-	-	1.3	-	-
Общая попадаемость	83.0	22.3	40.6	60.5	61.0	3.7	10.5
Количество видов	10	13	22	20	24	7	6
Индекс разнообразия (H')	1.37	2.01	2.85	2.17	2.14	2.50	1.57
Доля Lycosidae (% от всех особей)	77.1	73.1	72.9	50.4	68.4	73.3	19.1
Доля Linyphiidae (% от всех особей)	20.5	3.0	8.1	39.7	21.3	13.3	61.9

Примечание. Феносезоны: ПВ – предвесенье, РНВ – ранняя весна, РЗВ – разгар весны, РНЛ – раннее лето, ПЛ – полное лето, РО – ранняя осень, ГО – глубокая осень.

Количество видов, обнаруженных в течение феносезона, увеличивается в весенний период с 10 до 22; летом видовое разнообразие остается относительно постоянным и резко снижается осенью (табл. 1).

Являясь наиболее обильными в пробах, пауки-волки определяют ход общей попадаемости пауков. Предвесенний пик попадаемости, в первую очередь, определяется повышенной активностью самцов *T. ruricola* [Плакхina, 2013]. Позднее самцы или отмирают, или мигрируют с данного участка в поисках самок. Это приводит к резкому падению попадаемости пауков ранней весной (рис. 2, А). Летний максимум попадаемости пауков определяется повышением активности самок и появлением молоди *T. ruricola* [Плакхina, 2013], а также обилием неполовозрелых особей пауков из рода *Pardosa* (рис. 2, А). После отмирания половозрелых особей пауков-волков в конце лета и ухода на зимовку ранней осенью неполовозрелых особей из этого семейства наблюдается резкое падение общей попадаемости (рис. 2).

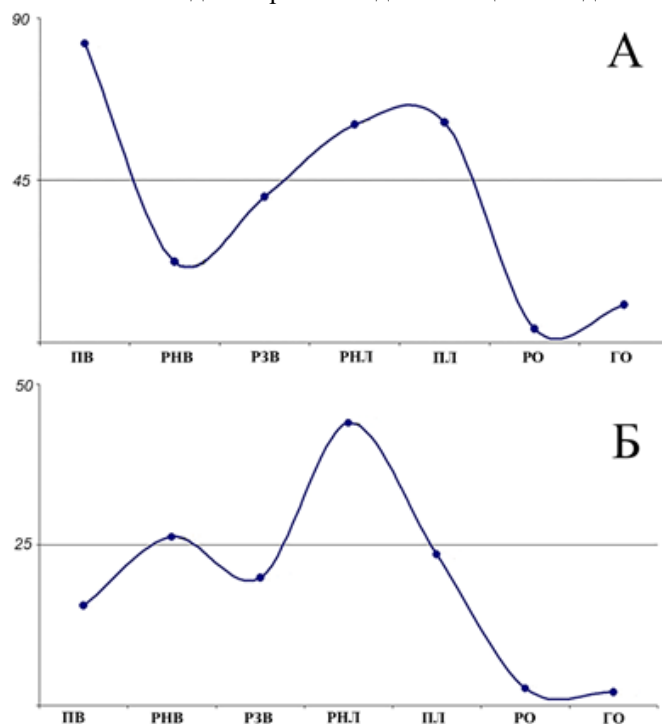


Рис. 2. Сезонная динамика попадаемости пауков (экз./100 лов. сут.) на участках с рудеральной растительностью (А) и естественным злаковым травостоем (Б).

По оси абсцисс – феносезоны: ПВ – предвесенье, РНВ – ранняя весна, РЗВ – разгар весны, РНЛ – раннее лето, ПЛ – полное лето, РО – ранняя осень, ГО – глубокая осень

[Seasonal dynamics of activity density of spider assemblages at the sites with ruderal vegetation (А) and natural grass stand (Б).

The abscissa shows the phenoseasons: ПВ - pre-spring, РНВ - early spring, РЗВ - mid-spring, РНЛ - early summer, ПЛ - full summer, РО - early autumn, ГО - deep autumn]

Сезонные изменения таксономического разнообразия и динамика численности доминантных видов в значительной степени определяют изменения разнообразия населения пауков. Индекс Шеннона увеличивается в течение весны, достигая максимальных значений в разгар весны; летом и ранней осенью разнообразие остается относительно постоянным и понижается глубокой осенью (табл. 1).

Население участка с естественным травостоем

Всего на участке с естественным травостоем было отмечено 30 видов из 6 семейств (табл. 2). Более половины видового разнообразия составляют представители двух семейств: Linyphiidae и Lycosidae (по 8 видов). Как и на предыдущем участке здесь представлены луговые, лесные (*N. clathrata*, *P. lugubris*, *E. truncatus*, *O. praticola*) и один синантропный вид (*T. domestica*).

В предвесенье на участке обнаружено всего три вида пауков; позднее видовое разнообразие увеличивается и летом достигает максимума. Осенью количество видов, обнаруживаемых в течении феносезона, вновь значительно снижается (табл. 2). Летний пик попадаемости пауков (рис. 2, Б) обусловлен повышенной активностью двух видов пауков-волков. Кроме типичного для обоих участков доминанта *T. ruricola*, здесь обилён лесной вид *P. lugubris* (табл. 2).

Таблица 2

Видовой состав, попадаемость (экз./100 лов. сут.) и некоторые показатели населения пауков на участке с естественным злаковым травостоем по феносезонам
[Species composition, abundance (ind./100 trap-days) and some indicators of spider assembles in the site with natural grass stand by phenoseasons]]

Таксон	Феносезон						
	ПВ	РНВ	РЗВ	РНЛ	ПЛ	РО	ГО
Agelenidae							
<i>Tegenaria domestica</i> (Clerck, 1757)	-	-	-	0.5	-	-	-
Gnaphosidae							
<i>Haplodrassus signifier</i> (C.L. Koch, 1839)	-	0.3	-	-	-	-	-
<i>Drassyllus pusillus</i> (C.L. Koch, 1833)	-	0.4	-	-	0.2	-	-
<i>Micaria formicaria</i> (Sundevall, 1831)	-	-	0.3	-	-	-	-
<i>Zelotes clivicola</i> (L. Koch, 1870)	-	0.3	-	-	1.6	-	-
Linyphiidae							
<i>Agyneta affinis</i> (Kulczyński, 1898)	-	1.6	0.3	0.5	2.5	-	-
<i>Agyneta rurestris</i> (C. L. Koch, 1836)	-	0.6	-	-	0.2	-	-
<i>Dicymbium nigrum</i> (Blackwall, 1834)	-	-	-	0.5	-	-	-
<i>Erigone dentipalpis</i> (Wider, 1834)	-	0.3	-	0.5	-	-	-
<i>Megalepthyphantes pseudocollinus</i> (Saaristo, 1997)	-	-	-	0.5	-	-	-
<i>Nerienne clathrata</i> (Sundevall, 1830)	-	-	-	-	-	0.3	-
<i>Tapinocyba biscissa</i> (O. P.-Cambridge, 1873)	-	0.3	-	-	-	-	-
<i>Troxochrus scabriculus</i> (Westring, 1851)	2.2	-	0.3	1.0	0.2	-	-
Lycosidae							
<i>Alopecosa pulverulenta</i> (Clerck, 1757)	-	-	-	-	0.5	-	-
<i>Pardosa agrestis</i> (Westring, 1861)	1.1	-	0.3	1.1	-	-	-
<i>Pardosa amentata</i> (Clerck, 1751)	-	-	2.5	-	-	-	-
<i>Pardosa lugubris</i> (Walckenaer, 1802)	-	5.3	6.8	0.5	0.2	-	-
<i>Pardosa paludicola</i> (Clerck, 1757)	-	3.6	0.7	-	-	-	-
<i>Pardosa palustris</i> (Linnaeus, 1758)	-	-	-	0.5	0.8	-	-
<i>Pardosa</i> sp. неполовозрелые	-	-	0.3	3.3	3.5	0.3	0.5
<i>Trochosa ruricola</i> (De Geer, 1778)	12.2	11.7	4.0	27.0	8.6	1.1	0.5
<i>Xerolycosa miniata</i> (C.L. Koch, 1834)	-	-	-	3.2	0.2	0.3	-
Salticidae							
<i>Euophrys frontalis</i> (Walckenaer, 1802)	-	-	-	-	0.8	-	-
Tetragnathidae							
<i>Pachygnatha degeeri</i> (Sundevall, 1830)	-	-	-	0.5	-	-	0.5
Theridiidae							
<i>Enaplognata ovata</i> (Clerck, 1757)	-	0.3	-	-	-	-	-
<i>Episinus truncatus</i> (Latreille, 1809)	-	-	-	-	0.2	-	-
<i>Euryopis flavomaculata</i> (C. L. Koch, 1836)	-	-	-	0.5	-	-	-
<i>Neottiura bimaculata</i> (Linnaeus, 1767)	-	0.3	-	0.5	-	-	-
<i>Robertus neglectus</i> (O. P.-Cambridge, 1871)	-	-	-	-	0.2	-	-
Thomisidae							
<i>Ozyptila praticola</i> (C. L. Koch, 1837)	-	0.6	3.3	2.1	2.1	0.5	1.0
<i>Xysticus kochi</i> (Thorell, 1875)	-	-	-	0.5	0.2	-	-
<i>Xysticus</i> sp. неполовозрелые	-	-	0.6	-	0.5	-	-
Общая попадаемость	15.6	26.2	19.9	44.0	23.5	2.6	4.0
Количество видов	3	13	11	17	17	5	4
Индекс разнообразия (H')	0.72	1.94	2.08	1.80	2.46	2.21	2.13
Доля Lycosidae (% от всех особей)	85.7	79.3	74.6	81.6	60.6	68.8	25.0
Доля Linyphiidae (% от всех особей)	14.3	11.5	3.5	7.2	13.1	11.8	0.0

Примечание. Феносезоны: ПВ – предвесенье, РНВ – ранняя весна, РЗВ – разгар весны, РНЛ – раннее лето, ПЛ – полное лето, РО – ранняя осень, ГО – глубокая осень.

Показатель разнообразия населения пауков на участке с естественным травостоем мало зависит от изменений количества видов и численности доминантов. Индекс Шеннона остается относительно постоянным, и только в предвесенье он более чем в два раза ниже типичных значений (табл. 2).

Фенологические аспекты населения

Несмотря на различия в населении пауков исследованных участков по видовому разнообразию, попадаемости и сезонной динамике, можно выделить три сезонных кластера проб (рис. 3), что позволяет нам говорить о сезонных аспектах населения пауков некультивируемой растительности Учебного ботанического сада ПГНИУ.

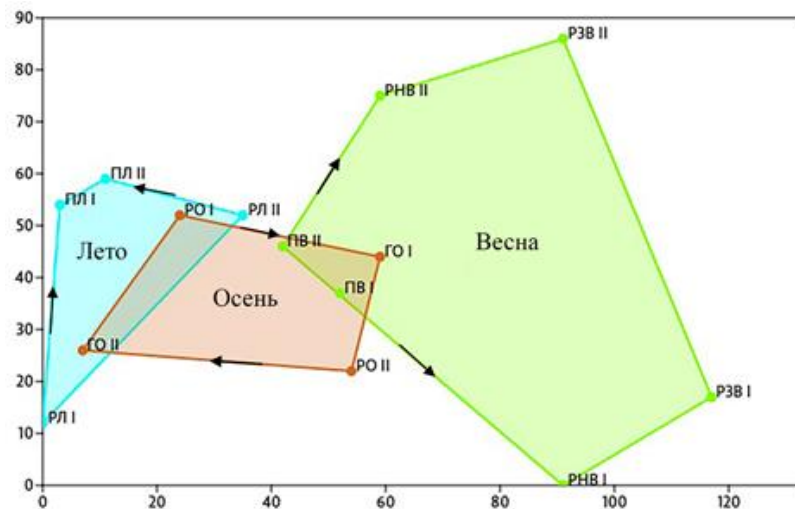


Рис. 3. Биplot анализа соответствия населения пауков участков некультивируемой растительности Ботанического сада ПГНИУ.

Номер участка: I – рудеральная растительность, II - естественный злаковый травостой.

Фенологические периоды: ПВ – предвесенье, РНВ – ранняя весна, РЗВ – разгар весны, РЛ – раннее лето, ПЛ – полное лето, РО – ранняя осень, ГО – глубокая осень

[Biplot of Detrended correspondence analysis of spider assemblages at the site with uncultivated vegetation of Botanical Garden of PSU.

Site number: I - ruderal vegetation, II - natural grass stand. Phenological periods: ПВ - pre-spring, РНВ - early spring, РЗВ - mid-spring, РЛ - early summer, ПЛ - full summer, РО - early autumn, ГО - deep autumn]

Весенний аспект. В населении пауков преобладают пауки-волки, составляющие не менее $\frac{3}{4}$ всех пойманных особей (табл. 3). На обоих участках обильна *T. ruricola*. В пробах наблюдаются общие «весенние» виды (здесь они понимаются как виды, присутствующие в пробах только весной или наиболее обильные в этот период): *H. signifer*, *A. rurestris*, *T. scabriculus*, *P. amentata*, *P. paludicola*. (см. табл. 1, 2). Попадаемость, количество видов и показатели разнообразия значительно различаются между участками и фено сезонами. Так, наличие теплотрассы на участке с рудеральной растительностью сказалось на сроках активности доминантного вида и, как следствие, развитии ярко выраженного предвесеннего пика активности пауков. Рано начинающая вегетировать рудеральная растительность и большая мозаичность условий под теплотрассой, по-видимому, повлияли на большее видовое богатство, полидоминантность и показатель разнообразия населения пауков данном участке.

Таблица 3

Средние значения основных показателей аспектов населения пауков участков с некультивируемой растительностью Ботанического сада ПГНИУ

[The average values of the main indicators of the spider population aspects in sites with uncultivated vegetation of the Botanical Garden of PSU]

Показатель	Аспект					
	весенний		летний		осенний	
	Уч.1*	Уч.2	Уч.1	Уч.2	Уч.1	Уч.2
Общее кол-во видов	29	17	31	23	7	5
Пределы варьирования кол-ва видов	10–22	3–13	20–24	17	6–7	4–5
Пределы варьирования попадаемости (экз./100 лов. сут)	22–83	16–26	61	23–44	4–11	3–4
Пределы варьирования доли Lycosidae (%)	73–77	75–86	50–68	61–82	19–77	25–69
Пределы варьирования доли Linyphiidae (%)	3–20	4–14	21–40	7–13	13–62	0–12
Индекс Шеннона (H')	1.4–2.9	0.7–2.1	2.1–2.2	1.8–2.5	1.6–2.5	2.1–2.2

Показатель	Аспект					
	весенний		летний		осенний	
	Уч.1*	Уч.2	Уч.1	Уч.2	Уч.1	Уч.2
Доминантные виды (максимальные значения балла по Ю. А. Песенко**)						
<i>Trochosa ruricola</i>	V	V	IV	V	-	-
<i>Pardosa amentata</i>	IV	-	-	-	-	-
<i>Troxochrus scabriculus</i>	IV	-	-	-	-	-
<i>Pardosa fulvipes</i>	III	-	-	-	-	-
<i>Ozyptila praticola</i>	III	-	-	-	-	-
<i>Pardosa lugubris</i>	-	III	-	-	-	-
<i>Erigone dentipalpis</i>	-	-	IV	-	-	-
<i>Bathypantes gracilis</i>	-	-	-	-	IV	-

Примечания: *Уч.1 – участок с рудеральной растительностью, Уч.2 – участок с естественным злаковым травостоем; ** – Ю.А. Песенко [1982].

Летний аспект. Видовое разнообразие и попадаемость пауков в этот период максимальны и незначительно различаются по феносезонам (табл. 3). Пауки-волки остаются доминирующим таксоном, но их доля в населении пауков понижается. Упрощается доминантный комплекс – на обоих участках обильна *T. ruricola*. В аранеокомплексах появляются синантропные виды (*S. grossa*, *T. domestica*). Многочисленен набор общих для участков условно летних таксонов: *A. affinis*, *E. dentipalpis*, *E. truncates*, *X. miniata*, *X. kochi* и неполовозрелые пауки из рода *Pardosa* (см. табл. 1, 2). Влияние теплотрассы на структуру сообществ пауков летом не выражено. На первое место выходят особенности растительного покрова. На участке с рудеральной растительностью подстилка крайне слабо развита, местами отсутствует. Это благоприятствует увеличению на этом участке численности некоторых видов пауков-пигмеев (*E. dentipalpis*, *O. apicatus*) и *P. degeeri*.

Осенний аспект. Осенние пробы на обоих участках характеризуются исключительно низким видовым разнообразием и попадаемостью пауков (табл. 3). Пауки-волки относительно многочисленны ранней осенью. Весенне-летние доминанты (*T. ruricola* и виды из рода *Pardosa*) представлены неполовозрелыми особями. После их ухода на зимовку глубокой осенью в пробах резко возрастает доля пауков-пигмеев. На участке с рудеральной растительностью обильен вид *B. gracilis* (табл. 3). Однако как правило обилие этих видов невелико, что определяет высокую выравненность населения. Как следствие этого, значения индекса разнообразия Шеннона остаются довольно высокими (табл. 3).

Обсуждение результатов

Обследованные участки некультивируемой растительности ботанического сада существенно различаются по видовому разнообразию, попадаемости, доминантному комплексу и сезонной динамике пауков. При этом в разные фенопериоды тренды изменения структуры населения пауков различны. В течение весны различия между населением пауков изученных участков увеличиваются (вектора изменения показаны стрелками на рис. 3); летом ярко выражена тенденция увеличения сходства, а осенью тенденции изменения структуры населения пауков разнонаправленны (рис. 3).

Несмотря на все эти различия, конкретные пробы герпетобионтного населения пауков могут быть отнесены к одному из трех сезонных аспектов. Весенний аспект характеризуется динамичностью видового состава, разнообразием и попадаемостью, однако в населении преобладают пауки-волки, составляющие не менее $\frac{3}{4}$ всех пойманных особей; на обоих участках доминирует *T. ruricola*, присутствуют общие условно весенние виды. Для летнего аспекта характерны максимальное видовое разнообразие и попадаемость пауков, которые незначительно различаются в конкретные феносезоны; сокращается количество видов-доминантов; на обоих участках обильна *T. ruricola*; в аранеокомплексах, наряду с многочисленными условно летними видами, присутствуют синантропные виды (*S. grossa*, *T. domestica*). Осенний аспект характеризуется исключительно низким видовым разнообразием и попадаемостью пауков.

На участке с рудеральной растительностью располагается действующая магистраль системы теплоснабжения, что обуславливало более раннее таяние снега в начале весны и большую прогреваемость поверхности почвы в весенний и осенний периоды. Влияние теплотрассы на структуру населения не очевидно, как минимум, с разгара весны до ранней осени. Имеются только две аномалии, которые можно связать с ее воздействием. Первая – это сдвиг максимума активности доминантного вида *T. ruricola* на более ранние сроки и, как следствие, наличие весеннего максимума попадаемости пауков на участке с рудеральной растительностью (рис. 2). Вторая аномалия – высокая численность осеннего доминанта *B. gracilis* и, как следствие, повышение общей попадаемости пауков глубокой осенью (рис. 2). Таким образом, дополнительное поступление тепла сказывается на фенологии отдельных видов пауков, но не отра-

жается на структуре аранеокомплексов. Различия в населении сравниваемых участков обусловлены различиями в степени мозаичности растительного покрова и степени развития подстилки.

Выявленное на участке с рудеральной растительностью видовое разнообразие пауков сопоставимо с таковым пастбищных лугов Пермского края, где оно составило 32 вида на неорошаемом, и 24 вида – на орошаемом участках [Есюнин, Баталин, 1995]. Однако население лугов имеет иной состав доминантного комплекса. На лугах самым массовым видом является паук-волк *P. palustris*. С ним кодоминируют *E. atra*, *E. dentipalpis* и *P. degeeri*. По мере деградации лугов в процессе выпаса крупного рогатого скота наблюдалось увеличение численности *P. palustris*, *E. dentipalpis* и *P. degeeri*, тогда как попадаемость *E. atra* снижалась. Позднее список доминантных видов, характерных для сельскохозяйственных угодий долинно-речного участка Среднеуральского трансекта был дополнен следующими видами [Есюнин, 2006]: *O. apicatus*, *A. rurestris*, *P. agrestis* и *Xerolycosa nemoralis* (Westring, 1861). В нашем исследовании присутствуют все вышеперечисленные виды, кроме последнего. Однако большинство из них не входят в доминантный комплекс (табл. 3). Общим доминантом для сельскохозяйственных угодий и обследованных участков ботанического сада является *E. dentipalpis*, который рассматривается как индикатор деградации естественных лугов [Есюнин, Баталин, 1995].

Доминирование представителей сем. *Lycosidae* на обследованных участках ботанического сада ПГНИУ характерно также для городских парков и ботанических садов Русской равнины [Прокопенко, 2013; Белослудцев, 2017] и Северной Америки [Moorhead, Philpott, 2013; Burkman, Gardiner, 2015; Otoshi, Bichier, Philpott, 2015]. Однако, в отличие от наших данных, там, как правило, доминируют виды из рода *Pardosa* [Прокопенко, 2013; Burkman, Gardiner, 2015; Белослудцев, 2017]. По всей видимости, это связано с тем, что в известных нам исследованиях модельные участки характеризовались наличием хорошо развитого древесного и/или кустарничкового ярусов. Как следствие в населении пауков таких участков преобладают лесные виды. Так, в напочвенном ярусе парковых зон г. Самары доминируют *Diplocephalus picinus* (Blackwall, 1841), *Tenuiphantes flavipes* (Blackwall, 1854), *P. lugubris* и *O. praticola* [Белослудцев, 2017]. В древесных насаждениях г. Донецка [Прокопенко, 2013] попадаемость *T. ruricola* низкая на всех участках, а обильны *P. lugubris*, *Alopecosa sulzeri* (Pavesi, 1873), *A. trabalis* (Clerck, 1758) и *T. terricola*. Очень обилен в ботаническом саду ПГНИУ вид *T. ruricola*, указывается как доминантный для ботанических садов г. Варшавы (Польша), где он кодоминирует с *Micrargus subaequalis* (Westring, 1851), *X. miniata* и *T. flavipes* [Trigos-Peral et al., 2020] и как многочисленный для пустырей г. Кливленда (Северная Америка) [Burkman, Gardiner, 2015].

Заключение

Таким образом, население пауков некультивируемой растительности ботанического сада ПГНИУ имеет общие черты (видовое разнообразие, преобладание представителей сем. *Lycosidae*) с населением антропогенно нарушенных лугов Пермского края и городских парков, а также ботанических садов Русской равнины, но отличается составом доминантного комплекса.

Список источников

1. Белослудцев Е.А. Фауна напочвенных пауков (Arachnida: Aranei) парковых зон города Самары // Самарский научный вестник. 2016. Вып. 2 (15). С. 8–10.
2. Белослудцев Е.А. Доминантные виды напочвенных пауков (Arachnida: Aranei) парковых зон г. Самара // Эколого-географические проблемы регионов России: материалы VIII всерос. науч.-практ. конф. с междунар. участием. Самара, 2017. С. 141–145.
3. Большаков В.Н. и др. Экология города. Млекопитающие. Екатеринбург: Паритет, 2006. 104 с.
4. Ботанический сад, исторический очерк // Пермский государственный национальный исследовательский университет. 2021. URL: <http://www.psu.ru/podrazdeleniya/podrazdeleniya-obespecheniya/botanicheskij-sad/istoricheskij-ocherk> (дата обращения: 25.04.2021).
5. Воробейчик Е.Л. и др. Изменение разнообразия почвенной мезофауны в градиенте промышленного загрязнения // Russian Entomological Journal. 2012. Vol .21, № 2. Р. 203–218.
6. Есюнин С.Л. Структура и разнообразие населения пауков (Aranei) на Среднеуральском трансекте // Евразийский энтомологический журнал. 2006. Т. 5, вып. 3. С. 249–262.
7. Есюнин С.Л., Баталин А.В. Влияние оросительной мелиорации на луговой комплекс пауков в условиях Среднего Урала // Вестник Пермского университета. 1995. Вып. 1. Биология. С. 92–101.
8. Животные в городе: материалы науч.-практ. конф. М., 2000. 190 с.
9. Клауснитцер Б. Экология городской фауны. М.: Мир, 1990. 246 с.
10. Котюков Б.Н., Ковязин Н.Я. Погода Пермского края. Местные признаки. Фенология. Прогноз. Пермь: Денор, 2009. 92 с.

11. Лапаева Н.В. Фауна пауков (Arachnida: Aranei) ельника лещиново-кисличного (*Piceetumcoryloso-oxalidosum*) в ботаническом саду НАН Беларуси // Біорізноманіття та роль зооценозу в природних і антропогенних екосистемах. Дніпропетровськ, 2005. С. 197–198.
12. Маслова А.А., Прокопенко Е.В. Герпетобионтные пауки ЦПКИО им. Щербакова (г. Донецк) // Охрана окружающей среды и рациональное использование природных ресурсов: сб. материалов XIII Междунар. науч. конф. аспирантов и студентов. Донецк, 2019. С. 152–155.
13. Михайлов К.Г., Кривохатский В.А. Материалы по фауне пауков (Arachnida: Aranei) Петергофского фонтанного парка // Вестник Пермского университета. Сер. Биология. 2012. Вып. 3. С. 36–37.
14. Павлов С.И. и др. Закономерности сезонной динамики фауны г. Самары // Растительный и животный мир городов: материалы Междунар. науч.-практ. конф. молодых ученых. Мурманск, 2019. С. 88–98.
15. Песенко Ю.А. Принципы и методы количественного анализа в фаунистических исследованиях. М.: Наука, 1982. 287 с.
16. Плакхина Е.В. Фенология паука-волка *Trochosa ruricola* в нарушенных и естественных местообитаниях // Экология: теория и практика: материалы конф. молодых ученых. Екатеринбург: Голицкий, 2013. С. 83–85.
17. Плакхина Е.В. Общая характеристика сообщества герпетобионтных пауков некультивируемых участков ООПТ Ботанический сад ПГНИУ // Экологическая безопасность в условиях антропогенной трансформации природной среды [Электронный ресурс]: сб. материалов всерос. школы-семинара, посвященной памяти Н.Ф. Реймерса и Ф.Р. Штильмарка. Пермь, 2022. С. 126–130.
18. Пономарёв А.В. Пауки (Aranei) Ростова-на-Дону, Россия // Наука юга России. 2021. Т. 17, вып. 4. С. 72–79.
19. Пономарев А.В., Шаповалов М.И., Лаптева Л.О. Материалы к изучению фауны пауков (Arachnida: Aranei) ботанического сада Адыгейского государственного университета // Биоразнообразие. Биоконсервация. Биомониторинг. Майкоп, 2017. С. 67–70.
20. Пономарев А.В., Чумаченко Ю.А., Шматко В.Ю. Первые данные о фауне пауков (Aranei) дендропарка «Южные культуры» (г. Адлер, Краснодарский край, Россия) // Полевой журнал биолога. 2022. Т. 4, вып. 2. С. 137–152.
21. Прокопенко Е.В. Структура населения пауков (Aranei) древесных насаждений г. Донецка // Вестник зоологии. Отдельный вып. 2003. № 16. С. 108–110.
22. Прокопенко Е.В. Структура населения пауков (Aranei) древесных насаждений Донецка // Биологический вестник Мелитопольского государственного педагогического университета им. Богдана Хмельницкого. 2013. Вып. 2 (8). С. 180–195.
23. Растительный и животный мир городов: материалы Междунар. науч.-практ. конф. молодых ученых. Мурманск, 2019. 181 с.
24. Сидоренко М.В. Беспозвоночные – индикаторы состояния природных комплексов в условиях большого города (на примере г. Нижнего Новгорода) // Известия Самарского научного центра РАН. 2001. Т. 3, вып. 2. С. 358–366.
25. Шумихин С.А. Ботанические экскурсии по коллекциям и экспозициям Ботанического сада им. А.Г. Генкеля Пермского университета: путеводитель. СПб.: Маматов, 2015. 208 с.
26. Alarukka D. et al. Carabid beetle and spider assemblages along a forested urban–rural gradient in southern Finland // Journal of Insect Conservation. 2002. Vol. 6, № 4. P. 195–206.
27. Burkman C.E., Gardiner M.M. Spider assemblages within greenspaces of a deindustrialized urban landscape // Urban Ecosystems. 2015. Vol. 18. P. 793–818.
28. Dipsikha B., Phalgun Ch. A checklist of spiders in the Botanical garden of Dibrugarh University, Assam, India // Journal of Life Sciences. 2022. Vol. 20. P. 29–43.
29. Ecology of the city of Sofia: species and communities in an urban environment / Eds. L. Penev, J. Noemelä, D.J. Kotze, N. Chipev. Sofia; M.: Pensoft, 2004. 456 p.
30. Hajariyah H. et al. Diversity and abundance of spiders (Arachnida) in Liwa Botanical Garden // Journal Ilmiah Biologi Eksperimen dan Keanekaragaman Hayati. 2020. № 7. P. 9–18.
31. Hammer Ø., Harper D.A.T., Ryan P.D. PAST: Paleontological statistics software package for education and data analysis // Palaeontologia Electronica, 2001. Vol. 4, № 1. P. 1–9.
32. Hnykin A.S., Ivantsova E.A. Biological diversity of the spiders herpetobiont population of degraded biotopes in Volgograd City and its surroundings // Вестник Нижневартковского государственного университета. 2021. Вып. 2. С. 63–69.
33. Krumpalova Z. et al. Ground-dwelling spiders in diverse mosaic of garden habitats // Applied Ecology and Environmental Research. 2021. Vol. 19, № 3. P. 1703–1717.
34. Lövei G.L. et al. Diversity and assemblage filtering in ground-dwelling spiders (Araneae) along an urbanisation gradient in Denmark // Urban Ecosystems. 2019. Vol. 22. P. 345–353.

35. Lowe1 E.C. et al. Environmental drivers of spider community composition at multiple scales along an urban gradient // *Biodiversity and Conservation*. 2018. Vol. 27. P. 829–852.
36. Magura T., Horvath R., Tothmeresz B. Effects of urbanization on ground-dwelling spiders in forest patches, in Hungary // *Landscape Ecology*. 2010. Vol. 25. P. 621–629.
37. Moorhead L.C., Philpott S.M. Richness and composition of spiders in urban green spaces in Toledo, Ohio // *The Journal of Arachnology*. 2013. Vol. 41, № 3. P. 356–363.
38. Ootoshi M.D., Bichier P., Philpott S.M. Local and landscape Correlates of Spider Activity Density and Species Richness in Urban Gardens // *Environmental Entomology*. 2015. Vol. 44, № 4. P. 1043–1051.
39. Trigos-Peral G. et al. Three categories of urban green areas and the effect of their different management on the communities of ants, spiders and harvestmen // *Urban Ecosystems*. 2020. Vol. 23. P. 803–818.
40. Varet M., Pe'tillon J., Burel F. Comparative responses of spider and carabid beetle assemblages along an urban-rural boundary gradient // *Journal of Arachnology*. 2011. Vol. 39. P. 236–243.

References

1. Belosludtsev E.A. [Fauna of ground spiders (Arachnida: Aranei) in park areas of the Samara City]. *Samarskij naučnyj vestnik*. No 2 (2016): pp. 8-10. (In Russ.).
2. Belosludtsev E.A. [Dominant species of ground spiders (Arachnida: Aranei) in park areas of the Samara City]. *Èkologo-geografičeskie problemy regionov Rossii*. [Ecological and geographical problems of Russian regions. Materials of the VIII All-Russian scientific and practical conference with international participation, dedicated to the 110th anniversary of the birth of T.A. Alexandrova.]. Samara, Publishing House of the Samara State Social and Pedagogical University, 2017, pp.141-145. (In Russ.).
3. Bolshakov V.N., Chernousova N.F., Tolkachev O.V., Nurtidinova D.V., Pyastolova O.A., Berdyugin K.I. *Èkologiya goroda. Mlekopitajuščie* [City ecology. Mammals]. Yekaterinburg: Raritet Publ., 2006. 104 p. (In Russ.).
4. *Botaničeskij sad, istoričeskij očerk* [Botanical Garden, historical essay]. Perm State National Research University. 2021. Available at: <http://www.psu.ru/podrazdeleniya/podrazdeleniya-obespecheniya/botanicheskij-sad/istoricheskij-ocherk> (accessed 25.04.2021). (In Russ.).
5. Vorobeichik E.L., Ermakov A.I., Zolotarev M.P., Tuneva T.K. [Changes in diversity of soil macrofauna in industrial pollution gradient]. *Russian Entomological Journal*. V. 2 (2012): pp. 203-218. (In Russ.).
6. Esyunin S.L. [Structure and diversity of spider (Aranei) assemblages along a Middle Urals transect]. *Euroasian Entomological Journal*. Vol. 5 (2006): pp. 249-262. (In Russ.).
7. Esyunin S.L., Batalin A.V. [Effect of irrigation reclamation on the meadow complex of spiders in the conditions of the Middle Urals]. *Vestnik Permskogo universiteta*. Iss. 1, Biology (1995): pp. 92-101. (In Russ.).
8. *Životnye v gorode* [Animals in the city. Proceedings of the scientific-practical conference]. Moscow, Publishing House of the Institute of Problems of Ecology and Evolution, 2000. 190 p. (In Russ.).
9. Klausnitzer B. *Èkologija gorodskoj fauny* [Ecology of urban fauna]. Moscow, Mir Publ., 1990. 246 p. (In Russ.).
10. Kotyukov B.N., Kovyazin N.Ya. *Pogoda Permskogo kraja. Mestnye priznaki. Fenologija. Prognoz* [Weather in the Perm Territory. local signs. Phenology. Forecast]. Perm, Denor Publ., 2009. 92 p. (In Russ.).
11. Lapaeva N.V. [Spider fauna (Arachnida: Aranei) of the oxalis-hazel spruce forest (Piceetumcoryloso-oxalidosum) in the Botanical Garden of the National Academy of Sciences of Belarus]. *Bioriznomanittja ta rol' zoocenozu v prirodnych i antropogennich ekosistemach* [Biodiversity and the role of zoocenosis in natural and anthropogenic ecosystems]. Dnepropetrovsk, 2005, pp.197-198. (In Russ.).
12. Maslova A.A., Prokopenko E.V. [Herpetobiont spiders of the Shcherbakov Central Park of Cultural Resources (Donetsk)]. *Ochрана okružajuščej sredy i racional'noe ispol'zovanie prirodnyh resursov* [Environmental protection and rational use of natural resources. Collection of materials of the XIII international scientific conference of graduate students and students]. Donetsk, Publishing House of Donetsk Polytechnic University, 2019, pp.152-155. (In Russ.).
13. Mikhailov K.G., Krivokhatskiy V.A. [Material on the spider fauna (Arachnida: Aranei) of Peterhof Fountain Park]. *Vestnik Permskogo universiteta. Biologija*. Iss. 3 (2012): pp.36-37. (In Russ.).
14. Pavlov S.I., Pavlov I.S., Shvedov V.G., Yaitsky A.S., Kazantsev I.V. [Patterns of seasonal dynamics of the fauna of Samara]. *Rastitel'nyj i životnyj mir gorodov* [Flora and fauna of cities: Proceedings of the International Scientific and Practical Conference of Young Scientists]. Murmansk, Publishing House of the Murmansk Agrarian State University, 2019, pp. 88-98. (In Russ.).
15. Pesenko Yu.A. *Principy i metody količestvennogo analiza v faunističeskich issledovanijach* [Principles and methods of quantitative analysis in faunistic research]. Moscow, Nauka Publ., 1982. 287 p. (In Russ.).
16. Plakhhina E.V. [Phenology of the wolf spider *Trochosa ruricola* in disturbed and natural habitats]. *Èkologiya: teorija i praktika* [Ecology: theory and practice. Materials of the conference of young scientists]. Ekaterinburg, Goščickiy Publ., 2013, pp. 83-85. (In Russ.).

17. Plakkhina E.V. [General characteristics of the community of herpetobiont spiders in uncultivated areas of protected areas Botanical Garden of PSU]. *Ekologičeskaja bezopasnost' v uslovijach antropogennoj transformacii prirodnoj sredy* [Ecological safety in the conditions of anthropogenic transformation of the natural environment [Electronic resource]: collection of materials of the All-Russian school-seminar dedicated to the memory of N.F. Reimers and F.R. Shtilmark. Perm, Publishing House of the Perm State University, 2022, pp. 126-130. (In Russ.).
18. Ponomarev A.V. [Spiders (Aranei) of Rostov-on-Don, Russia]. *Nauka juga Russii*. V. 17, iss. 4 (2021): pp. 72-79. (In Russ.).
19. Ponomarev A.V., Shapovalov M.I., Lapteva L.O. [Materials for the study of the fauna of spiders (Arachnida: Aranei) of the Botanical Garden of the Adyghe State University]. *Bioraznoobrazie. Biokonservacija. Biomonitoring* [Biodiversity. Biopreservation. Biomonitoring]. Maykop, Publishing House of the Adyghe State University, 2017, pp. 67-70. (In Russ.).
20. Ponomarev A.V., Chumachenko Yu.A., Shmatko V.Yu. [The First Data About Spider Fauna (Aranei) of Dendrological Park "Yuzhnye Culture" (Adler, Krasnodar Krai, Russia)]. *Polevoj žurnal biologa*. V. 4, iss. 2 (2022): pp. 137-152. (In Russ.).
21. Prokopenko E.V. [The structure of the spider population (Aranei) of the Donetsk City wood plantings]. *Vestnik zoologii*. Special iss. No 16 (2003): pp. 108-110. (In Russ.).
22. Prokopenko E.V. [Population structure of spiders (Aranei) of the Donetsk City wood plantings]. *Biologičeskij vestnik Melitopol'skogo gosudarstvennogo pedagogičeskogo universiteta im. Bohdana Chmelnyckogo*. Iss. 2(8) (2013): pp. 180-195. (In Russ.).
23. *Rastitel'nyj i životnyj mir gorodov*. [Plant and animal world of cities. Materials of the International scientific-practical conference of young scientists]. Murmansk, Publishing House of the Murmansk Agrarian State University, 2019. 181 p. (In Russ.).
24. Sidorenko M.V. [Invertebrates as indicators of the state of natural complexes in a big city (on the example of Nizhny Novgorod)]. *Izvestija Samarskogo naučnogo centra RAN*. V. 3, iss. 2 (2001): pp. 358-366. (In Russ.).
25. Shumikhin S.A. *Botaničeskije èkskursii po kollekcijam i èkspozicijam Botaničeskogo sada im. A.G. Genkelja Permskogo universiteta* [Botanical tours of the collections and expositions of the Botanical Garden of the Perm University named after A.G. Genkel: a guide]. St-Petersburg, Mamatov Publ., 2015. 208 p. (In Russ.).
26. Alarukka D., Kotze D.J., Matveinen K., Niemela J. Carabid beetle and spider assemblages along a forested urban–rural gradient in southern Finland. *Journal of Insect Conservation*. V. 6, No 4 (2002): pp. 195-206.
27. Burkman C.E., Gardiner M.M. Spider assemblages within greenspaces of a deindustrialized urban landscape. *Urban Ecosystems*. V. 18 (2015): pp. 793-818.
28. Dipsikha B., Phalgun Ch. A checklist of spiders in the Botanical garden of Dibrugarh University, Assam, India. *Journal of Life Sciences*. V. 20 (2022): pp. 29-43.
29. Penev L., Noemelä J., Kotze D.J., Chipev N., Eds. *Ecology of the city of Sofia: species and communities in an urban environment*. Sofia-Moscow, Pensoft, 2004. 456 p.
30. Hajariyah H., Nismah N., Gina D.P., Mohammad K. Diversity and abundance of spiders (Arachnida) in Liwa Botanical Garden. *Journal Ilmiah Biologi Eksperimen dan Keanekaragaman Hayati*. No 7 (2020): pp. 9-18.
31. Hammer Ø., Harper D.A.T., Ryan P.D. PAST: Paleontological statistics software package for education and data analysis. *Palaeontologia Electronica*. V. 4, No 1 (2001): pp. 1-9.
32. Hnykin A.S., Ivantsova E.A. Biological diversity of the spiders herpetobiont population of degraded biotopes in Volgograd City and its surroundings. *Vestnik Nižnevartovskogo gosudarstvennogo universiteta*. Iss. 2 (2021): pp. 63-69.
33. Krumpalova Z., Ondrejková N., Porhajašová J., Petrovičová K., Langraf V. Ground-dwelling spiders in diverse mosaic of garden habitats. *Applied Ecology and Environmental Research*. V. 19, No 3 (2021): pp. 1703-1717.
34. Lövei G.L., Horváth L., Elek Z., Magura T. Diversity and assemblage filtering in ground-dwelling spiders (Araneae) along an urbanisation gradient in Denmark. *Urban Ecosystems*. V. 22 (2019): pp. 345-353.
35. Lowe E.C., Threlfall C.G., Wilder S.M., Hochuli D.F. Environmental drivers of spider community composition at multiple scales along an urban gradient. *Biodiversity and Conservation*. V. 27 (2018): pp. 829-852.
36. Magura T., Horváth R., Tothmeresz B. Effects of urbanization on ground-dwelling spiders in forest patches, in Hungary. *Landscape Ecology*. V. 25 (2010): pp. 621-629.
37. Moorhead L.C., Philpott S.M. Richness and composition of spiders in urban green spaces in Toledo, Ohio. *The Journal of Arachnology*. V. 41, No 3 (2013): pp. 356-363.
38. Otoshi M.D., Bichier P., Philpott S.M. Local and landscape Correlates of Spider Activity Density and Species Richness in Urban Gardens. *Environmental Entomology*. V. 44, No 4 (2015): pp. 1043-1051.

39. Trigos-Peral G., Rutkowski T., Witek M., Ślipiński P., Babik H., Czechowski W. Three categories of urban green areas and the effect of their different management on the communities of ants, spiders and harvestmen. *Urban Ecosystems*. V. 23 (2020): pp. 803-818.

40. Varet M., Pe'tillon J., Burel F. Comparative responses of spider and carabid beetle assemblages along an urban-rural boundary gradient. *The Journal of Arachnology*. V. 39 (2011): pp. 236-243.

Статья поступила в редакцию 03.10.2022; одобрена после рецензирования 26.10.2022; принята к публикации 29.11.2022.

The article was submitted 03.10.2022; approved after reviewing 26.10.2022; accepted for publication 29.11.2022.

Информация об авторах

С. Л. Есюнин – д-р биол. наук, доцент, профессор кафедры зоологии беспозвоночных и водной экологии;

Е. В. Плакхина – аспирант кафедры зоологии беспозвоночных и водной экологии.

Information about the authors

S. L. Esyunin – Doctor of Biology, Associate Professor, Professor Department of Invertebrate Zoology and Aquatic Ecology;

E. V. Plakkhina – post-graduate student of the Department of Invertebrate Zoology and Aquatic Ecology.

Вклад авторов:

Есюнин С. Л. – концепция исследования, оформление текста, сбор и обработка полевого материала.

Плакхина Е. В. – изучение литературных источников, оформление таблиц, рисунков и первого варианта текста, сбор и обработка полевого материала.

Contribution of the authors:

Esyunin S. L. – research concept, text design, collection and processing of field material.

Plakkhina E. V. – study of literary sources, design of tables, figures and the first version of the text, collection and processing of field material.

МИКРОБИОЛОГИЯ

Научная статья

УДК 579.843.1:612.017.4:57.083.3

doi: 10.17072/1994-9952-2022-4-280-287

Твердофазный иммуноферментный анализ (прямой вариант) для выявления токсигенных холерных вибрионов O1, O139 серогрупп

Л. П. Алексеева¹, О. А. Якушева², В. В. Евдокимова³, М. Э. Яговкин⁴,
В. П. Зюзина⁵

¹⁻⁵Ростовский-на-Дону противочумный институт, г. Ростов-на-Дону, Россия

Авторы, ответственные за переписку: Ольга Александровна Якушева, yakusheva_oa@antiplague.ru и
Вероника Вячеславовна Евдокимова, Evdokimova_vv@antiplague.ru

Аннотация. В результате проведённых исследований оптимизирован метод прямого твёрдофазного иммуноферментного анализа (ТИФА) для выявления токсигенных штаммов холерных вибрионов O1, O139 серогрупп на основе моноклональных и поликлональных антитоксических иммуноглобулиновых пероксидазных конъюгатов. Установлены оптимальные параметры его постановки: сенсibilизация планшета токсинсодержащими препаратами, разведёнными в фосфатно-солевом буфере (ФСБ) pH 7.4 до титра 1:2–1:4, их адсорбция на твёрдой фазе планшета в течение 2 ч. при 37°C, блокировка свободных сайтов связывания 1%-ным раствором бычьего сывороточного альбумина (БСА) – 30 мин. (37°C), время контакта исследуемого образца с моно- или поликлональным пероксидазными конъюгатами – 30 мин. (37°C). Испытания на гомологичных и гетерологичных штаммах показали высокую специфичность иммуноферментного анализа и возможность его использования для обнаружения токсигенных холерных вибрионов.

Ключевые слова: холерный токсин, поликлональный и моноклональный пероксидазные конъюгаты, иммуноферментный анализ, лабораторная диагностика холеры

Для цитирования: Твердофазный иммуноферментный анализ (прямой вариант) для выявления токсигенных холерных вибрионов O1, O139 серогрупп / Л. П. Алексеева, О. А. Якушева, В. В. Евдокимова, М. Э. Яговкин, В. П. Зюзина // Вестник Пермского университета. Сер. Биология. 2022. Вып. 4. С. 280–287. <http://dx.doi.org/10.17072/1994-9952-2022-4-280-287>.

MICROBIOLOGY

Original article

Solid-phase enzyme-linked immunosorbent assay (direct option) for detecting toxigenic vibrio cholerae serogroups O1 and O139

L. P. Alekseeva¹, O. A. Yakusheva², V. V. Evdokimova³, M. E. Yagovkin⁴,
V. P. Zyuzina⁵

¹⁻⁵Rostov-on-Don Anti-Plague Institute, Rostov-on-Don, Russia

Corresponding authors: Olga A. Yakusheva, yakusheva_oa@antiplague.ru, and Veronika V. Evdokimova, Evdokimova_vv@antiplague.ru

Abstract. As a result of the studies, the method of direct solid-phase enzyme immunoassay (ELISA test) was optimized for detecting toxigenic strains of *Vibrio cholerae* O1 and O139 serogroups based on monoclonal and polyclonal antitoxic immunoglobulin peroxidase conjugates. The study detected the following optimal parameters for the analysis: sensitization of a tablet by toxicodermis drugs diluted in phosphate-saline buffer (PBS) pH 7.4, up to titers of 1:2–1:4, their adsorption on the solid phase of the tablet for 2 hours at 37° C, blocking of free binding sites by the 1% solution of bovine serum albumin (BSA) for 30 minutes (at 37°C); contact time of the investigated sample with mono- or polyclonal conjugates peroxidase - 30 minutes (at 37°C). Tests on homologous and heterologous strains showed a high specificity of the enzyme immunoassay and the possibility of its use for detecting toxigenic *Vibrio cholerae*.

Keywords: cholera toxin; polyclonal and monoclonal peroxidase conjugates; enzyme immunoassay; laboratory diagnosis of cholera

For citation: Alekseeva L. P., Yakusheva O. A., Evdokimova V. V., Yagovkin M. E., Zyuzina V. P. [Solid-phase enzyme-linked immunosorbent assay (direct option) for detecting toxigenic vibrio cholerae serogroups O1 and O139]. *Bulletin of the Perm University. Biology*. Iss. 4 (2022): pp. 280-287. (In Russ.). <http://dx.doi.org/10.17072/1994-9952-2022-4-280-287>.

Введение

В настоящее время в лабораторной практике для оценки токсигенности холерных вибрионов O1, O139 серогрупп и эпидемической значимости выделенных штаммов широко используются молекулярно-генетические методы [Mehrabadi et al., 2012; Jin et al., 2013; Greig et al., 2018; Hossain et al., 2018]. Однако определение генов, кодирующих синтез холерного токсина (ХТ), не всегда указывает на наличие экспрессии самого токсина. Кроме того, в ряде ситуаций прямое выявление токсина остаётся предпочтительным, поскольку отмечен высокий уровень мутаций в локусе *ctx*, которые могут приводить к ложно-отрицательным результатам [Ahn-Yoon et al., 2003; Tuteja et al., 2007; Петрова и др., 2009; Алексеева и др., 2019; Bayat et al., 2019]. В связи с этим одновременно используются и иммунологические методы с высокой чувствительностью и специфичностью, так как штаммы холерных вибрионов Эль Тор и серогруппы O139 отличаются низким уровнем продукции токсина *in vitro* [Shlyapnikov et al., 2012; Meza-Lucas et al., 2016]. В последние годы отечественными специалистами зарегистрированы две тест-системы: иммунохроматографическая «Тест-полоска *Vibrio cholerae* tox⁺» [Баранова и др., 2020] и сэндвич-вариант «Тест-система ИФА для определения продукции ХТ штаммами *V. cholerae*» [Михеева и др., 2014.]. Однако некоторые параметры первой тест-системы, несмотря на экспрессность и простоту постановки, не в полной мере отвечают диагностическим требованиям по чувствительности, вторая отличается многостадийностью, многокомпонентностью, многократной отмывкой планшета, необходимостью приборного оснащения. В связи с этим остаётся актуальной проблема совершенствования и разработки новых, чувствительных и специфических диагностических средств, особенно предполагающих экспресс-тестирование. Нами в рамках плановой темы были разработаны иммуноглобулиновые пероксидазные конъюгаты на основе антитоксических моно- и поликлональных антител, которые можно использовать в прямом варианте твёрдофазного иммуноферментного анализа (ТИФА) для определения продукции ХТ штаммами *V. cholerae* O1, O139 серогрупп, что позволяет предложить ТИФА в качестве дополнительного или альтернативного теста [Якушева и др., 2020].

Цель настоящей работы – оптимизация условий постановки прямого варианта твёрдофазного иммуноферментного анализа на полистироловых планшетах с помощью моно- и поликлональных пероксидазных конъюгатов, предназначенных для выявления токсигенных штаммов холерных вибрионов O1, O139 серогрупп.

Материалы и методы исследований

В работе использовали бактериальные штаммы из коллекции Музея живых культур с центром патогенных для человека вибрионов ФКУЗ Ростовский-на-Дону противочумный институт Роспотребнадзора (табл. 1).

В качестве источника токсина использовали супернатанты токсигенных штаммов. Разведения токсина и токсинсодержащих образцов готовили в буферных растворах – 0.01 М карбонат-бикарбонатном (КББ), рН 9.5; 0.01 М фосфатно-солевом (ФСБ), рН 7.4.

Положительным контролем служил препарат очищенного ХТ 0.05 мкг/мл [Алексеева и др., 2019], отрицательным – среда АК1.

Постановку ТИФА осуществляли следующим образом: в 96-луночные полистироловые планшеты последовательно вносили: исследуемый образец + моно- или поликлональный пероксидазный конъюгат + субстратная смесь + стоп-реагент [Егоров, 1991; Crowther, 2009]. Работу проводили, используя планшеты различных производителей: «Медполимер» (РФ), «Nunc» (Дания), «Costar» (USA). После каждого этапа следовала процедура отмывания планшета от несвязавшихся компонентов реакции.

Выявление холерного токсина в супернатантах (СН) токсигенных штаммов холерных вибрионов осуществляли с помощью моно- и поликлональных пероксидазных конъюгатов, полученных в ФКУЗ Ростовского-на-Дону противочумного института Роспотребнадзора. Все штаммы выращены в среде АК1 по стандартному методу M. Iwanaga [Iwanaga, Kuyukanond, 1987]. Бактерии подращивали в пробирках (высота 150 мм; диаметр 15 мм) в среде АК1 в течение 4 ч. при 37°C. Культуру переносили в колбы Эрленмейера в дозе 2×10^7 м.к./мл, соблюдая соотношение один объем бульона АК1 на 10 объемов колбы. Последующее культивирование проводили при интенсивном встряхивании на термостатируемом шуттель-аппарате «Environmental Shaker-Incubator» ES-20/60 при 120 об./мин в течение 20 ч. при 37°C. Бактериальную массу обеззараживали мертиолятом натрия (1:10000), выдерживали 1 сут. в холодильнике, после чего делали трехкратные высевы на специфическую стерильность. Обеззараженные микробные

клетки осаждали центрифугированием в течение 10 мин. при 8000 об./мин. Экспериментальная работа проводилась с учетом требований санитарных правил СП 3.3686-21 «Санитарно-эпидемиологические требования по профилактике инфекционных болезней», СП 1.3.2322-2008 «Безопасность работы с микроорганизмами III и IV групп патогенности (опасности) и возбудителями паразитарных болезней».

Таблица 1

Штаммы холерных вибрионов O1 и O139 серогрупп, использованные в работе
[Strains of *V. cholerae* O1 and O139 serogroups used in this study]

Штаммы	Генотип	Источник выделения	Год выделения	Место выделения
<i>Vibrio cholerae</i> O1 серогруппы классического биовара				
569B	<i>ctxAB1+</i> , <i>tcpA+</i>	человек	1950	Индия
500	<i>ctxAB1+</i> , <i>tcpA+</i>	-	1968	Пакистан
1763	<i>ctxAB1+</i> , <i>tcpA+</i>	человек	1947	Индокитай
<i>Vibrio cholerae</i> O1 серогруппы Эль Тор биовара				
1310	<i>ctxAB3+</i> , <i>tcpA+</i>	человек	1966	Ирак, г. Багдад
3119	<i>ctxAB3+</i> , <i>tcpA+</i>	человек	1970	г. Одесса
5879	<i>ctxAB3+</i> , <i>tcpA+</i>	человек	1972	г. Таганрог
12214	<i>ctxAB3+</i> , <i>tcpA+</i>	человек	1976	н/д
13020	<i>ctxAB3+</i> , <i>tcpA+</i>	человек	1986	г. Азов
14383	<i>ctxAB3+</i> , <i>tcpA+</i>	человек	1990	Ростовская обл. х. Колузаево
14455	<i>ctxAB3+</i> , <i>tcpA+</i>	человек	1990	г. Ставрополь
14460	<i>ctxAB3+</i> , <i>tcpA+</i>	человек	1990	г. Ставрополь
14464	<i>ctxAB3+</i> , <i>tcpA+</i>	человек	1990	г. Ставрополь
<i>Vibrio cholerae</i> O1 серогруппы Эль Тор биовара (геноварианты)				
17917	<i>ctxAB1+</i> , <i>tcpA+</i>	вода	1999	вода
19667	<i>ctxAB7+</i> , <i>tcpA+</i>	человек	2014	г. Москва
<i>Vibrio cholerae</i> O139 серогруппы				
16070	<i>ctxAB+</i> , <i>tcpA+</i>	н/д	н/д	Индия
16063	<i>ctxAB+</i> , <i>tcpA+</i>	человек	1993	Ростовская обл. г. Азов
16064	<i>ctxAB+</i> , <i>tcpA+</i>	человек	1993	Ростовская обл. г. Азов
<i>Vibrio cholerae</i> O1 серогруппы Эль Тор биовара				
19766	<i>ctxAB-</i> , <i>tcpA-</i>	вода	2015	г. Элиста, пруд Заячий
19778	<i>ctxAB-</i> , <i>tcpA-</i>	вода	2015	Иркутская обл. р. Ангара
19791	<i>ctxAB-</i> , <i>tcpA-</i>	вода	2015	Краснодарский край, р. Агура
19813	<i>ctxAB-</i> , <i>tcpA-</i>	человек	1998	г. Мариуполь
19875	<i>ctxAB-</i> , <i>tcpA-</i>	вода	2015	г. Элиста, пруд Заячий
<i>Vibrio cholerae</i> O139 серогруппы				
17675	<i>ctxAB-</i> , <i>tcpA-</i>	вода	1997	г. Москва, р. Москва
17677	<i>ctxAB-</i> , <i>tcpA-</i>	вода	1997	г. Москва, р. Москва
17678	<i>ctxAB-</i> , <i>tcpA-</i>	вода	1997	г. Москва, р. Москва
Гетерологичные микроорганизмы				
<i>Escherichia coli</i> 1961		н/д	1965	н/д
<i>Escherichia coli</i> 1962		н/д	1965	н/д
<i>Aeromonas hydrophila</i> P-143		вода	1944	г. Ростов-на-Дону, р. Дон
<i>Aeromonas hydrophila</i> P-1269		вода	1959	г. Санкт-Петербург, р. Нева
<i>Salmonella typhimurium</i> 1288		н/д	1960	г. Лондон
<i>Salmonella typhimurium</i> 4446		н/д	н/д	г. Лондон

Примечание: н/д – нет данных.

Оценивали эффективность 3-температурных режимов для адсорбции токсинсодержащих препаратов на твердой фазе полистироловых планшетов: 1) 2 ч. в термостате (37°C); 2) 2 ч. в термостате (37°C) и 18–20 ч. при температуре 4°C; 3) 18–20 ч. (4°C).

Процедуру блокирования свободной от иммунореагентов поверхности полистироловых планшетов проводили в течение 30 мин. (37°C) с применением в качестве блокирующего агента бычьего сывороточного альбумина в концентрациях 0,5, 1 и 2%; эмбриональной 5%-ной телячьей сыворотки; 1%-ного сухого обезжиренного молока.

Контакт ХТ с конъюгатами осуществляли в течение 30, 45, 60 мин. с целью определения оптимального времени инкубации.

Для разведения конъюгата использовали 0,01М ФСБ с добавлением 0,05%-ного Твин-20 (рН 7,4). Реакцию проявляли свежеприготовленным субстратным раствором ТМБ (3,3'.5,5'-тетраметилбензидин) в течение 25 мин., после её остановки 2 М серной кислотой измеряли значения оптической плотности. Результаты ИФА регистрировали с помощью спектрофотометра «Bio Tek EL 800» (Bio Tek Instruments, США) при длине волны 450 нм (референс-волна 630 нм). Все исследования проводили не менее чем в трех повторностях.

При анализе результатов были использованы статистические методы ($p < 0.05$). Все исследования осуществлялись в трех повторностях [Ашмарин, Воробьев, 1962].

Результаты и их обсуждение

Своевременная и достоверная характеристика свойств штаммов холерных вибрионов, выделенных от людей и из объектов окружающей среды, является важным моментом при определении тактики противоэпидемических мероприятий. Однако решающее значение приобретает получение информации о способности конкретных штаммов продуцировать холерный энтеротоксин и, следовательно, вызывать холерогенный синдром у чувствительного хозяина. В экспериментах использовали антитоксические моно- и поликлональные пероксидазные конъюгаты, предназначенные для детекции токсигенных штаммов холерных вибрионов O1 и O139 серогруппы в прямом варианте планшетного ИФА.

На первом этапе оптимизации условий постановки ТИФА были приняты во внимание сорбционные свойства твёрдой фазы, в качестве которой использовались 96-луночные планшеты для ИФА. С этой целью препараты очищенного ХТ титровали в планшетах различных производителей. Судя по показателям оптической плотности (ОП) в отношении ХТ, равном 1.505 ± 0.018 , максимальной сорбционной способностью обладали планшеты фирмы «Costar», тогда как планшеты фирм «Медполимер» и «Nunc» имели ОП 0.801 ± 0.002 и 1.207 ± 0.021 соответственно. В итоге установлено, что предпочтительнее использование планшетов фирмы «Costar». Планшеты других производителей обладали меньшей сорбционной способностью и однородностью сорбции. В связи с этим для работы выбраны планшеты «Costar», позволяющие достигать более высокой чувствительности и стандартности анализа.

Чувствительность, точность, воспроизводимость являются основными параметрами иммуоферментного анализа, которые могут существенно изменяться при вариации условий эксперимента (температура, ионная сила, pH реакционной среды, концентрационные соотношения компонентов и продолжительность их взаимодействия). Это определяет необходимость оптимизации каждой стадии анализа, для чего используют эмпирический подбор параметров в постановке ТИФА [Курчева и др., 2016].

Первоначально установили оптимальную сенсибилизирующую дозу токсинсодержащих образцов на твёрдой фазе планшета и буферный раствор для их разведения и адсорбции. Испытуемые препараты разводили в КББ pH 9.6 или ФСБ pH 7.4, начиная с 1:2, поскольку неразведённые супернатанты наряду с токсином содержат широкий спектр биологически активных веществ, что может приводить к ложноположительным результатам, особенно в реакции с антитоксической поликлональной сывороткой. Наличие ХТ в составе СН выявляли с помощью моно- и поликлональных пероксидазных конъюгатов в прямом варианте ТИФА. Продemonстрировано (рис. 1), что применение ФСБ для разведения испытуемых образцов более предпочтительно, так как обеспечивает эффективную адсорбцию токсина на поверхности полистироловых планшетов, и тому подтверждение высокие показатели ОП в реакции с моно- и поликлональными конъюгатами по сравнению с КББ.

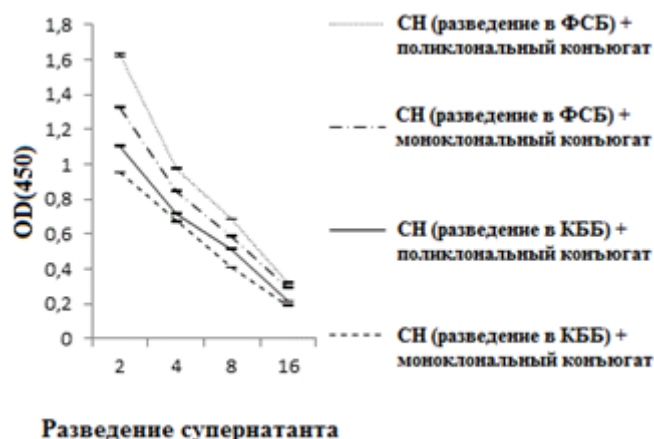


Рис. 1. Определение оптимальных разведений супернатанта штамма *V. cholerae* El Tor ctx+.

По горизонтали: обратное значение титра супернатанта штамма *V. cholerae* El Tor 19167; по вертикали: средние значения оптических плотностей в ТИФА

[Determination of optimal dilutions of *V. cholerae* El Tor ctx+ strain supernatant.

Horizontal: inverse titer value of the supernatant of *V. cholerae* El Tor 19167 strain; vertical: average optical densities in ELISA test]

Определение оптимального разведения супернатантов показало, что оно находится в пределах 1:2–1:4, поскольку именно в этом диапазоне регистрируются максимальные значения ОП.

Интенсивность иммуноферментной реакции также существенно зависит от времени экспозиции для адсорбции токсина в лунках планшета и температуры, при которой она осуществляется. В наших экспериментах были испытаны три различных режима, указанных в «Материалах и методах исследований».

Анализ полученных результатов (рис. 2) позволил установить, что оптимальным для сенсibilизации в лунках планшета токсинсодержащих образцов является режим 2 ч. и температура 37°C, в то время как при выдержке в течение 18–20 ч. в условиях холодильника и 2 ч. в термостате (37°C) адсорбционная способность несколько ниже. Менее эффективной является сенсibilизация СН, если она длится 18 ч. только при 4°C.

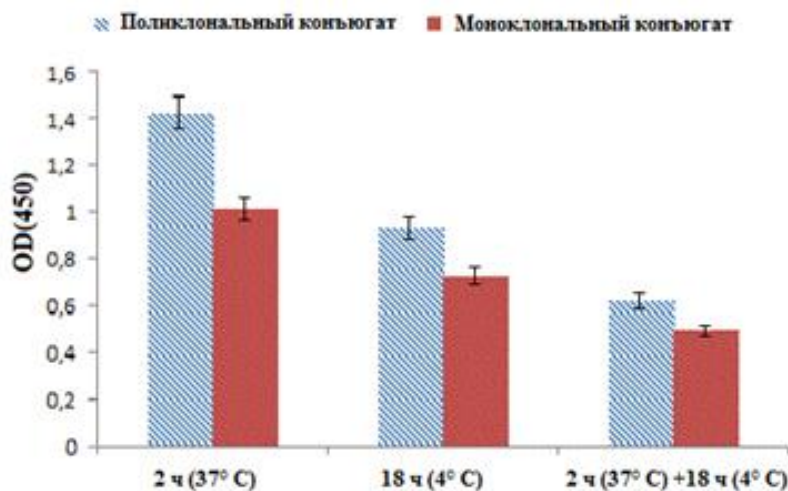


Рис. 2. Определение оптимальных условий сенсibilизации супернатантов токсигенных холерных вибрионов в планшетном варианте ТИФА.

По горизонтали: время и температура экспозиции адсорбции токсина в лунках планшета; по вертикали: средние значения оптических плотностей в ТИФА

[Determination of optimal conditions for sensitization of supernatants of toxigenic cholerae vibrio in the ELISA plate version.

Horizontal: time and temperature of toxin adsorption exposure in the wells of the plate; vertical: mean values of optical densities in the ELISA test]

С целью снижения неспецифической реакции были проведены исследования по уменьшению фоновых «помех» при использовании различных концентраций 0,5, 1, 2% бычьего сывороточного альбумина (БСА), 5%-ной эмбриональной телячьей сыворотки, 1% сухого обезжиренного молока в фосфатно-солевом буфере pH 7.4. Результаты экспериментов показали, что блокирование свободных центров связывания на планшете целесообразно проводить 1%-ным раствором БСА в ФСБ pH 7.4, поскольку его использование уменьшало фоновые «помехи», при этом увеличение концентрации БСА не влияло на результаты.

Следующий этап наших исследований включал определение оптимального рабочего разведения полученных конъюгатов, дающих максимальную цветовую реакцию при внесении их в полистироловые планшеты. Рабочее разведение моноклонального пероксидазного конъюгата составило 1:32, а поликлонального – 1:64, чувствительность метода – 10 нг/мл ХТ [Якушева и др., 2020].

Для определения оптимальной продолжительности инкубации токсинсодержащих препаратов с конъюгатами в ТИФА оценивали интенсивность реакции в зависимости от времени экспозиции (30, 45, 60 мин.) при температуре 37°C. Полученные результаты свидетельствуют, что оптимальными условиями инкубирования пероксидазных конъюгатов с токсином на твердой фазе являются: время – 30 мин. и температура – 37°C, поскольку в этом диапазоне регистрировали увеличение ОП. Более продолжительное время инкубации конъюгатов с исследуемыми образцами увеличивало время постановки реакции и сопровождалось появлением фонового окрашивания.

Испытания оптимизированного ТИФА проводили согласно вышеописанным отработанным параметрам, результаты которого отражены в табл. 2.

Из данных таблицы следует, что используемые моно- и поликлональные пероксидазные конъюгаты специфичны, так как отсутствуют перекрестные реакции с нетоксигенными холерными вибрионами и представителями гетерологичных микроорганизмов. Согласно данным литературы, холерные вибрионы биовара Эль Тор, в отличие от генетически измененных вариантов, обладают низкой токсинопродуцирующей способностью [Шашкова и др., 2011]. В наших опытах при взаимодействии супернатантов с поли- и моноклональными конъюгатами зарегистрированы высокие значения ОП порядка $(1.522 \pm 0.021 - 1.812 \pm 0.010)$ в отношении геновариантов вибрионов биовара Эль Тор и *V. cholerae* Classical в сравнении с

положительным контролем (1.618 ± 0.013). В то же время типичные вибрионы продуцируют токсина в два-три раза меньше, что подтверждают показатели ОП, максимальное значение которых равняется 0.581 ± 0.026 .

Таблица 2

Результаты определения активности и специфичности моно- и поликлональных пероксидазных конъюгатов в прямом методе ТИФА

[Results of activity and specificity determination of mono- and polyclonal peroxidase conjugates in the direct method ELISA]

Штаммы	Кол-во штаммов	Оптическая плотность (ОП)	
		Поликлональный конъюгат	Моноклональный конъюгат
<i>Vibrio cholerae</i> O1 Classical ctx+	3	1.812 ± 0.010	1.407 ± 0.012
<i>Vibrio cholerae</i> O1 El Tor ctx+	2	1.522 ± 0.021	1.204 ± 0.007
<i>Vibrio cholerae</i> O1 El Tor ctx+	9	0.581 ± 0.026	0.508 ± 0.011
<i>Vibrio cholerae</i> O1 El Tor ctx-	5	0.102 ± 0.004	0.108 ± 0.005
<i>Vibrio cholerae</i> O139 ctx+	3	0.494 ± 0.007	0.416 ± 0.003
<i>Escherichia coli</i>	2	0.114 ± 0.004	0.113 ± 0.005
<i>Aeromonas hydrophila</i>	2	0.112 ± 0.002	0.104 ± 0.004
<i>Salmonella typhimurium</i>	2	0.116 ± 0.005	0.116 ± 0.004
Положительный контроль ХТ 0,05 мкг/мл		1.618 ± 0.013	0.116 ± 0.004
Отрицательный контроль среда АК1		0.090 ± 0.009	0.087 ± 0.003

Примечание. В таблице представлены средние значения оптических плотностей (ОП) и стандартное отклонение.

Заключение

Установлены оптимальные параметры и условия постановки прямого варианта ТИФА: сенсibilизация планшета токсинсодержащими препаратами, разведёнными в ФСБ pH 7.4 до 1:2–1:4, блокирование свободных сайтов связывания 1%-ным раствором БСА в ФСБ, время экспозиции опытных образцов с полистиролом планшета – 2 ч. (37°C), рабочее разведение конъюгатов 1:32–1:64, время инкубирования конъюгатов с ХТ на твёрдой фазе – 30 мин. при 37°C.

В итоговых испытаниях на штаммах установлена высокая специфичность и чувствительность тест-системы, что свидетельствует о возможности её использования для обнаружения токсигенных штаммов холерных вибрионов O1, O139 в качестве альтернативы сэндвич-варианту GM₁ИФА.

Список источников

1. Алексеева Л.П. и др. Современные методические приемы очистки холерного токсина // Вестник биотехнологии и физико-химической биологии им. Ю.А. Овчинникова. 2019. Т. 15, № 1. С. 5–9.
2. Ашмарин И.П. Воробьев А.А. Статистические методы в микробиологических исследованиях. Л.: Медгиз, 1962. 180 с.
3. Баранова Е.В. и др. Конструирование иммунохроматографического теста на основе моноклональных антител для выявления холерного токсина // Вестник биотехнологии и физико-химической биологии имени Ю.А. Овчинникова. 2020. Т. 16, № 2. С. 18–27.
4. Егоров А.М. Теория и практика иммуноферментного анализа. М.: Высш. шк., 1991. 288 с.
5. Курчева С.А. и др. Разработка диагностической тест-системы для выявления специфических антигенов к возбудителю бруцеллеза в непрямом методе иммуноферментного анализа // Современные проблемы науки и образования. 2016. № 2. URL: <http://www.science-education.ru/ru/article/view?id=24244>.
6. Михеева Е.А. и др. Получение и характеристика антителопродуцирующих гибридом и моноклональных иммуноглобулинов к энтеротоксину *Vibrio cholerae* // Биотехнология. 2014. Т. 30, № 3. С. 49–54.
7. Петрова Е.Э. и др. Получение и характеристика моноклональных антител к холерному токсину // Биоорганическая химия. 2009. Т. 35, № 3. С. 357–367.
8. Шашкова А.В. и др. Фенотипический и молекулярно-генетический анализ генетически измененного токсигенного штамма *V. cholerae* 301 биовара Эль Тор, изолированного в 2011 г. в России // Проблемы особо опасных инфекций. 2011. № 14. С. 61–64.
9. Якушева О.А. и др. Характеристика и оценка диагностической значимости поли- и моноклональных пероксидазных конъюгатов к холерному токсину // Вестник биотехнологии и физико-химической биологии им. Ю.А. Овчинникова. 2020. Т. 16, № 2. С. 37–43.
10. Ahn-Yoon S. et al. Ganglioside-liposome immunoassay for the ultrasensitive detection of cholera toxin // Analytical Chemistry. 2003. Vol. 75, № 10. P. 2256–2261. doi: 10.1021/ac026428t.
11. Bayat M. et al. Corrigendum to "Development of IgY-Based Sandwich ELISA as a Robust Tool for Rapid Detection and Discrimination of Toxigenic *Vibrio cholera* // Canadian Journal of Infectious Diseases and

Medical Microbiology. 2019. doi: 10.1155/2019/4164982.

12. Crowther John R. Molecular Biology Techniques, ELISA Guide. Second edition. Humana Press, part of Springer Science + Business Media, LLC 2009.

13. Greig D.R. et al. A real-time multiplex PCR for the identification and typing of *Vibrio cholerae* // Diagnostic Microbiology and Infectious Disease. 2018. Vol. 90, № 3. P. 171–176. doi: 10.1016/j.diagmicrobio.

14. Hossain Z.Z. et al. Quantitative Analysis of Nucleic Acid Extraction Methods for *Vibrio cholerae* Using Real-time PCR and Conventional PCR // Mymensingh Medical Journal. 2018. Vol. 27, № 2. P. 327–335.

15. Iwanaga M., Kuyyakanond T. Large production of cholera toxin by *Vibrio cholerae* O1 in yeast extract peptone water // Journal of Clinical Microbiology. 1987. Vol. 25, № 1. P. 2314–2316.

16. Jin D. et al. Quantitative detection of *Vibrio cholera* toxin by real-time and dynamic cytotoxicity monitoring // Journal of Clinical Microbiology. 2013. Vol. 51, № 12. P. 3968–3974. doi: 10.1128/JCM.01959-13.

17. Mehrabadi J.F. et al. Detection of toxigenic *Vibrio cholerae* with new multiplex PCR // Journal of Infection and Public Health. 2012. Vol. 5, № 3. P. 263–267. doi: 10.1016/j.jiph.2012.02.004.

18. Meza-Lucas A. et al. Comparison of DOT-ELISA and Standard-ELISA for Detection of the *Vibrio cholerae* Toxin in Culture Supernatants of Bacteria Isolated from Human and Environmental Samples // Indian Journal of Microbiology. 2016. Vol. 56, № 3. P. 379–382. doi: 10.1007/s12088-016-0596-2.

19. Shlyapnikov Y.M. et al. Rapid simultaneous ultrasensitive immunodetection of five bacterial toxins. // Analytical Chemistry. 2012. Vol. 84, № 13. P. 5596–6603. doi: 10.1021/ac300567f.

20. Tuteja U. et al. Simultaneous direct detection of toxigenic and non-toxigenic *Vibrio cholerae* from rectal swabs and environmental samples by sandwich ELISA // Journal of Medical Microbiology. 2007. Vol. 56, № 10. P. 1340–1345. doi: 10.1099 / jmm.0.47166-0.

References

1. Alekseeva L.P., Yakusheva O.A., Zyuzina V.P., Duvanov O.V., Shipko E.S., Pisanov R.V. [Modern methodological methods of cholera toxin purification]. *Vestnik biotehnologii i fiziko-chimicheskoy biologii im. Yu.A. Ovčinnikova*. V. 15, No 1 (2019): pp. 5-9. (In Russ.).

2. Ashmarin I.P., Vorobiev A.A. *Statističeskie metody v mikrobiologicheskikh issledovaniyakh* [Statistical methods in microbiological research]. Leningrad, Medgiz Publ., 1962. 180 p. (In Russ.).

3. Baranova E.V., Vetchinin S.S., Shevyakov A.G., Soloviev P.V., Mironova L.V., Ponomareva A.S., Basso E.A., Khunkheeva J.Yu., Alekseeva L.P., Biketov S.F. [Construction of an immunochromatographic test based on monoclonal antibodies]. *Vestnik biotehnologii i fiziko-chimicheskoy biologii im. Yu.A. Ovčinnikova*. V. 16, No 2 (2020): pp. 18-27. (In Russ.).

4. Egorov A.M., Osipov B.B., Dzantiev E.M., Gavrilova A.P. *Teoriya i praktika immunofermentnogo analiza* [Theory and practice of enzyme immunoassay]. Moscow, Vysšaya škola Publ., 1991. 288 p. (In Russ.).

5. Kurcheva S.A., Tyumentseva I.S., Afanasyev E.N., Zhdanova E.V., Startseva O.L., Zharnikova I.V., Garkusha Yu.Yu., Semircheva A.A. [Development of a diagnostic test system for detecting specific antibodies to the pathogen of brucellosis in an indirect method of enzyme immunoassay]. *Sovremennye problemy nauki i obrazovaniya*. No 2 (2016). URL: <http://www.science-education.ru/ru/article/view?id=24244>. (In Russ.).

6. Mikheeva E.A., Devdariani Z.L., Osina N.A., Zakharova T.L. [Obtaining and characterization of antibody-producing hybridomas and monoclonal immunoglobulins to *Vibrio cholerae* enterotoxin]. *Biotehnologiya*. V. 30, No 3 (2014): pp. 49-54. (In Russ.).

7. Petrova E.E., Komaleva R.L., Lakhtina O.E., Samokhvalova L.V., Kalinina N.A., Shoshina N.S., Rubina A.Yu., Filippova M.A., Vertiev Yu.V., Valyakina T.I., Grishin E.V. [Obtaining and characterization of monoclonal antibodies to cholera toxin]. *Bioorganičeskaya chimija*. V. 35, No 3 (2009): pp. 357-367. (In Russ.).

8. Shashkova A.V., Agafonov D.A., Cherkasov A.V., Zadnova S.P., Smirnova N.I. [Phenotypic and molecular genetic analysis of a genetically modified toxigenic strain of *V. cholerae* 301 biovar El Tor, isolated in 2011 in Russia]. *Problemy osobo opasnykh infekcij*. No 14 (2011): pp. 61-64. (In Russ.).

9. Yakusheva O.A., Alekseeva L.P., Zyuzina V.P., Arkhangelskaya I.V., Yagovkin M.E. [Characterization and assessment of the diagnostic significance of poly and monoclonal peroxidase conjugates to cholera toxin]. *Vestnik biotehnologii i fiziko-chimicheskoy biologii im. Yu.A. Ovčinnikova*. V. 16, No 2 (2020): pp. 37-43. (In Russ.).

10. Ahn-Yoon S., DeCory T.R., Baeumner A.J., Durst R.A. Ganglioside-liposome immunoassay for the ultrasensitive detection of cholera toxin. *Analytical Chemistry*. V. 75, No 10 (2003): pp. 2256-2261. doi: 10.1021/ac026428t.

11. Bayat M., Khabiri A., Hemati B. Corrigendum to "Development of IgY-Based Sandwich ELISA as a Robust Tool for Rapid Detection and Discrimination of Toxigenic *Vibrio cholera*. *Canadian Journal of Infectious Diseases and Medical Microbiology*. (2019). doi: 10.1155/2019/4164982.

12. Crowther John R. Molecular Biology Techniques, ELISA Guide. Second edition. Humana Press, part of Springer Science + Business Media, LLC, 2009.

13. Greig D.R., Hickey T.J., Boxall M.D., Begum H., Gentle A., Jenkins C., Chattaway M.A. A real-time multiplex PCR for the identification and typing of *Vibrio cholera*. *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease*. V. 90, No 3 (2018): pp. 171-176. doi: 10.1016/j.diagmicrobio.
14. Hossain Z.Z., Ferdous J., Tulsiani S.M., Jensen P.M., Begum A. Quantitative Analysis of Nucleic Acid Extraction Methods for *Vibrio cholerae* Using Real-time PCR and Conventional PCR. *Mymensingh Medical Journal*. V. 27, No 2 (2018): pp. 327-335.
15. Iwanaga M., Kuyyakanond T. Large production of cholera toxin by *Vibrio cholerae* O1 in yeast extract peptone water. *Journal of Clinical Microbiology*. V. 25, No 1 (1987): pp. 2314-2316.
16. Jin D., Luo Y., Zheng M., Li H., Zhang J., Stampfl M., Xu X., Ding G., Zhang Y., Tang Yi-Wei. Quantitative detection of *Vibrio cholera* toxin by real-time and dynamic cytotoxicity monitoring. *Journal of Clinical Microbiology*. V. 51, No 12 (2013): pp. 3968-3974. doi: 10.1128/JCM.01959-13.
17. Mehrabadi J.F., Morsali P., Nejad H.R., Fooladi A.A.I. Detection of toxigenic *Vibrio cholerae* with new multiplex PCR. *Journal of Infection and Public Health*. V. 5, No 3 (2012): pp. 263-267. doi: 10.1016/j.jiph.2012.02.004.
18. Meza-Lucas A., Pérez-Villagómez M., Martínez-López J., García-Rodea R., Martínez-Castelán M., Escobar-Gutiérrez A., de-la-Rosa-Arana J., Villanueva-Zamudio A. Comparison of DOT-ELISA and Standard-ELISA for Detection of the *Vibrio cholerae* Toxin in Culture Supernatants of Bacteria Isolated from Human and Environmental Samples. *Indian Journal of Microbiology*. V. 56, No 3 (2016): pp. 379-382. doi: 10.1007/s12088-016-0596-2.
19. Shlyapnikov Y.M., Shlyapnikova E.A., Simonova M.A., Shepelyakovskaya A.O., Brovko F.A., Komaleva R.L., Grishin E.V., Morozov V.N. Rapid simultaneous ultrasensitive immunodetection of five bacterial toxins. *Analytical Chemistry*. V. 84, No 13 (2012): pp. 5596-6603. doi: 10.1021/ac300567f.
20. Tuteja U., Kumar S., Shukla J., Kingston J., Batra H.V. Simultaneous direct detection of toxigenic and non-toxigenic *Vibrio cholerae* from rectal swabs and environmental samples by sandwich ELISA. *Journal of Medical Microbiology*. V. 56, No 10 (2007): pp. 1340-1345. DOI: 10.1099 / jmm.0.47166-0.

Статья поступила в редакцию 23.05.2022; одобрена после рецензирования 15.09.2022; принята к публикации 29.11.2022.

The article was submitted 23.05.2022; approved after reviewing 15.09.2022; accepted for publication 29.11.2022.

Информация об авторах

Людмила Павловна Алексеева – lpalekseeva@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0002-9866-3579>, д-р биол. наук, профессор;

Ольга Александровна Якушева – yakusheva_oa@antiplague.ru, <https://orcid.org/0000-0001-8159-7547>, науч. сотрудник;

Вероника Вячеславовна Евдокимова – evdokimova_vv@antiplague.ru, <https://orcid.org/0000-0001-5522-9097>, канд. биол. наук, науч. сотрудник;

Михаил Эдуардович Яговкин – yagovkin_me@antiplague.ru, <https://orcid.org/0000-0001-8414-4965>, науч. сотрудник;

Вера Павловна Зюзина – zyuzina_vp@antiplague.ru, <https://orcid.org/0000-0003-3100-0049>, канд. биол. наук, старший науч. сотрудник.

Information about the authors

Lyudmila P. Alekseeva – lpalekseeva@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0002-9866-3579>, doctor of biological sciences, professor;

Olga A. Yakusheva – yakusheva_oa@antiplague.ru, <https://orcid.org/0000-0001-8159-7547>, research associate;

Veronika V. Evdokimova – evdokimova_vv@antiplague.ru, <https://orcid.org/0000-0001-5522-9097>, candidate of biological sciences, researcher;

Mikhail E. Yagovkin – yagovkin_me@antiplague.ru, <https://orcid.org/0000-0001-8414-4965>, research associate;

Vera P. Zyuzina – zyuzina_vp@antiplague.ru, <https://orcid.org/0000-0003-3100-0049>, candidate of biological sciences, senior researcher.

Вклад авторов:

Алексеева Л. П. – научное руководство; концепция исследования; итоговые выводы.

Якушева О. А. – написание исходного текста; статистическая обработка материала.

Евдокимова В. В. – анализ данных; доработка текста; итоговые выводы.

Яговкин М. Э. – анализ и интерпретация результатов работы, критический пересмотр содержания.

Зюзина В. П. – анализ литературы, ответственность за все аспекты работы, надлежащее изучение и решение вопросов, связанных с достоверностью данных и целостностью всех частей статьи.

Contribution of the authors:

Alekseeva L. P. - scientific management; conceptual studies; capture results.

Yakusheva O. A. – writing the original text; statistical processing of the material.

Evdokimova V. V. – data analysis; text revision; survey results.

Yagovkin M. E. – analysis and interpretation of the results of the work, revision of the content.

Zyuzina V. P. – analysis of the literature, responsibility for all aspects of the work, proper study and solution of issues characterized by the availability of data and the presence of all parts of the article.

МИКРОБИОЛОГИЯ

Научная статья

УДК 579

doi: 10.17072/1994-9952-2022-4-288-293

**Результаты выявления поливирулентных штаммов бактерий
Lactobacillus spp. при ассоциативном взаимодействии
с простейшими *Blastocystis hominis in vivo***

**Юлия Юрьевна Красноперова^{1✉}, Севиндж Шахмирзаевна Мехманова²,
Екатерина Александровна Хуснатдинова³**

^{1✉} Ульяновский государственный педагогический университет им. И.Н. Ульянова, Ульяновск, Россия,
y.krasnoperova@rambler.ru, <https://orcid.org/0000-0002-0545-0065>

² Центр искусственного интеллекта МТС, Ульяновск, Россия, sevenchik11@mail.ru

³ Научный центр экспертизы средств медицинского применения, Москва, Россия, husnaka@mail.ru,
<https://orcid.org/0000-0001-8493-9688>

Аннотация. Выявлены поливирулентные штаммы бактерий *Lactobacillus* spp. при ассоциативном взаимодействии с простейшими *Blastocystis hominis in vivo*. Штаммы *Lactobacillus* spp. и *B. hominis* выделяли из фекалий 396 пациентов, проходивших анализ на кишечный дисбиоз. Идентификацию бактерий проводили с использованием микроскопического, бактериологического и паразитологического методов. В качестве контрольных использовали 112 эталонных штаммов лактобактерий NK1 и K3Ш24, депонированных в ВНИИ генетики и селекции промышленных микроорганизмов. Степень вирулентности простейших бластоцист определяли путем внутрибрюшинного введения белым мышам (массой 17.4±1.5 г) 0.5 мл взвеси культуры изучаемых микроорганизмов, полученной на питательной среде Suresh. В работе использовали праймеры к нескольким генам, определяющим способность к образованию фимбрий 1-го типа, S и P типа, бактериального адгезина интимина и гемолизина. Тестирование 396 штаммов *Lactobacillus* spp., изолированных из микросимбиотозов с *Blastocystis hominis* различной степени вирулентности показало, что динамика выявления генов патогенности у лактобактерий возрастала с усилением степени вирулентности простейших. Чаще всего в общем пуле штаммов лактобактерий искомые ампликоны выявлялись при использовании праймеров к *fimA* гену (до 67.9%). При ассоциативном взаимодействии с умеренно- и высоковирулентными бластоцистами выявлено усиление гетерогенности популяции лактобактерий, проявляющееся увеличением частоты обнаружения всех изученных генетических детерминант патогенности, по сравнению со штаммами *Lactobacillus* spp., выделенными из ассоциаций с авирулентными *B. hominis* и в контрольной группе.

Ключевые слова: генетические детерминанты патогенности, вирулентная экспрессия, *Blastocystis hominis*, ассоциативное взаимодействие, *Lactobacillus* spp., кишечный микросимбиотоз

Для цитирования: Красноперова Ю. Ю., Мехманова С. Ш., Хуснатдинова Е. А. Результаты выявления поливирулентных штаммов бактерий *Lactobacillus* spp. при ассоциативном взаимодействии с простейшими *Blastocystis hominis in vitro* // Вестник Пермского университета. Сер. Биология. 2022. Вып. 4. С. 288–293. <http://dx.doi.org/10.17072/1994-9952-2022-4-288-293>.

MICROBIOLOGY

Original article

Results of detection of poly-virulent bacterial strains *Lactobacillus* spp. during associative interaction with protozoa *Blastocystis hominis in vivo*

**Yulia Yu. Krasnoperova^{1✉}, Sevinj Sh. Mehmanova²,
Ekaterina A. Khusnutdinova³**

^{1 ✉} Ulyanovsk State Pedagogical University named after I.N. Ulyanov, Ulyanovsk e-mail: y.krasnoperova@rambler.ru, <https://orcid.org/0000-0002-0545-0065>

² Artificial Intelligence Center Limited Liability Company, Ulyanovsk, Russia, sevenchik11@mail.ru

³ Scientific Center for Examination of Medical Products, Moscow, Russia, husnaka@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0001-8493-9688>

Abstract. The identification of polyvirulent strains of *Lactobacillus* spp. bacteria with associative interaction with protozoa *Blastocystis hominis* in vivo was carried out. *Lactobacillus* spp. and *B. hominis* strains were obtained from the feces of 396 patients undergoing examination for intestinal dysbiosis. Identification was carried out using microscopic, bacteriological and parasitological methods. 112 reference strains of lactobacilli NK1 and K3SH24 deposited at the Institute of Genetics and Breeding of Industrial Microorganisms were used as control. The degree of virulence of the simplest blastocysts was determined by intraperitoneal administration to white mice (weighing 17.4±1.5 g) 0.5 ml of a culture suspension of the studied microorganisms grown on Suresh medium. Primers to several genes determining the ability to form type 1 fimbriae, type S and P fimbriae, bacterial adhesin intimin and hemolysin were used in the investigation. Testing of 396 *Lactobacillus* spp. strains isolated from microsymbiocoenoses with *Blastocystis hominis* of varying degrees of virulence showed that the dynamics of detection of pathogenicity genes in lactobacilli increased with an increase in the degree of virulence of protozoa. Most often, in the general pool of lactobacillus strains, the desired amplicons were detected using primers to the *fimA* gene (up to 67.9%). During associative interaction with moderately and highly virulent blastocysts, an increase in the heterogeneity of the lactobacillus population was revealed, manifested by an increase in the frequency of detection of all studied genetic determinants of pathogenicity, compared with *Lactobacillus* spp. strains isolated from associations with avirulent *B. hominis* and in the control group.

Keywords: genetic determinants of pathogenicity, virulent expression, *Blastocystis hominis*, associative interaction, *Lactobacillus* spp., intestinal microsymbiocoenosis

For citation: Krasnoperova Yu. Yu., Mehmanova S. Sh., Khusnutdinova E. A. [Results of detection of polyvirulent bacterial strains *Lactobacillus* spp. during associative interaction with protozoa *Blastocystis hominis* in vivo]. *Bulletin of the Perm University. Biology*. Iss. 4 (2022): pp. 288-293. (In Russ.). <http://dx.doi.org/10.17072/1994-9952-2022-4-288-3293>.

Введение

Литературные данные и результаты собственных исследований показали необходимость расширения границ понимания медико-биологической роли простейших, в том числе *Blastocystis hominis* [Бондаренко, Мавзютов, Голкочева, 2002]. Выявлена общая закономерность внутриклеточного существования бактерий в простейших, которая нашла отражение как в динамике численности бактериальной популяции, так и уровне их вирулентности [Литвин, 2003; Литвин, Пушкарева, Емельяненко, 2004].

В последние годы растет количество работ, регистрирующих участие лактобацилл в возникновении таких заболеваний человека, как кариес, ревматическое поражение сосудов, септицемия и инфекционный эндокардит [Зеленова и др., 2004; Соловьев, Большаков, Галецкий, 2016]. К нежелательным свойствам этих бактерий относят их способность вызывать агрегацию тромбоцитов человека и связываться с коллагеном, фибриногеном и фибронектином [Точилина и др., 2015]. Кроме того, нет объяснения и биологического значения способности этих микроорганизмов становиться грамотрицательными с возрастом и в условиях повышения кислотности среды [Яруллина, Фахруллин, 2014].

Многими авторами показана возможность горизонтального переноса плазмидных генов между популяциями разных видов и родов, однако вклад данных механизмов в развитие адаптивных способностей систематически неродственных бактерий остается до сих пор не изученным.

Интенсивное изучение на молекулярном уровне механизмов формирования новых генетических вариантов микроорганизмов при их ассоциативном взаимодействии, как части естественного отбора внутри микробных популяций, позволит объективно оценить значение различных микроорганизмов в поддержание гомеостаза, а также степень их вовлечения в патогенез заболеваний.

Цель настоящего исследования – анализ выявления поливирулентных штаммов бактерий *Lactobacillus* spp. при ассоциативном взаимодействии с простейшими *Blastocystis hominis* in vivo.

Материалы и методы исследований

В работе использованы микроскопический, культуральный и биологический методы, технология постановки полимеразной цепной реакции (ПЦР), а также корреляционный анализ полученных сведений по методу Пирсона и статистическая обработка данных. Штаммы бактерий *Lactobacillus* spp. и простейших *Blastocystis hominis* получали из фекалий 396 пациентов в возрасте от 20 до 60 лет, проходивших обследование на кишечный дисбиоз в условиях дневного стационара муниципального учреждения здравоохранения городской поликлиники № 5 г. Ульяновска.

В качестве контрольных использовали 112 эталонных штаммов лактобактерий NK1 и K3SH24, депонированных в ВНИИ генетики и селекции промышленных микроорганизмов.

Степень вирулентности простейших бластоцист определяли путем внутрибрюшинного введения белым мышам (массой 17.4±1.5 г) 0.5 мл взвеси культуры изучаемых микроорганизмов, выращенной на питательной среде Suresh [Suresh et al., 1993].

В работе применяли праймеры к нескольким генам, определяющим способность к образованию фимбрий 1-го типа, S и P типа, бактериального адгезина интимина и гемолизина. Праймеры синтезированы в НПФ “ДНКтехнология” (Россия). Выделение бактериальной ДНК проводили по методу [Boom et al., 1988]. Подбор праймеров и температуры отжига осуществляли при использовании пакета программ “Lasergene” (США). Регистрацию результатов ПЦР выполняли путем электрофоретического разделения продуктов амплификации на окрашенном бромистым этидием агарозном геле. Компьютерный анализ нуклеотидных последовательностей проводили с помощью компьютерной программы Vector NTI Suite (США).

Результаты и их обсуждение

Из микросимбиоза обследованных пациентов выделены бластоцисты, которые в результате использования метода внутрибрюшинного заражения мышей были разделены на три группы – авирулентные (73 штамма), умеренно- (189 штаммов) и высоковирулентные (134 штамма). По нашим данным, показатель LD₅₀/lg варьировал: у умеренновирulentных штаммов – в пределах от 3.1±0.6 до 4.3±0.5, высоковирулентных – 4.9±0.2 до 5.7±0.2. Авирулентные бластоцисты (73 культуры) гибель животных не вызывали.

Проведенный анализ на кишечный дисбиоз бактериоскопическим и бактериологическим методами показал, что при усилении вирулентности выявляемых бластоцист статистически достоверно снижалось количество лактобактерий со значения lg 9.3±0.5 КОЕ/г до lg 3.8±0.8 КОЕ/г ($p = 0.001$). Коэффициент корреляции составил $r = -0.8$. Противоположную направленность имела зависимость, демонстрирующая обсемененность кишечника микробами родов *Enterococcus*, *Clostridium*, *Staphylococcus* и *Candida* при увеличении вирулентности изолированных бластоцист *B. hominis*. Так, обсемененность кишечника микробами родов *Enterococcus*, *Clostridium*, *Staphylococcus* и *Candida* увеличилась до значений lg 8.1±0.3, 9.2±0.1, 6.2±0.3 и 5.7±0.2 КОЕ/г соответственно ($p = 0.001$). Коэффициенты корреляции составили $r = 0.7$, $r = 0.9$, $r = 0.8$ и $r = 0.8$ соответственно. При усилении вирулентности бластоцист статистически достоверно увеличивалось количество представителей *Proteus* и *Klebsiella* – до lg 5.1±0.1, 5.2±0.2 КОЕ/г соответственно ($p = 0.05$). Коэффициенты корреляции составили $r = 0.5$ и $r = 0.7$ соответственно. Изменение численности различных фенотипических групп бактерий *Escherichia coli* под влиянием бластоцист проходило в следующих направлениях. Количество лактозонегативных и гемолитических форм эшерихий увеличилось с 0 до lg 3.8±0.3, 5.4±0.1 КОЕ/г соответственно ($p = 0.001$). Коэффициент корреляции составил $r = 0.8$ и $r = 0.9$ соответственно.

По итогам тестирования штаммов *Lactobacillus* spp., выделенных из ассоциации с авирулентными бластоцистами, оказалось, что искомые ампликоны выявлялись только при использовании праймеров к *fimA*-гену (таблица). Частота встречаемости данного ампликона составила 19.1% (у эталонных штаммов – 0 %, $p = 0.001$). В данной фенотипической группе ни в одном случае не выявлены генетические детерминанты к другим генам.

В дальнейших исследованиях нами была изучена частота встречаемости нуклеотидных последовательностей генов, контролирующих синтез фимбрий P, S и 1-го типа, интимина и гемолизина у бактерий *Lactobacillus* spp., выделенных из ассоциации с умеренновирulentными бластоцистами (таблица). В общем пуле исследованных штаммов лактобацилл регистрировали наличие искомого ампликона ко всем изучаемым генам. Достоверно чаще других регистрировались генетические детерминанты, обеспечивающие синтез фимбрий 1- и S-типов: *fimA* – 59.8; *sfaA* – 21.5, *sfaG* – 19.6% соответственно ($p = 0.001$). Положительные результаты были зафиксированы и в отношении других изучаемых детерминант. Из 189 протестированных штаммов с праймерами к *hlyB* гену положительный сигнал получен только с 7 культурами (3.7%). В общем пуле контрольных штаммов положительные сигналы не выявлены.

Частота встречаемости нуклеотидных последовательностей генов вирулентности *Lactobacillus* spp. при ассоциативном взаимодействии с бластоцистами *B. hominis*

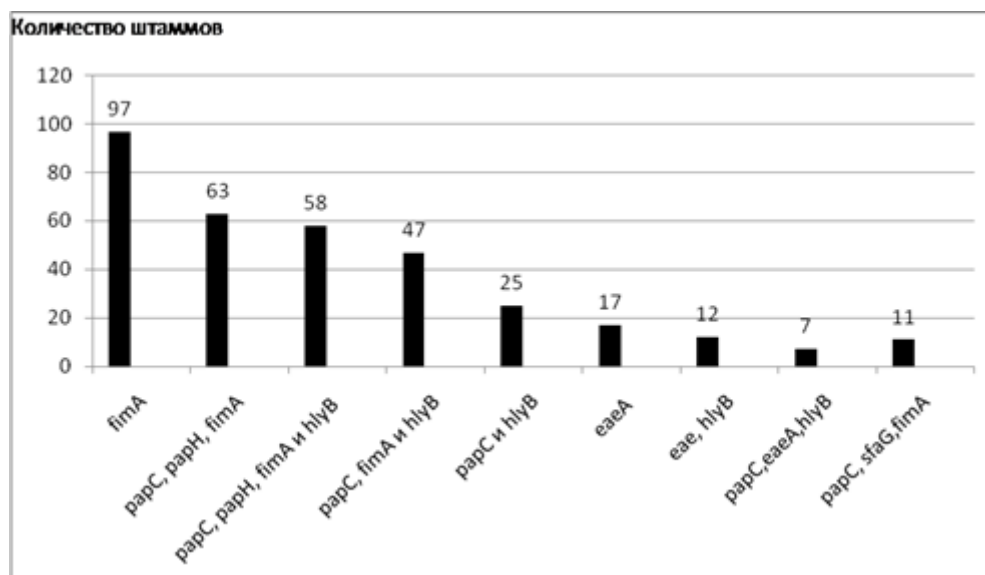
[Frequency of occurrence of nucleotide sequences of *Lactobacillus* spp. virulence genes in association with *B. hominis*]

Количество ассоциирующих бактерий	Частота встречаемости ампликонов, абс./%						
	<i>papH</i>	<i>papC</i>	<i>sfaG</i>	<i>sfaA</i>	<i>fimA</i>	<i>Eae</i>	<i>hlyB</i>
С авирулентными бластоцистами (n=73)	0	0	0	0	14/19.1 *	0	0
С умеренновирulentными бластоцистами (n=189)	12/6.3*	13/6.9*	37/19.6*	40/21.5*	113/59.8*	2/1.1	7/3.7*
С высоковирулентными бластоцистами (n=134)	15/11.2	17/12.7*	46/34.3*	43/32.1*	91/67.9*	14/7.4*	31/23.1*
Контрольные эталонные штаммы (n=112)	0	0	0	0	0	0	0

Примечание. * – $p = 0.001$.

При ассоциативном взаимодействии *in vivo* лактобактерий с высоковирулентными бластоцистами наблюдается увеличение частоты образования ампликонов генетических детерминант пилеобразования по сравнению с предыдущими группами в среднем в 2 раза, что можно рассматривать как стресс-индукцию адаптационных механизмов к выеданию хищниками-простейшими. Так, генетические детерминанты *fimA* выявлены у 91 штамма (67.9%); *sfaA* – 43 штаммов (32.1%), *sfaG* – 46 штаммов (34.3%); *papC* – 17 штаммов (12.7%); *papH* – 15 штаммов (12.7%) ($p=0.001$). Положительные результаты зафиксированы и в отношении других изучаемых детерминант. Из 134 протестированных штаммов с праймерами к *eaeA* гену положительный сигнал получен только с 14 культурами (7.4%). Динамика регистрации *hlyB* гена токсинообразования увеличилась в 4.4 раза (с 7 до 31 штамма).

Исследование формирования генетических комбинаций в геноме микроассоциантов *Lactobacillus* spp. (рисунок) во всех микросимбиозах показало статистически достоверное доминирование штаммов с геном *fimA* (218 штаммов).



Встречаемость комбинаций генов патогенности при формировании поливирулентных штаммов *Lactobacillus* spp. в ассоциативном микросимбиозе с простейшими *B. hominis in vivo*

[The occurrence of combinations of pathogenicity genes in the formation of polyvirulent strains of *Lactobacillus* spp. in associative microsimbiocenosis with protozoa *B. hominis in vivo*]

В общем пуле штаммов лактобактерий у 97 (24.5%) был выявлен только фрагмент *fimA* гена. Совместное выявление фрагментов генетических детерминант патогенности отмечено с такими генами: *papC, papH, fimA* – 63 (15.0%), *papC, papH, fimA и hlyB* – 58 (14.6%), *papC, fimA и hlyB* – 47 (11.9%), *papC и hlyB* – 25 (6.3%), *eaeA* – 17 (4.3%), *eaeA, hlyB* – 12 (3%), *papC, eaeA, hlyB* – 7 (1.8%), *papC, sfaG и fimA* – 11 (2.8%) штаммов соответственно. Меньше всего отмечено присутствие в генотипе лактобактерий фрагментов, контролирующих экспрессию интимина – 36 штаммов.

Выводы

1. Простейшие бластоцисты выступают в роли экологического стрессового фактора внутри ассоциативной микросистемы. Происходящая под их влиянием селекция по признаку вирулентности и последующее размножение более устойчивых к перевариванию бактерий подтверждается увеличением частоты встречаемости генетических детерминант факторов патогенности *papC, papH, sfaG, sfaA, fimA, eae, hlyB* у представителей *Lactobacillus* spp.

2. Присутствие в кишечном консорциуме пациентов простейших определяет направление селективного отбора микроассоциантов в сторону усиления степени адгезивности, колонизации и токсинообразования, что подтверждается положительной динамикой выявления генетических детерминант, ответственных за экспрессию данных факторов вирулентности.

3. Исследование формирования генетических комбинаций в геноме микроассоциантов *Lactobacillus* spp. во всех микросимбиозах показало статистически достоверное доминирование штаммов с геном *fimA*, кодирующим субъединицу фимбрий FimA. Наименьшее адаптивное значение имеют генетические детерминанты *eaeA* гена, контролирующие выработку интимина.

Список источников

1. Бондаренко В.М., Мавзютов А.Р., Голкочева Э. Секретируемые факторы патогенности энтеробактерий // Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии. 2002. № 1. С. 84–90.
2. Грищук О.В., Кузнецова К.Ю., Загайнова А.В. Об актуальности определения *Blastocystis* spp. в объектах окружающей среды как потенциальных факторов риска возникновения протозойной инфекции человека // Гигиена и санитария. 2018. Т. 97, № 11. С. 1043–1045. DOI: 10.18821/0016-9900-2018-97-11-1043-45.
3. Егорова Т.П., Аршба И.М., Демерчян А.В. Протозойно-бактериальные ассоциации кишечника у макаков резусов // Ветеринария. 2021. № 1. С. 33–35. DOI: 10.30896/0042-4846.2021.24.1.33-36.
4. Ефимов Б.А. Характеристика микроорганизмов, колонизирующих кишечник // Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии. 2002. № 5. С. 98–104.
5. Зеленова Е.Г. и др. Микрофлора полости рта: норма и патология: учеб. пособие. Нижний Новгород: Изд-во НГМА, 2004. 158 с.
6. Литвин В.Ю. Сапронозные аспекты энзоотии чумы // Успехи современной биологии. 2003. Т. 123, № 6. С. 543–551.
7. Литвин В.Ю., Пушкарёва В.И., Емельяненко Е.Н. Биоценотические основы природной очаговости сапронозов // Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии. 2004. № 4. С. 102–108.
8. Мавзютов А.Р. и др. Факторы патогенности оппортунистических энтеробактерий и их роль в развитии диареи // Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии. 2007. № 1. С. 89–96.
9. Немова И.С. и др. Микроэкология организма человека: учеб. пособие. Ульяновск: Изд-во УлГПУ, 2012. 101 с.
10. Пушкарёва В.И. Паразитизм в простейших как стратегия существования патогенных бактерий в почвах и водоемах // Успехи современной биологии. 2006. Т. 126, № 4. С. 323–333.
11. Соловьёв М.М., Большаков О.П., Галецкий Д.В. Гнойно-воспалительные заболевания головы и шеи: этиология, патогенез, клиника, лечение. М.: Умный доктор, 2016. 192 с.
12. Степанских А.С. Общая экология. М.: ЮНИТИ-ДАНА, 2000. 688 с.
13. Точилина А.Г. и др. Изучение биологических свойств штаммов рода *Lactobacillus* // Современные проблемы науки и образования. 2015. № 5. URL: <https://science-education.ru/ru/article/view?Id=21579>.
14. Яруллина Д.Р., Фахруллин Р.Ф. Бактерии рода *Lactobacillus*: общая характеристика и методы работы с ними: учеб.-метод. пособие. Казань, 2014. 51 с.
15. Abd H. et al. Survival and growth of *Francisella tularensis* in *Acanthamoeba castellanii* // Applied and Environmental Microbiology. 2003. Vol. 69(1). P. 600–606. DOI: 10.1128/AEM.69.1.600-606.2003.
16. Boom R. et al. Rapid and simple method for purification of nucleic acids // Journal of Clinical Microbiology. 1988. Vol. 28. P. 495–503. DOI: 10.1128/jcm.28.3.495-503.1990.
17. Brunder W., Karh H. Genome plasticity in *Enterobacteriaceae* // Journal of Medical Microbiology. 2000. Vol. 290. P. 153–165.
18. Caprioli A., Morabito S., Brugere H. Enterohaemorrhagic *Escherichia coli*: emerging issues on virulence and modes of transmission // Veterinary Research. 2005. Vol. 36. P. 289–311.
19. Clarke S.C. et al. Virulence of enteropathogenic *Escherichia coli*, a global pathogen // Clinical Microbiology Reviews. 2003. Vol. 16, № 3. P. 365–378.
20. Suresh K. et al. In vitro encystment and experimental infections of *Blastocystis hominis* // Parasitology Research. 1993. Vol. 79. P. 456–460.

References

1. Bondarenko V.M., Mavzyutov A.R., Golkocheva E. [Secreted factors of pathogenicity of enterobacteria]. *Žurnal mikrobiologii, èpidemiologii i immunobiologii*. No 1 (2002): pp. 84-90. (In Russ.).
2. Gritsyuk O.V., Kuznetsova K.Yu., Zagainova A.V. [On the relevance of the definition of *Blastocystis* spp. in environmental objects as potential risk factors for human protozoal infection]. *Gigiena i sanitarija*. V. 97, No 11 (2018): pp. 1043-1045. DOI: 10.18821/0016-9900-2018-97-11-1043-45. (In Russ.).
3. Egorova T.P., Arshba I.M., Demerchyan A.V. Protozoal-bacterial associations of the intestine in rhesus monkeys. *Veterinarija*. No 1 (2021): pp. 33-35. DOI: 10.30896/0042-4846.2021.24.1.33-36. (In Russ.).
4. Efimov B.A. [Characteristics of microorganisms colonizing the intestine]. *Žurnal mikrobiologii, èpidemiologii i immunobiologii*. No 5 (2002): pp. 98-104. (In Russ.).
5. Zelenova E.G., Zaslavskaya M.I. et al. *Mikroflora polosti rta: norma i patologija* [Microflora of the oral cavity: norm and pathology. Study guide]. Nizhny Novgorod, 2004. 158 p. (In Russ.).
6. Litvin V.Yu. [Sapronous aspects of plague enzootia]. *Uspechi sovremennoj biologii*. V. 123, No 6 (2003): pp. 543-551. (In Russ.).
7. Litvin V.Yu., Pushkareva V.I., Emelianenko E.N. [Biocenotic bases of natural foci of sapronoses]. *Žurnal mikrobiologii, èpidemiologii i immunobiologii*. No 4 (2004): pp. 102-108. (In Russ.).

8. Mavzyutov A.R., Bondarenko V.M., Zhrebtsova N.Y., Valishin D.A. [Factors of pathogenicity of opportunistic enterobacteria and their role in the development of diarrhea]. *Žurnal microbiologii, èpidemiologii i immunobiologii*. No 1 (2007): pp. 89-96. (In Russ.).
9. Nemova I.S., Potaturkina-Nesterova N.I., Bezzubenkova O.E., Smentyna O.S., Zubareva M.Y. *Mikroèkologija organizma čeloveka* [Microecology of the human body: Textbook]. Ulyanovsk: UISPU Publ., 2012. 101 p. (In Russ.).
10. Pushkareva V.I. [Parasitism in protozoa as a strategy for the existence of pathogenic bacteria in soils and reservoirs]. *Uspechi sovremennoj biologii*. V. 126, No 4 (2006): pp. 323-333. (In Russ.).
11. Soloviev M.M., Bolshakov O.P., Galetsky D.V. *Gnojno-vospalitel'nye zabolevaniya golovy i šei* [Purulent-inflammatory diseases of the head and neck: etiology, pathogenesis, clinic, treatment]. Moscow, Umnyj doctor Publ., 2016. 192 p. (In Russ.).
12. Stepanikhin A.S. *Obščaja èkologija* [General ecology]. Moscow, UNITY-DANA Publ., 2000. 688 p. (In Russ.).
13. Tochilina A.G., Belova I.V., Solovyova I.V., Novikova N.A., Ivanova T.P., Zhimov V.A. [The study of biological properties of strains of the genus lactobacillus]. *Sovremennye problemy nauki i obrazovaniya*. No 5 (2015). URL: <https://science-education.ru/ru/article/view?Id=21579>. (In Russ.).
14. Yarullina D.R., Fakhrullin R.F. *Bakterii roda Lactobacillus. Obščaja charakteristika i metody raboty s nimi* [Bacteria of the genus *Lactobacillus*: general characteristics and methods of working with them: Educational and methodical manual]. Kazan, 2014. 51 p. (In Russ.).
15. Abd H., Johansson T., Golovlid J., Sandstrom G., Forsman M. Survival and growth of *Francisella tularensis* in *Acanthamoeba castellanii*. *Applied and Environmental Microbiology*. V. 69(1) (2003): pp. 600-606. DOI: 10.1128/AEM.69.1.600-606.2003.
16. Boom R., Sal C.J., Salimans M.M., Carniel E., Vandeic B., Rainolds C. Rapid and simple method for purification of nucleic acids. *Journal of Clinical Microbiology*. V. 28 (1988): pp. 495-503. DOI: 10.1128/jcm.28.3.495-503.1990.
17. Brunder W., Karh H. Genome plasticity in Enterobacteriaceae. *Journal of Medical Microbiology*. V. 290 (2000): pp. 153-165.
18. Caprioli A., Morabito S., Brugere H. Enterohaemorrhagic *Escherichia coli*: emerging issues on virulence and modes of transmission. *Veterinary Research*. V. 36 (2005): pp. 289-311.
19. Clarke S.C., Haigh R.D., Freestone P.P.E., Williams P.H. Virulence of enteropathogenic *Escherichia coli*, a global pathogen. *Clinical Microbiology Reviews*. V. 16, No 3 (2003): pp. 365-378.
20. Suresh K., Ng G.C., Ramachandran N.P., Ho L.C., Yap E.H., Singh M. *In vitro* encystment and experimental infections of *Blastocystis hominis*. *Parasitology Research*. V. 79 (1993): pp. 456-460.

Статья поступила в редакцию 09.10.2022; одобрена после рецензирования 31.10.2022; принята к публикации 29.11.2022.

The article was submitted 09.10.2022; approved after reviewing 31.10.2022; accepted for publication 29.11.2022.

Информация об авторах

Ю. Ю. Красноперова – доктор биологических наук, доцент, профессор кафедры биологии и химии;
С. Ш. Мехманова – соискатель ученой степени кандидата биологических наук;
Е. А. Хуснатдинова – кандидат биологических наук, эксперт 1 категории.

Information about the authors

Yu. Yu. Krasnoperova – Doctor of biological sciences, associate professor, professor of the Department of biology and chemistry;
S. Sh. Mehmanova – candidate of the degree of Candidate of biological sciences;
E. A. Khusnatdinova – Candidate of biological sciences, expert of the 1st category.

Вклад авторов:

Красноперова Ю. Ю. – научное руководство; концепция исследования; научное заключение.
Мехманова С. Ш. – сбор, лабораторный анализ материала; написание исходного текста.
Хуснатдинова Е. А. – сбор, лабораторный анализ материала; статистический анализ; доработка текста.

Contribution of the authors:

Krasnoperova Yu. Yu. – scientific guidance; research concept; scientific conclusion.
Mehmanova S. Sh. – collection, laboratory analysis of the material; writing the source text.
Khusnatdinova E. A. – collection, laboratory analysis of the material; statistical analysis; revision of the text.

МИКРОБИОЛОГИЯ

Научная статья

УДК 579.61

doi: 10.17072/1994-9952-2022-4-294-299

Характеристика микрофлоры пациентов онкологического профиля с послеоперационными инфекционными осложнениями

Наталья Александровна Правосудова^{1✉}, Виктор Львович Мельников²,
Людмила Николаевна Итяева³, Елена Николаевна Пантелеева⁴

^{1✉} Пензенский государственный университет, Пенза, Россия, pravosudovanatalja@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0001-8183-3175>

² Пензенский государственный университет, Пенза, Россия, meib@pnzgu.ru, <https://orcid.org/0000-0002-2175-5547>

³ Областной онкологический диспансер, Пенза, Россия, luda-1112@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0003-1060-509X>

⁴ Областной онкологический диспансер, Пенза, Россия, panteleeva58@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0002-1743-4855>

Аннотация. Исследована микрофлора патологического материала пациентов с послеоперационными инфекциями и проведен анализ устойчивости выделенных штаммов к противомикробным препаратам. Оценку биологических свойств и антибактериальную чувствительность выделенных бактериальных штаммов осуществляли по общепринятым методикам, регламентирующим работу микробиологической лаборатории. В исследование были включены 83 пациента отделения абдоминальной онкологии, проходивших хирургическое лечение в 2017–2021 гг. В патологическом материале преобладала грамотрицательная микрофлора ($p < 0.05$), в частности, *Acinetobacter baumannii*, *Citrobacter braakii*, *Enterobacter asburiae*, *Enterobacter cloacae*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Pseudomonas putida*, *Proteus mirabilis*, *Serratia liquefaciens*, *Stenotrophomonas maltophilia*. *Kl. pneumoniae*, *E. coli* и *Acinetobacter baumannii* являлись ведущими патогенами. Грамположительная микрофлора в 2017–2021 гг. была представлена в основном энтерококками (*E. faecalis*, *E. faecium* и *E. gallinarum*) и стафилококками (*S. hominis*, *S. haemolyticus*, *S. sciuri*, *S. epidermidis*, *S. aureus*). *E. coli* являлась одним из доминирующих микроорганизмов в исследованном периоде. Её штаммы обладали полирезистентностью по отношению к основным противомикробным препаратам (цефтазидиму, ампициллину, амоксициллину/клавуланату, триметоприм/сульфаметоксазолу, ципрофлоксацину). Чувствительность штаммов *E. coli* сохранялась к тайгециклину, меропенему и цефтазидим/авибактаму. Для профилактики послеоперационных осложнений в отделении абдоминальной онкологии необходимо продолжить микробиологический мониторинг, усилить контроль за грамотрицательной микрофлорой и использовать для лечения и профилактики послеоперационных осложнений, вызванных *E. coli*, тайгециклин, меропенем и цефтазидим/авибактам.

Ключевые слова: микрофлора, послеоперационные инфекции, устойчивость к противомикробным препаратам

Для цитирования: Характеристика микрофлоры пациентов онкологического профиля с послеоперационными инфекционными осложнениями / Н. А. Правосудова, В. Л. Мельников, Л. Н. Итяева, Е. Н. Пантелеева // Вестник Пермского университета. Сер. Биология. 2022. Вып. 4. С. 294–299. <http://dx.doi.org/10.17072/1994-9952-2022-4-294-299>.

MICROBIOLOGY

Original article

Microflora characteristics of oncological patients with postoperative infectious complications

Natalia A. Pravosudova^{1✉}, Viktor L. Melnikov², Lyudmila N. Ityaeva³,
Elena N. Panteleeva⁴

^{1✉} Penza State University, Penza, Russia, pravosudovanatalja@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0001-8183-3175>

² Penza State University, Penza, Russia, meib@pnzgu.ru, <https://orcid.org/0000-0002-2175-5547>

³ Regional Oncologic Hospital, Penza, Russia, luda-1112@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0003-1060-509X>

⁴ Regional Oncologic Hospital, Penza, Russia, panteleeva58@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0002-1743-4855>

Abstract. The microflora of the pathological material from patients with postoperative infections was studied and the resistance of isolated strains to antimicrobial agents was analyzed. The biological properties and antibac-

terial sensitivity of the bacterial strains isolated during the studies was assessed according to generally accepted methods that regulate the work of a microbiological laboratory. The study included 83 patients of the abdominal oncology department who underwent surgical treatment in 2017-2021. During this period, gram-negative microflora prevailed in the pathological material ($p < 0.05$): *Acinetobacter baumannii*, *Citrobacter braakii*, *Enterobacter asburiae*, *Enterobacter cloacae*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Pseudomonas putida*, *Proteus mirabilis*, *Serratia liquefaciens*, *Stenotrophomonas maltophilia*. *Kl. pneumoniae*, *E. coli* and *Acinetobacter baumannii* were the leading pathogens. Gram-positive microflora in 2017-2021 was represented mainly by enterococci (*E. faecalis*, *E. faecium* and *E. gallinarum*) and staphylococci (*S. hominis*, *S. haemolyticus*, *S. sciuri*, *S. epidermidis*, *S. aureus*). *E. coli* was one of the dominant microorganisms within the period under study. The strains of this microorganism had polyresistance to the main antimicrobial drugs (ceftazidime, ampicillin, amoxicillin/clavulanate, trimethoprim/sulfamethoxazole, ciprofloxacin). *E. coli* strains remained susceptible to tigecycline, meropenem, and ceftazidime/avibactam. For prevention of postoperative complications in the abdominal oncology department, it is necessary to continue microbiological monitoring, strengthen the control of gram-negative microflora (as it is expected that it will remain the leading etiological agent of postoperative infections in this department) and use tigecycline, meropenem, and ceftazidime/avibactam for the treatment and prevention of postoperative complications caused by *E. coli*.

Keywords: microflora, postoperative infections; antimicrobial resistance

For citation: Pravosudova N. A., Melnikov V. L., Ityaeva L. N., Panteleeva E. N. [Microflora characteristics of oncological patients with postoperative infectious complications]. *Bulletin of the Perm University. Biology*. Iss. 4 (2022): pp. 294-299. (In Russ.). <http://dx.doi.org/10.17072/1994-9952-2022-4-294-299>.

Введение

Инфекции, связанные с оказанием медицинской помощи (ИСМП), – это любые клинически выраженные заболевания микробного происхождения, которые поражают больного в результате его поступления в больницу или обращения за медицинской помощью вне зависимости от появления симптомов заболевания у пациента во время пребывания в стационаре или после его выписки [Тутельян, Акимкин, Марьин, 2019]. Особенно остро проблема ИСМП стоит в отделениях хирургического профиля. В Пензенской обл. в 2020 г. зарегистрировано 837 случаев инфекций, связанных с оказанием медицинской помощи, из них 37.8% – в хирургических стационарах [О состоянии ..., 2021].

Бактерии обладают высокой пластичностью и способностью быстро приспосабливаться к различным условиям обитания. В медицинских учреждениях различного профиля возможно формирование определенного микроценоза, представители которого способны вызывать инфекционные осложнения у пациентов. На формирование микроценоза лечебных учреждений влияет микрофлора пациентов, сотрудников лечебных учреждений и объектов окружающей среды. Необходимо учитывать, что в отделениях разной направленности формируется определенный набор микроорганизмов, зависящий от вида хирургического вмешательства [Правосудова и др., 2016; Кудлай и др., 2022]. Кроме того, микрофлора лечебных учреждений постоянно подвергается воздействию антимикробных препаратов. В связи с этим микробный пейзаж отделения, устойчивость бактерий к антимикробным препаратам могут меняться. Мониторинг микрофлоры в отделениях лечебных учреждений является обязательным методом профилактики ИСПМ [Светличная и др., 2014; Захватова и др., 2022].

Цель настоящей работы – анализ микрофлоры пациентов с послеоперационными инфекционными осложнениями.

Материал и методы исследований

Работа выполнена на базе отделения абдоминальной онкологии Онкологического диспансера г. Пензы. С 2017 по 2021 г. было зарегистрировано 83 случая послеоперационных осложнений в этом отделении. У пациентов были изучены мазки из ран, брюшной полости, трахеи и дренажей.

Посев клинического материала проводили на плотные питательные среды (кровяной агар, агар Эндо, Сабуро, ЖСА, ЦПХ-агар) и в среды обогащения (глюкозный бульон, полужидкую модифицированную среду СКС-199).

Оценку биологических свойств и антибактериальную чувствительность выделенных бактериальных штаммов осуществляли по общепринятым методикам, регламентирующим работу микробиологической лаборатории [Определение чувствительности ..., 2015, 2018]. В процессе идентификации штаммов использованы наборы реагентов «Пластина биохимическая, дифференцирующая энтеробактерии (ПБДЭ)» (ООО «НПО «Диагностические системы», Россия), «Пластина биохимическая, дифференцирующая стафилококки (ПБДС)» (ООО «НПО «Диагностические системы», Россия) и микробиологический анализатор VITEK 2 – compact («bioMérieux», Франция). Определение чувствительности к антибактериальным препаратам диско-диффузионным методом проводили на среде Мюллера–Хинтона с помощью аппарата

для определения стандарта мутности бактериальной взвеси (DensiChek plus «bioMérieux», Франция) и дисков с антибиотиками (BIOANALYSE, Турция и Mast Group Ltd., Великобритания).

Статистическую обработку данных выполняли, используя χ^2 .

Результаты и их обсуждение

Распределение различных групп микроорганизмов в патологическом материале у пациентов отделения абдоминальной онкологии в течение 2017–2021 гг. представлено на рис. 1. В указанный период в патологическом материале преобладала грамотрицательная микрофлора ($p < 0.05$). Повышение числа выделенных штаммов микроорганизмов в 2018 г. связано не только с ростом количества пациентов с послеоперационными осложнениями (ПОИ) (см. рис. 1), но и с формированием полиинфекций (таблица).

Количество случаев послеоперационных осложнений и полиинфекций в 2017–2021 гг.

[The number of postoperative complication and polyinfection cases in 2017–2021]

Показатель	2017	2018	2019	2020	2021
Количество случаев ПОИ	18	25	11	7	22
Количество полиинфекций	5	17	6	3	11

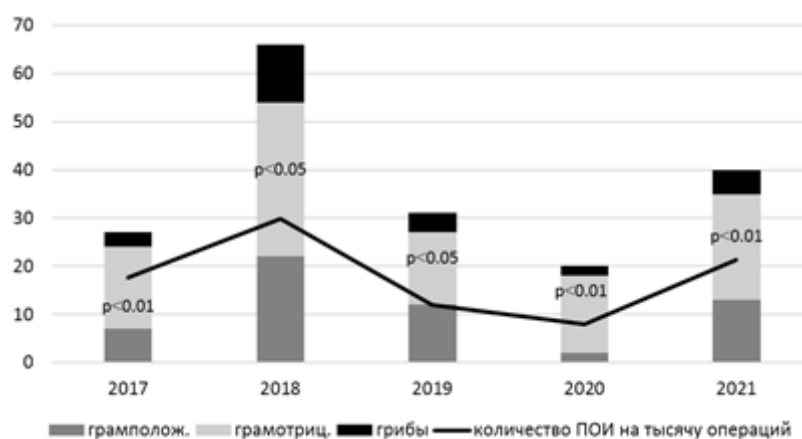


Рис. 1. Распределение микрофлоры (%) в патологическом материале у пациентов отделения абдоминальной онкологии в течение 2017–2021 гг.

[Distribution of microflora in 2017–2021]

В обследованном материале грамотрицательные бактерии были представлены следующими видами: *Acinetobacter baumannii*, *Citrobacter braakii*, *Enterobacter asburiae*, *E. cloacae*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa*, *P. putida*, *Proteus mirabilis*, *Serratia liquefaciens*, *Stenotrophomonas maltophilia*. В 2017 г. доминировали представители *Kl. pneumoniae* (35%, $p < 0.01$) и *E. coli* (23%, $p < 0.01$), в 2018 г. – *Kl. pneumoniae* (47%, $p < 0.01$) и *E. coli* (34%, $p < 0.01$), в 2019 г. – *E. coli* (40%, $p < 0.01$) и *A. baumannii* (20%, $p < 0.01$), в 2020 г. – *E. coli* (31%, $p < 0.05$) и *Kl. pneumoniae* (25%, $p < 0.05$), в 2021 г. – *E. coli* (45,5%, $p < 0.01$) и *A. baumannii* (18%, $p < 0.01$).

Грамположительная микрофлора в 2017–2021 гг. была представлена в основном энтерококками (*E. faecalis*, *E. faecium* и *E. gallinarum*) и стафилококками (*S. hominis*, *S. haemolyticus*, *S. sciuri*, *S. epidermidis*, *S. aureus*) (рис. 2). Кроме того, были выделены *Corynebacterium xerosis*, *Streptococcus parasanguis*.

Формирование микробиоценоза в отделении абдоминальной хирургии объясняется тем, что при операциях на брюшной полости представители нормальной микрофлоры кишечника (энтерококки, энтеробактерии) могут выйти за пределы своего обычного ареала. Присутствие *Kl. pneumoniae* ассоциировано прежде всего с аппаратами искусственной вентиляции легких, и представители данного вида встречаются у пациентов, переведенных в отделение реанимации.

Полученные за пять лет данные позволяют предположить, что в дальнейшем ведущими патогенами у пациентов этого отделения могут стать грамотрицательные микроорганизмы из семейства *Enterobacteriaceae*.

На формирование микроценозов в лечебных учреждениях влияют различные антибактериальные препараты, которые используются как для лечения, так и для профилактики инфекций. Главной чертой госпитальных штаммов бактерий является множественная резистентность к различным группам анти-микробных препаратов [Сухорукова и др., 2019]. В связи с этим нами был проведен анализ чувствитель-

ности к антимикробным препаратам у штаммов *E. coli*, которые выделялись у пациентов этого отделения в течение каждого года.

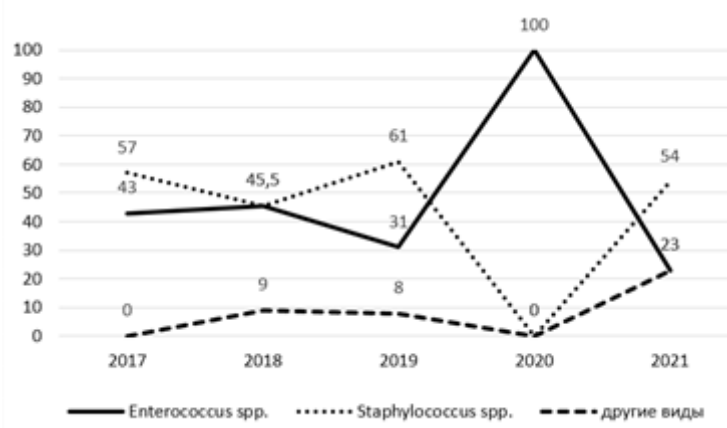


Рис. 2. Распределение грамположительной микрофлоры (%) в патологическом материале у пациентов отделения абдоминальной онкологии в течение 2017–2021 гг.

[Distribution of gram-positive microflora (%) in 2017-2021]

На рисунке 3 представлено количество резистентных штаммов (в %) к определенному антибактериальному препарату. В анализ включены препараты из группы цефалоспоринов (цефтазидим, цефтазидим/авибактам), пенициллинов (ампициллин, амоксициллин/клавуланат), карбапенемов (меропенем), сульфаниламидов (триметоприм/сульфаметоксазол), тетрациклинов (тайгециклин) и фторхинолонов (ципрофлоксацин).

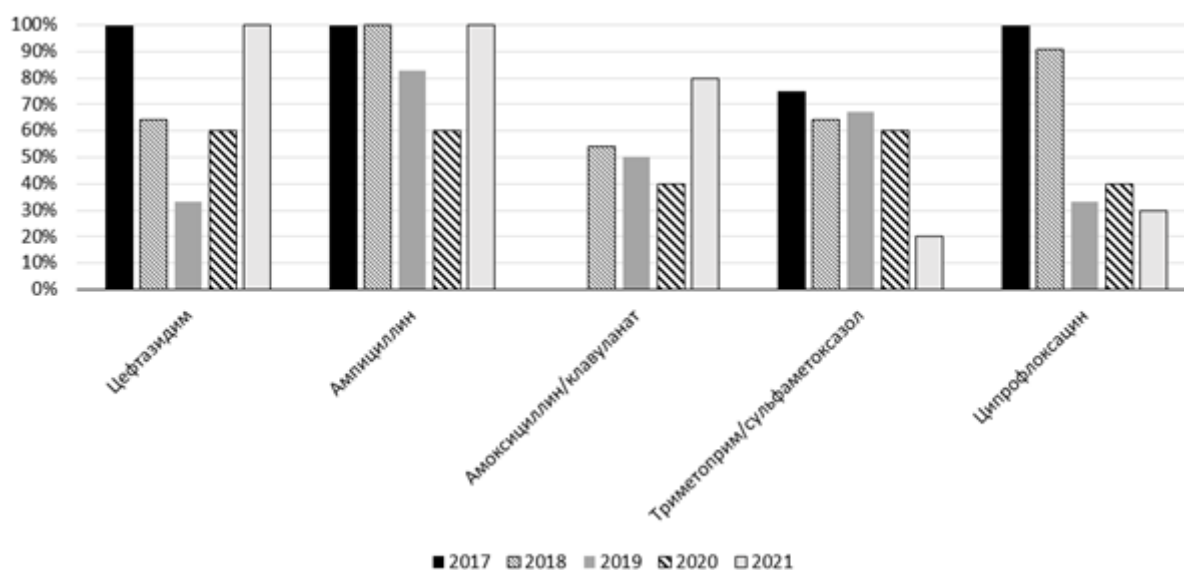


Рис. 3. Количество (%) выделенных штаммов *E. coli*, резистентных к антимикробным препаратам

[Number (%) of *E. coli* strains resistant to antimicrobials]

В течение изученного периода сохранялась чувствительность выделенных штаммов *E. coli* к цефтазидиму/авибактаму, представляющим собой комбинированное антибактериальное средство, сочетающее антибиотик – цефтазидим и ингибитор бета-лактамаз – авибактам. Синтез бета-лактамаз – ферментов, которые разрушают бета-лактамное кольцо антибиотика и инактивируют его, является наиболее часто встречающимся механизмом антибиотикорезистентности [Осипов и др., 2013]. Кроме того, у выделенных штаммов *E. coli* сохранялась чувствительность к тайгециклину и меропенему. Соответственно, эти препараты рекомендованы для лечения и профилактики послеоперационных осложнений в отделении абдоминальной онкологии.

Выводы

1. В отделении абдоминальной онкологии в течение 2017–2021 гг. из патологического материала от пациентов с послеоперационными осложнениями преимущественно выделялись грамотрицательные бактерии.
2. Представители *Kl. pneumoniae*, *E. coli* и *A. baumannii* являлись ведущими патогенами.
3. Выделенные штаммы *E. coli* были резистентны к воздействию цефтазида, ампициллина, амоксициллина/клавуланата, триметоприм/сульфаметоксазола, цiproфлоксацина и чувствительны к тайгетиклину, меропенему и цефтазидим/авибактаму.
4. Для профилактики послеоперационных осложнений в отделении абдоминальной онкологии необходимо продолжить микробиологический мониторинг, усилить контроль за грамотрицательной микрофлорой (так как предполагается, что она будет оставаться ведущим этиологическим агентом ПОИ в этом отделении) и использовать для лечения и профилактики послеоперационных осложнений, вызванных *E. coli*, тайгетиклин, меропенем и цефтазидим/авибактам.

Список источников

1. Захватова А.С. и др. Микробиологический мониторинг антимикробной резистентности потенциальных возбудителей инфекций кровотока // Инфекция и иммунитет. 2022. № 1 (12). С. 185–192.
2. Кудлай Д.А. и др. Оценка микробиологического пейзажа и уровня антибиотикорезистентности в многопрофильном стационаре // Туберкулёз и болезни лёгких. 2022. № 8(100). С. 43–53.
3. О состоянии санитарно-эпидемиологического благополучия населения в Российской Федерации в 2020 г. по Пензенской области: материалы гос. доклада. Пенза, 2021. 243 с.
4. Определение чувствительности микроорганизмов к антимикробным препаратам: клинич. рекомендации. Версия-2015-02. 162 с.
5. Определение чувствительности микроорганизмов к антимикробным препаратам: клинич. рекомендации EUCAST. Версия-2018-03. 206 с.
6. Осипов В.А. и др. Металло-бета-лактамазы грамотрицательных бактерий: растущая проблема в мире и в Беларуси // Медицинские новости. 2013. № 2. С. 84–88.
7. Правосудова Н.А. и др. Особенности послеоперационных осложнений в отделении онкоурологии и онкогинекологии // Медицинский альманах. 2016. № 3(43). С. 32–35.
8. Светличная Ю.С. и др. Микробиологический мониторинг в системе эпидемиологического надзора за госпитальными инфекциями // Эпидемиология и вакцинопрофилактика. 2014. № 1(74). С. 9–14.
9. Сухорукова М.В. и др. Антибиотикорезистентность нозокомиальных штаммов *Enterobacterales* в стационарах России: результаты многоцентрового эпидемиологического исследования МАРАФОН 2015–2016 // Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия. 2019. Т. 21, № 2. С. 147–159.
10. Тутельян А.В., Акимкин В.Г., Марьин Г.Г. От внутрибольничных инфекций до инфекций, связанных с оказанием медицинской помощи: научное развитие проблемы // Эпидемиология и инфекционные болезни. Актуальные вопросы. 2019. Т. 9, № 1. С. 14–22.

References

1. Zahvatova A.S., Dar'ina M.G., Svetlichnaya YU.S., Zueva L.P., Aslanov B.I., Chervyakova M.A. [Microbiological monitoring of antimicrobial resistance of potential causative agents of bloodstream infections] *Infekcija i immunitet*. No 1(12) (2022): pp. 185–192. (In Russ.).
2. Kudlay D.A., Bakirov B.A., Zaripova G.R., Allayarov N.D. [Assessment of microbiological environment and the level of antibiotic resistance in a multidisciplinary hospital]. *Tuberkulëz i bolezni lëgkich*. No 8 (100) (2022): pp. 43–53. (In Russ.).
3. *O sostojanii sanitarno-ëpidemiologičeskogo blagopolučija naselenija v Rossijskoj Federacii v 2020 godu po Penzenskoj oblasti: Materialy gosudarstvennogo doklada* [On the state of sanitary and epidemiological welfare of the population in the Russian Federation in 2020 for the Penza region. Materials of the state report]. Penza, 2021. 243 p. (In Russ.).
4. *Opredelenie čuvstvitel'nosti mikroorganizmov k antimikrobnym preparatam: Kliničeskie rekomendacii. Versija-2015-02* [Determination of the sensitivity of microorganisms to antimicrobial drugs. Clinical guidelines. Version-2015-02]. 162 p. (In Russ.).
5. *Opredelenie čuvstvitel'nosti mikroorganizmov k antimikrobnym preparatam: Kliničeskie rekomendacii EUCAST. Versija-2018-03* [Determination of the sensitivity of microorganisms to antimicrobial drugs. Clinical guidelines EUCAST. Version-2018-03]. 206 p. (In Russ.).
6. Osipov V.A., Tapal'skij D.V., Skleenova E.YU., Ejdel'shtejn M.V. [Metallo-beta-lactamases of gram-negative bacteria: a growing problem in the world and in Belarus]. *Medicinskie novosti*. No 2 (2013): pp. 84–88. (In Russ.).

7. Pravosudova N.A., Melnikov V.L., Ityaeva L.N., Panteleeva E.N., Serebryakov V.S. [Features of postoperative complications in the department of oncurology and oncogynecology]. *Medicinskij al'manach*. No 3(43) (2016): pp. 32-35. (In Russ.).

8. Svetlichnaya Yu.S., Kolosovskaya E.N., Kaftyreva L.A., Darina M.G., Egorova S.A., Makarova M.A. [Microbiological monitoring in the system of epidemiological surveillance of hospital infections]. *Èpidemiologija i vakcinoprofilaktika*. No 1(74) (2014): pp. 9-14. (In Russ.).

9. Sukhorukova M.V., Eidelstein M.V., Ivanchik N.V. et al. [Antibiotic resistance of nosocomial strains of *Enterobacterales* in Russian hospitals: results of a multicenter epidemiological study MARATHON 2015–2016]. *Kliničeskaja mikrobiologija i antimikrobnaja himioterapija*. V. 21, No 2 (2019): pp. 147-159. (In Russ.).

10. Tutelyan, A.V., Akimkin V.G., Maryin G.G. [From nosocomial infections to infections associated with the provision of medical care: scientific development of the problem]. *Èpidemiologija i infekcionnye bolezni. Aktual'nye voprosy*. V. 9, No 1 (2019): pp. 14-22. (In Russ.).

Статья поступила в редакцию 11.10.2022; одобрена после рецензирования 31.10.2022; принята к публикации 29.11.2022.

The article was submitted 11.10.2022; approved after reviewing 31.10.2022; accepted for publication 29.11.2022.

Информация об авторах

Н. А. Правосудова – канд. биол. наук, доцент кафедры Микробиология, эпидемиология и инфекционные болезни;

В. Л. Мельников – д-р мед. наук, зав. кафедрой Микробиология, эпидемиология и инфекционные болезни;

Л. Н. Итяева – зав. бактериологической лабораторией;

Е. Н. Пантелеева – врач-эпидемиолог.

Information about the authors

N. A. Pravosudova – PhD, Associate Professor of the Department of Microbiology, Epidemiology and Infectious Diseases;

V. L. Melnikov – Doctor of Medical Sciences, Head of the Department of Microbiology, Epidemiology and Infectious Diseases;

L. N. Ityaeva – head of the bacteriological laboratory;

E. N. Panteleeva – epidemiologist.

Вклад авторов:

Правосудова Н. А. – развитие методологии; статистическая обработка материала; написание исходного текста; итоговые выводы.

Мельников В. Л. – научное руководство; концепция исследования; доработка текста; итоговые выводы.

Итяева Л. Н. – микробиологическое исследование.

Пантелеева Е. Н. – эпидемиологическое исследование.

Contribution of the authors:

Pravosudova N.A. – methodology development; statistical processing of the material; writing the original text; final conclusions.

Melnikov V. L. – scientific management; research concept; text revision; final conclusions.

Ityaeva LN – microbiological research.

Panteleeva E. N. – epidemiological study.

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

The authors declare no conflicts of interests.

МИКРОБИОЛОГИЯ

Научная статья

УДК 579.843.1:612.017.4:57.086.13:57.083.3

doi: 10.17072/1994-9952-2022-4-300-308

Условия и сроки хранения лиофилизированных поли- и моноклональных антитоксических пероксидазных конъюгатов

О. А. Якушева¹, Л. П. Алексеева², В. В. Евдокимова³, В. П. Зюзина⁴,
М. Э. Яговкин⁵

¹⁻⁵Ростовский-на-Дону противочумный институт, Ростов-на-Дону, Россия

Авторы, ответственные за переписку: Ольга Александровна Якушева, yakusheva_oa@antiplague.ru и Вероника Вячеславовна Евдокимова, evdokimova_vv@antiplague.ru

Аннотация. Подобраны оптимальные условия лиофилизации поли- и моноклональных пероксидазных конъюгатов, используемых в прямом варианте иммуноферментного анализа (ИФА), предназначенном для детекции холерного токсина у штаммов *Vibrio cholerae* O1, O139. К числу эффективных стабилизаторов, включенных в состав защитных сред, относятся 1%-ная сахароза, 1%-ный тиосульфат натрия, 0.5%-ный яичный альбумин или 0.5%-ный бычий сывороточный альбумин. Их использование увеличивает сроки хранения, повышает стабильность, способствует сохранению высокой чувствительности и специфичности поли- и моноклональных пероксидазных конъюгатов. Оценка серологической активности антитоксических конъюгатов в ИФА после лиофилизации в защитной среде со стабилизаторами показала, что она остается на исходном уровне. Результаты проверки лиофилизированных конъюгатов в процессе хранения позволяют говорить о возможности их применения в течение двух лет без изменения основных показателей.

Ключевые слова: холерный токсин, поликлональный и моноклональный пероксидазный конъюгат, иммуноферментный анализ, дот-ИФА, лиофилизация, защитная среда высушивания

Для цитирования: Условия и сроки хранения лиофилизированных поли- и моноклональных антитоксических пероксидазных конъюгатов / О. А. Якушева, Л. П. Алексеева, В. В. Евдокимова, В. П. Зюзина, М. Э. Яговкин // Вестник Пермского университета. Сер. Биология. 2022. Вып. 4. С. 300–308. <http://dx.doi.org/10.17072/1994-9952-2022-4-300-308>.

MICROBIOLOGY

Original article

Storage conditions and terms of lyophilized poly- and monoclonal antitoxic peroxidase conjugates

O. A. Yakusheva¹, L. P. Alekseeva², V. V. Evdokimova³, V. P. Zyuzina⁴,
M. E. Yagovkin⁵

¹⁻⁵Rostov-on-Don Anti-Plague Institute. Rostov-on-Don, Russia

Corresponding authors: Olga A. Yakusheva, yakusheva_oa@antiplague.ru, and Veronika V. Evdokimova, evdokimova_vv@antiplague.ru

Abstract. The article discusses the selection of optimal conditions for the lyophilization of poly- and monoclonal peroxidase conjugates used in the direct version of the enzyme immunoassay intended for the cholera toxin detection in *Vibrio cholerae* O1, O139 strains. Effective stabilizers included in protective media comprise 1 % sucrose, 1 % sodium thiosulfate, 0.5 % egg albumin, or 0.5 % bovine serum albumin. Their use increases the shelf life, increases stability, and contributes to the preservation of high sensitivity and specificity of poly- and monoclonal peroxidase conjugates. Evaluation of the serological activity of antitoxic conjugates in ELISA after lyophilization in a protective medium with stabilizers showed that it remains at the initial level. The results of testing lyophilized conjugates during storage allow us to speak about the possibility of their use for two years without changing the main indicators.

Keywords: cholera toxin, polyclonal and monoclonal peroxidase conjugate, enzyme-linked immunosorbent assay, dot-ELISA, lyophilization, drying protective medium

For citation: Yakusheva O. A., Alekseeva L. P., Evdokimova V. V., Zyuzina V. P., Yagovkin M. E. [Storage conditions and terms of lyophilized poly- and monoclonal antitoxic peroxidase conjugates]. *Bulletin of the*

Введение

Холера, острая диарейная болезнь, вызываемая токсигенными штаммами *Vibrio cholerae*, продолжает оставаться приоритетной проблемой мирового здравоохранения. В настоящее время существует более 200 различных серогрупп холерных вибрионов, однако только токсигенные штаммы O1 и O139 серогрупп способны вызывать эпидемии холеры [Safa, Nair, Kong, 2010].

На основании биологических свойств представителей O1 серогруппы делят на биотипы – классический и El Tor, которые различаются по типу продуцируемого токсина, а также по нуклеотидной последовательности генов *ctxB*, кодирующих его биосинтез, и были обозначены у классических вибрионов как *ctxAB1*, у вибрионов El Tor – *ctxAB3* [Kim et al., 2014].

В результате эволюционных преобразований клинических изолятов *V. cholerae* El Tor по всему миру появились геноварианты, которые содержат в опероне *ctxAB*, кодирующем биосинтез токсина, специфический для классического биовара ген субъединицы В (*ctxB1*). Были также обнаружены клоны одной из генетических особенностей, у которых было наличие в опероне *ctxAB* нового аллеля гена *ctxB* – *ctxB7* [Kerketta, Kar, Khuntia, 2019].

Холерный токсин (ХТ) является одним из основных факторов патогенности холерных вибрионов и определяет основные проявления холеры. Для выявления ХТ, как в РФ, так и за рубежом, используют генно-диагностические методы (амплификация, изотермическая амплификация и полногеномное секвенирование), которые относятся к косвенным методам и позволяют обнаружить у исследуемых штаммов генетическую детерминанту вирулентности – ген ХТ (*ctxAB*) [Lyon, 2001; Gubala, Proll, 2006; Koskela et al., 2009; Kim et al., 2015; Izumiya et al., 2019]. Применение генно-диагностических методов, несмотря на их высокую чувствительность и специфичность, имеет ряд ограничений, например, наличие генов, детерминирующих синтез ХТ, не всегда является показателем экспрессии самого токсина, кроме того, с помощью этих методов невозможно определить его количество и в какой форме он продуцируется. Этот показатель определяют с помощью высокочувствительных иммунохимических методов, в частности, иммуноферментного анализа (ИФА). В зарубежных публикациях отмечается, что ИФА-системы остаются наиболее используемыми и достоверными, при этом для обнаружения ХТ применяют различные варианты иммуноферментного анализа («сэндвич» вариант дот-ИФА, двойной «сэндвич»-ИФА) [Tuteja et al., 2007; Meza-Lucas et al., 2016; Bayat, Khabiri, Hemati, 2018].

В иммуноферментном анализе широко используют конъюгаты антител с пероксидазой хрена (ПХ), что обусловлено доступностью сырья для выделения этого фермента, относительной легкостью очистки и конъюгации, а также большим числом хромофорных и флюорохромных субстратов [Пирожков и др., 2010]. Однако данный фермент является чувствительным к ряду факторов, что приводит к потере его каталитической активности в процессе хранения и уменьшению способности антител связываться с соответствующим антигеном. Возможными причинами являются необратимое изменение конформации белковых молекул, модификация (например, окисление) функциональных групп белков, отвечающих за проявление каталитической активности или способности образовывать специфические иммунокомплексы, микробная контаминация и последующая деградация белков. Фермент имеет слабую жесткую структуру и подвержен отрицательному влиянию внешних воздействий, в связи с чем срок его годности ограничен и составляет 6 месяцев, что обуславливает и низкий срок годности тест-системы в целом, в то время как срок годности остальных компонентов тест-системы в 2–3 раза выше [Пат. RU2232190C2 ..., 2004]. В связи с этим существует необходимость подбора условий и методов, повышающих срок годности иммунопероксидазных конъюгатов, и разработки подходов к возможной стабилизации биологической активности фермента [Кукулина и др., 2011]. Эффективным методом, увеличивающим стабильность таких препаратов, является лиофилизация. Известно, что присутствие в средах высушивания таких компонентов, как сыворотка эмбриона теленка [Кытманов и др., 2018], гидролизат птичьего альбумина [Пат. RU216.013.4820 ..., 2015] в сочетании с 1%-ным поливинилпирролидоном и с 1%-ным тиосульфатом натрия [Загоскина и др., 2015], и/или 0.2 %-ным пропионатом кальция оказывает заметный стабилизирующий эффект. Введение сахарозы перед лиофилизацией конъюгатов предотвращает падение биологической активности пероксидазы и способствует образованию объемной таблетки при лиофилизации и хранении [Шаморова, 2009].

На базе ФКУЗ Ростовского-на-Дону противочумного института Роспотребнадзора получены экспериментальные серии пероксидазных конъюгатов на основе поли- и моноклональных антитоксических антител [Якушева и др., 2020a]. Эти препараты позволяют выявлять ХТ у токсигенных холерных вибрионов O1, O139 серогрупп.

Цель работы – оценить в процессе хранения физико-химическую и специфическую активность лиофильно высушенных поли- и моноклональных пероксидазных конъюгатов, предназначенных для детекции ХТ в прямом варианте планшетного ИФА и дот-ИФА.

Материалы и методы исследований

В работе использовали 25 штаммов холерных вибрионов и 6 штаммов гетерологичных микроорганизмов, полученных из коллекции Музея живых культур с центром патогенных для человека вибрионов ФКУЗ Ростовского-на-Дону противочумного института Роспотребнадзора (табл. 1). Штаммы *V. cholerae* O1 и O139 с различным генотипом были подобраны согласно их паспортным данным.

Культуры вибрионов хранили в столбике полужидкого ($0.3 \pm 0.1\%$) агара Мартена при температуре $20 \pm 2^\circ\text{C}$, культуры гетерологичных микроорганизмов – в 0.3% -ном полужидком мясо-пептонном агаре с pH 7.1–7.2. Все исследуемые штаммы были типичными по морфологическим, культуральным, биохимическим и серологическим свойствам.

Таблица 1

Варианты генотипов штаммов холерных вибрионов O1 и O139 серогрупп, использованные в работе
[Genotype variants of O1 and O139 serogroup *V. cholerae* strains used in this study]

Штаммы	Генотип	Источник выделения	Год выделения	Место выделения
<i>Vibrio cholerae</i> O1 серогруппы классического биовара				
569B	<i>ctxAB1+</i> , <i>tcpA+</i>	человек	1950	Индия
500	<i>ctxAB1+</i> , <i>tcpA+</i>	-	1968	Пакистан
1763	<i>ctxAB1+</i> , <i>tcpA+</i>	человек	1947	Индокитай
<i>Vibrio cholerae</i> O1 серогруппы Эль Тор биовара				
1310	<i>ctxAB3+</i> , <i>tcpA+</i>	человек	1966	Ирак, г. Багдад
3119	<i>ctxAB3+</i> , <i>tcpA+</i>	человек	1970	г. Одесса
5879	<i>ctxAB3+</i> , <i>tcpA+</i>	человек	1972	г. Таганрог
12214	<i>ctxAB3+</i> , <i>tcpA+</i>	человек	1976	-
13020	<i>ctxAB3+</i> , <i>tcpA+</i>	человек	1986	г. Азов
14383	<i>ctxAB3+</i> , <i>tcpA+</i>	человек	1990	Ростовская обл. х. Колузаево
14455	<i>ctxAB3+</i> , <i>tcpA+</i>	человек	1990	г. Ставрополь
14460	<i>ctxAB3+</i> , <i>tcpA+</i>	человек	1990	г. Ставрополь
14464	<i>ctxAB3+</i> , <i>tcpA+</i>	человек	1990	г. Ставрополь
<i>Vibrio cholerae</i> O1 серогруппы Эль Тор биовара (геноварианты)				
17917	<i>ctxAB1+</i> , <i>tcpA+</i>	вода	1999	вода
19667	<i>ctxAB7+</i> , <i>tcpA+</i>	человек	2014	г. Москва
<i>Vibrio cholerae</i> O139 серогруппы				
16070	<i>ctxAB+</i> , <i>tcpA+</i>	-	-	Индия
16063	<i>ctxAB+</i> , <i>tcpA+</i>	человек	1993	Ростовская обл. г. Азов
16064	<i>ctxAB+</i> , <i>tcpA+</i>	человек	1993	Ростовская обл. г. Азов
<i>Vibrio cholerae</i> O1 серогруппы Эль Тор биовара				
19766	<i>ctxAB-</i> , <i>tcpA-</i>	вода	2015	г. Элиста, пруд Заячий
19778	<i>ctxAB-</i> , <i>tcpA-</i>	вода	2015	Иркутская обл. р. Ангара
19791	<i>ctxAB-</i> , <i>tcpA-</i>	вода	2015	Краснодарский край, р. Агура
19813	<i>ctxAB-</i> , <i>tcpA-</i>	человек	1998	г. Мариуполь
19875	<i>ctxAB-</i> , <i>tcpA-</i>	вода	2015	г. Элиста, пруд Заячий
<i>Vibrio cholerae</i> O139 серогруппы				
17675	<i>ctxAB-</i> , <i>tcpA-</i>	вода	1997	г. Москва, р. Москва
17677	<i>ctxAB-</i> , <i>tcpA-</i>	вода	1997	г. Москва, р. Москва
17678	<i>ctxAB-</i> , <i>tcpA-</i>	вода	1997	г. Москва, р. Москва
Гетерологичные микроорганизмы				
<i>Escherichia coli</i> 1961	-	-	1965	-
<i>Escherichia coli</i> 1962	-	-	1965	-
<i>Aeromonas hydrophila</i> P-143	вода	-	1944	г. Ростов-на-Дону, р. Дон
<i>Aeromonas hydrophila</i> P-1269	вода	-	1959	г. Санкт-Петербург, р. Нева
<i>Salmonella typhimurium</i> 1288	-	-	1960	г. Лондон
<i>Salmonella typhimurium</i> 4446	-	-	-	г. Лондон

В качестве источника токсина использовали супернатанты токсигенных штаммов. Исследования с применением патогенных биологических агентов II–III групп патогенности осуществляли согласно требованиям санитарных правил СП 3.3686-21 «Санитарно-эпидемиологические требования по профилактике инфекционных болезней», СП 1.3.2322-2008 «Безопасность работы с микроорганизмами III и IV групп патогенности (опасности) и возбудителями паразитарных болезней».

По отработанной схеме [Якушева и др., 2020б] были приготовлены экспериментальные образцы поли- и моноклональных пероксидазных конъюгатов для детекции ХТ в супернатантах токсигенных штаммов *V. cholerae* O1, O139 серогрупп. Конъюгаты на основе моноклональных антител имели рабочее раз-

ведение 1:32, а поликлональные – 1:64, при этом их чувствительность в прямом варианте ТИФА и дот-ИФА равнялась 10 нг/мл.

Подбор оптимального стабилизатора осуществляли путем оценки четырех вариантов среды высушивания:

первый вариант (I) – 1%-ная сахароза, 1%-ный поливинилпирролидон, 0.5%-ный яичный альбумин; второй (II) – 1%-ная сахароза, 1%-ный тиосульфат натрия, 0.5%-ный яичный альбумин; третий (III) – 1%-ная сахароза, 1%-ный поливинилпирролидон, 0.5%-ный бычий сывороточный альбумин (БСА); четвертый (IV) – 1%-ная сахароза, 1%-ный тиосульфат натрия, 0.5%-ный БСА. Компоненты стабилизатора растворяли в фосфатно-солевом буфере pH 7.2 комнатной температуры при постоянном перемешивании. Полученный раствор фильтровали через фильтры Millipore с размерами пор 0.45 мкм с последующим добавлением в него равного объема конъюгата.

Жидкие пероксидазные антитоксические конъюгаты в защитной среде высушивания разливали по флаконам по 1 мл объемом 5 мл с резиновыми пробками и замораживали. Лиофилизацию проводили на аппарате для сублимационного высушивания Heto PowerDry PL9000, Thermo Scientific (Дания), в течение 11 ч., плавно изменяя температуру сушки с –25 до +30°C. Аналогичным образом лиофилизировали поли- и моноклональные пероксидазные конъюгаты к ХТ без добавления стабилизаторов. По окончании лиофилизации флаконы укупоривали в среде атмосферного воздуха. Готовый препарат хранили при 4°C.

Физические свойства поли- и моноклональных конъюгатов (растворимость, цветность, прозрачность, потеря в массе при высушивании) и иммунохимические (специфическая активность, чувствительность) контролировали до и после лиофилизации. Сроки хранения лиофилизированных конъюгатов оценивали в долгосрочных испытаниях через 6, 12, 18, 24 мес. в условиях сухого защищенного от света места при температуре 4°C. Количественное определение белка проводили методом сравнения поглощения белков при 260 и 280 нм на приборе Bio-Rad SmartSpec Plus.

В опытах использовали одни и те же заведомо отрицательные и положительные пробы, аликвоты которых хранились при температуре –20°C. Специфическую активность и чувствительность проверяли на супернатантах токсигенных, нетоксигенных холерных вибрионов и гетерологичных микроорганизмов, которые получали в результате выращивания штаммов в среде АК1 по стандартному методу М. Iwanaga [Iwanaga, Kuuyakanond, 1987]. Специфическую активность регидратированных конъюгатов определяли в прямом ТИФА и дот-ИФА.

Постановку дот-ИФА осуществляли на нитроцеллюлозной мембране (НЦМ) с диаметром пор 0.45 мм (Bio-Rad) [Якушева и др., 2020a].

Прямой ТИФА проводили в 96-луночных панелях «Costar» (USA), лунки которых сенсibilизировали в течение 2 ч. при 37°C соответствующими супернатантами в разведении 1:2 в 0.01 М фосфатно-солевом буфере (ФСБ), pH 7.4. В качестве положительного контроля использовали препарат очищенного ХТ 50 нг/мл [Алексеева и др., 2019], а отрицательным контролем являлась среда АК1. Неспецифическую сорбцию блокировали 1%-ным раствором БСА в течение 30 мин. при 37°C.

Для разведения конъюгата использовали 0.01 М ФСБ (pH 7.4) с добавлением 0.05%-ного Твин 20. Длительность инкубации токсинсодержащих образцов с конъюгатами не превышала 30 мин. После каждого этапа следовала процедура отмывания планшета ФСБ pH 7.4 от несвязавшихся компонентов реакции. Субстратом служили свежеприготовленные растворы ТМБ (3.3'.5.5'-тетраметилбензидин) и 0.03%-ной перекиси водорода в 50 мМ цитрат-фосфатном буфере (pH 5.0). Реакцию останавливали через 10 мин. добавлением в лунки 2 М раствора серной кислоты. Результаты ИФА регистрировали с помощью спектрофотометра «Bio Tek EL 800» (Bio Tek Instruments, США) при длине волны 450 нм (референс-волна 630 нм). Все исследования проводили не менее чем в трех повторностях. При анализе результатов были использованы параметрические статистические методы ($p < 0.05$). [Ашмарин, Воробьев, 1962].

Результаты и их обсуждение

Приготовленные нами ранее [Якушева и др., 2020] экспериментальные образцы поли- и моноклональных пероксидазных конъюгатов для детекции ХТ в супернатантах токсигенных штаммов *V. cholerae* O1, O139 находились в жидком состоянии и хранились при 4°C. В этом случае сроки их эффективного использования ограничивались одной неделей, при хранении при температуре –20°C – шестью мес. Лиофильное высушивание поли- и моноклональных пероксидазных конъюгатов без стабилизатора не обеспечивало увеличения сроков их хранения.

Поэтому следующим этапом нашей работы был подбор стабилизирующей среды для лиофильного высушивания поли- и моноклональных пероксидазных антитоксических конъюгатов, способствующей сохранению их физико-химических свойств и специфической активности. Испытанию подверглись четыре варианта стабилизирующей среды. Подбор вариантов защитных сред базировался на результатах предварительных исследований, свидетельствующих о возможности использования традиционных компонентов: сахарозы, тиосульфата натрия, поливинилпирролидона, яичного и бычьего сывороточного

альбумина, которые обеспечивают высокий уровень сохранности препаратов при различных режимах сушки. Как показали результаты ТИФА, рабочий титр и чувствительность моноклонального и поликлонального пероксидазного конъюгатов остались на исходном уровне после добавления к ним различных стабилизирующих сред. Согласно полученным данным, все вышеуказанные компоненты, входящие в состав сред, не препятствовали связыванию иммуноглобулинов с антигеном, а также обеспечивали возможность проникновения субстрата к активному центру пероксидазы.

Была проведена лиофилизация поли- и моноклональных пероксидазных конъюгатов к ХТ с использованием стабилизирующих сред и оценены их основные физико-химические и биологические показатели. Препараты после лиофилизации представляли собой гомогенную компактную массу в виде таблетки белого цвета, равномерно прилегающей к внутренней поверхности флакона, конъюгаты без стабилизатора имели серый оттенок. Остаточная влажность сухих конъюгатов не превышала 2%. После добавления необходимого объема растворителя (дистиллированная вода) лиофилизированные препараты хорошо без осадка растворялись в течение 1 мин. при температуре 20...25°C.

Регидратированные препараты представляли собой гомогенные, слабо опалесцирующие жидкости, от бесцветной до слабожелтой окраски, без хлопьев и комков. Результаты исследований показали снижение значений оптической плотности в прямом ТИФА для поли- и моноклональных пероксидазных конъюгатов, лиофилизированных без стабилизирующей среды. Аналогичную реакцию наблюдали и в отношении лиофилизатов первой и третьей стабилизирующих сред (табл. 2). В препаратах поли- и моноклональных конъюгатов, лиофилизированных без стабилизирующей среды, отмечено снижение содержания белка на 10.5 ± 0.04 и $9.9 \pm 0.09\%$ соответственно. Показатель потери белка конъюгатов после лиофилизации в первой и третьей стабилизирующих средах составил 5.5%. Минимальное снижение количества белка установлено в препаратах лиофилизатов второй и четвертой стабилизирующих сред. Последние, как показали результаты ИФА, в большей степени способствовали сохранности специфической активности препаратов, тогда как для первого и третьего вариантов сред было зарегистрировано её снижение.

Таблица 2

Оценка специфической активности и содержание белка в пероксидазных конъюгатах до и после лиофильного высушивания

[Assessment of specific activity and protein content of peroxidase conjugates before and after lyophilic drying]

	До лиофилизации			После лиофилизации		
	Стабилизирующая среда	Содержание белка, %	ОП в ТИФА с с/н <i>V. cholerae</i> O1 El Tor ctx-AB ⁺	Стабилизирующая среда	Потеря белка, % от общего содержания	ОП в ТИФА с с/н <i>V. cholerae</i> O1 El Tor ctxAB ⁺
Поликлональный конъюгат	Отсутствует	8.4 ± 0.12	1.543 ± 0.02	Отсутствует	10.5 ± 0.04	0.888 ± 0.01
	I	9.5 ± 0.08	1.545 ± 0.02	I	5.5 ± 0.04	1.268 ± 0.05
	II	9.3 ± 0.04	1.540 ± 0.02	II	1.2 ± 0.04	1.538 ± 0.03
	III	9.4 ± 0.08	1.544 ± 0.02	III	5.4 ± 0.04	1.248 ± 0.04
	IV	9.3 ± 0.20	1.539 ± 0.02	IV	1.4 ± 0.04	1.527 ± 0.01
	Положительный контроль		1.680 ± 0.02	Положительный контроль		1.665 ± 0.01
	Отрицательный контроль		0.089 ± 0.01	Отрицательный контроль		0.091 ± 0.01
Моноклональный конъюгат	Отсутствует	9.2 ± 0.08	1.202 ± 0.02	Отсутствует	9.9 ± 0.09	0.719 ± 0.01
	I	10.4 ± 0.37	1.291 ± 0.04	I	5.1 ± 0.04	1.113 ± 0.05
	II	10.2 ± 0.12	1.298 ± 0.01	II	1.3 ± 0.09	1.268 ± 0.02
	III	10.4 ± 0.16	1.203 ± 0.03	III	5.5 ± 0.01	1.097 ± 0.03
	IV	10.3 ± 0.08	1.297 ± 0.02	IV	1.1 ± 0.03	1.268 ± 0.01
	Положительный контроль		1.404 ± 0.01	Положительный контроль		1.386 ± 0.01
	Отрицательный контроль		0.089 ± 0.01	Отрицательный контроль		0.083 ± 0.02

Примечание. Представлены средние значения оптических плотностей (ОП) и стандартное отклонение.

При использовании в ИФА лиофилизированных конъюгатов без стабилизатора показатели ОП были ниже. Результаты проверки активности и специфичности в ТИФА на широком наборе штаммов показали, что до лиофильного высушивания поли- и моноклональные конъюгаты специфично реагировали с супернатантами токсигенных штаммов *V. cholerae*, при этом показатели ОП для *V. cholerae* O1 Classical ctxAB1⁺ и геновариантов, содержащих специфический для классического биовара ген (ctxAB1⁺) и ген (ctxAB7⁺), были 1.628 ± 0.006 и 1.428 ± 0.001 соответственно. Оптическая плотность лунок, сенсibilizированных супернатантами *V. cholerae* O1 El Tor, содержащих специфический для биовара El Tor ген ctxAB3⁺ и *V. cholerae* O139 ctxAB⁺ и инкубированных с поли- и моноклональными конъюгатами, находилась в пределах значений 0.585 ± 0.003 и 0.412 ± 0.007 . Поли- и моноклональные конъюгаты не вступали в реакцию с супернатантами нетоксигенных штаммов и гетерологичными микроорганизмами, и тому подтверждение показатели ОП, равные 0.108 ± 0.001 т.е. на уровне отрицательного контроля. Леофилизированные во второй и четвертой стабилизирующих средах поли- и моноклональные конъюгаты при взаи-

модействии с супернатантами *V. cholerae* O1 Classical *ctxAB1*⁺ и генетически измененными вариантами (*ctxAB1*⁺ и *ctxAB7*⁺) имели ОП 1.620±0.001 и 1.421±0.002, у *V. cholerae* O1 El Tor *ctxAB3*⁺ и *V. cholerae* O139 *ctxAB*⁺ ОП были 0.579±0.002 и 0.408±0.003. Эти значения сопоставимы с исходным уровнем активности препаратов. Положительная реакция также зарегистрирована в отношении поли- и моноклональных пероксидазных конъюгатов, лиофилизированных в первой и третьей стабилизирующих средах, однако при этом ОП значительно снизились. Так, для супернатантов штаммов *V. cholerae* O1 Classical *ctxAB1*⁺ и геновариантов (*ctxAB1*⁺ и (*ctxAB7*⁺)) они находились в диапазоне 1.185±0.002 - 1.061±0.002. Для большей части супернатантов токсигенных штаммов ОП регистрировались в пределах 0.345±0.003 – 0.257±0.005, свидетельствуя о снижении активности конъюгатов после лиофилизации в первой и третьей стабилизирующих средах.

Экспериментальные образцы поли- и моноклональных конъюгатов до лиофильного высушивания и после него также были изучены в реакции дот-ИФА на широком наборе супернатантов штаммов *V. cholerae* O1. Их активность оценивали по интенсивности окрашивания пятен в местах нанесения токсинсодержащих образцов после выполнения дот-иммуноанализа.

Результаты сравнительной оценки лиофилизатов поли- и моноклональных конъюгатов показали, что все конъюгаты до лиофилизации обладают способностью связываться с супернатантами токсигенных штаммов *V. cholerae* O1, что подтверждается наличием сигнала только в местах нанесения токсинсодержащих образцов. Отсутствие окрашенных пятен на НЦМ у супернатантов штаммов *V. cholerae* O1, не содержащих в геноме детерминант ХТ и супернатантов гетерологичных микроорганизмов – показатель отрицательной реакции дот-ИФА и свидетельство строгой специфичности конъюгатов.

Таблица 3

Определение специфической активности конъюгатов в ИФА после хранения в течение 6, 12, 18, 24 месяцев

[Determination of specific conjugate activity in ELISA after storage for 6, 12, 18, 24 months]

	Стабилизирующая среда	Температура хранения	Титр лиофилизированных конъюгатов в ИФА до хранения	Титр лиофилизированных конъюгатов в ИФА			
				через 6 месяцев хранения	через 12 месяцев хранения	через 18 месяцев хранения	через 24 месяца хранения
Поликлональный конъюгат	отсутствует	4°C	1:64	-	-	-	-
	I	4°C	1:64	1:64	1:32	1:16	1:8
	II	4°C	1:64	1:64	1:64	1:64	1:64
	III	4°C	1:64	1:64	1:32	1:16	1:16
	IV	4°C	1:64	1:64	1:64	1:64	1:64
Моноклональный конъюгат	отсутствует	4°C	1:32	-	-	-	-
	I	4°C	1:32	1:32	1:16	1:16	1:8
	II	4°C	1:32	1:32	1:32	1:32	1:32
	III	4°C	1:32	1:32	1:16	1:16	1:8
	IV	4°C	1:32	1:32	1:32	1:32	1:32

Примечание. - реакция отрицательная.

Взаимодействие супернатантов токсигенных штаммов *V. cholerae* O1 с поли- и моноклональными конъюгатами, лиофилизированными во второй и четвертой стабилизирующих средах, сопровождалось появлением коричневых пятен на НЦМ. В то же время интенсивность реакции дот-ИФА снижалась, если супернатанты токсигенных штаммов *V. cholerae* O1 вступали в реакцию с поли- и моноклональными конъюгатами, лиофилизированными в первой и третьей стабилизирующих средах, в которых наряду с сахарозой, БСА или яичным альбумином, присутствовал поливинилпирролидон, в отличие от второй и четвертой, содержащих тиосульфат натрия.

Аналогичные результаты с супернатантами токсигенных штаммов *V. cholerae* O1 получены в реакции дот-ИФА при использовании поли- и моноклональных конъюгатов, лиофилизированных в среде без стабилизатора, и проявлялась она в виде менее окрашенных пятен. Необходимо также отметить отсутствие сигнала реакции у всех исследуемых лиофилизатов с супернатантами нетоксигенных штаммов *V. cholerae* O1 и представителями гетерологичных микроорганизмов.

Представляла также практический интерес оценка стабильности лиофилизированных конъюгатов в процессе хранения в течение 6, 12, 18, 24 мес. при 4°C. Результаты в ИФА показали, что лиофилизированные конъюгаты сохраняли исходную специфическую активность при использовании второй и четвертой стабилизирующих сред (табл. 3). Показатели титров конъюгатов в этом случае оставались на исходном уровне. Хранение поли- и моноклональных конъюгатов, лиофилизированных в первой и третьей защитных средах, сопровождалось снижением рабочего титра до 1:8–1:16.

Заключение

Таким образом, на основании данных, полученных в долгосрочных испытаниях, можно рекомендовать срок использования поли- и моноклональных конъюгатов в лиофилизированной форме в течение двух лет. Экспериментально доказано, что в течение этого периода времени серологические и физико-химические показатели лиофилизированных конъюгатов в защитной среде, содержащей 1% сахарозы, 1% тиосульфата натрия, 0.5% яичного альбумина или 0.5% БСА, остаются на уровне, соответствующем требованиям, предъявляемым к диагностическим препаратам.

Список источников

1. Алексеева Л.П. и др. Современные методические приемы очистки холерного токсина // Вестник биотехнологии и физико-химической биологии им. Ю.А. Овчинникова. 2019. Т. 15, № 1. С. 5–9.
2. Ашмарин И.П., Воробьев А.А. Статистические методы в микробиологических исследованиях. Л.: Медгиз, 1962. 180 с.
3. Загоскина Т.Ю. и др. Совершенствование тест-системы для скрининга материала на ботулотоксин в дот-иммуноанализе // Бюллетень Восточно-Сибирского научного центра Сибирского отделения РАМН. 2015. Т. 101, № 1. С. 60–62.
4. Куклина Г.В. и др. Разработка иммуноферментной тест-системы для обнаружения *Legionella pneumophila* серогруппы 1 // Проблемы особо опасных инфекций. 2011. Вып. 110. С. 61–64.
5. Кытманов А.А. и др. Разработка иммуноферментных моноклональных тест-систем для выявления возбудителей сапа и мелиоидоза // Проблемы особо опасных инфекций. 2018. Вып. 3. С. 60–65. doi: 10.21055/0370-1069-2018-3-60-65.
6. Пат. RU2232190C2 Российская Федерация, МПК C12N9/08 C12N9/96 A61K39/00. Композиция для хранения водных растворов конъюгатов или антител с пероксидазой хрена / Н.А. Игнатова, А.П. Осипов; патентообладатель ЗАО Иммунотех. – заявл. 22.06.2001; опублик. 10.07.2004.
7. Пат. RU216.013.4820 Российская Федерация. Способ консервации иммунопероксидазного конъюгата / А.А. Зайцев, О.А. Гнусарева, С.А. Курчева и др.; патентообладатель Ставропольский научно-исследовательский противочумный институт. – № 0002549971; опублик. 10.05.2015.
8. Пирожков А.П. и др. Стабилизация пероксидазных конъюгатов, используемых в иммуноферментных тест-системах для выявления антигенов вирусов Эбола и Марбург // Вопросы вирусологии. 2010. № 1. С. 45–48.
9. Шаморова Н.А. Стабилизация конъюгата тироксин-пероксидаза аммониевой солью 8-анилинафтил-1-сульфокислоты // Биотехнология. 2009. № 5. С. 90–93.
10. Якушева О.А. и др. Характеристика и оценка диагностической значимости поли- и моноклональных пероксидазных конъюгатов к холерному токсину // Вестник биотехнологии и физико-химической биологии им. Ю.А. Овчинникова. 2020а. Т. 16, № 2. С. 37–43.
11. Якушева О.А. и др. Оптимизация условий постановки прямого варианта дот-иммуноанализа для детекции холерного токсина // Вестник биотехнологии и физико-химической биологии им. Ю.А. Овчинникова. 2020б. Т. 16, № 3. С. 25–31.
12. Bayat M., Khabiri A., Hemati B. Development of IgY-Based Sandwich ELISA as a Robust Tool for Rapid Detection and Discrimination of Toxigenic *Vibrio cholerae* // Can. J. Infect. Dis. Med. Microbiol. 2018. doi: 10.1155/2018/4032531.
13. Gubala A.J., Proll D.F. Molecular-beacon multiplex real-time PCR assay for detection of *Vibrio cholerae* // Appl. Environ. Microbiol. 2006. Vol. 72, № 9. P. 6424–6428. doi: 10.1128/AEM.02597-05.
14. Iwanaga M., Kuyyakanond T. Large production of cholera toxin by *Vibrio cholerae* O1 in yeast extract peptone water // Journal of Clinical Microbiology. 1987. Vol. 25, № 1. P. 2314–2316.
15. Izumiya H. et al. Development of a loop mediated isothermal amplification assay for *Vibrio cholerae* O1 and O139 // Molecular and Cellular Probes. 2019. Vol. 45. P. 65–67. doi: 10.1016/j.mcp.2019.05.001.
16. Kerketta A.S., Kar S.K., Khuntia H.K. Detection of Haitian ctxB7 & tcpA alleles in *Vibrio cholerae* O1 El Tor biotype in Puri, Odisha, India // Indian J. Med. Res. 2019. Vol. 149, № 4. P. 558–560. doi: 10.4103/ijmr.IJMR_1130_17.
17. Kim E.J. et al. Molecular Insights Into the Evolutionary Pathway of *Vibrio cholerae* O1 Atypical El Tor Variants // PLoS Pathog. 2014. Vol. 10, № 9. doi: 10.1371/journal.ppat.1004384.
18. Kim E.J. et al. Whole-genome sequence comparisons reveal the evolution of *Vibrio cholerae* O1 // Trends in Microbiology. 2015. Vol. 23, № 8. P. 479–489. doi: 10.1016/j.tim.2015.03.010.
19. Koskela K.A. et al. A multiplatform real-time polymerase chain reaction detection assay for *Vibrio cholerae* // Diagnostic microbiology and infectious disease. 2009. Vol. 65, № 3. P. 339–344.

20. Lyon W.J. TaqMan PCR for detection of *Vibrio cholerae* O1, O139, non-O1, and non-O139 in pure cultures, raw oysters, and synthetic seawater // *Appl. Environ. Microbiol.* 2001. Vol. 67, № 10. P. 4685–4693. doi: 10.1016/j.diagmicrobio.2009.07.009.
21. Meza-Lucas A. et al. Comparison of DOT-ELISA and Standard-ELISA for Detection of the *Vibrio cholerae* Toxin in Culture Supernatants of Bacteria Isolated from Human and Environmental Samples // *Indian J. Microbiol.* 2016. Vol. 56, № 3. P. 379–382. doi: 10.1007/s12088-016-0596-2.
22. Safa A., Nair G.B., Kong R.Y.C. Evolution of new variants of *Vibrio cholerae* O1 // *Trends Microbiol.* 2010. Vol. 18, № 1. P. 46–54. doi: 10.1016/j.tim.2009.10.003.
23. Tuteja U. et al. Simultaneous direct detection of toxigenic and non-toxigenic *Vibrio cholerae* from rectal swabs and environmental samples by sandwich ELISA // *J. Med. Microbiol.* 2007. Vol. 56, № 10. P. 1340–1345. doi: 10.1099/jmm.0.47166-0.

References

1. Alekseeva L.P., Yakusheva O.A., Zyuzina V.P., Duvanov O.V., Shipko E.S., Pisanov R.V. [Modern methodological methods of cholera toxin purification]. *Vestnik biotehnologii i fiziko-chimicheskoy biologii im. Yu.A. Ovčinnikova*. V. 15, No 1 (2019): pp. 5-9. (In Russ.).
2. Ashmarin I.P., Vorobiev A.A. *Statističeskie metody v mikrobiologicheskikh issledovaniyakh* [Statistical methods in microbiological research]. Leningrad, Medgiz Publ., 1962. 180 p. (In Russ.).
3. Zagorskina T.Yu., Chaporgina E.A., Markov E.Yu., Popova Yu.O., Soloviev S.Yu., Andreevskaya N.M., Balakhonov S.V. [Improvement of the test system for screening material for botulinum toxin in dot-immunoassay]. *Bulleten' Vostočno-Sibirskogo nauchnogo centra Sibirskogo otdeleniya RAMN*. V. 101, No 1 (2015): pp. 60-62. (In Russ.).
4. Kuklina G.V., Fomenkov O.O., Elagin G.D., Kutaev D.A., Yanov D.S., Kytmanov A.A., Bogacheva N.V., Vorob'eva T.P., Darmov I.V., Pechenkin D.V. [Development of the Immuno-Enzyme Test-System for the Detection of *Legionella pneumophila*, Serogroup 1]. *Problemy osobo opasnykh infektsij*. Iss. 110 (2011): pp. 61-64. (In Russ.).
5. Kytmanov A.A., Elagin G.D., Kuklina G.V., Pechenkin D.V., Fomenkov O.O., Eremkin A.V., Ipatov S.S., Ziganshin E.R. [Development of Immuno-Enzymatic Monoclonal Tests-Systems for the Detection of Glanders and Melioidosis Agents]. *Problemy osobo opasnykh infektsij*. Iss. 3 (2018): pp. 61-64. (In Russ.).
6. Ignatova N.A., Osipov A.P. RF patent №. RU 2 232 190 C2, 2004.07.10. *Kompozitsiya dlja chraneniya vodnykh rastvorov kon'jugatov ili antitel s peroksidazoy chrena* [Composition for storage of aqueous solutions of conjugates or antibodies with horseradish peroxidase]. (In Russ.).
7. Zaitsev A.A., Gnusareva O.A., Kurcheva S.A., Garkusha Yu.Yu., Tyumentseva I.S., Rybalko T.I., Kulichenko A.N. RF patent №. RU 216.013.4820, 2015.05.10. *Sposob konservatsii immunoperoxidaznogo kon'jugata* [Method of conservation of immunoperoxidase conjugate]. (In Russ.).
8. Pirozhkov A.P., Borisevich I.V., Snetkova O.Yu., Androshchuk I.A., Syromyatnikova S.I., Khmelev A.L., Shatokhina I.V., Kudrin V.Yu., Timofeev M.A., Pantyukhov V.B., Borisevich S.V., Markov V.I., Bondarev V.P. [Stabilization of peroxidase conjugates used in enzyme-linked immunosorbent assays for the detection of antigens of the Ebola and Marburg viruses]. *Voprosy virusologii*. No 1 (2010): pp. 45-48. (In Russ.).
9. Shamorova N.A. [Stabilization of the thyroxine-peroxidase conjugate with the ammonium salt of 8-anilino-naphthyl-1-sulfonic acid]. *Biotehnologiya*. No 5 (2009): pp. 90-93. (In Russ.).
10. Yakusheva O.A., Alekseeva L.P., Zyuzina V.P., Arkhangelskaya I.V., Yagovkin M.E. [Characterization and assessment of the diagnostic significance of poly and monoclonal peroxidase conjugates to cholera toxin]. *Vestnik biotehnologii i fiziko-chimicheskoy biologii im. Yu.A. Ovčinnikova*. V. 16, No 2 (2020a): pp. 37-43. (In Russ.).
11. Yakusheva O.A., Alekseeva L.P., Arkhangelskaya I.V., Kruglikov V.D., Zyuzina V.P., Yagovkin M.E. [Optimization of conditions for setting a direct variant of dot-immunoassay for the detection of cholera toxin]. *Vestnik biotehnologii i fiziko-chimicheskoy biologii im. Yu.A. Ovčinnikova*. V. 16, No 3 (2020b): pp. 25-31. (In Russ.).
12. Bayat M., Khabiri A., Hemati B. Development of IgY-Based Sandwich ELISA as a Robust Tool for Rapid Detection and Discrimination of Toxigenic *Vibrio cholera*. *Can. J. Infect. Dis. Med. Microbiol.* (2018). doi: 10.1155/2018/4032531.
13. Gubala A.J., Proll D.F. Molecular-beacon multiplex real-time PCR assay for detection of *Vibrio cholera*. *Appl. Environ. Microbiol.* V. 72, No 9 (2006): pp. 6424-6428. doi: 10.1128/AEM.02597-05.
14. Iwanaga M., Kuyyakanond T. Large production of cholera toxin by *Vibrio cholerae* O1 in yeast extract peptone water. *Journal of Clinical Microbiology*. V. 25, No 1 (1987): pp. 2314-2316.
15. Izumiya H., Morita M., Arakawa E., Ngo T.C., Nguyen H.T., Nguyen D.T., Ohnishi M. Development of a loop mediated isothermal amplification assay for *Vibrio cholerae* O1 and O139. *Molecular and Cellular Probes*. V. 45 (2019): pp. 65-67. doi: 10.1016/j.mcp.2019.05.001.

16. Kerketta A.S., Kar S.K., Khuntia H.K. Detection of Haitian ctxB7 & tcpA alleles in *Vibrio cholerae* O1 El Tor biotype in Puri, Odisha, India. *Indian J. Med Res.* V. 149, No 4 (2019): pp. 558-560. doi: 10.4103/ijmr.IJMR_1130_17.
17. Kim E.J., Lee D., Moon S.H., Lee C.H., Kim S.J., Lee J.H., Kim J.O., Song M., Das B., Clemens J.D., Pape J.W., Nair G.B., Kim D.W. Molecular Insights Into the Evolutionary Pathway of *Vibrio cholerae* O1 Atypical El Tor Variants. *PLoS Pathog.* V. 10, No 9 (2014). doi: 10.1371/journal.ppat.1004384
18. Kim E.J., Lee C.H., Nair G.B., Kim D.W. Whole-genome sequence comparisons reveal the evolution of *Vibrio cholerae* O1. *Trends in Microbiology.* V. 23, No 8 (2015): pp. 479-489. doi: 10.1016/j.tim.2015.03.010.
19. Koskela K.A., Matero P., Blatny J.M., Fykse E.M., Olsen J.S., Nuotio L.O., Nikkari S. A multiplatform real-time polymerase chain reaction detection assay for *Vibrio cholerae*. *Diagnostic microbiology and infectious disease.* V. 65, No 3 (2009): pp. 339-344.
20. Lyon W.J. TaqMan PCR for detection of *Vibrio cholerae* O1, O139, non-O1, and non-O139 in pure cultures, raw oysters, and synthetic seawater. *Appl. Environ. Microbiol.* V. 67, No 10 (2001): pp. 4685-4693. doi: 10.1016/j.diagmicrobio.2009.07.009.
21. Meza-Lucas A., Pérez-Villagómez M., Martínez-López J., García-Rodea R., Martínez-Castelán M., Escobar-Gutiérrez A., de-la-Rosa-Arana J., Villanueva-Zamudio A. Comparison of DOT-ELISA and Standard-ELISA for Detection of the *Vibrio cholerae* Toxin in Culture Supernatants of Bacteria Isolated from Human and Environmental Samples. *Indian J. Microbiol.* V. 56, No 3 (2016): pp. 379-382. doi: 10.1007/s12088-016-0596-2.
22. Safa A., Nair G.B., Kong R.Y.C. Evolution of new variants of *Vibrio cholerae* O1. *Trends Microbiol.* V. 18, No 1 (2010): pp. 46-54. doi: 10.1016/j.tim.2009.10.003.
23. Tuteja U., Kumar S., Shukla J., Kingston J., Batra H.V. Simultaneous direct detection of toxigenic and non-toxigenic *Vibrio cholerae* from rectal swabs and environmental samples by sandwich ELISA. *J. Med. Microbiol.* V. 56, No 10 (2007): pp. 1340-1345. doi: 10.1099/jmm.0.47166-0.

Статья поступила в редакцию 23.05.2022; одобрена после рецензирования 09.09.2022; принята к публикации 29.11.2022.

The article was submitted 23.05.2022; approved after reviewing 09.09.2022; accepted for publication 29.11.2022.

Информация об авторах

Ольга Александровна Якушева – yakusheva_oa@antiplague.ru, <https://orcid.org/0000-0001-8159-7547>, науч. сотрудник;
 Людмила Павловна Алексеева – lpalekseeva@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0002-9866-3579>, доктор биол. наук, профессор;
 Вероника Вячеславовна Евдокимова – evdokimova_vv@antiplague.ru, <https://orcid.org/0000-0001-5522-9097>, канд. биол. наук, науч. сотрудник;
 Вера Павловна Зюзина – zyuzina_vp@antiplague.ru, <https://orcid.org/0000-0003-3100-0049>, канд. биол. наук, старший науч. сотрудник;
 Михаил Эдуардович Яговкин – yagovkin_me@antiplague.ru, <https://orcid.org/0000-0001-8414-4965>, науч. сотрудник.

Information about the authors

Olga A. Yakusheva – yakusheva_oa@antiplague.ru, <https://orcid.org/0000-0001-8159-7547>, research associate;
 Lyudmila P. Alekseeva – lpalekseeva@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0002-9866-3579>, doctor of biology, professor;
 Veronika V. Evdokimova – evdokimova_vv@antiplague.ru, <https://orcid.org/0000-0001-5522-9097>, candidate of biology, researcher;
 Vera P. Zyuzina – zyuzina_vp@antiplague.ru, <https://orcid.org/0000-0003-3100-0049>, candidate of biology, senior researcher;
 Mikhail E. Yagovkin – yagovkin_me@antiplague.ru, <https://orcid.org/0000-0001-8414-4965>, research associate.

Вклад авторов:

Якушева О. А. – написание исходного текста; статистическая обработка материала.
 Алексеева Л. П. – научное руководство; концепция исследования; итоговые выводы.
 Евдокимова В. В. – анализ данных; доработка текста; итоговые выводы.
 Зюзина В. П. – анализ литературы, ответственность за все аспекты работы, надлежащее изучение и решение вопросов, связанных с достоверностью данных и целостностью всех частей статьи.
 Яговкин М. Э. – анализ и интерпретация результатов работы, критический пересмотр содержания.

Contribution of the authors:

Yakusheva O. A. – writing the original text; statistical processing of the material.
 Alekseeva L. P. – scientific management; conceptual studies; capture results.
 Evdokimova V. V. – data analysis; text revision; survey results.
 Zyuzina V. P. – analysis of the literature, responsibility for all aspects of the work, proper study and solution of issues characterized by the availability of data and the presence of all parts of the article.
 Yagovkin M. E. – analysis and interpretation of the results of the work, revision of the content.

ЭКОЛОГИЯ

Научная статья

УДК 619:616.98:578.824.11:574 (571.13)

doi: 10.17072/1994-9952-2022-4-309-326.

Современные эколого-эпизоотологические и эпидемиологические особенности природных очагов бешенства в Омской области

Екатерина Сергеевна Савкина^{1✉}, Елена Михайловна Полещук²,
Геннадий Николаевич Сидоров^{3,4}

^{1, 2, 3} Омский научно-исследовательский институт природно-очаговых инфекций, Омск, Россия

^{1✉} savkina_es@oniipi.org, <https://orcid.org/0000-0002-4434-1734>

² poleschuk_em@oniipi.org, <https://orcid.org/0000-0002-8217-5159>

³ g.n.sidorov@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-8344-7726>

⁴ Омский государственный педагогический университет, Омск, Россия

Аннотация. Проведено изучение современных эколого-эпизоотологических и эпидемиологических особенностей заболеваний бешенством в Омской обл. в начале XXI в., традиционно неблагополучной по этой инфекции. Охарактеризованы заболевания людей бешенством в Омской обл. с 1962 г. и установлены особенности обращения населения за антирабической помощью после травматических контактов с животными за 2001–2020 гг. Изучены особенности эпизоотического процесса в этот период. Проанализирована численность лисицы и енотовидной собаки – основных природных хозяев и распространителей бешенства. Выявлены индекс эпизоотичности и плотности инфекции в разных районах области. Выполнено современное эпидемиологическое районирование и установлен риск заболеваемости бешенством в разных районах Омской обл. Установлено, что в начале XXI в. эпизоотический процесс бешенства на территории области претерпел значительные изменения. Число выявляемых заболеваний животных имеет тренд к выраженному снижению. Эпизоотии формируют стойкие очаги, локализующиеся в изучаемый период преимущественно в подзоне северной лесостепи. Эта ранее не наблюдаемая особенность ландшафтной приуроченности очагов, по-видимому, связана с изменением структуры населения природных хозяев инфекции и значительным ростом численности енотовидной собаки. Установлено, что для оптимизации профилактических мероприятий требуется уделить внимание вакцинации всех групп животных, вовлечённых в эпизоотический процесс, продолжать оральную вакцинацию диких хищников. Существуют условия для формирования стойких природных очагов инфекции и возможности активизации эпизоотий. Это обуславливает актуальность постоянного мониторинга плотности популяций и спонтанной заражённости вирусом бешенства лисицы, енотовидной собаки, корсака и барсука.

Ключевые слова: бешенство, Омская область, енотовидная собака, эпизоотология, экология, эпидемиология, спонтанная заражённость бешенством, распространители

Для цитирования: Савкина Е. С., Полещук Е. М., Сидоров Г. Н. Современные эколого-эпизоотологические и эпидемиологические особенности природных очагов бешенства в Омской области // Вестник Пермского университета. Сер. Биология. 2022. Вып. 4. С. 309–326. <http://dx.doi.org/10.17072/1994-9952-2022-4-309-326>.

ECOLOGY

Original article

Modern ecological, epizootological and epidemiological features of natural foci of rabies in the Omsk region

Ekaterina S. Savkina^{1✉}, Elena M. Poleschchuk², Gennady N. Sidorov^{3,4}

^{1, 2, 3} Omsk Research Institute of Natural Focal Infections, Omsk, Russia

^{1✉} savkina_es@oniipi.org, <https://orcid.org/0000-0002-4434-1734>

² poleschuk_em@oniipi.org, <https://orcid.org/0000-0002-8217-5159>

³ g.n.sidorov@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-8344-7726>

⁴ Omsk State Pedagogical University, Omsk, Russia

Abstract. The aim of the work is to study modern ecological, epizootological and epidemiological features of rabies in the Omsk region at the beginning of the 21st century, as this region is traditionally considered a rabies-prone territory. The paper describes the cases of rabies infection in human in the Omsk region in 1962–2020 and

determines the features of treatment-seeking behaviour after traumatic contacts with animals in 2001–2020. The features of the epizootic process within the period 2001–2020 were studied. The number of foxes and raccoon dogs, i.e., the main natural hosts and distributors of rabies was analyzed. The epizootic index and infection density in different districts of the region for 2001–2020 were revealed. A modern epidemiological zoning was carried out and the risk of rabies incidence in different districts of the Omsk region was determined. The epizootic process of rabies in the region was determined to undergo significant changes at the beginning of the 21st century. A pronounced downward trend was revealed in the number of detected animal diseases. Epizootics form persistent foci, localized during the study period mainly in the subzone of the northern forest steppe. This previously unobserved feature of the landscape confinement of foci to the northern forest-steppe zone is apparently associated with a change in the population structure of natural hosts of the infection and a significant increase in the number of raccoon dogs. Conclusions: to optimize preventive measures, it is necessary to pay attention to the vaccination of all groups of animals involved in the epizootic process, to continue oral vaccination of wild predators. There are conditions for the formation of persistent natural foci of infection and the possibility of epizootics to get activated. This determines the relevance of constant virological monitoring of the populations of foxes, raccoon dogs, corsacs and badgers, as well as monitoring the density of populations of these species.

Keywords: rabies, Omsk region, raccoon dog, epizootology, ecology, epidemiology, rabies spontaneous infection, spreaders

For citation: Savkina E. S., Poleshchuk E. M., Sidorov G. N. [Modern ecological, epizootological and epidemiological features of natural foci of rabies in the Omsk region]. *Bulletin of Perm University. Biology*. Iss. 4 (2022): pp. 309–326. (In Russ.). <http://dx.doi.org/10.17072/1994-9952-2022-4-309-326>.

Введение

Бешенство – это зооантропоноз, поэтому эколого-эпизоотологическая и эпидемиологическая характеристика природных очагов рабической инфекции находится в прямой зависимости от территориального распределения и особенностей экологии основных природных хозяев этого возбудителя [Канторович, 1965; Черкасский, 1985; Winkler, 1975]. К настоящему времени установлено, что для характеристики природного очага этой болезни устанавливаются видовое разнообразие, плотность популяций, абсолютная численность, ландшафтно-территориальное распределение и биотические отношения диких хищных млекопитающих семейства псовых (Canidae) [Селимов, 1987; Ведерников, 1987; Ботвинкин, 1992; Сидоров, 1995]. Природный очаг бешенства — это саморегулирующаяся паразитарная система, вписывающаяся в классические законы экологии [Одум, 1975; Беляков, Каминский, Каминская, 1987; Шилов, 2000].

В условиях юга Западной Сибири основные резервуарные хозяева рабического возбудителя – это лисица (*Vulpes vulpes*), енотовидная собака (*Nyctereutes procyonoides*), корсак (*Vulpes corsac*) и волк (*Canis lupus*). Цель работы – изучить современные эколого-эпизоотологические и эпидемиологические особенности проявления природных очагов бешенства в Омской обл. в начале XXI в. во взаимосвязи с плотностью популяций и динамикой численности лисицы и енотовидной собаки.

Территория Омской обл. находится в Западно-Сибирско-Казахстанском природно-очаговом регионе бешенства, что определяет неблагоприятное положение области по смертельно опасному заболеванию [Ботвинкин, 1992].

Первые сведения о бешенстве в Омской обл. датируются 1913 г., когда гидрофобией заболел 21 человек. В 1914–1916 гг. сообщалось о заболеваемости собак и кошек. В 1918–1932 гг. в области было зарегистрировано 13 случаев гидрофобии и постоянно регистрировалось бешенство у животных, преимущественно у собак и волков [Козмин, 1916; Рудаков, 1971]. В период 1932–1960 гг. заболеваемость людей и животных в области не регистрировалась. В конце декабря 1961 г. заболела и пала от бешенства лошадь [Титков, Иванова, Маркарян, 1963; Рудаков, 1971]. И с 1962 по 2022 г. на территории Омской области на протяжении 60 лет, почти не прерываясь, то активизируется, то затухает активность природного очага этой инфекции.

Природный очаг бешенства в области, его эколого-вирусологическую и эпидемиологическую структуру, территориально-временные особенности активно изучали с 1960-х гг. [Рудаков, 1971; Грибанова, 1975; Полещук, 2005; Сидорова, 2009; Сидоров и др., 2014]. В многолетнем эпизоотическом процессе были выделены три эколого-эпизоотологических периода, характеризующиеся своими особенностями [Сидорова, 2009; Полещук, Сидоров, 2010]:

Первый период (1962–1990 гг.), – подъемы эпизоотий отмечали через 2–3 года, регистрировали в среднем 49.5 ± 9.5 случаев в год. Наибольшее число заболевших животных (227 сл.) установили в 1972 г. Низкие показатели (менее 10 животных) были зафиксированы в 1964, 1967–1968, 1970 гг. Среднегодовое число бешеных животных, выявленных в этот период, превышало среднемноголетний показатель за 1962–2020 гг. (37.3 ± 5.3) в 1.3 раза. К концу этого периода наметилась тенденция снижения активности эпизоотического процесса.

В 1970-е гг. была выявлена территориальная приуроченность эпизоотий бешенства к южным и центральным районам области. Было установлено, что на степную, лесостепную и таежные зоны области

приходится, соответственно, 60, 40 и 10% случаев бешенства у животных [Грибанова, Мальков, 1978]. С периодичностью 6–7 лет наблюдалось волнообразное перемещение эпизоотических волн из степных и южно-лесостепных районов в северном направлении к подзоне осиново-березовых лесов и южной тайги [Рыбак, Сидоров, Кузьмин, 1992].

Заболевания диких животных в области начали выявлять с 1962 г. До 1972 г. эти случаи были эпизодическими. В 1972 г. выявили 47 инфицированных диких животных, в 1973 – 38. С 1979 г. бешенство у диких животных стали регистрировать регулярно.

Удельный вес лисицы в общей структуре выявленных инфицированных животных в первый период составлял $21.9 \pm 1.1\%$, корсака – $2.5 \pm 0.4\%$, волка – $0.4 \pm 0.2\%$, собаки – $13.9 \pm 0.7\%$, кошки – $2.6 \pm 0.3\%$, КРС – $34.2 \pm 1.0\%$, лошадей – $3.6 \pm 0.5\%$, другие животные не превышали 1% [Сидорова, 2009].

Второй период (1991–2000 гг.), – характеризовался резким снижением активности эпизоотического процесса, вплоть до полного отсутствия регистрации бешенства у животных в 1991, 1992, 1993 гг. Это явление соответствовало ситуации на всей территории России и было связано с перепромыслом диких хищников [Сидоров, 1995; Полещук, Сидоров, 2010; Сидоров, Полещук, Сидорова, 2019]. Регистрировали от 1 до 20 случаев бешенства у животных (в среднем 6.0 случаев). Этот показатель был в 6.2 раза меньше среднееголетнего за 1962–2020 гг. и в 8.5 раз меньше многолетнего за 1962–1990 гг. Значительно вырос удельный вес зарегистрированных бешеных лисиц – $38.3 \pm 6.3\%$, корсаков – $8.3 \pm 3.6\%$ и собака – $23.3 \pm 5.5\%$. Доля инфицированных кошек составила $3.3 \pm 2.3\%$. Заболеваемость сельскохозяйственных животных, по сравнению с предыдущим периодом, снизилась: КРС – $25.0 \pm 5.6\%$, МРС – $1.7 \pm 1.7\%$.

Третий период (2001–2020 гг.) характеризовался резкой активизацией эпизоотического процесса с 2001 г. и постепенным снижением активности эпизоотий после 2007 г., что отмечали для территории всей России в целом [Полещук, Сидоров, 2020]. Риск заражения людей бешенством в Омской обл. в масштабе Российской Федерации в отдельные периоды начала XXI в. оценивался как средний и высокий [Полещук и др., 2019]. Этот период характеризовался активизацией бешенства в центральной и северной лесостепи и изменением видовой структуры источников инфекции, что обусловило необходимость изучения авторами новых, современных особенностей проявления природного очага бешенства в Омской обл. Постоянно регистрируемые контакты населения с бешеными животными, рост заболеваемости домашних и сельскохозяйственных животных обуславливают актуальность мониторинга современной эпидемической и эпизоотологической ситуации по рабической инфекции в Омской обл., анализ ее региональной особенности.

Материалы и методы

В работе охарактеризованы заболевания людей бешенством в Омской обл. в 1962–2021 гг. и установлены особенности обращения населения за антирабической помощью после контактов с животными за 2001–2020 гг., заболеваемость животных бешенством и численность лисицы и енотовидной собаки за 2001–2021 гг.

Материалы по заболеваемости людей и животных бешенством, статистика покусов и плотность популяций лисицы и енотовидной собаки по данным зимних маршрутных (ЗМУ) и весенне-летних учетов получены в Роспотребнадзоре, Управлении Роспотребнадзора по Омской области, в Департаменте ветеринарии, ФГБУ «Центре ветеринарии» Министерства сельского хозяйства России, Управлении ветеринарии по Омской обл., ФГБУ «Федеральном центре развития охотничьего хозяйства», Министерстве природных ресурсов и экологии Омской обл.

Выявлены особенности современного эпизоотического процесса в период 2001–2020 гг.

Территориальные особенности распространения эпизоотий и пространственно-видовая структура источников инфекции охарактеризованы также за три выделенных эпизоотических цикла:

- 2001–2009 гг. (427 случаев бешенства), цикл характеризовался резкой активизацией эпизоотического процесса с 2001 г., максимальной заболеваемостью животных в 2007 г. (105 случаев);
- 2010–2014 гг. (173 сл.), подъем заболеваемости наблюдался в 2010 г., (58 случаев);
- 2015–2020 гг. (105 сл.), с подъемом в 2015 г. (31 случай).

За указанные временные периоды проанализирована численность лисицы и енотовидной собаки – основных резервуарных хозяев бешенства в Омской обл.

Определены индекс эпизоотичности (отношение числа неблагополучных лет к числу лет наблюдения) и плотность инфекции (среднегодовое число выявленных случаев бешенства на 1000 км^2) во всех районах Омской обл. за 2001–2020 гг. На основании комплексного анализа эколого-эпизоотологических показателей проведено современное эпидемиологическое районирование и установлен риск заболеваемости бешенством в разных районах Омской обл. Районирование выполнено на основании авторской методики, используемой при работе на территории как всей Российской Федерации, так и в отдельных регионах страны с 1994 г. В основу методики положено ранжирование показателей риска заражения людей

гидрофобией: индекс эпизодичности, плотность инфекции, интегральный показатель плотности популяций хищников [Полещук и др., 2019].

Ландшафтное деление территории Омской обл. приведено по Атласу ... [1999]. Обработка данных и составление картограмм проведены с использованием пакета статистического программного обеспечения Microsoft Excel и QGIS Desktop 3.16.5. Территориальное распределение случаев бешенства у животных показано в виде теплокарт, характеризующих их количество в очаге, и составленных с помощью ПО Яндекс. Карты [Блог ...]. Материалы обработаны статистическими методами [Лакин, 1980].

Результаты и их обсуждение

В Омской обл. с 1962 до 2020 гг. было зафиксировано 10 случаев бешенства у людей: в 1962, 1964, 1966 (3 случая), 1974, 1975, 1980, 1998 и 2004 гг. От общероссийского показателя [Полещук и др., 2019] это составило 1.6%.

В шести случаях люди заражались при контактах с диким животным (5 лисиц и 1 корсак), в трёх – с домашним (2 собаки и 1 кошка). Один источник установлен не был, вероятно, это было сельскохозяйственное животное (см. ниже). Три человека заражались при снятии шкур.

Все умершие от бешенства – мужского пола из сельской местности, в возрасте от 8 до 58 лет. Детей трое (8, 13 и 15 лет). Прививки от бешенства никому не ставились – 9 человек за медицинской помощью не обращались, а одному человеку прививок не назначили, несмотря на контакт с диким животным.

Последний случай смерти человека от бешенства в Омской обл. был зарегистрирован в ноябре 2004 г. В д. Камчатка Крутинского р-на был выявлен заболевший – школьник 8 лет. Госпитализирован с подозрением на катаральную ангину, затем острый гастрит. На 12-й день болезни (01.11.2004) ребёнок погиб, посмертная диагностика установила диагноз гидрофобии. Контакта с подозрительными животными в анамнезе не было, однако в сентябре 2004 г. в д. Камчатка был объявлен карантин по бешенству общественного стада крупного рогатого скота (КРС). Известно, что погибший ребёнок помогал родителям в уходе за КРС на подворье, что могло стать причиной инфицирования.

Случаи травмирования животными людей в области не редки. В 2016–2020 гг. от нападения бешеных животных, с лабораторно подтвержденным диагнозом, пострадали и были вакцинированы 203 человека.

Ежегодно в области за медицинской помощью после опасных контактов с животными обращаются от 3 952 до 5 386 пострадавших, что составляет 300 чел. на 100 тыс. населения. Из них около 37±6% составляют дети до 17 лет. Назначение на иммунопрофилактику в разные годы получали от 96 до 100% обратившихся. Наблюдается умеренная тенденция к снижению числа травмированных лиц: с 2009 по 2020 гг. обращаемость по поводу укусов и ослюнений животными сократилась с 270 до 203 чел. на 100 тыс. населения, $T_{\text{сн}} = -1.23\%$.

Ведущая роль в структуре обращений по поводу травм, нанесенных животными, принадлежит полученным от домашних владельческих животных – 6 701±802 от общего числа обращений, что составляет 169 случаев на 100 тыс. населения. Однако частота нападений этих животных на людей выражено снижается, $T_{\text{сн}} = -5.25\%$.

Второе место по числу нанесённых травм принадлежит бродячим собакам и кошкам – 30.3±5.5%, что составляет 78 обращений на 100 тыс. населения соответственно. Эти показатели умеренно растут во время всего периода наблюдения ($T_{\text{пр}} = 1.97\%$).

Наименьший процент обращений приходится на случаи нападений на человека диких зверей и синантропных грызунов (2.7±1.6%, 7 случаев на 100 тыс. населения), что соответствует общероссийским данным (2.5±1.5%, 6 чел. на 100 тыс. населения) и данным по Сибирскому федеральному округу (2.2±1.4%, 5 чел. на 100 тыс. населения) (Полещук Е.М. и др., 2019). Однако, несмотря на незначительный удельный вес, обращаемость граждан по поводу травм, наносимых дикими животными и синантропными грызунами, за 2009–2020 гг. выросла ($T_{\text{пр}} = 5.29\%$) (рис. 1).

По результатам анализа обращаемости населения субъектов России за медицинской помощью после контактов с животными за 2013–2018 гг., установлено, что Омская обл. является регионом с чрезвычайно высоким показателем числа лиц, пострадавших от диких животных, а среднегодовой показатель за указанные годы составил 12 на 100 тыс. населения [Полещук и др., 2019]. Чаще всего обращающихся за помощью омишей травмировали белки (33.6±5.7%), другие дикие и синантропные грызуны (34.6±5.8%), а также лисицы (17.1±4.1%).

На фоне вышеописанной эпидемиологической ситуации, особую опасность представляет нападение на людей диких животных. Так, в декабре 2020 г. в посёлке Красный Яр Любинского р-на Омской обл. бешеная лисица укусила за щёку 14-летнюю школьницу. Девочка получила необходимую антирабическую помощь [Савкина, Полещук, Сидоров, 2021].

За 1962–2020 гг. среднее многолетнее количество случаев бешенства у животных в Омской области составило 37.3±63.7, или 1.2% от всей заболеваемости животных в России [Полещук и др., 2019] (рис. 2).

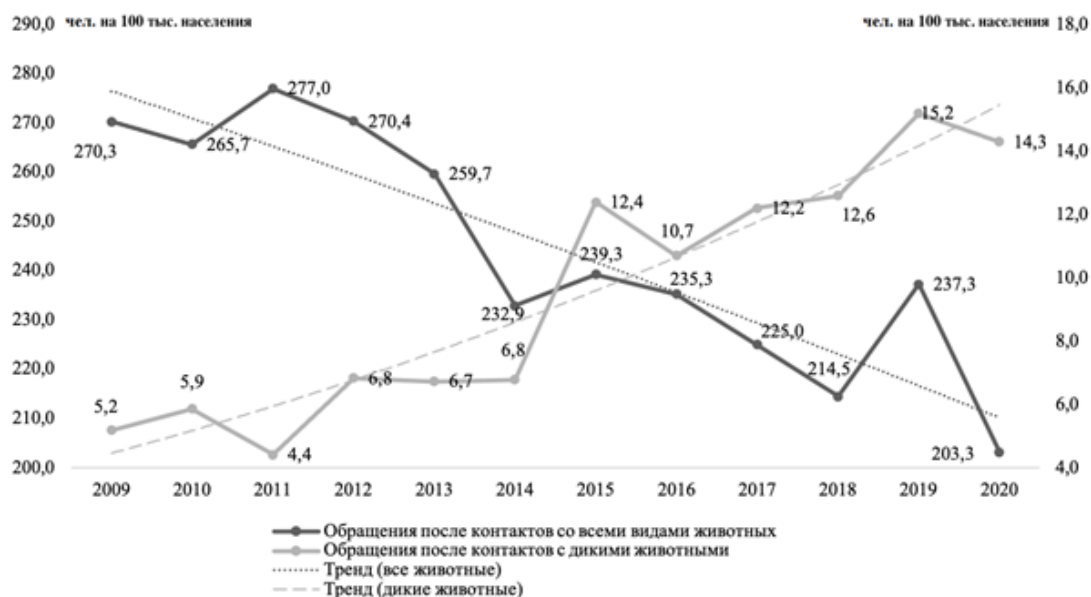


Рис. 1. Обращаемость жителей Омской обл. за помощью после контактов со всеми видами животных и с дикими животными в 2009–2020 гг.

Оси ординат отражают количество человек на 100 тыс. населения, обратившихся за медицинской помощью после контактов со всеми животными (левая ось ординат) и после контактов с дикими животными (правая ось)

[Applicability of residents of the Omsk region for help after contact with all animals and with wild animals in 2009-2020, per 100 thous. population.

The ordinate axes reflect the number of people per 100,000 population seeking medical care after contact with all animals (left axis) and after contact with wild animals (right axis)]

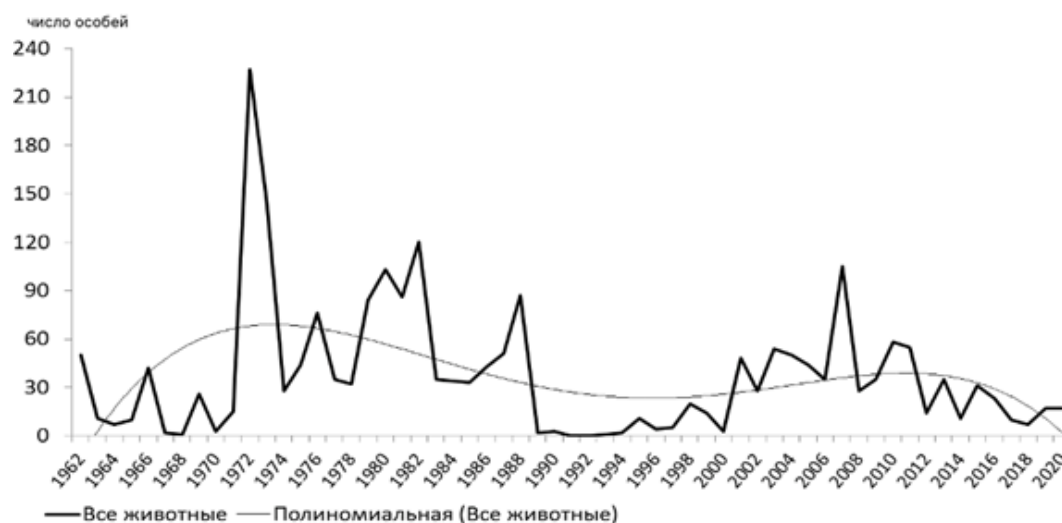


Рис. 2. Динамика заболеваний животных бешенством в Омской обл. в 1962–2020 гг. (абс.)
[Dynamics of animal diseases with rabies in the Omsk region in 1962-2020, (abs.)]

Многолетний анализ статистики заболеваний животных дал возможность выделить три эколого-эпизоотических периода: 1962–1990 гг.; 1991–2000 гг.; 2001–2020 гг. (рис. 2). Ниже анализируются особенности современного периода 2001–2020 гг.

После периода относительного благополучия по бешенству в 1990-е гг., связанного с перепромыслом диких хищников, зафиксированного во всей России [Полешук, Сидоров, 2010; Сидоров, Полешук, Сидорова, 2019], активность эпизоотий с 2001 г. резко возросла. Всего за 2001–2020 гг. было зарегистрировано 705 бешеных животных. С начала XXI в. подъемы заболеваний животных отмечали через 1–3 года. Ежегодно регистрировали от 7 до 105 случаев. В среднем 35.2 ± 5.9 случаев, что статистически соответствовало уровню среднеемкого показателя за 1962–2020 гг. (37.3 ± 5.3 сл.) ($t = 0.97$, $p > 0.05$).

Анализ заболеваний животных за 2001–2020 гг. позволил выделить три эколого-эпизоотических цикла: 2001–2009 гг., 2010–2014 гг., 2015–2020 гг. (рис. 3). Первый цикл характеризуется наибольшим эпизоотическим неблагополучием. В каждый последующий эпизоотический цикл на территории Омской области отмечали уменьшение количества бешеных животных. С 2001 по 2009 гг. это число составило 427 особей (в среднем 47.4 ± 7.9 животных), с 2010 по 2014 гг. – 173 (в среднем 34.6 ± 9.0), с 2015 по 2020 гг. – 105 (в среднем 17.5 ± 3.9). Различия статистически недостоверны, $t = 0.35$, $p > 0.05$.

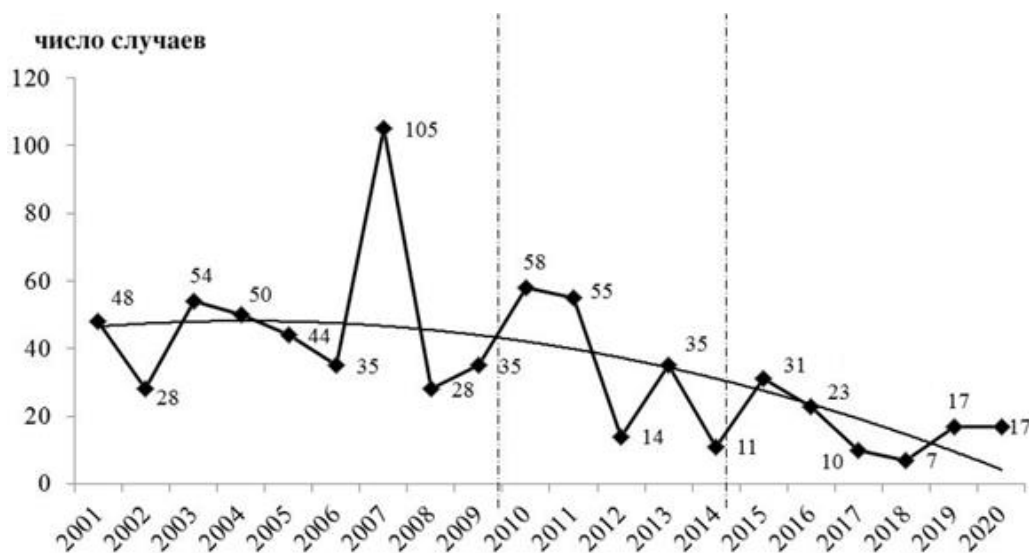


Рис. 3. Число зарегистрированных случаев бешенства животных в Омской области в 2001–2020 гг. (абс.)

[The number of registered cases of animal rabies in the Omsk region in 2001–2020, (abs.)]

Среднемноголетний показатель заболевших животных, выявленный в 2001–2009 гг., превышал среднемноголетние показатели за 1962–2020 и 2001–2020 гг. в 1.2 и 1.4 раза соответственно. Среднее число ежегодно выявляемых бешеных животных в 2010–2014 гг. соответствовало показателям за многолетние периоды 1962–2020 и 2001–2020 гг., но уменьшилось в 1.4 раза относительно 2001–2009 гг. В последние 5 лет ежегодно регистрировали по 17.5 ± 3.9 больных животных, что в 2.2 и в 2.0 раз меньше, чем в многолетние периоды 1962–2020 гг. и 2001–2020 гг., а также в 2.8 раз меньше, чем в 2001–2009 гг. В 2021 г. в Омской обл. выявлено 30 бешеных животных.

Количество бешеных животных в годы максимальной напряженности эпизоотического процесса (2007; 2010; 2015) из раза в раз сокращалось в 1.8–1.9 раз.

После 2008 г. на территории Омской обл., как и по всей России, наблюдалось улучшение эпизоотической ситуации. За весь период 2001–2020 гг. в регионе наблюдали снижение числа заболевших животных ($T_{\text{ст}} = -5.94\%$). Такая особенность характерна для всей территории России [Полещук и др., 2019]. Коэффициент корреляции между количеством случаев бешенства животных, зарегистрированных на территории России и в Омской обл., составлял 0.6 ($p < 0.05$), что свидетельствовало о заметной корреляционной связи и подтверждало отмеченное ранее сходство динамики эпизоотий в природных очагах Омской обл. и России в целом [Сидоров и др., 2014].

С 1962 г. до конца XX в. эпизоотии бешенства в Омской обл. обычно начинались в южных и юго-восточных районах степи и южной лесостепи. Затем волны эпизоотий продвигались в северном направлении в зоны центральной и северной лесостепи, а также к осиново-берёзовым лесам и подтайге. Это было связано с миграциями основных природных хозяев вируса лисицы и корсака. Эпизоотическое неблагополучие в центральной и северно-лесостепной зоне наблюдалось через 2–7 лет, в среднем через 3.5 года и сменялось стабилизацией ситуации. Затем распространение эпизоотий с юга на север повторялось. Единичные случаи бешенства спорадически регистрировали в подзонах подтайги и южной тайги [Рыбак, Сидоров, Кузьмин, 1992].

В начале XXI в. территориальное распространение эпизоотий в Омской обл. изменилось. Современное территориальное распределение случаев бешенства, зарегистрированных в эпизоотических очагах, изображено на теплокартах (рис. 4).

Цикл 2001–2009 гг. отличается активизацией, не наблюдаемой ранее, стойких природных очагов на территории северной лесостепи области. Здесь после многолетнего благополучия в 1990-е гг. бешенство начали ежегодно регистрировать на территории Большереченского и Муромцевского р-нов. Таким образом, через 40 лет после начала природной эпизоотии впервые было зафиксировано укоренение природного очага на территории северной лесостепи Омской обл. (рис. 4, а).

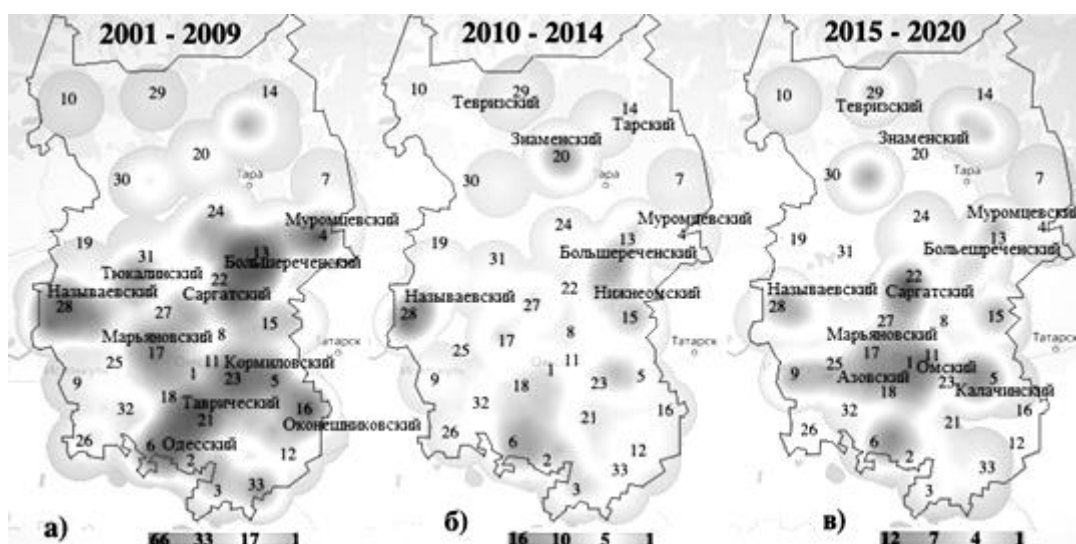


Рис. 4. Территориальное распределение случаев бешенства животных, зарегистрированных в эпизоотических очагах Омской области в периоды 2001–2009, 2010–2014, 2015–2020 гг., (абс.).

Номерами указаны муниципальные районы области: 1 – г. Омск; 2 – Павлоградский; 3 – Русско-Полянский; 4 – Муромцевский; 5 – Калачинский; 6 – Одесский; 7 – Седельниковский; 8 – Горьковский; 9 – Исилькульский; 10 – Усть-Ишимский; 11 – Омский; 12 – Черлакский; 13 – Большереченский; 14 – Тарский; 15 – Нижнеомский; 16 – Оконешихинский; 17 – Марьяновский; 18 – Азовский; 19 – Крутинский; 20 – Знаменский; 21 – Таврический; 22 – Саргатский; 23 – Кормиловский; 24 – Колосовский; 25 – Москаленский; 26 – Полтавский; 27 – Любинский; 28 – Называевский; 29 – Тевризский; 30 – Большееуковский; 31 – Тюкалинский; 32 – Щербаккульский; 33 – Нововаршавский

[Territorial distribution of animal rabies cases registered in the epizootic foci of the Omsk region in the periods 2001–2009, 2010–2014, 2015–2020, (abs.).

The numbers indicate the municipal districts of the region: 1 - Omsk; 2 - Pavlogradsky; 3 - Russko-Polyansky; 4 - Muromtsevsky; 5 - Kalachinsky; 6 - Odessky; 7 - Sedelnikovsky; 8 - Gorkovsky; 9 - Isilkulsky; 10 - Ust-Ishimsky; 11 - Omsky; 12 - Cherlaksy; 13 - Bolsherechensky; 14 - Tarsky; 15 - Nizhneomsky; 16 - Okoneshnikovsky; 17 - Maryanovsky; 18 - Azovsky; 19 - Krutinsky; 20 - Znamensky; 21 - Tavrichesky; 22 - Sargatsky; 23 - Kormilovsky; 24 - Kolosovsky; 25 - Moskalensky; 26 - Poltavsky; 27 - Lyubinsky; 28 - Nazyvaevsky; 29 - Tevrizsky; 30 - Bolshchoukovsky; 31 - Tyukalinsky; 32 - Shcherbakulsky; 33 - Novovarshavsky]

Ранее, на протяжении 1960–1990-х гг., стойких очагов инфекции на территории северной лесостепи не выявляли, а регистрировали только спорадические случаи заноса инфекции после активизации эпизоотий на юге области. Такие кратковременные вспышки отмечали в Муромцевском р-не в 1972–1973 гг. (15 и 11 случаев), в Большереченском р-не в 1988 г. (10 случаев). Они совпадали с активностью эпизоотий в южно-лесостепных и степных районах области.

В первые 9 лет с начала XXI в. в Большереченском р-не в среднем ежегодно регистрировали 7 случаев бешенства у животных (от 2 до 15), в Муромцевском – 4 (от 1 до 15) (рис. 4, а). В 2001–2009 гг. в Большереченском и Муромцевском р-нах выявили 66 и 35 больных животных соответственно, что составило 25% от всех случаев бешенства, зарегистрированных в области.

В северной лесостепи также стали фиксировать почти ежегодную активность эпизоотий в Тюкалинском (от 1 до 7 случаев) и Колосовском р-нах (от 1 до 4 случаев). На этих территориях в среднем выявляли по 2 бешеных животных в год. Всего в указанный период здесь установили инфицирование 17 и 16 животных соответственно (рис. 4, а). До начала XXI в. в этих районах фиксировали только редкие случаи бешенства, заносимые с юга области.

Активизация эпизоотического процесса в южных и центральных районах области всегда способствовала распространению неблагополучия на отдельные территории лесной зоны, где вспышки продолжались не более 1–2 лет, но сопровождалась выявлением значительного числа инфицированных животных. Так, в период подъема эпизоотий в 1972–1973 гг., в Знаменском р-не выявили 14 бешеных животных (1972 г.), в Большееуковском – 10 и 5 (1972 и 1973 гг.), в Седельниковском – 8 (1973 г.).

В других северных лесных районах области в 2001–2009 гг. бешенство нерегулярно регистрировали в Большееуковском (1–2 случая в год), Тарском (1–6), Знаменском (1–2) и Седельниковском (1 случай) р-нах. В среднем за указанный период на территориях этих районов выявляли от 0.1 до 1 инфицированного животного ежегодно (рис. 4, а). Ранее в этих лесных районах бешенные животные обнаруживались крайне редко, например, в годы разлитых эпизоотий (1972–1973 гг., рис. 2).

В южно-лесостепных районах (Таврический, Одесский, Черлакский, Оконешниковский, Кормиловский) и районах центральной лесостепи (Называевский, Любинский, Калачинский) в 2001–2009 гг. ежегодно регистрировали по 2–3 (от 1 до 9) и 2–4 (от 1 до 10) случая бешенства соответственно (рис. 4, а).

После частичного «выгорания» стойких очагов рабической инфекции в северной лесостепи, наблюдаемых на протяжении 9 лет (в 2001–2009 гг.), к 2010–2014 гг. напряженность эпизоотического процесса в целом в области снизилась (рис. 4, б, в). Неблагополучие сохранялось только на отдельных территориях степи (Одесский р-н), центральной лесостепи (Нижеомский р-н) и в осиново-берёзовых лесах Большереченского и Тарского р-нов. Непрерывно на протяжении 40 лет неблагополучным оставался центрально-лесостепной Называевский р-н (рис. 4, б).

В период 2010–2014 гг. в Большереченском и Муромцевском р-нах в среднем ежегодно выявляли 3 и 2 случая бешенства у животных соответственно.

В 2015–2020 гг., на этих территориях продолжали регистрировать единичные – 2 и 1 случаи бешенства у животных. Бешенство у животных на территории Большереченского р-на обнаруживали ежегодно в течение 2001–2020 гг.

На территории же соседнего с ним Муромцевского р-на после 2012 г. инфицированные животные регистрировались только спорадически. Стойкий природный очаг, проявляющий активность в северной лесостепи на протяжении 11 лет, начиная с 2012 г., стал затухать (рис. 3, 4).

В лесной зоне в 2010–2014 гг. неблагополучие отмечали в Знаменском р-не, где в среднем регистрировали по 4 случая бешеных животных в год. Однако с 2015 по 2020 гг. заболевания животных здесь не выявляли (Рис. 4, б, в).

Самые северные таёжные районы области – Усть-Ишимский и Тевризский, расположенные в подзоне южной тайги, были относительно благополучны на протяжении всего периода 1962–1920 гг. В этих районах в отдельные годы регистрировали единичные заболевания животных. Динамика выявления бешенства в Тевризском р-не представляет интерес для дальнейшего наблюдения. В этом, традиционно благополучном, районе зарегистрировали 2 случая бешенства животных в 2010–2014 гг. и 3 случая – в 2015–2020 гг. Здесь же отмечена самая северная точка регистрации инфекции у животных в Омской обл., – 57°34'29''с.ш. (с. Утьма Тевризского р-на, 2019 г., лошадь).

В 2015–2020 гг. заболевания животных в основном приходились на районы центральной (1–4 случая в год), южной лесостепи (1–3 случая) и степи (1–2 случая). За 6-летний период наблюдений наибольшее число заболеваний животных установили в центрально-лесостепных Саргатском (12) и Любинском (6 случаев) р-нах, южно-лесостепных Калачинском (7), Омском (7) и Марьяновском (5 случаев) р-нах, в степном Одесском р-не (7 случаев).

По нашему мнению, появление стойких очагов бешенства в северных районах области могло быть связано с изменением видовой структуры диких хищников, поддерживающих циркуляцию вируса в природе и заражающих домашних и сельскохозяйственных животных. Анализ видовой структуры этих резервуарных хозяев рабического возбудителя выявил следующие особенности.

В 1960-х гг. XX в. у диких животных в Омской обл. регистрировали единичные случаи бешенства. С 1972 г. отмечали рост заболеваемости диких плотоядных. В целом за 1960–1980-е гг. доля диких в общей структуре выявленных инфицированных животных составляла 21.6%, домашних – 15.0%, сельскохозяйственных – 58.9%. В 1990-е гг. удельный вес диких животных увеличился до 46.7%. Домашние и сельскохозяйственные животные в этот период составили по 26.7% [Сидорова, 2009]. В 2001–2020 гг. роль диких животных в эпизоотиях бешенства выросла до 61.6%. Для домашних и сельскохозяйственных животных этот показатель снизился до 19.6 и 18.9% соответственно.

Из диких животных основным распространителем рабического возбудителя является лисица. В степных районах к ней добавляется корсак, активно вовлекаясь в циркуляцию вируса во время подъема эпизоотий [Сидоров, 1995; Полещук, 2005; Мальков, Грибанова, 1979]. В период 2001–2020 гг. роль лисицы в структуре заболеваний животных была первостепенна, но неодинакова в выделенные периоды (рис. 5).

Значение этого вида с 60.0% в первый эколого-эпизоотический период снизилось до 34.6% в третий. Произошло это на фоне увеличения удельного веса случаев бешенства у собак (с 12.1 до 25.0%), кошек (2.6 до 7.7%) и крупного рогатого скота (с 12.3 до 21.2%) (рис. 5). При этом в дикой фауне Омской обл. появился новый резервуарный хозяин вируса – енотовидная собака.

Енотовидная собака до конца XX в. в Омской обл. не обитала. Исходный исторический ареал обитания енотовидной собаки приходился только на восток и юго-восток Азии, однако с 1929 по 1955 гг. её с целью обогащения охотничьей фауны страны расселили в 150 административных районах бывшего СССР, в том числе в европейской части современной России. После этого началось самостоятельное расселение хищника на запад вплоть до Ла-Манша и в восточном направлении за Урал и в Западную Сибирь. Перейдя Урал, енотовидная собака дошла в 1975 г. до Курганской, а в 1980 г. до Тюменской обл. В 1994 г. хищника впервые обнаружили в Омской обл. В первую очередь зверь заселил территории центральной и северной лесостепи области, на которых сразу активизировался эпизоотический процесс бешенства [Сидоров и др., 2009] (рис. 4, 7).

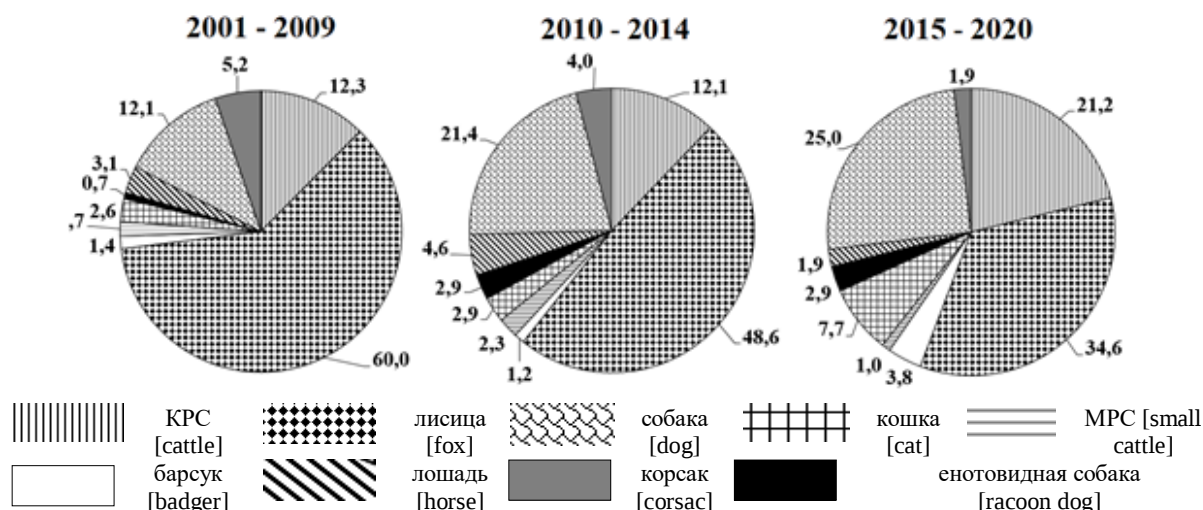


Рис. 5. Удельный вес разных видов и групп животных в заболеваемости бешенством на территории Омской обл. в 2001–2020 гг., %

[The share of different species and groups of animals in the incidence of rabies in the Omsk region in 2001-2020, %]

Впервые бешенство у енотовидных собак в Омской обл. было выявлено в 2004 г. в Муромцевском р-не [Полешук, 2005]. На протяжении XXI в. удельный вес этого животного в структуре заболеваемости вырос с 0.7 до 2.9% (рис. 5). В 2001–2009 гг. бешенство енотовидных собак регистрировалось на территориях наибольшего эпизоотического неблагополучия (рис. 4, а) в Большереченском и Муромцевском, Называевском и Саргатском р-нах.

С 2000 г. и по настоящее время енотовидная собака, наряду с лисицей, на территории России является одним из основных источников инфекции [Полешук и др., 2019; Сидоров, Полешук, Сидорова, 2019; Полешук, Сидоров, 2020]. В 2017–2020 гг. численность животного увеличилась в 3–5 раз (рис. 6). Ареал хищника расширился в северном, восточном и южном направлениях (рис. 7).

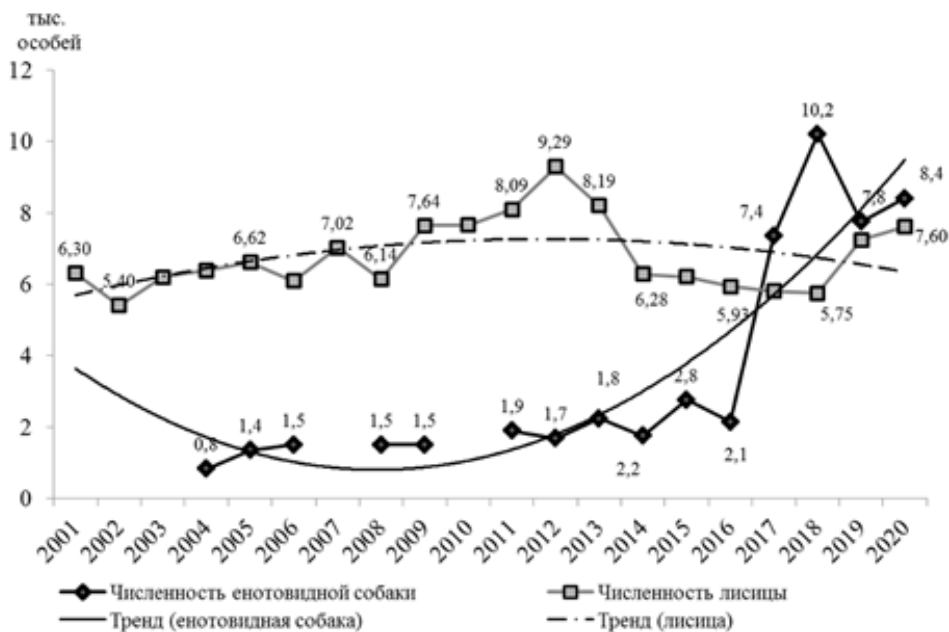


Рис. 6. Изменение абсолютной численности енотовидной собаки и лисицы в 2001–2020 гг. (тыс. особей)

[Change in the absolute number of raccoon dogs and foxes in 2001-2020 (thous. ind.)]

С 2001 по 2020 гг. абсолютная численность енотовидной собаки в области выросла с 0.8 до 7.7 тыс. особей. В 2012–2014 гг. в среднем ежегодно учитывали 1.8 тысяч особей животного в год (0.14 особей на 10 км²), в 2015–2020 гг. – 6.5 тыс. особей в год или 0.52 особи на 10 км². Максимальная численность была зафиксирована в 2018 г. и достигла 10.2 тыс. особей (0.81 особей на 10 км²). Несмотря на отсутствие

учетных данных о поголовье енотовидной собаки в 2007 и 2010 гг. (рис. 6), очевиден тренд на количественный прирост этого животного ($T_{\text{пр}} = 14.91\%$).

Динамика территориального распределения енотовидной собаки и лисицы в разных районах области в анализируемые эпизоотические циклы представлена на картограммах относительной численности этих хищников (рис. 7, 8).

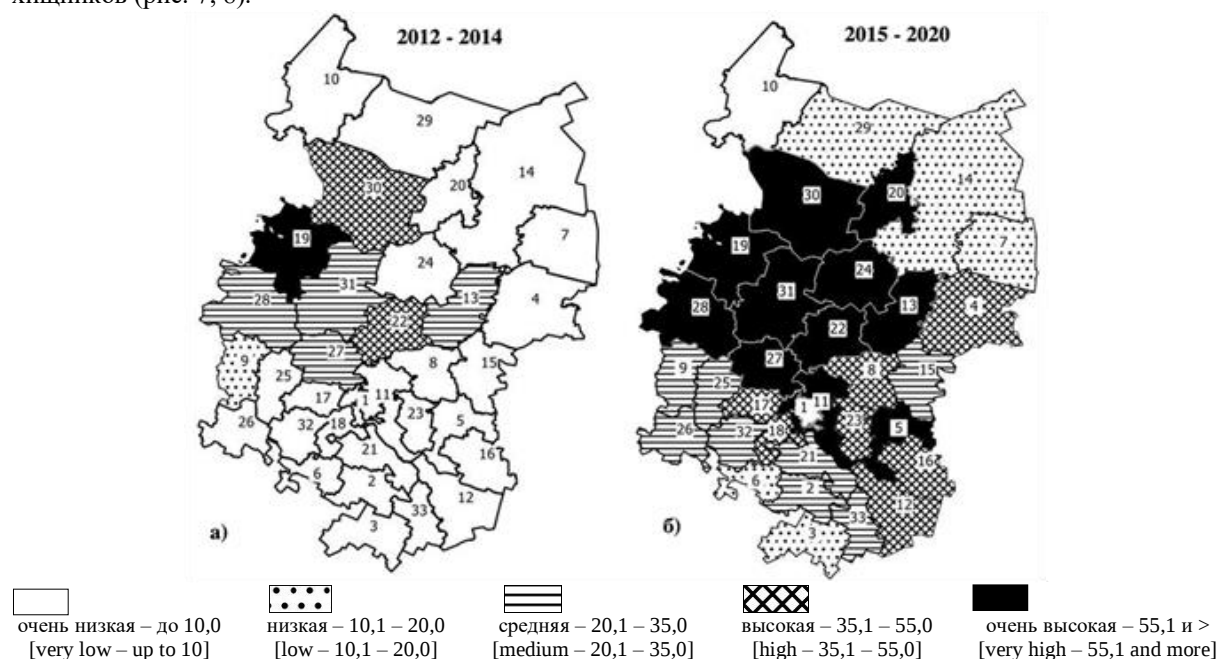


Рис. 7. Относительная численность енотовидной собаки в районах Омской обл. в 2012–2014 и 2015–2020 гг. (особей на 1000 км²).

Номерами указаны муниципальные районы области как на рис. 4

[The relative abundance of the raccoon dog in the districts of the Omsk region in 2012-2014 and 2015-2020 (ind. per 1000 sq. km).

The numbers indicate the municipal districts of the region as рис. 4]

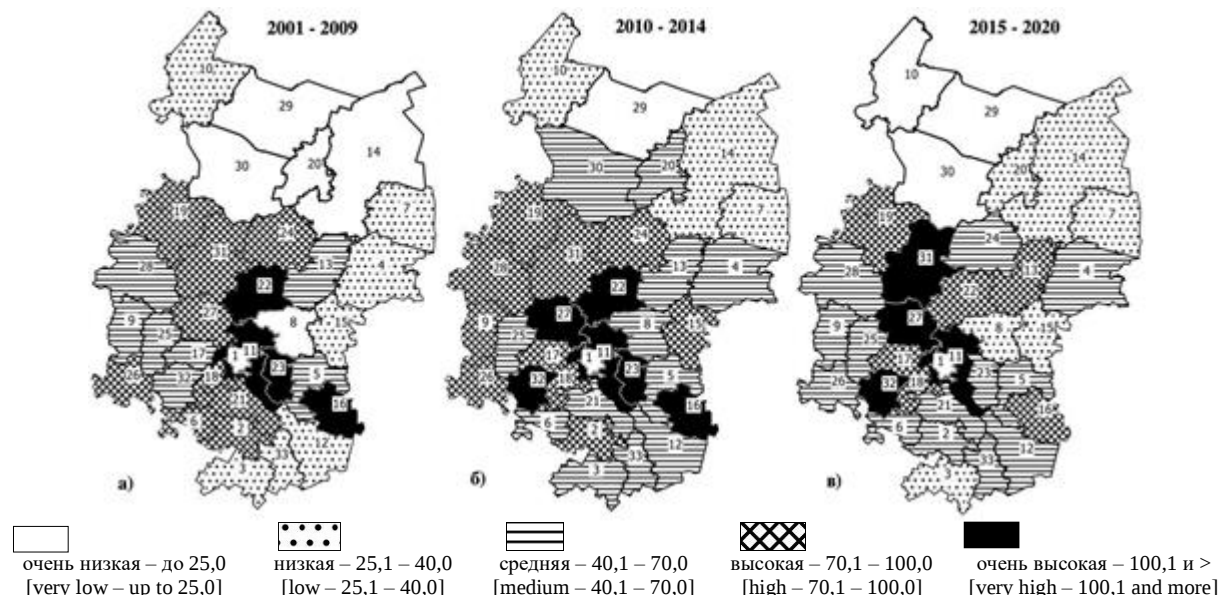


Рис. 8. Относительная численность лисицы в районах Омской обл. в 2001–2009, 2010–2014, 2015–2020 гг. (особей на 1000 км²).

Номерами указаны муниципальные районы области как на рис. 4

[The relative abundance of the fox in the districts of the Omsk region in 2001-2009, 2010-2014 and 2015-2020 (ind. per 1000 sq. km).

The numbers indicate the municipal districts of the region as рис. 4]

Енотовидная собака активно расселяется по территории области, плотность её популяции возрастает. С 2012 г. начался учет численности енотовидной собаки в каждом районе Омской обл. К 2020 г. хищник заселил практически всю область, достигнув численности 8.7 тыс. особей. Максимальная плотность его популяций (1.1–2.3 особей на 10 км²) в этом году оценивалась в Колосовском, Большереченском, Знаменском, Саргатском, Тюкалинском, Омском, Любинском, Крутинском р-нах, а также Большеуковском, Называевском, Калачинском р-нах, где учли 0.7–0.9 особей на 10 км². В среднем на территории области в 2020 г. плотность популяции енотовидной собаки составляла 0.67 особей на 10 км². В 2021 г. абсолютная численность хищника в области оставалась, как и в 2020 г., на высоком уровне – 8.4 тыс. особей.

Численность лисицы в 2001–2020 гг. оставалась в состоянии гомеостаза, плотность её популяции изменялась в пределах 0.3–0.7 особей на 10 км², в среднем составляя 0.48 особей на 10 км². В некоторых районах лесостепи относительная численность животного составляла 1.0 и более лисиц на 10 км² (рис. 7). В 2020 г. абсолютная численность хищника составляла 7.6 тыс. особей или 61 на 10 км². В 2021 г. на территории области было учтено 9.3 тыс. лисиц.

Изменение пространственной структуры популяций хищников в области, связанное с ростом численности енотовидной собаки, несомненно, является причиной новых пространственно-временных особенностей эпизоотического процесса на территории Омской обл.

Абсолютная численность лисицы в Омской обл. многие десятилетия продолжала оставаться стабильной. В 2001–2020 гг. по данным ЗМУ она варьировала в пределах от 5.7 до 9.3 тыс. особей в год, в среднем – 6.8 тыс., с неменяющимся трендом ($T_{пр/сн} = 0.48\%$, рис. 8).

Известно, что одним из факторов активизации эпизоотий бешенства является суммарная плотность популяций диких хищников. Изменение видовой структуры населения диких плотоядных региона, нарастание их численности, увеличение суммарной плотности популяции способствует активизации эпизоотического процесса, а также возможности появления новых природных очагов болезни на ранее благополучных территориях [Сидоров, 1995; Кузьмин и др., 2002].

Наличие условий, способствующих формированию стойких природных очагов бешенства в северных районах Омской обл., актуализирует необходимость постоянного вирусологического мониторинга популяций диких псовых.

Известно, что в 1967–1977 гг. на юге Западной Сибири спонтанная зараженность популяций лисицы (доля инфицированных животных из общего числа особей, добытых в ходе охотничьего промысла) в отдельные годы достигала 5.6, корсака – 3.7, волка – 1.2% [Грибанова, Мальков, 1978]. Во второй половине 1980-х гг. зараженность лисицы, по нашим данным, сократилась до 1.8, корсака – до 1.0%, при обследовании добытых волков зараженные особи не были обнаружены [Ботвинкин, 1992]. В 1990-х гг. показатель для лисицы составил 0.8, для корсака – 1.4, для волка – 0%. При обследовании 920 экз. куных, 637 экз. грызунов и зайцеобразных и 112 экз. рукокрылых вирус бешенства, по нашим данным, выделен не был [Кузьмин и др., 2002]. Результаты вирусологических исследований согласовывались с эпизоотическими показателями (см. рис. 2).

В 2001 г. в период очередного подъёма заболеваемости животных в России, спонтанная заражённость лисицы и корсака в Омской области достигла соответственно до $4.7 \pm 1.5\%$ ($n = 212$) и $8.9 \pm 4.2\%$ ($n = 45$) [Полещук, 2005]. По материалам вирусологических исследований, проведенных в лаборатории бешенства Омского НИИ природно-очаговых инфекций в 2001–2009 гг., спонтанная зараженность лисицы в Омской обл. ежегодно изменялась от 0 ($n = 92$) в 2004 г. до 4.7% ($n = 212$) в 2001 г., у корсаков от 0 ($n = \text{ед.}$) в 2003 и 2004 гг. до 8.9% ($n = 45$) в 2001 г. В этот период бешенство выявили у одной из 2 енотовидных собак, добытых в 2004 г. При обследовании 15 барсуков, добытых в 2001 г., инфекция была установлена у одной особи. В 2010–2014 гг. спонтанная зараженность лисицы составляла от 0 ($n = 40$) в 2014 г. до 6.1 и 6.6% ($n = 49$ и 75) в 2010 и 2011 гг. Из обследованных 17 енотовидных собак, добытых в 2013 г., бешенство выявлено у 2 особей. В 2015–2020 гг. при обследовании 37 лисиц в 2018 и 25 лисиц в 2019 гг., бешенство не выявили (0%). Высокие показатели спонтанной зараженности популяций хищника установлены в 2016 г. – 8.3% ($n = 24$), а также в 2015 – 4.1% ($n = 48$) и в 2020 – 4.4% ($n = 45$). При ежегодном обследовании от 4 до 19 особей енотовидной собаки бешенство не выявляли. В 2021 г. в ходе мониторинга обследовали 28 лисиц, из которых у 4 особей был обнаружен возбудитель бешенства (14.2%). Также были обследованы 14 енотовидных собак, из которых две особи (14.2%) оказались инфицированными рабдовирусом [Полещук, Сидоров, 2022].

Важно отметить, что несмотря на повсеместно увеличивающуюся долю лисиц в структуре заболеваемости животных бешенством на территории России [Полещук и др., 2019; Сидоров, Полещук, Сидорова, 2019], спонтанная зараженность лисицы на юге Западной Сибири в первое десятилетие XXI в. не превышала показателей 1960–1990 гг. [Ботвинкин, 1992; Грибанова, 1975]. Начиная с 2010 г., в отдельные годы показатели спонтанной зараженности популяции лисицы начали превышать таковые, установленные в XX в. В это время начали выявлять высокую спонтанную зараженность у енотовидной собаки. Совершенно нетипичным для области оказался 2021 г., когда при обследовании спонтанной выборки всего 42

хищников, бешеными оказались 4 лисицы и 2 енотовидные собаки, добытые в районах южной и центральной лесостепи [Полещук, Сидоров, 2022].

Известно, что спонтанная заражённость корсака и енотовидной собаки возрастает во время активизации эпизоотического процесса. Есть основания полагать, что это свойственно и для популяций барсука. Для оценки состояния популяций указанных видов по этому показателю необходим мониторинг репрезентативной выборки вирусологического материала каждого них.

В связи с этим, а также в связи с изменением видового состава диких псовых, связанного с появлением в фауне области енотовидной собаки, численность которой в 2020 г. на фоне общероссийских показателей оценивается как высокая, необходим постоянный мониторинг состояния в регионе численности лисицы, корсака и енотовидной собаки.

Для учета охотничьих ресурсов утверждены методические указания, согласно которым оценку их численности выполняют методом зимних маршрутных учетов (ЗМУ) [Формозов, 1932; Об утверждении ..., 2012].

Известно, что показатели плотности популяции лисицы, корсака, енотовидной собаки после сезона размножения (апрель, май) на территории Омской обл., как и на территории всего ареала их обитания, возрастают в 3–5 раз за счет родившегося молодняка, по сравнению с численностью, установленной по данным ЗМУ (январь, февраль) [Сидоров, 1995].

Енотовидная собака – зимоспящий вид и её невозможно учесть методом ЗМУ, как лисицу, корсака и многих других промысловых животных. Этого хищника учитывают в весенне-летний период по выводковым и жилым убежищам.

Учет численности хищников по нормам позволяет получить более объективные показатели [Чиркова, 1952], оценить особенности их территориального распределения и использовать полученную информацию при планировании оральной вакцинации от бешенства [Сидоров, Полещук, Сидорова, 2021].

Ежегодно одни и те же норы могут заселять разные виды плотоядных. На территории Омской обл. фонд убежищ хищников совместно используется лисицей, корсаком, барсуком и енотовидной собакой [Полещук, 2005; Сидоров, Полещук, Сидорова, 2021].

Поэтому весенне-летний анализ численности населения популяций этих животных позволяет проводить одновременный учет сразу четырех видов – лисицы, корсака, барсука и енотовидной собаки, играющих основную роль в поддержании эпизоотического процесса бешенства на территории Омской обл. При этом, как и енотовидную собаку, так и зимоспящего барсука возможно учесть только этим методом [Сидоров, Полещук, Сидорова, 2021].

Оценка численности по нормам рекомендуется к применению для оперативного учета относительной и абсолютной численности основных природных распространителей вируса бешенства, анализа их внутривидовых и межвидовых биотических отношений и использования этой информации при планировании мероприятий по оральной вакцинации хищников [Сидоров, Полещук, Сидорова, 2021]. На территории Омской обл. сотрудники Референс-Центра по мониторингу за бешенством из Омского НИИ природно-очаговых инфекций в 2016 г. обучили этой методике охотоведческий коллектив области и способствовали организации качественного учета численности указанных псовых и барсука.

Полагаем, что роль барсука, имеющего тесные биоценотические связи с лисицей и корсаком, в циркуляции вируса бешенства на территории области недооценивается, ввиду недостаточности вирусологических исследований этого животного. Вирусологический мониторинг состояния популяций диких хищников в сочетании с оценкой их численности являются основанием планирования профилактических мероприятий, в частности, мероприятий по организации оральной вакцинации диких плотоядных животных.

Численность населения хозяев инфекции, наряду с такими показателями, как индекс эпизоотичности и плотность инфекции, определяют риск заражения бешенством в различных районах области.

За период 2001–2020 гг. высокие и средние значения индекса эпизоотичности наблюдали в районах центральной и северной лесостепи, а также в отдельных районах южно-лесостепной, степной и лесной зон. Наибольшая, высокая и средняя плотность инфекции установлена главным образом в степи, южной и центральной лесостепи, а также Большереченском, Муромцевском, Колосовском и Знаменском р-нах (рис. 9).

Мозаичное территориальное распределение численности лисицы и енотовидной собаки, выявляемых случаев бешенства у животных, определяют неравномерный риск заражения бешенством.

В ходе анализа комплекса эпизоотологических и экологических факторов риска установили, что в масштабе всей России Омская обл. в начале XXI в. оценивалась как территория среднего (в 2004–2006 гг.) и высокого (в 2007–2011 гг. и в 2012–2018 гг.) риска заражения бешенством [Полещук и др., 2019]. Наибольший эпидемиологический риск отмечен для Большереченского, Саргатского, Любинского, Калачинского, Таврического, Одесского, а также Называевского, Кормиловского, Одесского, Азовского р-нов (рис. 10). Первостепенного внимания в плане профилактики бешенства требует вся территория степной и лесостепной зоны.

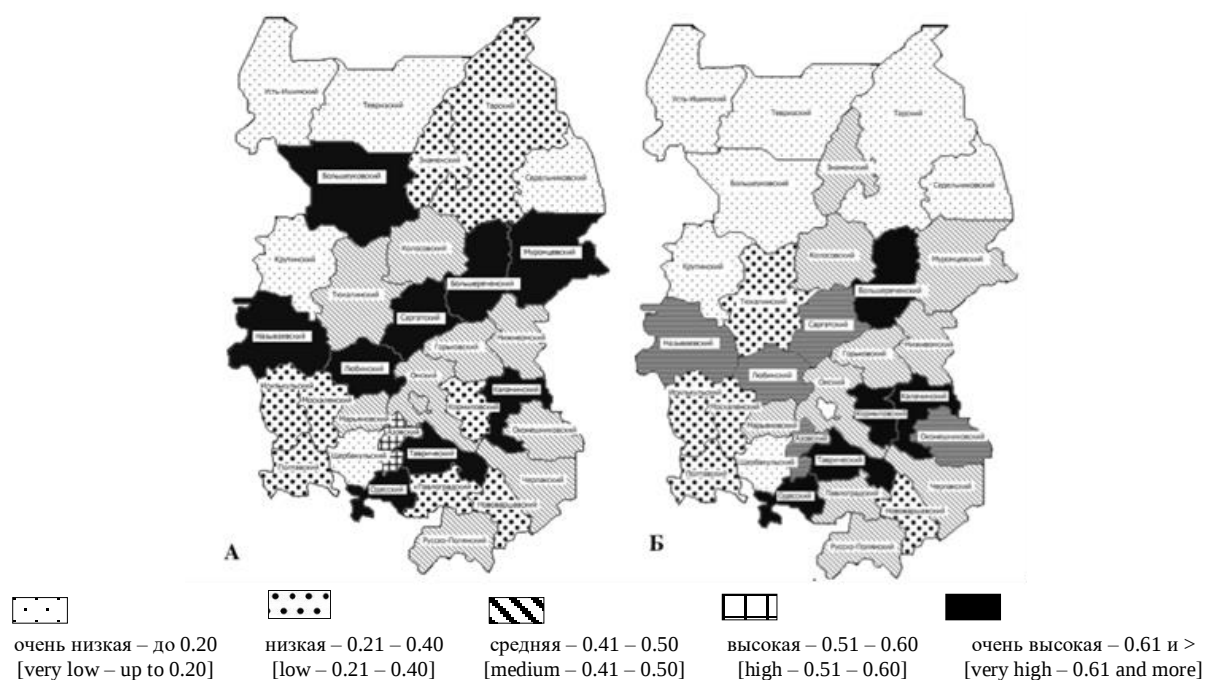


Рис. 9. Показатель индекса эпизоотичности бешенства (А) и плотности инфекции (случ./1000 км²) (Б) для различных районов Омской обл. за период 2001–2020 гг.

[The indicator of the index of epizootic rabies (A) and the density of infection (cases / 1000 sq. km) (B) for various districts of the Omsk region for the period 2001-2020]

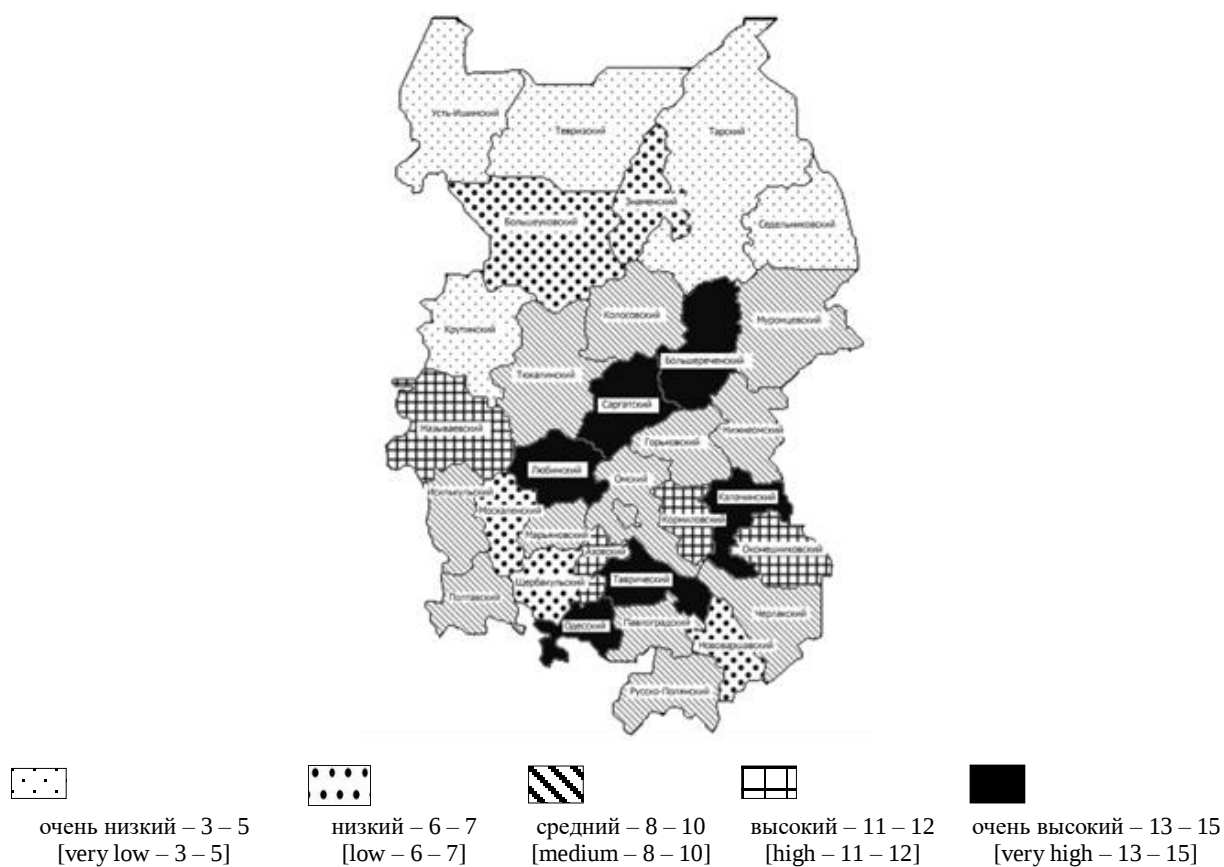


Рис. 10. Районирование Омской обл. по степени риска заражения бешенством в 2001–2020 гг.

(ранжирование комплексных эколого-эпизоотологических показателей)

[Zoning of the Omsk region according to the degree of risk of rabies infection in 2001-2020 (ranking of complex ecological and epizootological indicators)]

Таким образом, изучение региональных особенностей эпидемического и эколого-эпизоотического процессов бешенства, взаимодействие научных и практических структур санитарно-эпидемиологического, ветеринарного надзора и специалистов Министерства природных ресурсов и экологии будет способствовать научному обоснованию и оптимизации профилактических мероприятий по бешенству на территории Омской обл.

Выводы

1. С 1962 по 2020 гг. в Омской обл. было зарегистрировано 10 случаев гибели людей, что составило 1.6% общероссийского показателя и 2 200 случаев бешенства у 16 видов животных (в среднем 37.3 ± 6.7 случая ежегодно), что составило 1.2% от всей заболеваемости животных в России.

2. В начале XXI в. наибольшая напряженность эпизоотического процесса бешенства в области выявлена в 2001–2009 гг., относительное улучшение ситуации установлено в последующие циклы (2010–2014 гг. и 2015–2020 гг.). С 2008 г. число выявляемых заболеваний у животных имеет тренд к выраженному снижению ($T_{\text{сн}} = -5.94\%$), что сходно с динамикой эпизоотий в природных очагах России в целом ($r = 0.6$; $p < 0.05$).

3. С начала XXI в. отмечено изменение территориальных особенностей эпизоотического процесса в регионе. В 2001–2011 гг., впервые с 1962 г., наблюдали появление стойких очагов инфекции в северной лесостепи, активных на протяжении 11 лет на территории Большереченского и Муромцевского р-нов Омской обл. Самая северная точка регистрации бешенства у животных в Омской обл. зарегистрирована в с. Утьме Тевризского р-на, 2019 г., лошадь ($57^{\circ} 34' 29''$ с.ш.).

4. За последние 20 лет (2001–2020 гг.) впервые установлено изменение видовой структуры заболеваемости животных:

а) в общем числе зарегистрированных бешеных животных сократился удельный вес лисиц с 60.0 в 2001–2009 гг. до 34.6% в 2015–2020 гг.;

б) удельный вес домашних животных и КРС, напротив, вырос. Доля собак увеличилась с 12.1 до 25.0%, кошек – с 2.6 до 7.7%, КРС – с 12.3 до 21.2%, соответственно;

в) в эпизоотический процесс в Омской обл. начала активно вовлекаться енотовидная собака, заселившая Среднее Прииртышье в конце XX – начале XXI вв. Доля этого хищника в структуре заболевших животных за 2001–2020 гг. выросла с 0.7 до 2.9%.

5. С 2001 по 2020 гг. енотовидная собака заселила все районы области, поголовье хищника в регионе выросло с 0.8 до 7.7 тыс. особей. Установлен тренд количественного прироста этого животного ($T_{\text{пр}} = 14.9\%$).

6. Численность лисицы в Омской обл. стабильна. В 2001–2020 гг. этот показатель варьировал в пределах от 5.7 до 9.3 тыс. особей, с неизменным трендом ($T_{\text{пр/сн}} = 0.48\%$).

7. Спонтанная зараженность популяции лисицы, начиная с 2010 г., в отдельные годы превышала показатели, установленные в XX в. В это же время начали выявлять высокую спонтанную зараженность у енотовидной собаки. Максимальные показатели установлены в 2021 г., когда из 28 лисиц, возбудитель бешенства обнаружили у 4 особей, из 14 исследованных енотовидных собак, инфицированными рабдо-вирусом оказались две особи.

8. Наибольший эпидемиолого-эпизоотологический риск характерен для Большереченского, Саргатского, Любинского, Калачинского, Таврического, Одесского, а также Называевского, Кормиловского, Азовского р-нов. Первостепенного внимания в плане профилактики бешенства требует вся территория степной и лесостепной зон.

9. При наличии условий для формирования стойких природных очагов инфекции в северной лесостепи, возможности активизации эпизоотий в лесной и подтаёжной зонах, актуален постоянный вирусологический мониторинг популяций диких псовых и барсука, а также мониторинг плотности популяций этих видов методами как зимнего маршрутного учета, так и путем весенне-летних учетов их численности по выводковым норам.

Список источников

1. Атлас Омской области / под ред. Н.А. Калиненко. М.: Федеральная служба геодезии и картографии России, 1999. 56 с.

2. Беляков В.Д., Каминский Г.Д., Каминская С.Г. Теория саморегуляции паразитарных систем // Медицинская паразитология и паразитарные болезни. 1987. № 1. С. 50–56.

3. Блог компании Яндекс, Яндекс API, Визуализация данных. URL: <https://habr.com/ru/company/yandex/blog/241361/> (дата обращения: 17.11.2021).

4. Ботвинкин А.Д. Особенности эпидемиологии гидрофобии и экологии вируса бешенства в условиях преобладания очагов природного типа: дис. ... в форме науч. докл. д-ра мед. наук. М., 1992. 58 с.

5. Ведерников В.А. Современная эпизоотология бешенства: дис. ... д-ра ветеринар. наук. М., 1987. 454 с.
6. Грибанова Л.Я. Характеристика природных очагов бешенства в районе Западной Сибири: автореф. дис. ... канд. мед. наук. М., 1975. 20 с.
7. Грибанова Л.Я., Мальков Г.Б. Изменчивость эпизоотической напряженности в природных очагах бешенства в степи и лесостепи Западной Сибири // Вопросы природной очаговости болезней. Алма-Ата, 1978. Вып. 9. С. 107–110.
8. Канторович Р.А. Природные очаги дикования и бешенства в СССР: автореф. дис. ... д-ра мед. наук. М., 1965. 30 с.
9. Козмин М.И. Обзор деятельности лечебно-санитарных учреждений Омского городского управления в 1913 г. // Врачебно-санитарная хроника г. Омска, 1915. Омск, 1916. Вып. 2. С. 21–74.
10. Кузьмин И.В. и др. Бешенство на юге Западной Сибири в 1990–2000 гг. // Ветеринарная патология № 1 (1), 2002. С. 92–100.
11. Лакин Г.Ф. Биометрия М.: Высш. шк., 1980. 194 с.
12. Мальков Г.Б., Грибанова Л.Я. Основные результаты изучения природной очаговости бешенства в Сибири и на Дальнем Востоке и направления дальнейших исследований // Современные методы изучения природно-очаговых инфекций. Л., 1979. С. 11–22.
13. Об утверждении методических указаний по осуществлению органами исполнительной власти субъектов Российской Федерации переданного полномочия Российской Федерации по осуществлению государственного мониторинга охотничьих ресурсов и среды их обитания методом зимнего маршрутного учета: приказ Минприроды РФ от 11 янв. 2012 г., № 1.
14. Одум Ю. Основы экологии. М., Мир, 1975. 740 с.
15. Полещук Е.М. Морфофизиологические и биоценотические особенности лисицы и корсака и их значение в циркуляции природно-очаговых инфекций и инвазий на юге Западной Сибири (на примере Омской области): дис. ... канд. биол. наук. Омск, 2005. 276 с.
16. Полещук Е.М., Сидоров Г.Н. Анализ особенностей эпизоотолого-эпидемической ситуации и риск заражения бешенством в Российской Федерации в начале XXI века // Проблемы особо опасных инфекций. 2020. № 4, С. 16–25.
17. Полещук Е.М., Сидоров Г.Н. Зараженность бешенством диких псовых, добытых в ходе охотничьего промысла, на юге Западной Сибири // Млекопитающие в меняющемся мире: актуальные проблемы териологии (XI съезд териологического общества при РАН): материалы конф. с междунар. участием. М., 2022. С. 278.
18. Полещук Е.М., Сидоров Г.Н. Изменение особенностей эпизоотического процесса бешенства в России после многолетнего периода перепромысла основных хозяев рабической инфекции в конце XX века // Биологические ресурсы: материалы Междунар. науч.-практ. конф. Киров, 2010. С. 225–233.
19. Полещук Е.М. и др. Бешенство в Российской Федерации: информационно-аналитический бюллетень. Омск: Издательский центр КАН, 2019. 114 с.
20. Рудаков В.А. Эпидемиологическая характеристика и природная очаговость бешенства в районах Западной Сибири: автореф. дис. ... канд. мед. наук. М., 1971. 15 с.
21. Рыбак И.В., Сидоров Г.Н., Кузьмин И.В. Особенности существования и распространения эпизоотий бешенства в Омской области за 1962–1991 гг. // Проблемы патологии и охраны здоровья диких животных, экологическое взаимодействие болезней диких и сельскохозяйственных животных: Междунар. симпозиум. М., 1992. С. 37–39.
22. Савкина Е.С., Полещук Е. М., Сидоров Г.Н. Бешенство и его распространители в Омской области в начале XXI века // Актуальные вопросы ветеринарной биологии. 2021. № 3 (51). С. 3–8.
23. Селимов М.А. Бешенство. М.: Медицина, 1987. 334 с.
24. Сидоров Г.Н. Роль диких собачьих (Canidae) в поддержании эпизоотического процесса в природных очагах бешенства на территории России в связи с особенностями экологии этих животных: дис. ... д-ра биол. наук. Новосибирск, 1995. 363 с.
25. Сидоров Г.Н. и др. Пушные звери среднего Прииртышья (Териофауна Омской области) / под ред. В.И. Фисинина. Омск: Наука, 2009. 808 с.
26. Сидоров Г.Н. и др. Эпизоотический процесс бешенства на территории Омской области: современная характеристика // Вестник Омского государственного аграрного университета. 2014. № 1 (13). С. 67–72.
27. Сидоров Г.Н., Полещук Е.М., Сидорова Д.Г. Изменение роли млекопитающих в заражении людей бешенством в России за исторически обозримый период в 16–21 веках // Зоологический журнал, 2019. Т. 98, № 4. С. 437–452.
28. Сидоров Г.Н., Полещук Е.М., Сидорова Д.Г. Определение видовой принадлежности хозяев нор и весенне-летние учеты численности хищных млекопитающих (Carnivora) в природных очагах бешенства // Зоологический журнал, 2021. Т. 100, № 9. С. 1066–1077.

29. Сидорова Д.Г. Современные экологические особенности проявления эпизоотического процесса бешенства в природных очагах: автореф. дис. ... канд. биол. наук. Новосибирск, 2009. 18 с.
30. Титков Н.С., Иванова Л.М., Маркарян А.Г. Состояние заболеваемости гидрофобией и организация антирабических мероприятий в РСФСР // Вопросы борьбы с бешенством. М., 1963. С. 33–35.
31. Формозов А.Н. Формула для количественного учета млекопитающих по следам // Зоологический журнал, 1932. Т. 11, вып. 2. С. 65–66.
32. Черкасский Б.Л. Эпидемиология и профилактика бешенства. М.: Медицина, 1985. 287 с.
33. Чиркова А.Ф. Методика и некоторые результаты учетов численности лисицы и корсака // Методы учета численности и географического распределения наземных позвоночных. М.: Изд-во АН СССР, 1952. С. 179–203.
34. Шилов И.А. Экология. М.: Высш. шк., 2000. 512 с.
35. Winkler W.G. Fox Rabies // The natural history of rabies. New York; San Francisco; London, 1975. Vol. 2. P. 3–22.

References

1. Kalinenko N.A., ed. *Atlas Omskoj oblasti* [Atlas of Omsk region]. Moscow, 1999. 56 p. (In Russ.).
2. Belyakov V.D., Kaminskyi G.D., Kaminskaya S.G. [Theory of self-regulation of parasitic systems], *Medicinskaja parazitologija i parazitarnye bolezni*. No 1 (1987): pp. 50-56. (In Russ.).
3. Yandex company blog, Yandex API, Data visualization. Available at: <https://habr.com/ru/company/yandex/blog/241361/> (accessed 17.11.2021). (In Russ.).
4. Botvinkin A.D. *Osobennosti èpidemiologii gidrofobii i èkologii virusa bešenstva v uslovijach preobladani-ja očagov prirodnogo tipa* [Peculiarities of the epidemiology of hydrophobia and the ecology of the rabies virus under the predominance of natural foci], MD dissertation. Moscow, 1992. 58 p. (In Russ.).
5. Vedernikov V.A. *Sovremennaja èpizootologija bešenstva* [Modern epizootology of rabies]. MD dissertation. Moscow, 1987. 454 p. (In Russ.).
6. Gribanova L.Ya. *Charakteristika prirodných očagov bešenstva v rajone Zapadnoj Sibiri* [Characteristics of natural foci of rabies in the region of Western Siberia], Abstract of MD dissertation. Moscow, 1975. 20 p. (In Russ.).
7. Gribanova L.Ya., Mal'kov G.B. [Variability of epizootological intensity in natural foci of rabies in the steppe and forest-steppe of Western Siberia]. *Voprosy prirodnoj očagovosti boleznej*, Alma-Ata. Iss. 9 (1978): pp. 107-110. (In Russ.).
8. Kantorovich R.A. *Prirodnye očagi dikovanija i bešenstva v SSSR* [Natural foci of wildness and rabies in the USSR], MD dissertation. Moscow, 1965. 30 p. (In Russ.).
9. Kozmin M.I. [Review of the activities of medical and sanitary institutions of the Omsk city government in 1913]. *Vračebno-sanitarnaja chronika g. Omska, 1915* [Medical and sanitary chronicle of Omsk, 1915]. Omsk, 1916, iss. 2, pp. 21-74. (In Russ.).
10. Kuz'min I.V., Sidorov G.N., Botvinkin A.D., Rekhov E.I., Poleshchuk E.M. [Rabies in the south of Western Siberia in 1999-2000 years]. *Veterinarnaja patologija*. No 1 (1) (2002): pp. 92-100. (In Russ.).
11. Lakin G.F. *Biometrija*, [Biometric]. Moscow, Vyssšaja škola Publ., 1980. 194 p. (In Russ.).
12. Mal'kov G.B., Gribanova L.Ya. [The main results of the study of natural focality of rabies in Siberia and the Far East and directions for further research]. *Sovremennye metody izučeniya prirodno-očagovykh infekcij* [Modern methods of studying natural focal infections]. Leningrad, 1979, pp. 11-22. (In Russ.).
13. *Ob utverždenii metodičeskikh ukazaniy po osuščestvleniju organami ispolnitel'noj vlasti sub"ektov Ros-sijskoj Federacii peredannogo polnomočija Rossijskoj Federacii po osuščestvleniju gosudarstvennogo moni-toringa ochotnič'ich resursov i sredi ich obitanija metodom zimnego maršrutnogo učeta*. Prikaz Minprirody RF ot 11.01.2012 N 1 [On approval of guidelines for the implementation by the executive authorities of the constituent entities of the Russian Federation of the delegated powers of the Russian Federation to carry out state monitoring of hunting resources and their habitat using the method of winter route registration. Order of the Ministry of Natural Resources of the Russian Federation of 11.01.2012 N 1]. (In Russ.).
14. Odum Ju. *Osnovy èkologii* [Fundamentals of ecology]. Moscow, Mir Publ., 1975. 740 p. (In Russ.).
15. Poleshchuk E.M. *Morfofiziologičeskie i biocenotičeskie osobennosti lisicy i korsaka i ich značenie v cir-kuljacii prirodnoočagovykh infekcij i invazij na jube Zapadnoj Sibiri (na primere Omskoj oblasti)* [Morphophysiological and biocenotic features of the fox and corsac fox and their significance in the circulation of natural focal infections and invasions in the south of Western Siberia (on the example of the Omsk region)]. PhD dissertation. Omsk, 2005. 276 p. (In Russ.).
16. Poleshchuk E.M., Sidorov G.N. [Analysis of the features of the epizootological and epidemic situation and the risk of rabies infection in the Russian Federation at the beginning of the 21st century]. *Problemy osobo opasnykh infekcij*. No 4 (2020): pp. 16-25. (In Russ.).
17. Poleshchuk E.M., Sidorov G.N. [Infection with rabies in wild canids obtained during hunting in the south of Western Siberia]. *Mlekopitajuščie v menjajuščemsja mire. Aktual'nye problemy teriologii* [Mammals in a

changing world. Actual problems of theriology. XI Congress of the Theriological Society at the Russian Academy of Sciences. Conference materials]. Moscow, KMK Publ., 2022, p. 278. (In Russ.).

18. Poleshchuk E.M., Sidorov G.N. [Changes in the characteristics of the epizootic process of rabies in Russia after a long period of overexploitation of the main hosts of rabies infection at the end of the 20th century]. *Biologičeskie resursy* [Biological Resources. Hunting. Collection of scientific papers]. Kirov, 2010, P. 1, pp. 225-233. (In Russ.).

19. Poleshchuk E.M., Sidorov G.N., Nashatyreva D.N., Gradoboeva E.A., Pakskina N.D., Popova I.V. *Bešenstvo v Rossijskoj Federacii. Informacionno-analitičeskij bjulleten'* [Rabies in Russian Federation. Information and analytic bulletin]. Omsk, KAN Publ., 2019. 114 p. (In Russ.).

20. Rudakov V.A. *Epidemiologičeskaja charakteristika i prirodnaia očagovost' bešenstva v rajonach Zapadnoj Sibiri* [Epidemiological characteristics and natural foci of rabies in the regions of Western Siberia. Abstract of MD dissertation]. Moscow, 1971. 15 p. (In Russ.).

21. Rybak I.V., Sidorov G.N., Kuz'min I.V. [Peculiarities of the existence and distribution of rabies epizootics in the Omsk region in 1962-1991]. *Problemy patologii i ochrany zdorov'ja dikich zhivotnykh, èkologičeskoe vzaimodejstvie boleznej dikich i sel'skochozjajstvennykh životnykh* [Problems of pathology and health protection of wild animals, ecological interaction of diseases of wild and farm animals. International Symposium]. Moscow, 1992, pp. 37-39. (In Russ.).

22. Savkina E.S., Poleshchuk E.M., Sidorov G.N. [Rabies and its distributors in Omsk region in the beginning of 21 century]. *Aktual'nye voprosy veterinarnoj biologii*. No 3 (51) (2021): pp. 3-8. (In Russ.).

23. Selimov M.A. *Bešenstvo* [Rabies]. Moscow, Medicina Publ., 1987. 334 p. (In Russ.).

24. Sidorov G.N. *Rol' dikich sobač'ih (Canidae) v podderžanii epizootičeskogo processa v prirodných očagach bešenstva na territorii Rossii v svyazi s osobennostjami èkologii ètich životnykh* [The role of wild canids (Canidae) in maintaining the epizootic process in natural foci of rabies in Russia in connection with the ecological features of these animals. Doctor dissertation]. Novosibirsk, 1995. 363 p. (In Russ.).

25. Sidorov G.N., Kassal B.Yu., Frolov K.V., Goncharova O.V. *Pušnye zveri srednego Priirtyš'ja* [Furbearing animals of the middle Irtysh region (Theriofauna of the Omsk region)]. Omsk, Nauka Publ., 2009. 808 p. (In Russ.).

26. Sidorov G.N., Okolelov V.I., Poleshchuk E.M., Sidorova D.G. [Epizootic process of rabies in the territory of the Omsk region: modern characteristics]. *Vestnik Omskogo gosudarstvennogo agrarnogo universiteta*. No 1 (13) (2014): pp. 67-72. (In Russ.).

27. Sidorov G.N., Poleshchuk E.M., Sidorova D.G. [Changes in the role of mammals in infecting humans with rabies in Russia over the historically foreseeable period in the 16th-21st centuries]. *Zoologičeskij žurnal*. V. 98, No 4 (2019): pp. 437-452. (In Russ.).

28. Sidorov G.N., Poleshchuk E.M., Sidorova D.G. [Determination of the species affiliation of burrow hosts and spring-summer counts of the number of predatory mammals (Carnivora) in natural foci of rabies]. *Zoologičeskij žurnal*. V. 100, No 9 (2021): pp. 1066-1077. (In Russ.).

29. Sidorova D.G. *Sovremennye èkologičeskie osobennosti projavlenija epizootičeskogo processa bešenstva v prirodných očagach* [Modern ecological features of the manifestation of the epizootic process of rabies in natural foci. Abstract PhD]. Novosibirsk, 2009. 18 p. (In Russ.).

30. Titkov N.S., Ivanova L.M., Markaryan A.G. [The state of the incidence of hydrophobia and the organization of anti-rabies measures in the RSFSR]. *Voprosy bor'by s bešenstvom* [Issues of combating rabies], Moscow, 1963, pp. 33-35. (In Russ.).

31. Formozov A.N. [Formula for counting mammals by footprints]. *Zoologičeskij žurnal*. V. 11, iss. 2 (1932): pp. 65-66. (In Russ.).

32. Cherkasskyi B.L. *Èpidemiologija i profilaktika bešenstva* [Epidemiology and prevention of rabies]. Moscow, Medicina Publ., 1985. 287 p. (In Russ.).

33. Chirkova A.F. [Methodology and some results of counting the number of foxes and corsacs]. *Metody učeta čislennosti i geografičeskogo raspredelenija nazemnykh pozvonočnykh* [Methods for accounting for the number and geographical distribution of terrestrial vertebrates]. Moscow, AN SSSR Publ., 1952, pp. 179-203. (In Russ.).

34. Shilov I.A. *Èkologiya* [Ecology]. Moscow, Vyssšaja škola Publ., 2000. 512 p. (In Russ.).

35. Winkler W.G. *Fox Rabies. The natural history of rabies*. New York, San Francisco, London, 1975, V. 2, p. 3-22.

Статья поступила в редакцию 07.10.2022; одобрена после рецензирования 02.11.2022; принята к публикации 29.11.2022.

The article was submitted 07.10.2022; approved after reviewing 02.11.2022; accepted for publication 29.11.2022.

Информация об авторах

Е. С. Савкина – младший научный сотрудник лаборатории экологии и эпидемиологии бешенства;

Е. М. Полещук – канд. биол. наук, зав. лабораторией, ведущий научный сотрудник лаборатории экологии и эпидемиологии бешенства;

Г. Н. Сидоров – д-р биол. наук, профессор кафедры биологии и биологического образования, главный научный сотрудник лаборатории экологии и эпидемиологии бешенства.

Information about the authors

E. S. Savkina – junior researcher of the Laboratory ecology and epidemiology of rabies;

E. M. Poleshchuk – Candidate of biology, head of the laboratory, Leading Researcher of the Laboratory ecology and epidemiology of rabies;

G. N. Sidorov – Doctor of biological sciences, professor at the department of biology and biological education; Chief Researcher of the Laboratory ecology and epidemiology of rabies.

Вклад авторов:

Савкина Е. С. - обработка первичного материала, расчёты, написание исходного текста, составление графиков, теплокарт и картограмм.

Полещук Е. М. – сбор первичного материала, вирусологическая работа, редактирование текста.

Сидоров Г. Н – сбор первичного материала, редактирование текста.

Contribution of the authors:

Savkina E. S. – processing of primary material, calculations, writing the source text, drawing up graphs, heat maps and cartograms.

Poleshchuk E. M. – collection of primary material, virological work, text editing.

Sidorov G. N. – collection of primary material, text editing.

ЭКОЛОГИЯ

Научная статья

УДК 551.583.4

doi: 10.17072/1994-9952-2022-4-327-334.

Анализ взаимосвязи климатических факторов и генетического разнообразия популяций дуба черешчатого в разных частях Республики Башкортостан

Янбаев Руслан Юлаевич¹, Светлана Юрьевна Бахтина²,
Айдар Харисович Садыков³, Юлай Аглямович Янбаев^{4✉}

^{1–4} Башкирский государственный аграрный университет, Уфа, Россия

¹ ruslan.yanbaev@list.ru, <https://orcid.org/0000-0002-4538-6643>

² svetlana.bakhtina@inbox.ru, <https://orcid.org/0000-0002-7593-855X>

³ aidamir.ecto@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0001-5907-8361>

^{4✉} yanbaev_ua@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0003-1039-5344>

Аннотация. Республика Башкортостан, площадью около 143 тыс. км², расположена на Южном Урале, где геоморфологическая неоднородность территории, воздействие воздушных масс Атлантического океана, внутренних районов Арктики и Сибири формируют существенную внутри- и межгодовую изменчивость температуры и осадков. Цель работы – анализ динамики во времени и пространстве этих двух важнейших экологических факторов на фоне результатов, полученных при исследовании генетических различий популяций дуба черешчатого. Для генетического анализа растительный материал отобран в 14 естественных насаждениях региона, использованы 412 локусов однонуклеотидных полиморфизмов ядерной ДНК. Также использована информация по динамике температур и количеству осадков в разрезе месяцев на южной, центральной, северной и западной частях республики в 2004–2019 г. Показано, что температуры во всех метеорологических станциях варьируются по месяцам и годам достаточно синхронно. По режиму и количеству осадков исследованные территории различались намного больше; различия доходили до статистически достоверного уровня в 59.7% (преимущественно в месяцы вегетационных сезонов) сравнениях пар метеостанций по отдельным месяцам. При этом популяции дуба черешчатого обладают близкими уровнями генетического разнообразия и генетически относительно слабо дифференцированы, что доказывает устойчивость системы к воздействию факторов окружающей среды в условиях глобального изменения климата. Выявленный феномен может быть связан с эффективностью генетически реализованного потока пыльцы, в том числе между удаленными насаждениями.

Ключевые слова: климат, Южный Урал, дуб черешчатый, генетическое разнообразие

Для цитирования: Анализ взаимосвязи климатических факторов и генетического разнообразия популяций дуба черешчатого в разных частях Республики Башкортостан / Р. Ю. Янбаев, С. Ю. Бахтина, Х. Х. Садыков, Ю. А. Янбаев // Вестник Пермского университета. Сер. Биология. 2022. Вып. 4. С. 327–334. <http://dx.doi.org/10.17072/1994-9952-2022-4-327-334>.

Благодарности: исследование проведено при поддержке гранта Президента Российской Федерации для поддержки молодых ученых № МК-3699.2022.5.

ECOLOGY

Original article

Analysis of the relationship between climatic factors and genetic diversity of pedunculate oak populations in different parts of the Republic of Bashkortostan

Ruslan Yu. Ianbaev¹, Svetlana Y. Bakhtina², Aidar K. Sadykov³,
Yulay A. Yanbaev^{4✉}

^{1–4} Bashkir State Agrarian University, Ufa, Russia

¹ ruslan.yanbaev@list.ru, <https://orcid.org/0000-0002-4538-6643>

² svetlana.bakhtina@inbox.ru, <https://orcid.org/0000-0002-7593-855X>

³ aidamir.ecto@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0001-5907-8361>

^{4✉} yanbaev_ua@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0003-1039-5344>

Abstract. The geomorphological heterogeneity of the Southern Urals, the impact of air masses from the Atlantic Ocean and internal territories of the Arctic and Siberia form a significant intra- and interannual variation of tempera-

ture and precipitation in the Republic of Bashkortostan, which is a Russian region with an area of about 143 thousand square kilometres. The aim of the present study is to analyse the spatial and temporal dynamics of these two most important environmental factors in the light of the results obtained in the study of genetic differences in pedunculate oak populations. For genetic analysis, plant material was sampled in 14 natural stands of the region, 412 loci of single nucleotide polymorphisms of nuclear DNA were used. Information on the dynamics in 2004–2019 of temperatures and precipitation in the southern, central, northern and western parts of the Republic of Bashkortostan is also used in the context of months. We have shown that temperatures in all meteorological stations vary by months and years quite synchronously. The studied territories differed much more in the mode and amount of precipitation, the differences reached a statistically significant level of 59.7% (mainly in the months of the growing seasons) of monthly comparisons of pairs of the stations. At the same time, the populations of pedunculate oak have similar levels of genetic diversity and are genetically relatively weakly differentiated, which proves the system's stability to environmental factors under global climate change. It is discussed that the phenomenon revealed may be related to the effectiveness of a genetically realized pollen flow, including between remote stands.

Keywords: climate, the Southern Urals, pedunculate oak, genetic diversity

For citation: Ianbaev R. Yu., Bakhtina S. Y., Sadykov A. K., Yanbaev Yu. A. [Analysis of the relationship between climatic factors and genetic diversity of pedunculate oak populations in different parts of the Republic of Bashkortostan]. *Bulletin of Perm University. Biology*. Iss. 4 (2022): pp. 327–334. (In Russ.). <http://dx.doi.org/10.17072/1994-9952-2022-4-327-334>.

Acknowledgments: the study was conducted with the support of the President of the Russian Federation grant for the support of young scientists № МК-3699.2022.5.

Введение

Одним из последствий глобального изменения климата является повышение температуры на Земле. По информации Всемирной метеорологической организации, 2015–2019 гг. и 2010–2019 гг. стали самыми теплыми за всё время проведения метеонаблюдений [Доклад..., 2020]. В целом, начиная с 80-х гг. прошлого столетия, каждое новое десятилетие было более теплым. Следовательно, воздействие на живые организмы таких экологических факторов, как температура окружающей среды и тесно связанные с ней количество и режим осадков изменяются, выходя, в том числе, за пределы оптимальных значений [Исаев, 2001]. Растения, особенно виды лесных древесных растений, мало приспособлены для быстрой миграции в более благоприятные условия среды. По этой причине они вынуждены адаптироваться к меняющимся условиям преимущественно по месту своего произрастания. При этом потенциал для адаптации обеспечивается существующим в популяциях генетическим разнообразием [Degen et al., 2021]. Следовательно, его выявление, вместе с анализом динамики климата во времени, позволяют прогнозировать возможные адаптационные процессы популяционного уровня. Исследования роли экологических факторов в формировании популяционных генофондов растений стали особо популярными и результативными из-за появления генетических маркеров нового поколения [Peterson et al., 2012; Leroy et al., 2019] с использованием в качестве генетических маркеров локусов однонуклеотидных полиморфизмов [Degen et al., 2021].

Республика Башкортостан – расположенный на Южном Урале российский регион с площадью около 143 тыс. км², где геоморфологическая неоднородность территории, воздействие воздушных масс Атлантического океана, внутренних районов Арктики и Сибири формируют существенную и отличающуюся от других регионов внутри- и межгодовую изменчивость температуры и осадков. Это обстоятельство влияет на формирование генофонда популяций дикорастущих древесных растений Урала и их генетическое разнообразие [Пришнинская, Красильников, Боронникова, 2016]. Цель работы – анализ динамики во времени и пространстве на Южном Урале (в Башкортостане) этих двух важнейших экологических факторов в 2004–2019 гг на фоне результатов, полученных при исследовании в южной части уральских гор генетических различий популяций дуба черешчатого (*Quercus robur* L.). Насаждения данного экономического и экологически важного вида сильно пострадали во время экстремально холодных зим XX в., сопровождаемых увеличением количества энтомовредителей и болезней [Царалунга, Фурменкова, Крюкова, 2015], особенно на восточной границе ареала в Башкортостане [Попов, 1980]. Однако потепление климата может дать здесь дубу черешчатому с его исключительной засухоустойчивостью возможность восстановления насаждений и смещения границы ареала на север [Albert et al., 2018].

Материалы и методы исследования

Образцы для лабораторного анализа отобраны на 14 пробных площадях дуба черешчатого. Насаждения для их закладки (рис. 1, табл. 1) выбраны, исходя из данных о распространении дубрав на территории Башкортостана [Попов, 1980]. Низкогорья западного макросклона Южного Урала (здесь представлены основные площади и запасы дуба черешчатого, вид в древостоях может доминировать, особенно на юге Башкортостана) представлены выборками ЗИЛ, АРХ-1, АРХ-2, АРХ-3 и ИГЛ. На Уфимском плато (вид входит в состав темнохвойно-широколиственных лесов) заложены пробные площади МШК и КРД.

Остальные участки представляют колочные и островные степные и лесостепные насаждения Башкирского Предуралья (ТМЗ, ИЛШ, БУР, БРС, БЛГ и БВШ) и Мясогутовской лесостепи (СЛВ). Одновременно изученные дубравы представляют южную, центральную, северную и западную части Республики Башкортостан, соответственно и разделены расстояниями в 432 (с. Зилаир – с. Аскино) и 292 км (с. Малояз – г. Туймазы) в широтном и долготном направлениях. В большинстве пробных площадей отобраны по 10 деревьев репродуктивного возраста (в Зилаирском лесничестве с 40) не менее чем в 50 м друг от друга для уменьшения эффекта семейной кластеризации. С них отобраны образцы камбия для выделения ДНК [Dumolin, Demesure, Petit, 1995].

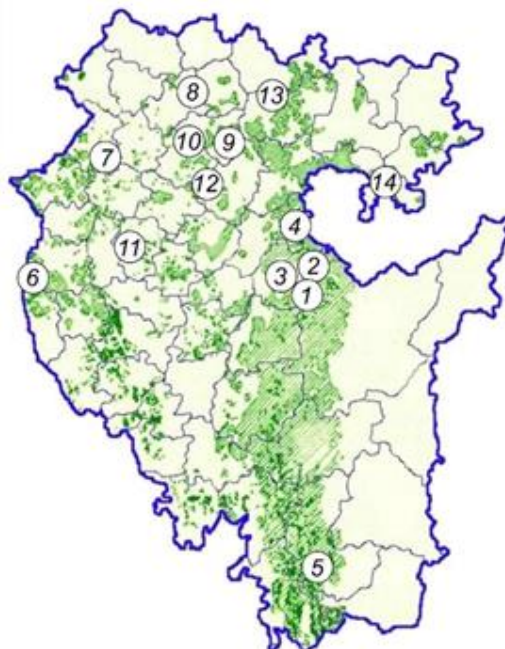


Рис. 1. Расположение исследованных выборок дуба черешчатого на схематической карте дубрав Республики Башкортостан [по Попову, 1980].

Сведения о выборках приведены в табл. 1; насаждения с доминированием и участием дуба черешчатого в составе древостоев закрашены и показаны штриховкой, соответственно

[The location of the pedunculate oak samples studied on the species schematic map in the Republic of Bashkortostan [according to Popov, 1980].

Note: information about the samples is given in Table 1; stands with the dominance and participation of the pedunculate oak in the stands are painted over and shown with hatching, respectively]

Таблица 1

Географические координаты и генетическое разнообразие выборок дуба черешчатого
[Geographical coordinates and genetic diversity of the pedunculate oak samples]

Районы	Выборки	Долгота, широта	Показатели генетического разнообразия			
			Ae	Ho	He	Fis
Архангельский	1. АРХ-1	57.255, 54.517	1.339	0.204	0.199	-0.038
	2. АРХ-2	57.116, 54.449	1.349	0.215	0.204	-0.057
	3. АРХ-3	56.798, 54.420	1.326	0.209	0.191	-0.077
Иглинский	4. ИГЛ	57.029, 54.838	1.342	0.222	0.201	-0.093
Зилаирский	5. ЗИЛ	57.320, 52.230	1.351	0.208	0.206	-0.015
Туймазинский	6. ТМЗ	53.512, 54.441	1.344	0.215	0.204	-0.048
Илешевский	7. ИЛШ	54.478, 55.362	1.334	0.205	0.197	-0.039
Бураевский	8. БУР	55.647, 55.862	1.335	0.214	0.196	-0.085
Мишкинский	9. МШК	58.318, 55.490	1.349	0.217	0.206	-0.065
Бирский	10. БРС	57.029, 54.838	1.345	0.216	0.205	-0.051
Благоварский	11. БЛГ	57.029, 54.838	1.331	0.212	0.196	-0.073
Благовещенский	12. БВШ	58.317, 55.489	1.341	0.202	0.201	-0.016
Караидельский	13. КРД	58.319, 55.491	1.337	0.204	0.197	-0.038
Салаватский	14. СЛВ	58.237, 55.172	1.330	0.210	0.197	-0.062

Примечание. Ae – эффективное число аллелей, Ho и He –наблюдаемая и ожидаемая етерозиготность, Fis – индекс фиксации Райта (коэффициент инбридинга особи относительно популяции).

Для анализа динамики климатических показателей в регионе исследования использована информация, собранная Зилаирским, Архангельским, Аскинским и Туймазинским метеостанциями Башкирского управления по гидрометеорологии и мониторингу окружающей среды. Для метеорологических данных (месячные значения температур и количества осадков) вычислены средние значения, медианы, пределы изменения показателей и коэффициент вариации. Для анализа выбран период 2004–2019 гг, который входит в период наибольшего глобального потепления [Доклад..., 2020]. Статистическая достоверность различий вариационных рядов, с учетом их непараметрического распределения, определена с применением коэффициента корреляции Спирмена. Все вычисления выполнены в программе STATISTICA 13.3. Детальное описание методов лабораторных анализов было приведено ранее [Degen et al., 2021]. Генетические сравнения популяций проведены с применением в качестве генетических маркеров однонуклеотидных полиморфизмов (SNP, Single Nucleotide Polymorphisms) из недавно разработанного нами [Degen et al., 2021] набора 412 локусов ядерной ДНК. Для каждой выборки вычислены эффективное число аллелей (A_e), наблюдаемая и ожидаемая гетерозиготность (H_o и H_e , соответственно) и коэффициент инбридинга особи относительно популяции (F_{is}). Уровень генетических различий между популяциями оценивался с использованием генетического расстояния Грегориуса d_0 [Gregorius, 1984]. Соответствующие вычисления проведены в программе GDA_NT [Degen, 2022]. Определение числа генетических групп исследованных выборках проведено в программе STRUCTURE [Pritchard et al., 2000], а графическое представление результатов – в программе CLUMPAK [Kopelman et al., 2015].

Результаты и их обсуждение

Среднемесячная температура 2004–2019 гг. изменяется по данным четырех метеостанций от 3.0 ± 0.9 до 4.7 ± 0.9 ; она выше в Архангельском ($4.6 \pm 0.9^\circ\text{C}$) и Туймазинском р-нах ($4.7 \pm 0.9^\circ\text{C}$) с более благоприятными для дуба черешчатого [Попов, 1980] лесорастительными условиями. Как в северной части исследованной территории (метеостанция в с. Аскино), так и на границе со степной зоной (с. Зилаир) показатель ниже – 3.0 ± 0.9 , и $3.2 \pm 0.9^\circ\text{C}$, соответственно. Тем не менее, эти различия не столь выражены по сравнению с данными по среднемесячному количеству осадков. Экстремально низких температур ниже -40°C , обусловивших массовое усыхание дубрав во второй половине прошлого века [Попов, 1980], не наблюдалось. Анализ динамики температур показал, что они в данных метеостанций изменяются по месяцам в целом синхронно. Из всех теоретически возможных 72 случаев попарный коэффициент корреляции Спирмена был статистически достоверным на разных уровнях значимости. Другая картина наблюдается при сравнении вариационных рядов с данными по месячному количеству осадков за 2004–2019 гг. В среднем за месяц рассмотренных 16 лет выпадало осадков 51.1 ± 2.2 (с. Архангельское), 48.9 ± 2.2 (с. Аскино), 41.0 ± 1.9 (с. Зилаир) и 39.8 ± 1.9 мм (г. Туймазы). Однако средние величины не дают представления о размахе изменчивости признака – он варьируется в пределах отдельных месяцев в широких пределах – в пределах 0.5–170.8 мм, 2.7–156.7 мм, 1.2–110.8 мм и 0.8–170.4 мм, соответственно. Более того, часто месяцы с обильными осадками или малыми их количествами в разных районах не совпадают. В таблице 2 приведена матрица, показывающая 43 из 72 изученных месяцев (59.7 %), по которым динамика количества осадков в парах метеостанций не является статистически достоверной – то есть не синхронной.

Таблица 2

Месяцы со статистически достоверными различиями количества осадков пар метеостанций Башкортостана

[Months with statistically significant differences in precipitation of pairs of weather stations of Bashkortostan]

Метеостанции	Аскино	Зилаир	Туймазы
Архангельское	Март, сентябрь, октябрь, ноябрь, декабрь	Апрель, июнь, июль, август, сентябрь, октябрь, ноябрь, декабрь	Март, июль, сентябрь, октябрь, ноябрь, декабрь
Аскино	-	Март, июнь, июль, август, сентябрь, октябрь, ноябрь, декабрь	Март, апрель, июль, август, сентябрь, октябрь, ноябрь, декабрь
Зилаир	-	-	Апрель, июнь, июль, август, сентябрь, октябрь, ноябрь, декабрь

Наиболее отличается от других по этому показателю южная, Зилаирская метеостанция, расположенная на границе со степной зоной. Количество осадков в разных метеостанциях статистически значимо коррелировало лишь в январе и феврале. И, наоборот, с апреля по октябрь (в вегетационный период) дифференциация изученных частей Башкортостана по ним становилась намного более выраженной. Таким образом, количество и время выпадения осадков может быть для дуба черешчатого сравнительно

более критическим явлением, воздействующим на состояние дубрав через действие отбора, чем месячные температуры. В то же время, влияние температуры, другого важного экологического фактора, на популяции может оказываться опосредованно через его воздействие на режим и количество осадков [Исаев, 2001]. В среднем для 14 изученных популяций эффективное число аллелей составило значение $A_e = 1.339 \pm 0.002$, наблюдаемая и ожидаемая гетерозиготность, $H_o = 0.211 \pm 0.002$ и $H_e = 0.200 \pm 0.001$, коэффициент инбридинга $F_{is} = -0.054 \pm 0.06$. Данные табл. 1 и вычисление коэффициентов вариации (0.6, 2.8 и 2.3% для A_e , H_o и H_e , соответственно) показывают существенное сходство уровней генетического разнообразия как в соседствующих насаждениях, так и в удаленных друг от друга дубравах. Генетическое расстояние между выборками в среднем по 412 локусам SNP составило значение $d_0 = 0.069 \pm 0.001$ с изменениями между парами от $d_0 = 0.054$ до $d_0 = 0.084$. При этом генетические различия популяций в пределах центральной, западной и северной частей Башкортостана выражены на уровне, сопоставимым с генетической дифференциацией более удаленных друг от друга выборок, иногда превышая ее. Во всех выборках отмечен небольшой эксцесс наблюдаемой гетерозиготности. Результаты работы в программах STRUCTURE и CLUMPAK подтвердили слабую генетическую подразделенность дубрав Башкортостана. На рисунке 2 для наиболее информативных $K = 2$ и $K = 3$ показано, что исследованные выборки не формируют разные генетические группы и не образуют отличающиеся кластеры. Таким образом, близкая динамика месячных температур в исследованных частях Башкортостана в 2004–2019 гг. совпадает с результатами генетических исследований дуба черешчатого, демонстрируя относительно слабую дифференциацию и близкие уровни генетического разнообразия популяций. И наоборот, сходство популяционных генофондов на этой территории наблюдается на фоне выраженных и статистически значимых различий южной, центральной, западной и северных частях региона по режиму и количеству осадков.

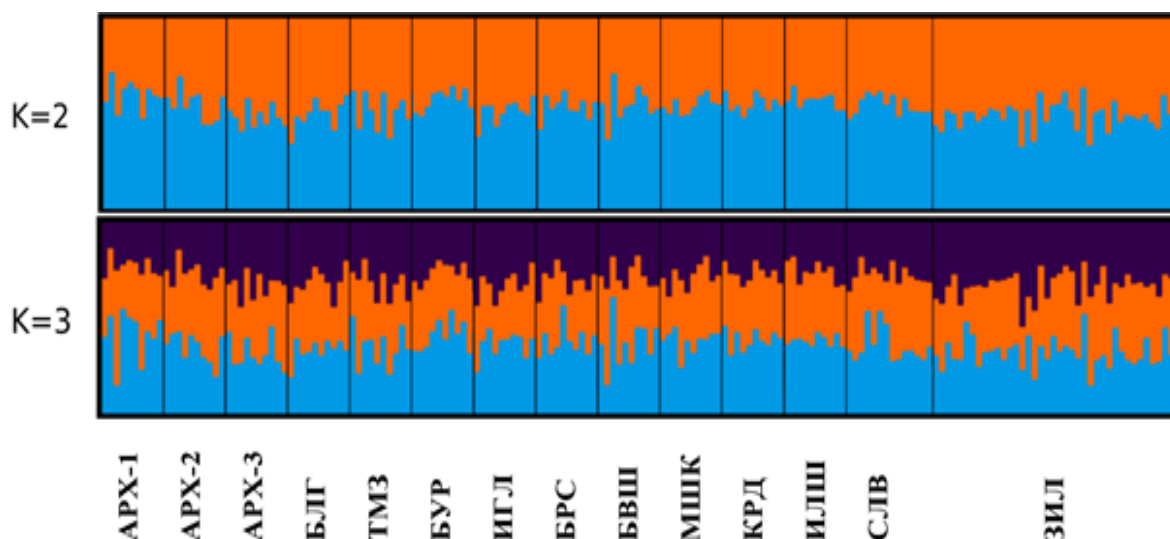


Рис. 2. Популяционная структура дуба черешчатого по результатам анализа в программе STRUCTURE.

Вертикальные полосы показывают особей выборок, представленных разными цветами пропорционально принадлежности к тому или иному кластеру

[The population structure of the pedunculate oak according to the results of the analysis in the STRUCTURE program.

Note: vertical bars represent by different colors individuals of samples in proportion according to belonging to a particular cluster]]

Этот феномен требует дополнительного исследования и, по-видимому, имеет под собой комплекс причин, в том числе генетических, связанных с эффективностью генетически реализуемого потока пыльцы. Нами, по данным находящегося в открытом доступе (сайт Министерства лесного хозяйства Башкортостана, URL: forest.bashkortostan.ru) Лесного плана 2016 г., был проведен анализ соотношения площадей насаждений 24 лесничеств, где представлены широколиственные древесные растения региона. Установлено (табл. 3), что во всех хозяйствах доминирует *Tilia cordata*, а доля других видов существенно варьируется. Доля насаждений с доминированием *Q. robur* сравнительно мала во всех лесничествах – в 45.8% из них занимают 0.6–3.0% лесопокрытой площади. Тем не менее, он во всех случаях является непременным спутником других представителей широколиственных лесов. Возможно, эти деревья представляют «генные тропы», которые дают возможность потоку генов выравнивать частоты аллелей и сближать генофонды и уровни генетического разнообразия популяций всего Южного Урала. Вряд ли может этот процесс быть реализован путем распространения тяжелых желудей дуба черешчатого.

Доли насаждений широколиственных древесных растений в лесничествах Республики Башкортостан (в %)

[The proportion of broad-leaved stands in forestry enterprises of the Republic of Bashkortostan (in %)]

Виды	Средняя	Пределы изменений	Медиана	Коэффициент вариации, %
<i>Quercus robur</i>	4.2±0.6	0.6-10.4	3.7	68.1
<i>Tilia cordata</i>	86.7±2.2	61.4-98.4	89.3	12.3
<i>Acer platanoides</i>	6.9±1.7	0.1-30.4	2.7	128.6
<i>Ulmus glabra, U. laevis</i>	2.6±0.5	0.1-7.9	1.8	92.8

Нами ранее было показано [Bushbom, Yanbaev, Degen, 2011], что успешный генетический поток может обеспечиваться за счет эффективности потока «отцовских» аллелей на дальние расстояния при помощи пыльцы. Реконструкция генотипов зародышей при помощи микросателлитных генетических маркеров в удаленном на много десятков километров от других дубрав малой популяции выявила, что по крайней мере 35% пыльцы попали в насаждение из дальних источников. В настоящее время насаждения широколиственных лесов Башкортостана существенно фрагментированы в пространстве, в первую очередь, при сельскохозяйственном освоении территории. Тем не менее, уменьшение лесистости почти в два раза произошло лишь за несколько последних веков [Попов, 1980]. Это, вероятно, еще не привело у долгоживущего дуба черешчатого к заметному обеднению генофондов популяций, оказавшихся в пространственной изоляции безлесными территориями, и к увеличению генетической дифференциации между ними. Эти сценарии могут лежать в основе показанного нами феномена близости генофондов удаленных популяций региона с относительно большой изменчивостью климата – выраженной динамикой в пространстве и во времени количества осадков.

Выводы

1. Температура в южной, центральной, северной и западной частях Республики Башкортостан варьируется по месяцам и годам в целом синхронно, что доказывается положительной статистически достоверной корреляцией ее значений.
2. Количество осадков по месяцам и годам является более изменчивым показателем, асинхронность (статистически достоверная на разных уровнях значимости в 59.7% сравнений пар метеостанций) выражена преимущественно в месяцы вегетационного периода. Таким образом, данный показатель потенциально является более критическим экологическим фактором для популяций дуба черешчатого.
3. Применение генетических маркеров 412 локусов однонуклеотидных полиморфизмов ядерной ДНК позволило выявить сравнительно низкую генетическую дифференциацию популяций дуба черешчатого региона и близкие значения показателей их генетического разнообразия, несмотря на относительно большую динамику в пространстве и во времени количества осадков. Этот феномен демонстрирует устойчивость популяционной системы к воздействию этого климатического фактора.

Список источников

1. Доклад о научно-методических основах для разработки стратегий адаптации к изменениям климата в Российской Федерации (в области компетенции Росгидромета). СПб.; Саратов: Амирит, 2020. 120 с. URL: <http://cc.voeikovmgo.ru/images/dokumenty/2020/dokladRGM.pdf>.
2. Исаев А.А. Экологическая климатология. М.: Науч. мир, 2001. 456 с.
3. Попов Г.В. Леса Башкирии. Уфа, 1980. 144 с.
4. Пришнинская Я.В., Красильников В.П., Боронникова С.В. Молекулярно-генетическая идентификация популяций *Pinus sylvestris* L. на востоке Русской равнины на основании полиморфизма ISSR-маркеров // Вестник Пермского университета. Сер. Биология. 2016. Вып. 2. С. 171–176.
5. Царалунга В.В., Фурменкова Е.С., Крюкова А.А. Внешние признаки патологии дуба черешчатого. Воронеж, 2015. 231 с.
6. Albert M. et al. Quantifying the effect of persistent dryer climates on forest productivity and implications for forest planning: a case study in northern Germany // Forest Ecosystems. 2018. Vol. 5 (33). DOI: <https://doi.org/10.1186/s40663-018-0152-0>.
7. Bushbom J., Yanbaev Yu., Degen B. Efficient long-distance gene flow into an isolated relict oak stand // Journal of Heredity. 2011. Vol. 102, № 4. P. 464–472.
8. Degen B. GDA-NT 2021 a computer program for population genetic data analysis and assignment // Conservation Genetics Resources. 2022. DOI: 10.1007/s12686-022-01283-2.

9. Degen B. et al. Applying targeted genotyping by sequencing with a new set of nuclear and plastid SNP and indel loci for *Quercus robur* and *Quercus petraea* // *Conservation Genetics Resources*. 2021. Vol. 13 (4). P. 345–347.
10. Dumolin S., Demesure B., Petit R.J. Inheritance of chloroplast and mitochondrial genomes in pedunculate oak investigated with an efficient PCR method // *Theoretical and Applied Genetics*. 1995. Vol. 91. P. 1253–1256.
11. Gregorius H.R. A unique genetic distance // *Biometrical Journal*. 1984. Vol. 26, № 1. P. 13–18.
12. Kopelman N.M. et al. Clumpak: a program for identifying clustering modes and packaging population structure inferences across K // *Molecular Ecology Resources*. 2015. Vol. 15. P. 1179–1191.
13. Leroy T. et al. Adaptive introgression as a driver of local adaptation to climate in European white oaks // *New Phytologist*. 2019. doi:10.1111/nph.16095.
14. Peterson B.K. et al. Double Digest RADseq: An inexpensive method for de novo SNP discovery and genotyping in model and non-model species // *Plos One*. 2012. Vol. 7, № 5. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0037135>.
15. Pritchard J.K., Stephens M., Donnelly P. Inference of population structure using multilocus genotype data // *Genetics*. 2000. Vol. 155. P. 945–959.

References

1. *Doklad o naučno-metodičeskikh osnovakh dlja razrabotki strategij adaptacii k izmenenijam klimata v Rossijskoj Federacii (v oblasti kompetencii Rosgidrometa)* [Report on scientific and methodological bases for the development of strategies for adaptation to climate change in the Russian Federation (in the field of Roshydromet competence)]. St-Peterburg, Saratov, Amirit Publ., 2020. 120 p. Available at: <http://cc.voeikovmgo.ru/images/dokumenty/2020/dokladRGM.pdf>. (In Russ.).
2. Isaev A.A. *Èkologičeskaja klimatologija* [Ecological climatology]. Moscow, Naučnyj mir Publ., 2001. 456 p. (In Russ.).
3. Popov G.V. *Lesa Baškirii* [Forests of Bahkiria: monograph]. Ufa, 1980. 144 p. (In Russ.).
4. Prishnivskaya Ya.V., Krasil'nikov V.P., Boronnikova S.V. [Molecular genetic identification of populations of *Pinus sylvestris* L. in the east of the Russian plain based on polymorphism of ISSR-markers]. *Bulletin of Perm University. Biology*. Iss 2 (2016): pp. 171–176 (In Russ.).
5. Tsaralunga V.V., Furmenkova E.S., Kryukova A.A. *Vnešnie priznaki patologii duba čereščatogo* [External signs of pathology of the pedunculate oak]. Voronež, 2015. 231 p. (In Russ.).
6. Albert M., Nagel R.V., Suttmoller J., Schmidt M. Quantifying the effect of persistent dryer climates on forest productivity and implications for forest planning: a case study in northern Germany. *Forest Ecosystems*. V. 5, No 33 (2018). DOI: <https://doi.org/10.1186/s40663-018-0152-0>.
7. Bushbom J., Yanbaev Y., Degen B. Efficient long-distance gene flow into an isolated relict oak stand. *Journal of Heredity*. V. 102, No 4 (2011): pp. 464–472.
8. Degen B. GDA-NT 2021 a computer program for population genetic data analysis and assignment. *Conservation Genetics Resources*. 2022. DOI: 10.1007/s12686-022-01283-2.
9. Degen B., Blanc-Jolivet C., Bakhtina S., Yanbaev R., Yanbaev Y., Mader M., Nürnberg S., Schröder H. Applying targeted genotyping by sequencing with a new set of nuclear and plastid SNP and indel loci for *Quercus robur* and *Quercus petraea*. *Conservation Genetics Resources*. V. 13, No 4 (2021): pp. 345–347.
10. Dumolin S., Demesure B., Petit R.J. Inheritance of chloroplast and mitochondrial genomes in pedunculate oak investigated with an efficient PCR method. *Theoretical and Applied Genetics*. V. 91 (1995): pp. 1253–1256.
11. Gregorius H.R. A unique genetic distance. *Biometrical Journal*. V. 26, No 1 (1984): pp. 13–18.
12. Kopelman N.M., Mayzel J., Jakobsson M., Rosenberg N.A., Mayrose I. Clumpak: a program for identifying clustering modes and packaging population structure inferences across K. *Molecular Ecology Resources*. V. 15. (2015): pp. 1179–1191.
13. Leroy T., Louvet J.M., Lalanne C., Le Provost G., Labadie K., Aury J.-M., Delzon S., Plomion C., Kremer A. Adaptive introgression as a driver of local adaptation to climate in European white oaks. *New Phytologist*. V. 226, No 4 (2020): pp. 1171–1182.
14. Peterson B.K., Weber J.N., Kay E.H., Fisher H.S., Hoekstra H.E. Double. Double Digest RADseq: An inexpensive method for de novo SNP discovery and genotyping in model and non-model species. *Plos One*. V. 7, No 5 (2012). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0037135>.
15. Pritchard J.K., Stephens M., Donnelly P. Inference of population structure using multilocus genotype data. *Genetics*. V. 155 (2000): pp. 945–959.

Статья поступила в редакцию 20.10.2022; одобрена после рецензирования 02.11.2022; принята к публикации 29.11.2022.

The article was submitted 20.10.2022; approved after reviewing 02.11.2022; accepted for publication 29.11.2022.

Информация об авторах

Р. Ю. Янбаев – канд. с.-х. наук, старший научный сотрудник лаб. генетических ресурсов;

С. Ю. Бахтина – ведущий инженер научно-образовательного центра;

А. Х. Садыков – инженер научно-образовательного центра;

Ю. А. Янбаев – д-р биол. наук, зав. научно-образовательного центра.

Information about the authors

R. Yu. Ianbaev – candidate of agricultural sciences, senior researcher of genetic resources;

S. Y. Bakhtina – leading engineer of scientific and educational center;

A. K. Sadykov – engineer of scientific and educational center;

Yu. A. Yanbaev – doctor of biology, head of scientific and educational center.

Вклад авторов:

Янбаев Р. Ю. – концепция исследования; генетический анализ; сбор растительного материала; написание оригинального текста; выводы.

Бахтина С. Ю. – генетический анализ; статистический анализ климатических данных; выводы.

Садыков А. Х. – полевые исследования.

Янбаев Ю. А. – обсуждение результатов и выводов, редактирование рукописи.

Contribution of the authors:

Ianbayev R. Yu. – research concept; genetic analysis; collection of plant material; writing of the original text; conclusions.

Bakhtina S. Y. – genetic analysis; statistical analysis of climatic data; conclusions.

Sadykov A. H. – field research.

Yanbayev Yu. A. – discussion of results and conclusions, revision of the manuscript.

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

The authors declare no conflicts of interests.

Влияние феназепама на паттерны поведения крыс

Оксана Владимировна Агафонова¹, Эдуард Арменакович Коркотян^{2,3}✉

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

³ Институт им. Вейцмана, Реховот, Израиль, Eduard.korkotian@weizmann.ac.il, <https://orcid.org/0000-0001-5515-3387>

Аннотация. Благодаря развитию сферы информационных технологий для многих исследователей становятся доступными новейшие методы в наблюдении, фиксации, а также анализе разного рода массивов данных. Так, компьютеризированный анализ на основе новых алгоритмов способствует сопоставлению разных схем поведения, включая изучение динамики активности животных под воздействием нейротропных препаратов, примером которых может служить феназепам. Цель исследования – сопоставление паттернов поведения двух групп лабораторных крыс: контрольной группы и группы под воздействием феназепама, с применением систем компьютерного анализа, а также изучение влияния феназепама на поведение крыс как таковое. В результате исследования были выявлены особенности в уровне выраженности общей траектории движения крыс в ходе тестирования. Также применение разработанных нами приемов цветового временного кодирования позволило обнаружить существование корреляции в поведении между двумя временными позициями. Сфера применения разработанных нами методов не ограничена научно-лабораторной практикой. Многие из этих методов применимы к людям, особенно, к пациентам, страдающим неврологическими и моторными расстройствами широкого спектра.

Ключевые слова: поведение, крысы, феназепам, анксиолитик, тревожность, «открытое поле»

Для цитирования: Агафонова О. В., Коркотян Э. А. Влияние феназепама на паттерны поведения крыс // Вестник Пермского университета. Сер. Биология. 2022. Вып. 4. С. 335–339. [На англ.]. <http://dx.doi.org/10.17072/1994-9952-2022-4-335-339>.

Благодарности: авторы выражают благодарность Санкт-Петербургскому государственному химико-фармацевтическому университету, а также доктору медицинских наук, профессору, заведующему кафедрой фармакологии и клинической фармакологии СПбФУ Оковитому Сергею Владимировичу за предоставление материала для исследования.

NEUROBIOLOGY

Original article

Effect of Phenazepam on Behavioral Patterns in Rats

Oksana V. Agafonova¹, Eduard Korkotian^{2,3}✉

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

³✉ The Weizmann Institute of Science, Rehovot, Israel, eduard.korkotian@weizmann.ac.il, <https://orcid.org/0000-0001-5515-3387>

Abstract. Due to the development of information technology, many researchers have received access to the latest methods in the observation, recording, and analysis of various kinds of data arrays. Thus, machine analysis based on new algorithms facilitates the comparison of different patterns of behavior, including the study of the dynamics of animal activity under the influence of neurotropic drugs, an example of which is phenazepam. The aim of our study was to use computer analysis systems to compare the behavior patterns of two groups of laboratory rats: the control group and the group following phenazepam, as well as to study the overall effect of phenazepam on the behavior of rats. As the study showed, features were revealed in the level of expression of the general trajectories of rat movement during the testing. In addition, the use of home-developed color time coding techniques, made it possible to detect the existence of a correlation in behavior between two time positions of the same animal. The scope of the methods developed by us is not limited to scientific and laboratory practice. Some of these methods are applicable to humans, especially patients suffering from a wide range of neurological and motor disorders.

Keywords: behavior, rats, phenazepam, anxiolytic, anxiety, «open field»

For citation: Agafonova O. V., Korkotian E. Effect of Phenazepam on Behavioral Patterns in Rats. *Bulletin of Perm University. Biology*. Iss. 4 (2022): pp. 335-339. <http://dx.doi.org/10.17072/1994-9952-2022-4-335-339>.

Acknowledgments: we express our gratitude to the St. Petersburg State Chemical and Pharmaceutical University (SPCFU), and personally to Professor, Head of the Department of Pharmacology and Clinical Pharmacology of Okovitoi Sergey Vladimirovich for providing the material for the study.

Introduction

The study and analysis of the behavioral aspects of animals is one of the most complex tasks in modern neuroscience. It requires the formation of qualified experience on the part of the observer, painstaking observation and a lot of time. Fortunately, the use of automated analysis systems creates the conditions for significant facilitation and timesaving in research. Thanks to the introduction of new analysis, it seems possible to more deeply study the various behavioral patterns of groups of laboratory animals, including rats [Andreev et al., 2021]. Moreover, prospects for the use of the developed methods in the diagnosis and treatment of various neuropathology in humans are opening up.

For many years, animal behavior has been studied through visual observation, which imposes certain restrictions on the research process, thereby affecting the data and results obtained during the analysis. However, in recent decades, a trend in the use of artificial intelligence systems has become noticeable, making it possible to optimize the processes of observation, recording and analysis of arrays of received data [Godec P., et al, 2019]. In particular, the comparison of behavioral patterns and dynamics of animal activity under the influence of neurotropic drugs is greatly simplified and objectified. As an example, in our study, a widely known drug in the clinic, phenazepam, has been used.

Phenazepam is a tranquilizer developed at the end of the last century and has a pronounced anticonvulsant, muscle relaxant and soporific effect. It is a white crystalline powder, insoluble in water and slightly soluble in alcohol. The mechanism of action of phenazepam is to facilitate the inhibitory action of gamma-aminobutyric acid (GABA) on the signal transmission of brain [Hepsomali et al., 2020, Oyemade, 2012]. In medical practice, phenazepam is prescribed for the treatment of nervous, neuropathic, psychopathic conditions accompanied by anxiety, fear, and increased irritability [Maskell, 2012]. In this study, the goal was to study the effects of phenazepam on the behavior of rats using the methods of home-developed computer color-coding.

Materials & Methods

Animals. Outbred laboratory rats were kept in standard cages, strictly observing the rules of animal maintenance in accordance with the international convention "International Convention for the Protection of Animals" [URL: <https://www.animallaw.info/treaty/international-convention-protection-animals>], following the Order by the Ministry of Health of the Russian Federation from April 1, 2016 No. 199n "On Approval of the Rules for Good Laboratory Practice". The animals were provided with suitable nutrition, stable temperature conditions and veterinary care. The day/night cycle was set at 12/12 hours.

To achieve the goals of the study, a series of experiments was carried out on 20 outbred rats, divided into 2 groups according to the administered drug. The rats of the control group were injected with a physiological solution of 0.5 ml. Rats of the second group were injected with phenazepam in a volume of 1 mg/kg, with a similar injection volume [Sysoev et al., 2022]. The exposure time of the drug before registration was 20 minutes.

Experimental setup and registration. The "open field" setup was a round, flat arena of black color, equipped with sides of sufficient height to prevent the escape of animals, 97 cm in diameter, divided into 19 sectors of equal area, with a number of small holes in the floor, attractive for their exploration by rats. Video recording was carried out using a Canon 5D camera, at a frequency of 30 frames per second, for 3 minutes, at 320-lux illumination. The camera was controlled remotely, without a person being in the room, with the image of the field displayed on the monitor.

Methods of image acquisition. In the course of a study conducted with each of two groups of rats, a number of behavioral parameters were analyzed in the open field test [Walsh and Cummins, 1976; Crusio, 2001; Seibenhener and Wooten, 2015]: mobility, anxiety, and orienting-exploratory behavior.

Each animal test was recorded on a video camera, resulting in 20 video recordings. The resulting videos were processed in the Google Colaboratory service [URL: <https://colab.research.google.com>]. Each video was processed using the program code. These video files included images consisting of three time positions expressed using color coding. To obtain a color video recording, each video was divided into frames. Thus, at each moment of time, 3 frames were combined: 1st frame - the present time, 2nd frame - the near future (in 10 frames relative to the first one or after 0.33 s), 3d frame - the distant future (in 50 frames relative to the first, i. e. after 1.66 s). Further, all three frames were combined into a single frame in sequence while maintaining the frame rate. The need to introduce color coding was to determine the relationship between behavior patterns in the near and dis-

tant future. Then the goal was to predict the individual patterns of animal behavior based on the combined frames.

In addition to the above methods, when studying the behavior of rats, an additional analysis tool was used, which allowed analyzing motor activity in general, without taking into account specific patterns. For these purposes, using Fiji software from ImageJ [Schindelin et al, 2012] we created a Java code that processed 540 frames obtained from test video files at equal intervals, with a total recording duration of 3 minutes. As a result, after the execution of the program code, a single collage of six images per video file was obtained.

Results and Discussion

The temporal color coding method made it possible to trace the dynamics and trajectory of movements of individuals in the control and phenazepam groups of rats throughout the entire video recording (Fig. 1). The video file with each animal was divided into 6 parts of 90 frames each (that is, a total of 540 frames) using the original program code we created.



Fig. 1. A montage showing the trajectory of an individual rat during a three-minute recording ((Temporal Color Code).

To form a collage, every tenth frame was used, that is, 540 out of 5400 consecutive frames. For the formation of each of the six elements of the collage, 90 selected frames were used. Thus, the entire recording period was divided into six 30-second segments. The beginning of the movement in each element was indicated in dark blue, then in blue, green, yellow, orange and red. The absence of one or another color in the trajectory of movement meant the imposition of several shades, which occurred when the animal froze in one position

From the images generated in this way, it can be seen that the orienting-exploratory activity of each of the control animals was generally very intense: most of the rats during the behavioral test made long runs both in the center and around the periphery of the arena. Thus, the temporal color coding of the control group of laboratory rats showed quite diverse and rich dynamics of movements, which in all cases corresponded to normal orienting-exploratory activity.

The use of temporal color coding for the phenazepam injection group revealed significantly different results. First, in this group, abnormal orienting-exploratory behavior was clearly manifested, expressed in long runs, mainly along the periphery of the arena. Moreover, most of the animals moved exclusively in a circular trajectory throughout the recording. Secondly, by the end of video recording, most treated animals showed a noticeable decrease or complete absence of motor activity. In many cases, the animals would suddenly stop moving, entering a state known as "freezing". Animals became almost completely immobile, only occasionally sniffing the environment or floor holes.

Thanks to another approach, namely frame-by-frame temporal coding with the combination of the current position, near and far future in one frame, it was possible to study the patterns of rats at different time positions.

To analyze the correlation between these time points, 4 standard patterns of movement were chosen: farther forward, turns right, left or back. As predictors of these future movements, we paid attention to the position of the tail, head, and body of rats in the context of their co-directional position and alignment with future movement.

Subsequent statistical analysis [Stanton et al, 1998] showed significant differences in percentage of positive predications between the "forward" pattern and the "right", "left" or "back" patterns in the control group of rats as well as in the group injected with phenazepam (Fig. 2).

This finding indicates that tail, head, and body positions may serve positive predictors of farther forward movement. Moreover, in the anxiolytic group, this trend was even more pronounced (see higher level of statistical significance for phenazepam group, compared to control). At the same time, considering the remaining three patterns (to the right, to the left, and back), we concluded that the positions of the tail, head, and body of rats were not reliable predictors of actual motor patterns in both the near and distant future. In our opinion, this innovative method of dynamic analysis has demonstrated significant potential in the analysis of the effect of psychoactive substances on the nervous system and behavior of the laboratory animals tested.

Thanks to the development of new research methods, we found that phenazepam, as a tranquilizer, inhibits exploratory activity in rats. We have established the features of the level of expression, related to the general trajectories of rat dynamics in "open field" test, executed in two different groups. It has been demonstrated that

phenazepam in most cases promotes stereotypic circular motion along the arena wall, and in some cases completely suppresses the exploratory interest of the animals.

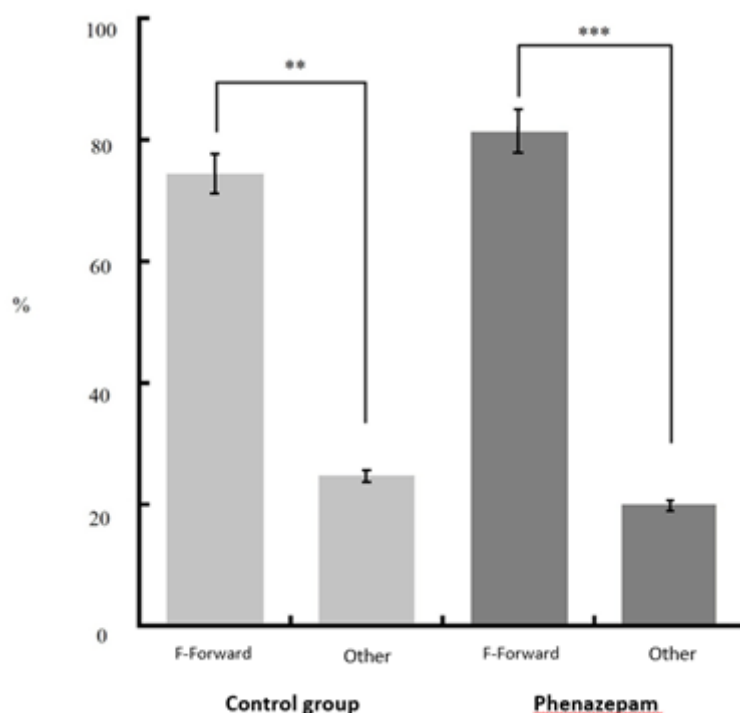


Fig. 2. Comparison of indicators predicting the patterns of animal dynamics in the “open field” test, such as movement straight forward (marked as “F-forward”) and turns right, left and back taken together (marked as “Other”) in the “Control group” (light gray) and “Phenazepam” (dark gray). When the positions of head, body or tail of the animal were co-directed with its near or farther future movements they were considered as “positive predictors”. Y-axis - overall percent of positive predictions cases

Some more unexpected results were obtained by using color temporal registration of frames, which made it possible to detect the presence of a correlation in behavior between two time positions. In particular, it turned out that the pattern of forward movement can be reliably predicted based on the position of the animal's head, body, or tail. Moreover, this trend is true for both studied groups of rats. In general, the future coding method can be used in studies whose purpose is to reveal the dynamics of the behavior of entire range of laboratory animals after the use of different psychoactive substances.

The combination of both of our innovative machine-based behavioral analysis methods opens up exciting prospects for the early diagnosis of neurological movement disorders in human patients. We are confident that the color coding of different motor phases and general motor patterns of patients will allow further development of methods for the early diagnosis of neurological disorders.

Список источников

1. Andreev A. et al. New Approaches to Studying Rodent Behavior Using Deep Machine Learning. International // Conference on Advances in Digital Science. 2021. P. 365–374. DOI: 10.1007/978-3-030-71782-7_32.
2. Crusio W. Genetic dissection of mouse exploratory behaviour // Behavioural Brain Research. 2001. P. 127–132.
3. International Convention for the Protection of Animals. 1988. URL: <https://www.animallaw.info/treaty/international-convention-protection-animals>.
4. Godec P. et al. Democratized image analytics by visual programming through integration of deep models and small-scale machine learning // Nature Communications. 2019. P. 45–51.
5. Google Colab. 2022. URL: <https://colab.research.google.com>.
6. Hepsomali P. et al. Effects of Oral Gamma-Aminobutyric Acid (GABA) Administration on Stress and Sleep in Humans: A Systematic Review. // Front Neurosci. 2020. 14. P. 923.
7. Maskell P. Phenazepam: The drug that came in from the cold // Journal of Forensic and Legal Medicine. 2012. P. 122–125.
8. Oyemade A. New Uncontrolled Benzodiazepine, Phenazepam, Emerging Drug of Abuse. // Innov. Clin. Neurosci. 2012, 9.

9. Schindelin J. et al. Fiji: an open-source platform for biological-image analysis // *Nature Methods*. 2012. P. 676–682.
10. Seibenhener M., Wooten M. Use of the Open Field Maze to Measure Locomotor and Anxiety-like Behavior in Mice // *Journal of visualized experiments*. 2015. P. 1–6.
11. Stanton A.G. *Primer of biostatistics*. New York: McGraw-Hill, 2001.
12. Sysoev Yu.I. et al. Application of a naive Bayesian classifier to identify the effects of various neurotropic drugs on the parameters of electrocorticograms in rats. In press. 2022. URL: <https://istina.msu.ru/publications/article/433079350/>
13. Walsh R., Cummins R. The open-field test: a critical review // *Psychological bulletin*. 1976. P. 482–504.

References

1. Andreev A. et al. New Approaches to Studying Rodent Behavior Using Deep Machine Learning. International. Conference on Advances in Digital Science. (2021): pp. 365-374. DOI: 10.1007/978-3-030-71782-7_32.
2. Crusio W. Genetic dissection of mouse exploratory behavior. *Behavioural Brain Research*. (2001): pp. 127-132.
3. International Convention for the Protection of Animals. 1988. URL: <https://www.animallaw.info/treaty/international-convention-protection-animals>.
4. Godec P. et al. Democratized image analytics by visual programming through integration of deep models and small-scale machine learning. *Nature Communications*. (2019): pp. 45-51.
5. Google Colab. 2022. URL: <https://colab.research.google.com>.
6. Hepsomali P. et al. Effects of Oral Gamma-Aminobutyric Acid (GABA) Administration on Stress and Sleep in Humans: A Systematic Review. *Front Neurosci*. 14 (2020): p. 923.
7. Maskell P. Phenazepam: The drug that came in from the cold. *Journal of Forensic and Legal Medicine*. (2012): pp.122-125.
8. Oyemade A. New Uncontrolled Benzodiazepine, Phenazepam, Emerging Drug of Abuse. *Innov. Clin. Neurosci*. 2012, 9.
9. Schindelin J. et al. Fiji: an open-source platform for biological-image analysis. *Nature Methods*. 2012. P. 676-682.
10. Seibenhener M., Wooten M. Use of the Open Field Maze to Measure Locomotor and Anxiety-like Behavior in Mice. *Journal of visualized experiments*. (2015): pp. 1-6.
11. Stanton A.G. *Primer of biostatistics*. New York, McGraw-Hill, 2001.
12. Sysoev Yu.I. et al. Application of a naive Bayesian classifier to identify the effects of various neurotropic drugs on the parameters of electrocorticograms in rats. In press. 2022. URL: <https://istina.msu.ru/publications/article/433079350/>
13. Walsh R., Cummins R. The open-field test: a critical review. *Psychological bulletin*. (1976): pp. 482-504.

Статья поступила в редакцию 17.10.2022; одобрена после рецензирования 08.11.2022; принята к публикации 29.11.2022.

The article was submitted 17.10.2022; approved after reviewing 08.11.2022; accepted for publication 29.11.2022.

Информация об авторах

О. В. Агафонова – магистрант кафедры фармакологии и фармации;

Э. А. Коркотян – доктор философии, зав. лабораторией конфокальной микроскопии.

Information about the authors

O. V. Agafonova – master of the Department of Pharmacology and Pharmacy;

E. A. Korkotian – Doctor of Philosophy, Head of Confocal Microscopy Division.

Вклад авторов:

Агафонова О. В. – развитие методологии; создание базы данных; статистическая обработка данных; написание исходного текста; создание иллюстраций.

Коркотян Э. А. – научное руководство; концепция исследования; создание методологии; обработка данных; оформление иллюстраций; написание окончательного текста.

Contribution of the authors:

Agafonova O. V. – development of methodology; database creation; statistical data processing; writing the initial draft; creating illustrations.

Korkotian E. – scientific management; research concept; creation of methodology; data analysis; illustration design; writing the final text.

НЕЙРОБИОЛОГИЯ

Научная статья

УДК 57.024

doi: 10.17072/1994-9952-2022-4-340-346

Влияние галоперидола на формирование поведенческих паттернов у взрослых крыс

Мария Константиновна Гузенко¹, Эдуард Арменакович Коркотян^{2,3✉}

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

^{3✉} Институт им. Вейцмана, Реховот, Израиль, Eduard.korkotian@weizmann.ac.il, <https://orcid.org/0000-0001-5515-3387>

Аннотация. Представлено применение нового подхода к анализу поведения лабораторных крыс, основанного на цветовом кодировании видеоряда. Были выявлены особенности поведения у крыс, инъецированных галоперидолом. У экспериментальной группы двигательная активность на периферии оказалась достоверно ниже контрольной. Более того, прослеживалась тенденция к существенному снижению двигательной активности во второй половине тестового периода. У контрольной и экспериментальной групп наблюдалась выраженная разница в таких паттернах, как продвижение вперед, повороты вправо, влево и развороты назад. Среди статических критериев, достоверная разница в пользу контроля наблюдалась в пропорции следующих типов поведения: обнюхивание воздуха, стенок, пола, обследование лунок арены, стойки на задних лапах с опорой и без. Применение разработанного нами метода совмещения в одном кадре трех временных точек: настоящего, ближайшего и более отдаленного будущего, впервые позволило установить ряд важных закономерностей. Так, у группы, получившей галоперидол, гораздо сильнее, чем в контроле, оказалась выражена предсказательность будущего двигательного паттерна на основе текущего положения головы и/или туловища животного. Кроме того, для животных, инъецированных галоперидолом, была свойственна выраженная стереотипность моторной активности с доминированием однонаправленного движения. Метод совмещения кадров способен обеспечить объективность и высокую надежность при наиболее сложном виде поведенческого анализа, выявлении динамических паттернов. В дальнейшем эти сведения потребуются для получения оптимального массива и приемлемого разнообразия данных для применения к ним методов машинного обучения и автоматизации процесса распознавания паттернов.

Ключевые слова: галоперидол, тест «открытое поле», паттерны поведения, временное цветовое кодирование, двигательная активность, экстрапирамидные расстройства

Для цитирования: Гузенко М. К., Коркотян Э. А. Влияние галоперидола на формирование поведенческих паттернов у взрослых крыс // Вестник Пермского университета. Сер. Биология. 2022. Вып. 4. С. 340–346. [На англ.]. <http://dx.doi.org/10.17072/1994-9952-2022-4-340-346>.

Благодарности: выражаем благодарность Санкт-Петербургскому государственному химико-фармацевтическому университету и лично доктору медицинских наук, профессору, заведующему кафедрой фармакологии и клинической фармакологии СПбФУ Оковитому Сергею Владимировичу за предоставленные экспериментальные материалы.

NEUROBIOLOGY

Original article

The effect of haloperidol on the formation of behavioral patterns in adult rats

Maria K. Guzenko¹, Eduard Korkotian^{2,3✉}

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

^{3✉} The Weizmann Institute of Science, Rehovot, Israel, eduard.korkotian@weizmann.ac.il, <https://orcid.org/0000-0001-5515-3387>

Abstract. The application of a new approach to the analysis of the behavior of laboratory rats based on the color coding of the video frame sequence is presented. Behavioral features were identified in rats injected with haloperidol. In the experimental group, motor activity on the periphery of arena was significantly lower than in the control group. Moreover, there was a tendency to a significant decrease in physical activity in the second half of the test period. In the control and experimental groups, there was a pronounced difference in such patterns as moving forward, turning right, left and turning back. Among the static criteria, a significant difference in favor of the control was observed in the proportion of the following types of behavior: sniffing the air, walls or floor, examination of the arena holes, rearings

with and without support. The application of the self-developed method, combining three time points in one frame: the present, the nearest and the more distant future, allowed us to establish a number of important rules. Thus, in the group that received haloperidol, the prediction of the future motor pattern based on the current position of the head and/or body of the animal turned out to be much stronger than in the control group. In addition, for animals injected with haloperidol, a pronounced stereotype of motor activity was characteristic. The combined frames were able to provide objectivity and high reliability in the most complex behavioral analysis, the dynamic patterns. In the future, this information will be required to obtain an optimal array and an acceptable variety of data for applying machine learning methods and automating the process of pattern recognition.

Keywords: haloperidol, open field test, behavioral patterns, temporal color coding, motor activity, extrapyramidal disorders

For citation: Guzenko M. K., Korkotian E. The effect of haloperidol on the formation of behavioral patterns in adult rats. *Bulletin of the Perm University. Biology*. Iss. 4 (2022): pp. 340-346. <http://dx.doi.org/10.17072/1994-9952-2022-4-340-346>.

Acknowledgments: we express our gratitude to the St. Petersburg State Chemical-Pharmaceutical University (SPCPU) and personally to the Doctor of Medical Sciences, Professor, Head of the Department of Pharmacology and Clinical Pharmacology of the SPCPU Okovitoi Sergey Vladimirovich for the provided experimental materials.

Introduction

Traditionally, experiments conducted on laboratory animals for various scientific purposes retain a high level of importance and relevance. First, the data obtained in such studies are needed in the pharmaceutical industry [Sysoev et al., 2022], since the life and health of human patients depend on the results, evaluating the effectiveness and safety of drugs.

Schizophrenia is a serious and still insufficiently understood mental disorder that affects about 1% of the general population [Harris et al., 2013]. Despite the fact that the true causes and mechanism of development of this disorder have not been well established, there are quite effective medical approaches of the treatment that can suppress many of the schizophrenic symptoms. However, a complete cure of such patients is not yet possible, although in some cases a long-term remission can be achieved. The most common medicine that has been successfully used for a long time to treat the symptoms of the schizophrenia spectrum is the antipsychotic drug haloperidol. Nevertheless, a number of features and side effects [Irving et al., 2006] characterizes the action of the drug. In experimental practice, when evaluating the pharmacological effect, it is customary to rely on the degree of suppression of disorders at the behavioral level [Drozdov et al., 2011].

Behavior is an objective indicator of the functioning of the nervous system and the effects of pharmacological drugs on the body. Understanding the activity of the brain as a whole is based not only on the study of molecular, genetic, physiological and other aspects, but also on behavioral features that clearly reflect the key function of the brain – control of movements and motor activity in general.

One of the main difficulties in interpreting the results of behavioral tests is the subjectivity of the assessment of certain isolated criteria by different researchers [Tecott, Nestler, 2004]. Often it results in an oversimplification and one-pointedness of the range of selected analysis methods. In our study, we made an attempt to get as close as possible to the automated method of recording and processing animal behavior patterns, using the video sequence color coding method [Molodij, 2020]. Thus, the purpose of our study is to reveal the effects of haloperidol on the formation of behavioral patterns in laboratory rats in the open field test using novel self-developed color-coding method.

Materials & Methods

Animals. The study was carried out in accordance with the principles of the Basel Declaration and the Order of the Ministry of Health of the Russian Federation dated April 1, 2016 No. 199n “On Approval of the Rules for Good Laboratory Practice”, as well as the recommendations of the Russian Ministry of Health. The rats were kept under standard vivarium conditions on a 12-hour day/night cycle and with free access to water and food. The experiments were carried out on 20 outbred male rats weighing 250-300 g.

Animal sampling and description of experiments. The animals were divided into 2 groups of 10 rats in each. Experimental animals were injected with a solution of haloperidol intraperitoneally at a concentration of 0.3 mg/kg, with an injection volume of 0.5 ml. As a control, physiological saline was administered, also in a volume of 0.5 ml. The drug exposure time was 20 minutes [Sysoev et al., 2022]. Next, the rats were placed in the “open field” setup, which was a round black experimental arena, 97 cm in diameter, divided into 19 sectors of equal area, and equipped with holes in the floor. Video recording was carried out using a Canon 5D camera, at the rate of 30 frames per second, for 3 minutes, at 320 lux illumination. The camera was controlled remotely using the EOS Utility software. The images of arena were displayed on the experimenter's monitor.

Visualization and data analysis. The following behavioral patterns were recorded: moving forward, turning the head/body to the right, to the left, turning back, standing on the hind legs with and without support against the wall, examining holes, sniffing the space, grooming, and freezing.

Most of the video recordings were viewed in their original form. At that time, the main patterns were identified, described and counted. Further, using the Python programming language in the Google Colab environment, the records were processed using the OpenCV library. Color-coding of video recordings made it possible to display the present ($t=0$), the near future ($t=0.33$ s) and the more distant future ($t=1.66$ s) in different colors and combine all three in one frame. Thus, each frame was the result of the augmentation procedure.

Statistical analysis. Statistical processing of the results was carried out using the Student's t-test or the Mann-Whitney U-test using the Past and Excel computer programs. The normality of data distribution in the samples was determined using the Shapiro-Wilk test. For the actual presentation of the obtained data, such indicators of descriptive statistics as the arithmetic mean $\pm$ standard error of the mean (SEM) were used. Differences between groups were recognized as statistically significant if the probability of the calculated difference between the samples was $p < 0.05$. If the significance limit was exceeded, the differences were considered non-significant (N.S.). In addition, when studying the dependence of the expression of motor activity in experimental rats on the time factor, one-way analysis of variance (ANOVA) was used, followed by a pairwise post hoc comparison based on the Tukey's test. Differences were defined as significant at $p < 0.05$.

Results and Discussion

The open field test makes it possible to analyze motor activity, exploratory behavior, and anxiety in rats and mice [Carola et al., 2002]. The analysis of motor patterns of behavior is one of the main reasons for conducting this test. Therefore, from the total volume of the revealed patterns, we first studied the motor ones. Among the variety of dynamic patterns, to assess the overall motor activity in the center and on the periphery of the arena, we took into account the following simple ones: forward movement, turns to the right, left and 180°, as well as the direction of the head forward, right or left. Injection of the antipsychotic drug haloperidol resulted in significant differences in the motor activity of the animals compared to the control, and mainly at the periphery of the arena. In the group that received haloperidol, motor activity in the periphery was significantly lower and amounted to 19.3 ± 1.18 cases of any dynamic patterns compared to 42.2 ± 4.24 in the control; $p < 0.001$ (Fig. 1). It is interesting to note that there were no significant differences in motor activity in the center of the field between the groups, since the representatives of both groups spent a relatively small part of the time in the central sectors of the arena compared to the time spent near the walls of the field.

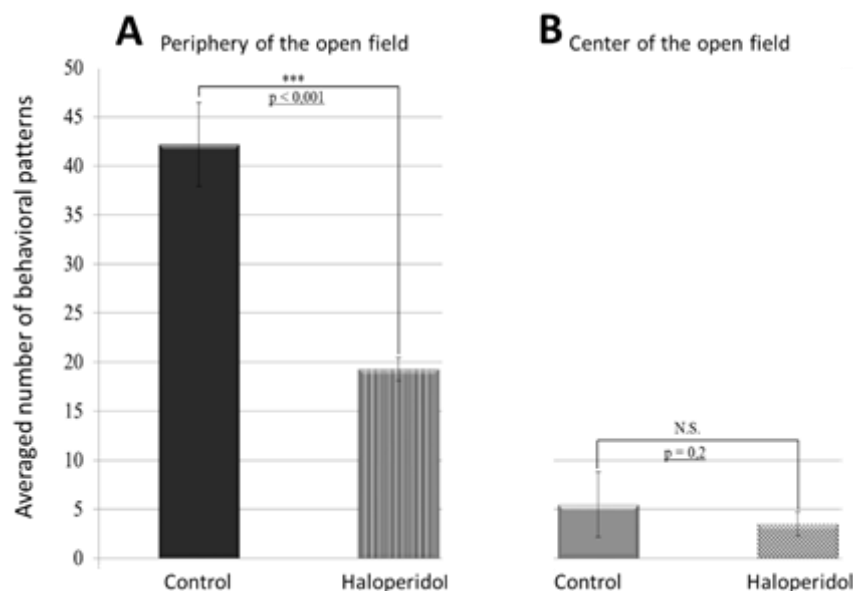


Fig. 1. The average number of overall dynamic behavioral patterns on the periphery (A) and in the center (B) of the «open field» arena of the «Control» (left columns) and "Haloperidol" (right columns)

In general, many researchers determine the restless behavior or anxiety of animals by the proportion of time spent in the open space of the arena compared to hiding in the shelter [Wahlsten, 2011]. However, as a rule, the very fact of a shorter stay in the center is explained by natural causes, since rodents tend to avoid large, open, and brightly lit spaces [Prut and Belzung, 2003].

We calculated the average sum of patterns for consecutive 30-second segments of a total 3-minute-long recording. Thus, the total registration time was reduced to six discrete time points. During the first minute of registration, the activity in both groups was the same. Later, in animals injected with haloperidol, a gradual decrease in activity began, and by the last minute of the recording, their activity fell to minimal values.

This tendency to decrease in activity may indicate insufficiency in the action of the dopaminergic system of the brain, antagonized by haloperidol. It is well known that dopamine plays a key role in the modulation of motor functions. The lack of its synthesis, overproduction, as well as blocking of dopamine receptors, leads to the development of pathological forms of some forms of behavior, manifested in violations of locomotion. Thus, dopamine deficiency leads to hypokinesia, as in Parkinson's disease [Zvezdochkina et al., 2004].

Based on the dispersion analysis of recorded time points, it was found that the dynamics of changes in the activity of two groups differ significantly at three time points: 4, 5, and 6, which corresponded to the last 1.5 minutes of recording. It follows that animals treated with haloperidol cease to reveal curiosity and normal activity much earlier than control animals. The calculated probabilities of differences for the mentioned time points were: $p < 0.0006$, $p < 0.0002$, and $p < 0.0001$ for the points 4, 5 and 6, respectively.

It has been previously found that treatment with haloperidol, as well as with similar antipsychotics, pronounces extrapyramidal disorders [Strange, 2008]. Side effects of a dynamic nature that affect motor activity are associated with symptoms such as tremor, bradykinesia, muscle rigidity, etc. Indeed, while observing the video files, we have identified a number of cases that confirm mentioned phenotypes. For example, most treated rats often stood still or freeze for various periods, while convulsively shaking their heads or, as it were, "nodding". In general, their movements were slowed down, with repeated cases of uneven gait and atypical paw placement or "sliding" on their side to the left or right against a background of general unsteadiness.

Figure 2 shows a pairwise comparison of the main motor patterns in two groups of rats. Analysis using the Student's t-test showed that the p-values of the differences in the number of head turns to the right and left were statistically insignificant (in all cases $p > 0.05$).

The average number of movements in the control group was as follows: forward 12.2 ± 2.4 , 180° turns 3.3 ± 0.4 , right and left 11.8 ± 1.9 and 11.6 ± 2.2 , respectively. For the group treated with haloperidol, these parameters were: forward 3.6 ± 1.0 , backward 1.8 ± 0.5 , right and left 3.2 ± 0.6 and 3.6 ± 0.6 , respectively. Statistical analysis demonstrated that the numbers of shifts forward and turns to the sides and back in the treated group were significantly smaller compared to the control: $p < 0.004$, $p < 0.001$, $p < 0.002$ and $p < 0.028$, respectively.

In addition to the mentioned motor patterns, the following indicators were also calculated: sniffing the walls, floor, air, grooming, rearing with and without support on the wall, etc. Applying the Mann-Whitney test, we found that the differences between the control group and the haloperidol-treated group were significant for most indicators: air sniffing 4.7 ± 0.65 vs. 12.1 ± 2.9 ($p < 0.05$), wall sniffing 2.9 ± 0.8 vs. $p < 0.001$, floor sniffing 0.4 ± 0.2 vs. 2.2 ± 0.5 ($p < 0.02$), rearing with support 1.2 ± 0.5 vs. 4.4 ± 1.0 ($p < 0.4$) and without support 0.2 ± 0.1 vs. 1.6 ± 0.6 ($p < 0.02$). The cases of grooming among groups did not differ statistically ($p > 0.05$). The "freezing" pattern was recorded only in the group injected with haloperidol solution.

Such indicators of behavioral activity, which are mentioned above, as a rule, indicate the degree of orienting-exploratory activity, anxiety, and the emotional component as such. Thus, a study conducted by Zvezdochkina et al. [2004] revealed a pronounced decrease in orienting-exploratory behavior in laboratory rats after injection of haloperidol in the open field test, as well as a decrease in the number of grooming acts, which has considered indicating an increase in anxiety and the development of inhibitory processes in the CNS. However, such an indicator as grooming cannot be defined as an unambiguous factor of anxiety, since it can also mean a comfortable and calm state in which the animal is. Based on this, the variability of this parameter should not be considered as a marker of the effect of haloperidol, or any other pharmaceutical preparation of a similar family. It is also undeniable how important the role of the emotional component in motor functions is, since it has been found that it is the mesocorticolimbic pathway that modulates the responses that are associated with fear and anxiety [De Souza Caetano et al., 2013].

A study by Drozdov et al. [2011] also confirms a decrease in locomotor activity in rats after haloperidol administration. It appears that our results are not random, but reflect an objective trend. The dose factor of the administered drug, as we assume, is also of great importance. Studies have not found a minimum dose that would cause the effect of reducing motor functions. Nevertheless, the inhibition of motor activity in rats in the study by Amtage and Schmidt [2003] was registered already following the introduction of 0.1 mg/kg of haloperidol. This does not exclude the onset of catalepsy. As a rule, it is initiated at doses higher than previously described, however, at a dose of 0.1 mg/kg, the development of catalepsy is not excluded.

Using color-coding corresponding to three time points, we tried to predict the future position of rats based on the position of the head, tail, or torso. To do this, we have chosen four patterns that will happen in future: shift forward, 180° turn, right and left turns. The collected quantitative data were divided among these four groups. It has been suggested that the turn of the tail in one direction or another serves as a sign by which one can determine the likelihood of certain patterns in the near future. It also drew attention to the fact that animals often turn their tail and/or head in the direction of future movement. For analysis, three parts of body were selected in the

present: the position of the head, tail and torso. Each of the factors was related to the future in the following way: can the position of each part of the body serve as a predictive guide for future movement to the right, left, forward or backward?

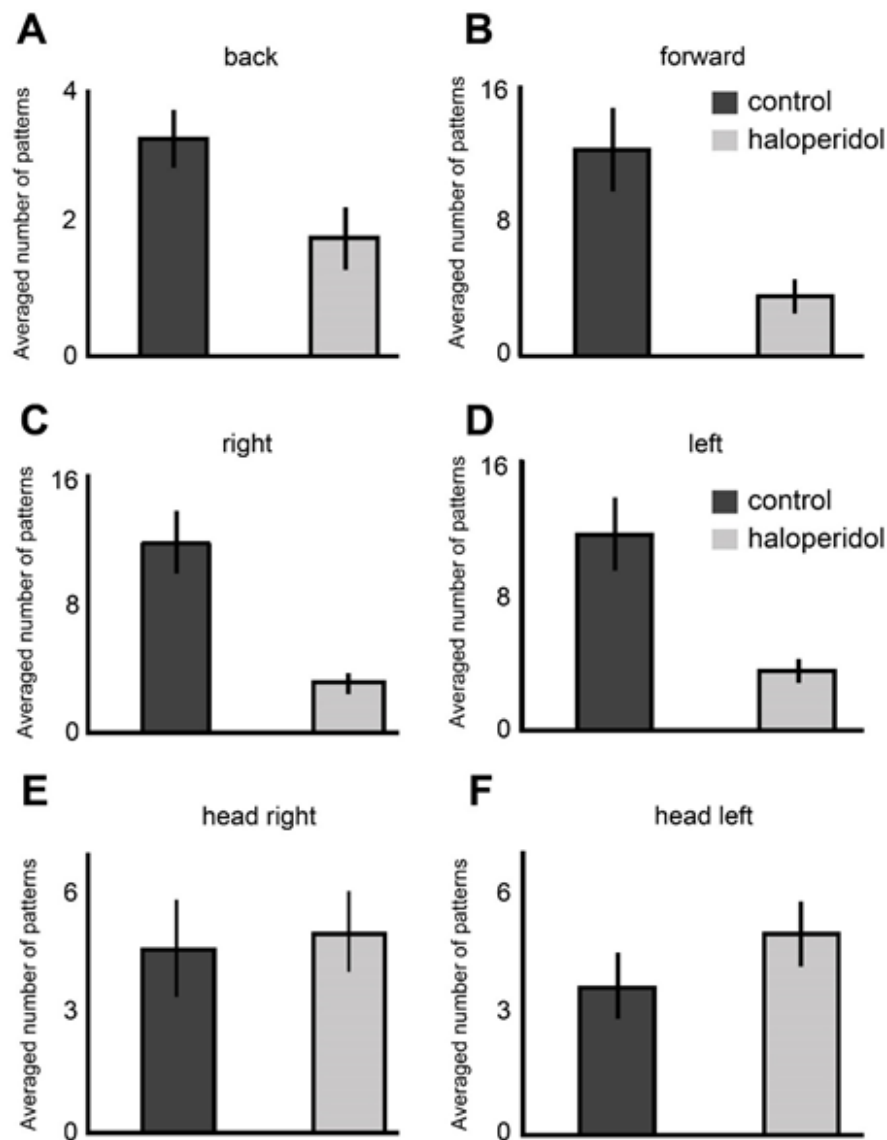


Fig. 2. Comparison of the average number of dynamical patterns between control (dark gray) and haloperidol (light gray) groups.

A, 180°, back; B, forward movement; C, turns right; D, turn left; E, head turned right; E, head turned left

The position of the tail as a predictive criterion was not justified. Using the t-test, we found that only the head and torso were predictive for the four selected patterns. Indeed, we recorded a rather high probability that haloperidol-injected rats increased the predictive power of head and/or trunk position compared to control group ($p < 0.008$). In addition, it was noted that in the haloperidol group there were fewer failures in predictions.

The color coding method used here has shown its effectiveness in data analysis and processing. The results obtained are consistent with data from various sources, in which both traditional imaging methods and modern ones were used. This concerned the factor of the side effect of haloperidol on the decrease in motor activity, orienting-exploratory behavior, and features of the trajectory of motor activity. Thus, the color coding method opens up new perspectives in working with biological images using a relatively simple technique. For the efficient operation of neural networks, the creation of a larger database is required. We hope that in the near future, the combination of traditional methods for studying the brain and the effect of drugs on it, with modern methods of machine learning and computer vision will make it possible to identify motor disorders and other neurological disorders in patients at the early stages of pathology development. It may also help in the search for new drugs and methods for the treatment and prevention of brain diseases in humans.

Список источников

1. Дроздов А.Л. и др. Влияние психотропных лекарственных средств на спонтанную поведенческую активность белых крыс // Вісник Дніпропетровського університету. Біологія. Медицина. 2011. Т. 1, вип. 2. С. 47–53.
2. Звездочкина Н.В., Муранова Л.Н., Андрианов В.В. Локомоторные реакции и возбудимость нейронов в условиях блокады дофамина галоперидолом у беспозвоночных и позвоночных животных // Российский физиологический журнал им. И.М. Сеченова. 2004. Т. 90, № 11. С. 1381–1392.
3. Сысоев Ю.И. и др. Метод регистрации биоэлектрической активности коры головного мозга у крыс в условиях хронического эксперимента // Российский физиологический журнал им. И.М. Сеченова. 2022. Т. 108, № 2. С. 279–290.
4. Amtage J., Schmidt W.J. Context-dependent catalepsy intensification is due to classical conditioning and sensitization // Behavioural pharmacology. 2003. Vol. 14, № 7. P. 563–567. DOI: 10.1097/00008877-200311000-00009.
5. Carola V. et al. Evaluation of the elevated plus-maze and open-field tests for the assessment of anxiety-related behaviour in inbred mice // Behavioural brain research. 2002. Vol. 134, № 1–2. P. 49–57. DOI: 10.1016/s0166-4328(01)00452-1.
6. de Souza Caetano K.A., de Oliveira A.R., Brandao M.L. Dopamine D2 receptors modulate the expression of contextual conditioned fear: role of the ventral tegmental area and the basolateral amygdala // Behavioural pharmacology. 2013. Vol. 24, № 4. P. 264–274. DOI: 10.1097/FBP.0b013e32836356c4.
7. Harris L.W. et al. Schizophrenia: metabolic aspects of aetiology, diagnosis and future treatment strategies // Psychoneuroendocrinology. 2013. Vol. 38, № 6. P. 752–766. DOI: 10.1016/j.psyneuen.2012.09.009.
8. Irving C.B., Adams C.E., Lawrie S. Haloperidol versus placebo for schizophrenia // Cochrane Database of Systematic Reviews. 2006. № 4. DOI: 10.1002/14651858.CD003082.
9. Molodij G. et al. Time-space Fourier ко' filter for motion artifacts compensation during transcranial fluorescence brain imaging // Physics in Medicine & Biology. 2020. Vol. 65, № 7. DOI: 10.1088/1361-6560/ab7631.
10. Prut L., Belzung C. The open field as a paradigm to measure the effects of drugs on anxiety-like behaviours: a review // European journal of pharmacology. 2003. Vol. 463, № 1–3. P. 3–33. DOI: 10.1016/S0014-2999(03)01272-X.
11. Strange P.G. Antipsychotic drug action: antagonism, inverse agonism or partial agonism // Trends in pharmacological sciences. 2008. Vol. 29, № 6. P. 314–321. DOI: 10.1016/j.tips.2008.03.009.
12. Tecott L.H., Nestler E.J. Neurobehavioral assessment in the information age // Nature neuroscience. 2004. Vol. 7, № 5. P. 462–466. DOI: 10.1038/nn1225.
13. Wahlsten D. Mouse behavioral testing. How to use mice in behavioral neuroscience. Elsevier: Academic Press, 2011. 304 p.

References

1. Drozdov A.L., Demchenko E.M., Ejyad A., Nerush O.P. [Influence of psychotropic drugs on spontaneous behavioral activity of albino rats]. *Visnyk of Dnipropetrovsk University. Biology. Medicine*. V. 1, No 2 (2011): pp. 47–53. (In Russ.).
2. Zvezdochkina N.V., Muranova L.N., Andrianov V.V., Arkhipova S.S., Gainutdinov Kh.L., Golubev A.I., Pleshchinskii I.N. [Locomotor reactions and excitability of neurons during the blockade of dopamine by haloperidol in vertebrate and invertebrate animals]. *Rossiiskij fiziologičeskij žurnal imeni I.M. Sečenova*. Vol. 90, No 11 (2004): pp. 1381–1392. (In Russ.). DOI: 90(11):1381–92.
3. Sysoev Yu.I., Prikhodko V.A., Idiyatullin R.D., Chernyakov, R.T., Karev V.E., Okovitiy S.V. [A Method for Chronic Registration of Brain Cortical Electrical Activity in Rats]. *Rossiiskij fiziologičeskij žurnal imeni I.M. Sečenova*. Vol. 108, No 2 (2022): pp. 279–290. (In Russ.).
4. Amtage J., Schmidt W.J. Context-dependent catalepsy intensification is due to classical conditioning and sensitization. *Behavioural pharmacology*. Vol. 14, No 7 (2003): pp. 563–567. DOI: 10.1097/00008877-200311000-00009.
5. Carola V., D'Olimpio F., Brunamonti E., Mangia F., Renzi P. Evaluation of the elevated plus-maze and open-field tests for the assessment of anxiety-related behaviour in inbred mice. *Behavioural brain research*. Vol. 134, No 1–2 (2002): pp. 49–57. DOI: 10.1016/s0166-4328(01)00452-1.
6. de Souza Caetano K. A., de Oliveira A. R., Brandao M. L. Dopamine D2 receptors modulate the expression of contextual conditioned fear: role of the ventral tegmental area and the basolateral amygdala. *Behavioural pharmacology*. Vol. 24, No 4 (2013): pp. 264–274. DOI: 10.1097/FBP.0b013e32836356c4.
7. Harris L.W., Guest P.C., Wayland M.T., Umrana Y., Krishnamurthy D., Rahmoune H., Bahn S. Schizophrenia: metabolic aspects of aetiology, diagnosis and future treatment strategies. *Psychoneuroendocrinology*. Vol. 38, No 6 (2013): pp. 752–766. DOI: 10.1016/j.psyneuen.2012.09.009.

8. Irving C.B., Adams C.E., Lawrie S. Haloperidol versus placebo for schizophrenia. *Cochrane Database of Systematic Reviews*. No 4 (2006). DOI: 10.1002/14651858.CD003082.

9. Molodij G., Sdobnov A., Kuznetsov Y., Harmelin A., Meglinski I., Kalchenko V. Time-space Fourier ко' filter for motion artifacts compensation during transcranial fluorescence brain imaging. *Physics in Medicine & Biology*. Vol. 65, No 7 (2020). DOI: 10.1088/1361-6560/ab7631.

10. Prut L., Belzung C. The open field as a paradigm to measure the effects of drugs on anxiety-like behaviors: a review. *European journal of pharmacology*. Vol. 463, No 1-3 (2003): pp. 3-33. DOI: 10.1016/S0014-2999(03)01272-X.

11. Strange P.G. Antipsychotic drug action: antagonism, inverse agonism or partial agonism // Trends in pharmacological sciences. Vol. 29, No 6 (2008): pp. 314-321. DOI: 10.1016/j.tips.2008.03.009.

12. Tecott L.H., Nestler E.J. Neurobehavioral assessment in the information age. *Nature neuroscience*. Vol. 7, No 5 (2004): pp. 462-466. DOI: 10.1038/nn1225.

13. Wahlsten D. Mouse behavioral testing. How to use mice in behavioral neuroscience. Elsevier, Academic Press, 2011. 304 p.

Статья поступила в редакцию 18.10.2022; одобрена после рецензирования 09.11.2022; принята к публикации 29.11.2022.

The article was submitted 18.10.2022; approved after reviewing 09.11.2022; accepted for publication 29.11.2022.

Информация об авторах

М. К. Гузенко – магистрант кафедры фармакологии и фармации;

Э. А. Коркотян – доктор философии, зав. лабораторией конфокальной микроскопии.

Information about the authors

M. K. Guzenko – master of the Department of Pharmacology and Pharmacy;

E. A. Korkotian – Doctor of Philosophy, Head of Confocal Microscopy Division.

Вклад авторов:

Гузенко М. К. – развитие методологии; создание базы данных; статистическая обработка данных; написание исходного текста; создание иллюстраций.

Коркотян Э. А. – научное руководство; концепция исследования; создание методологии; оформление иллюстраций; написание окончательного текста.

Contribution of the authors:

Guzenko M. K. – development of methodology; database creation; statistical data processing; writing the initial draft; creating illustrations.

Korkotian E. – scientific management; research concept; creation of methodology; illustration design; writing the final text.

НЕЙРОБИОЛОГИЯ

Научная статья

УДК 615.03

doi: 10.17072/1994-9952-2022-4-347-351.

Применение метода фармакоэнцефалографии для оценки нейропротекторной активности лекарственных средств

Ю. И. Сысоев^{1,2,3,4}, В. А. Приходько^{1,2}, Д. Д. Шиц¹, М. М. Пучик¹,
С. В. Оковитый^{1,2}

¹ Санкт-Петербургский государственный химико-фармацевтический университет, Санкт-Петербург, Россия

² Институт мозга человека им. Н.П. Бехтерева РАН, Санкт-Петербург, Россия

³ Институт трансляционной биомедицины, Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург, Россия

⁴ Институт физиологии им. И.П. Павлова РАН, Санкт-Петербург, Россия

Автор, ответственный за переписку: Юрий Игоревич Сысоев, susoyev92@mail.ru

Аннотация. Поиск и изучение новых нейропротекторных средств является актуальной задачей биомедицинских исследований. Ввиду низкого трансляционного потенциала результатов экспериментальных и доклинических исследований, необходимы новые подходы для оценки эффективности новых соединений, оказывающих положительное влияние при сосудистых или травматических поражениях головного мозга. Метод фармакоэнцефалографии (фармако-ЭЭГ) – один из нейрофизиологических методов исследования, который позволяет оценивать функциональное состояние головного мозга по параметрам его биоэлектрической активности. Несмотря на необходимость хирургического вмешательства, фармако-ЭЭГ в экспериментальной нейробиологии обладает рядом преимуществ по сравнению с традиционно используемыми поведенческими тестами, а также биохимическими или молекулярно-генетическими методами. В данном обзоре рассматриваются примеры использования данного метода для оценки нейропротекторной активности лекарственных средств на моделях черепно-мозговой травмы и инсульта у грызунов. На основании результатов опубликованных исследований можно сделать вывод, что фармако-ЭЭГ является чувствительным методом для оценки эффектов препаратов на течение патологических процессов при поражении головного мозга у крыс и может рассматриваться как полезное дополнение к традиционным экспериментальным подходам.

Ключевые слова: фармакоэнцефалография, нейропротекция, крысы

Для цитирования: Применение метода фармакоэнцефалографии для оценки нейропротекторной активности лекарственных средств / Ю. И. Сысоев, В. А. Приходько, Д. Д. Шиц, М. М. Пучик, С. В. Оковитый // Вестник Пермского университета. Сер. Биология. 2022. Вып. 4. С. 347–351. [На англ.]. <http://dx.doi.org/10.17072/1994-9952-2022-4-347-351>.

NEUROBIOLOGY

Original article

Application of the method of pharmacoencephalography for the assessment of neuroprotective drug activity

Yu. I. Sysoev^{1,2,3,4}, V. A. Prikhodko^{1,2}, D. D. Shits¹, M. M. Puchik¹, S. V. Okovityi^{1,2}

¹ Saint Petersburg State Chemical Pharmaceutical University, Saint Petersburg, Russia

² N.P. Bechtereva Institute of the Human Brain of the RAS, Saint Petersburg, Russia

³ Institute of Translational Biomedicine, Saint Petersburg State University, Saint Petersburg, Russia

⁴ Pavlov Institute of Physiology of the RAS, Saint Petersburg, Russia

Corresponding author: Yuri I. Sysoev, susoyev92@mail.ru

Abstract. The search and study of new neuroprotective agents is an urgent task of biomedical research. Due to the low translational potential of the results of experimental and preclinical studies, new approaches are needed to evaluate the effectiveness of new compounds that have a positive effect on vascular or traumatic brain lesions. The method of pharmacoencephalography (pharmaco-EEG) is one of the neurophysiological research methods that allows you to assess the functional state of the brain in terms of its bioelectrical activity. Despite the need for surgical intervention, pharmaco-EEG in experimental neuroscience has several advantages over

traditionally used behavioral tests, as well as biochemical or molecular genetic methods. This review considers examples of the use of this method to assess the neuroprotective activity of drugs in models of traumatic brain injury and stroke in rodents. However, based on the results of published studies, it can be concluded that pharmac-EEG is a sensitive method for assessing the effects of drugs on the course of pathological processes in brain damage in rats and can be considered as a useful addition to traditional experimental approaches

Keywords: pharmacoencephalography, neuroprotection, rats

For citation: Sysoev Yu. I., Prikhodko V. A., Shits D. D., Puchik M. M., Okovityi S. V. Application of the method of pharmacoencephalography for the assessment of neuroprotective drug activity. *Bulletin of Perm University. Biology*. Iss. 4 (2022): pp. 347-351. <http://dx.doi.org/10.17072/1994-9952-2022-4-347-351>.

Introduction

Central nervous system disorders resulting from traumatic or vascular injuries have a high social significance. In view of this, the search and development of effective methods for the experimental evaluation of the effectiveness of new neuroprotective agents is an urgent task of biomedical research. The most common experimental models for assessing neuroprotective activity are models of ischemic stroke (temporary or permanent occlusion of the middle cerebral artery circulation, photothrombosis, etc. [Li, Zhang, 2021]) and traumatic brain injury (model of controlled cortical impact, fluid-percussion impact, etc.) [Marklund, Hillered, 2011]) in rats. Since traumatic and vascular injuries of the brain are accompanied by the appearance of a focus of necrosis (dead cells) and penumbra (cells with pronounced functional and metabolic disorders), the classical version of the positive effect of the studied drug in the experimental conditions on rodents is the preservation of the viability of penumbra cells while reducing the severity of neurological deficit, accompanied by motor, emotional-behavioral and cognitive impairments.

In view of this, to assess the effects of neuroprotective agents in small laboratory animals, as a rule, behavioral and functional tests are used [Schallert, 2006] to assess the degree of motor impairment (for example, the Cylinder and Beam walking test), emotional and behavioral changes (Open field, Elevated plus maze) or cognitive function (Morris water maze, T-maze, etc.). The results of these tests are usually verified by methods of assessing the volume and histomorphological pattern of the lesion [Berger et al., 2008], as well as by biochemical and molecular genetic methods [Iino et al., 2003]. The data obtained allow us to comprehensively assess the activity of the tested drugs and draw a conclusion about the appropriateness of the proposed pharmacotherapeutic approach. However, all of these methods have their limitations, which, in the future, may affect the objectivity of the conclusions drawn. For example, the results of behavioral and functional tests are often subjective and their results are most dependent on the "hands" of the experimenter. Compliance with testing conditions, such as time of day, lighting and room temperature, pre-handling, etc., is of great importance. Equally important is the sequence of tests, as well as the time intervals between them. The disadvantage of histomorphological, biochemical and molecular genetic methods may be the need to remove animals from the experiment in order to take the necessary material for research, which does not allow tracking the course of the pathology in dynamics within one particular animal.

Neurophysiological methods such as electroencephalography (EEG) or electrocorticography (ECoG) allow assessing the state of the brain of small laboratory animals in terms of bioelectric activity parameters (amplitude-spectral characteristics, coherence of lead pairs, etc.). Despite the need for surgical intervention (implantation of EEG or ECoG electrodes), they do not have a number of disadvantages of the above methods, allowing testing of one animal as often as necessary. In view of this, it is interesting to use EEG/ECoG methods to assess the neuroprotective activity of new drugs in models of vascular and traumatic injuries in small laboratory animals. This paper presents some examples of such studies, as well as our own experience in evaluating the neuroprotective activity of the alpha-2-adrenergic agonist mafedine in a controlled cortical impact model in rats.

Pharmac-EEG as a tool for evaluating the effects of drugs in models of ischemic stroke and traumatic brain injury in rats

The possibility of using neurophysiological methods in in vivo experiments to assess the neuroprotective activity of new drugs is an important issue for biomedical research. In rats with TBI in the study by G.A. Volokhova, the administration of deproteinized dialysate from the blood of calves in the post-traumatic period contributed to positive changes in the EEG pattern, which correlated with the normalization of vertical and horizontal motor activity in the Open Field test [Волохова, Стоянов, 2015]. In a study by other authors on a model of cerebral ischemia in rats (bilateral occlusion of the carotid arteries), was shown a positive effect of the preventive use of a combination of vinpocetine with melatonin on the parameters of EEG rhythms in surviving animals. At the same time, this combination of drugs increased the survival rate of rats after ischemia up to 80.0% (compared to 34.8% of the group of control animals) [Ганцгорн, Макляков, Хлопонин, 2015]. We have shown in a series of pilot studies that open severe TBI in rats is accompanied by persistent changes in the parameters of the

bioelectrical activity of the brain, which are detected on the 3rd and 7th days after injury [Сысоев, Крошкина, Оковитый, 2019a; Сысоев и др., 2019, 2020, 2020a]. Among the key features of the ECoG signal of injured animals, a decrease in the amplitudes and indices of θ -, α -, and β -rhythms, as well as an increase in the activity of the slow-wave δ -rhythm were noted [Сысоев, Крошкина, Оковитый, 2019a]. These changes were accompanied by a disruption in the operation of interhemispheric and intrahemispheric connections, as evidenced by a drop in the cross-correlation coefficient [Сысоев и др., 2020a]. It should be noted that these changes were recorded not only in the impact area, but also in remote areas of the cortex. Another important feature of the bioelectrical activity of injured animals was the change in the reflex responses of the cerebral cortex to photo- and somatosensory stimulation. Therefore, in injured rats, the amplitude of the P2 peak of VEP curves on the 3rd day after TBI in areas of the cortex remote from the impact site was higher than in healthy animals, and on the 7th day in the area of injury, it was lower [Сысоев и др., 2020]. Also, in rats with injury, the amplitude of early (N1, P2) and late responses (N2, P2, N3) of the cortex to somatosensory stimulation was reduced, as well as the latency of early responses increased and late responses decreased compared to the conditionally healthy group of animals [Сысоев и др., 2020b].

In the course of further studies [Sysoev, 2021], it was found that the administration of the sodium salt of the α -2 adrenoreceptor agonist mafedine 1 hour after TBI and in the next 6 days led to the normalization of interhemispheric connections of brain regions remote from the area of damage and intrahemispheric connections of the healthy hemisphere by the 7th day after injury. In addition, positive changes in the responses of the cortex to photo- and somatosensory stimulation were noted in such animals. The results obtained confirmed the previously identified cerebroprotective activity of the sodium salt of mafedine [Sysoev, 2019], and the suitability of recording and analyzing ECoG to assess the effect of pharmacological agents on the course of TBI in laboratory animals.

Conclusions

Thus, based on the results of the work of other authors, as well as the data of our own studies, we can conclude that the recording and analysis of EEG/ECoG in rats is a sensitive tool for assessing the functional state of the brain after traumatic and vascular injuries. This makes it possible to use these methods to identify the neuroprotective effects of drugs, complementing traditional behavioral, functional, or molecular genetic research methods.

Список источников

1. Волохова Г.А., Стоянов А.Н. Влияние солкосерила на вызванные черепно-мозговой травмой электрографические изменения и поведение крыс // Международный неврологический журнал. 2008. № 2. С. 51–57.
2. Ганцгорн Е.В., Макляков Ю.С., Хлопонин Д.П. Количественный фармако-ээг анализ активности ноотропов и их комбинаций с мелаксеном при глобальной ишемии головного мозга у крыс // Биомедицина. 2015. № 3. С. 87–94.
3. Сысоев Ю.И., Крошкина К.А., Оковитый С.В. Особенности соматосенсорных вызванных потенциалов у крыс после черепно-мозговой травмы // Российский физиологический журнал им. И.М. Сеченова. 2019a. Т. 105, № 6. С. 749–760. DOI: 10.1134/S0869813919060074.
4. Сысоев Ю.И. и др. Нейропротекторная активность агониста альфа-2 адренорецепторов мафедина на модели черепно-мозговой травмы у крыс // Биомедицина. 2019. Т. 15, № 1. С. 62–77. DOI: 10.33647/2074-5982-15-1-62-77.
5. Сысоев Ю.И. и др. Изменение амплитудных и спектральных параметров электрокортикограмм крыс, перенесших черепно-мозговую травму // Биомедицина. 2019b. Т. 15, № 4. С. 107–120. <https://doi.org/10.33647/2074-5982-15-4-107-120>.
6. Сысоев Ю.И. и др. Кросскорреляционный и когерентный анализ электрокортикограмм крыс, перенесших черепно-мозговую травму // Российский физиологический журнал им. И.М. Сеченова. 2020a. Т. 106, № 3. С. 315–328. DOI: 10.1007/s11055-020-01023-9.
7. Сысоев Ю.И. и др. Изменения зрительных вызванных потенциалов у крыс, перенесших черепно-мозговую травму // Биомедицина. 2020b. Т. 16, № 2. С. 68–77. DOI: 10.33647/2074-5982-16-2-68-77.
8. Berger C. et al. Neuroprotection by pravastatin in acute ischemic stroke in rats // Brain Research Reviews. 2008. Vol. 58, № 1. P. 48–56. DOI: 10.1016/j.brainresrev.2007.10.010
9. Iino M. et al. Real-time PCR quantitation of FE65 a beta-amyloid precursor protein-binding protein after traumatic brain injury in rats // International Journal of Legal Medicine. 2003. Vol. 117, № 3. P. 153–159. DOI: 10.1007/s00414-003-0370-y
10. Li Y., Zhang J. Animal models of stroke // Animal Models and Experimental Medicine. 2021. Vol. 4, № 3. P. 204–219. DOI: 10.1002/ame2.12179.

11. Marklund N., Hillered L. Animal modeling of traumatic brain injury in preclinical drug development: where do we go from here? // *Brazilian Journal of Pharmacology*. 2011. Vol. 164, № 4. P. 1207–1229. DOI: 10.1111/j.1476-5381.2010.01163.x.
12. Schallert T. Behavioral tests for preclinical intervention assessment // *NeuroRx*. 2006. Vol. 3, № 4. P. 497–504. DOI: 10.1016/j.nurx.2006.08.001
13. Sysoev Yu.I. et al. Effects of alpha-2 adrenergic agonist mafedine on brain electrical activity in rats after traumatic brain injury // *Brain Sciences*. 2021. Vol. 11, № 8. P. 981. DOI: 10.3390/brainsci11080981.

References

1. Volokhova G.A., Stoyanov A.N. [Solcoseryl influence on brain trauma induced electrographic changes and behaviour in rats]. *Meždunarodnyj nevrologičeskij žurnal*. No 2 (2008): pp. 51-57. (In Russ.)
2. Gantsgorn E.V., Maklyakov Yu.S., Chloponin D.P. [Quantitative pharmac-EEG analysis of the activity of nootropics and their combinations with melaxen in global cerebral ischemia in rats]. *Biomedicina*. No 3 (2015): pp. 87-94. (In Russ.)
3. Sysoev Yu.I., Kroshkina K.A., Okovityi S.V. [Characteristic of somatosensory evoked potentials in rats after traumatic brain injury]. *Rossijskij fiziologičeskij žurnal imeni I.M. Sečenova*. V. 105, No 6 (2019a): pp. 749-760. (In Russ.). DOI: 10.1134/S0869813919060074.
4. Sysoev Yu.I. et al. [Neuroprotective activity of the alpha-2 adrenoreceptor agonist mafedine in a model of traumatic brain injury in rats]. *Biomedicina*. V. 15, No 1 (2019): pp. 62-77. (In Russ.). DOI: 10.33647/2074-5982-15-1-62-77.
5. Sysoev Yu.I. et al. [Changes in amplitude and spectral parameters of electrocorticograms in rats with traumatic brain injury]. *Biomedicina*. V. 15, No 4 (2019b): pp. 107-120. (In Russ.). DOI: 10.33647/2074-5982-15-4-107-120.
6. Sysoev Yu.I. et al. [Cross-correlation and coherence analysis of electrocorticograms of rats with traumatic brain injury]. *Rossijskij fiziologičeskij žurnal imeni I.M. Sečenova*. V. 106, No 3 (2020a): pp. 315-328. (In Russ.). DOI: 10.1007/s11055-020-01023-9.
7. Sysoev Yu.I. et al. [Changes in visual evoked potentials in rats with traumatic brain injury]. *Biomedicina*. V. 16, No 2 (2020b): pp. 68-77. (In Russ.). DOI: 10.33647/2074-5982-16-2-68-77.
8. Berger C. et al. Neuroprotection by pravastatin in acute ischemic stroke in rats. *Brain Research Reviews*. V. 58, No 1 (2008): pp. 48-56. DOI: 10.1016/j.brainresrev.2007.10.010.
9. Iino M. et al. Real-time PCR quantitation of FE65 a beta-amyloid precursor protein-binding protein after traumatic brain injury in rats. *International Journal of Legal Medicine*. V. 117, No 3 (2003): pp. 153-159. DOI: 10.1007/s00414-003-0370-y.
10. Li Y., Zhang J. Animal models of stroke. *Animal Models and Experimental Medicine*. V. 4, No 3 2021. P. 204–219. DOI: 10.1002/ame2.12179
11. Marklund N., Hillered L. Animal modeling of traumatic brain injury in preclinical drug development: where do we go from here? *Brazilian Journal of Pharmacology*. V. 164, No 4 (2011): pp. 1207-1229. DOI: 10.1111/j.1476-5381.2010.01163.x.
12. Schallert T. Behavioral tests for preclinical intervention assessment. *NeuroRx*. V. 3, No. 4 (2006): pp. 497-504. DOI: 10.1016/j.nurx.2006.08.001.
13. Sysoev Yu.I. et al. Effects of alpha-2 adrenergic agonist mafedine on brain electrical activity in rats after traumatic brain injury. *Brain Sciences*. V. 11, No 8 (2021): pp. 981. DOI: 10.3390/brainsci11080981.

Статья поступила в редакцию 02.11.2022; одобрена после рецензирования 16.11.2022; принята к публикации 29.11.2022.

The article was submitted 02.11.2022; approved after reviewing 16.11.2022; accepted for publication 29.11.2022.

Информация об авторах

Юрий Игоревич Сысоев – канд. биол. наук, доцент кафедры фармакологии и клинической фармакологии; научный сотрудник лаборатории нейнотротезов; старший научный сотрудник лаборатории нейромодуляции двигательных и висцеральных функций; научный сотрудник лаборатории направленной внутримозговой доставки препаратов, susoyev92@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0003-4199-5318>;

Вероника Александровна Приходько – ассистент кафедры фармакологии и клинической фармакологии; младший научный сотрудник лаборатории направленной внутримозговой доставки препаратов, veronika.prihodko@pharminnotech.com, <https://orcid.org/0000-0002-4690-1811>;

Дарья Дмитриевна Шиц – студент, darya.shic@spcpcu.ru;

Мария Михайловна Пучик – студент, mariya.puchik@spcpcu.ru, <https://orcid.org/0000-0003-1281-4354>;

Сергей Владимирович Оковитый – д-р мед. наук, зав. кафедрой фармакологии и клинической фармакологии; зав. лабораторией направленной внутримозговой доставки препаратов, sergey.okovity@pharminnotech.com, <https://orcid.org/0000-0003-4294-5531>.

Information about the authors

Yuri I. Sysoev – Cand. Sc. (Biol.), Associate Professor at the Department of Pharmacology and Clinical Pharmacology; Research Officer at the Laboratory of Neuroprosthetics; Senior Research Officer at the Laboratory of Neuromodulation of Motor and Visceral Functions; Research Officer at the Laboratory of Targeted Intra-Brain Drug Delivery, susoyev92@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0003-4199-5318>;

Veronika A. Prihodko – Teaching Assistant at the Department of Pharmacology and Clinical Pharmacology; Junior Research Officer at the Laboratory of Targeted Intra-Brain Drug Delivery, veronika.prihodko@pharminnotech.com, <http://orcid.org/0000-0002-4690-1811>;

Daria D. Shits – student, darya.shic@spcpu.ru;

Maria M. Puchik – student, mariya.puchik@spcpu.ru, <https://orcid.org/0000-0003-1281-4354>;

Sergey V. Okovityi – Dr. Sc. (Med.), Professor, Head of the Department of Pharmacology and Clinical Pharmacology; Head of the Laboratory of Targeted Intra-Brain Drug Delivery, sergey.okovityi@pharminnotech.com, <https://orcid.org/0000-0003-4294-5531>.

Вклад авторов:

Сысоев Ю. И. – концепция исследования, развитие методологии, проведение экспериментов, написание окончательного текста статьи.

Приходько В. А. – проведение экспериментов, написание окончательного текста статьи.

Шиц Д. Д. – проведение экспериментов, написание драфта статьи.

Пучик М. М. – проведение экспериментов, написание драфта статьи.

Оковитый С. В. – научное руководство, написание окончательного текста статьи.

Contribution of the authors:

Sysoev Yu. I. – research concept; methodology development; investigation; revision of the text.

Prihodko V. A. – investigation; revision of the text.

Shits D. D. – investigation; writing the draft.

Puchik M. M. – investigation; writing the draft.

Okovityi S. V. – scientific management; revision of the text.

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов

The authors declare no conflicts of interests.

НЕЙРОБИОЛОГИЯ

Научная статья

УДК 615.03

doi: 10.17072/1994-9952-2022-4-352-356

Влияние прометазина на амплитудно-спектральные характеристики электрокортикограмм у крыс

Д. Д. Шиц¹, М. М. Пучик¹, В. А. Приходько^{1,2}, Ю. И. Сысоев^{1,2,3,4},
С. В. Оковитый^{1,2}

¹ Санкт-Петербургский государственный химико-фармацевтический университет, Санкт-Петербург, Россия

² Институт мозга человека им. Н.П. Бехтерева РАН, Санкт-Петербург, Россия

³ Институт трансляционной биомедицины, Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург, Россия

⁴ Институт физиологии им. И.П. Павлова РАН, Санкт-Петербург, Россия

Автор, ответственный за переписку: Юрий Игоревич Сысоев, susoyev92@mail.ru

Аннотация. Фармако-ЭЭГ является перспективным методом исследования лекарственных препаратов (ЛП), направленным на выявление их специфического влияния на электрофизиологическую активность головного мозга. Данный метод может быть использован как для скрининга новых молекул, так и для выявления еще неизученного влияния на ЦНС давно используемых в клинической практике препаратов. Особый интерес в контексте изучения последних представляет выявление дозозависимых эффектов, так как большинство ЛП, оказывающих влияние на ЦНС, могут назначаться пациентам в различных дозировках в зависимости от тяжести или природы заболевания, что связано либо с повышением эффективности их действия, либо с воздействием на дополнительные мишени. Так как большая часть психотропных или нейротропных ЛП первых поколений является неселективной и может связываться с большим количеством мишеней, исследование с помощью фармако-ЭЭГ может позволить выявить как основные, так и побочные дозозависимые эффекты. Прометазин является антигистаминным препаратом первого поколения, и помимо блокады H1-рецепторов, его действие также обусловлено блокадой М-холинорецепторов, с чем и связан широкий спектр действия данного препарата. В данном исследовании была проведена оценка влияния прометазина в разных дозах (0.5 мг/кг, 5 мг/кг и 20 мг/кг) на амплитудно-спектральные характеристики электрокортикограмм у крыс с последующим анализом главных компонент. В результате было установлено, что прометазин вызывает дозозависимое увеличение значений главной компоненты PC1, отражающей амплитудные характеристики электрокортикографической активности. При этом эффекты препарата на спектральные характеристики регистрируемых сигналов были разнонаправлены и не имели статистической значимости.

Ключевые слова: фармакоэлектроэнцефалография, электрокортикография, прометазин, антигистаминные средства

Для цитирования: Влияние прометазина на амплитудно-спектральные характеристики электрокортикограмм у крыс / Д. Д. Шиц, М. М. Пучик, В. А. Приходько, Ю. И. Сысоев, С. В. Оковитый // Вестник Пермского университета. Сер. Биология. 2022. Вып. 4. С. 352–356. [На англ.]. <http://dx.doi.org/10.17072/1994-9952-2022-4-352-356>.

NEUROBIOLOGY

Original article

Effects of promethazine on the amplitude and spectral characteristics of electrocorticograms in rats

D. D. Shits¹, M. M. Puchik¹, V. A. Prihodko^{1,2}, Yu. I. Sysoev^{1,2,3,4}, S. V. Okovityi^{1,2}

¹ Saint Petersburg State Chemical Pharmaceutical University, Saint Petersburg, Russia

² N.P. Bechtereve Institute of the Human Brain of the RAS, Saint Petersburg, Russia

³ Institute of Translational Biomedicine, Saint Petersburg State University, Saint Petersburg, Russia

⁴ Pavlov Institute of Physiology of the RAS, Saint Petersburg, Russia

Corresponding author: Yuri I. Sysoev, susoyev92@mail.ru

Abstract. Pharmacology-EEG is a promising method for the study of drugs aimed at identifying their specific effect on the electrophysiological activity of the brain. This method can be used both for screening of new molecules and for detecting the still unexplored effect on the central nervous system of drugs used in clinical practice

for a long time. The identification of dose-dependent effects is of particular interest in the context of studying the latter, since most of the drugs affecting the CNS can be prescribed to patients in different dosages depending on the severity or nature of the disease, which is associated either with an increase in their effectiveness or with an effect on additional targets. Since most of the psychotropic or neurotropic drugs of the first generations are non-selective and can bind to a large number of targets, a study using pharmaco-EEG can reveal both the main and side dose-dependent effects. Promethazine is a first-generation antihistamine, and in addition to the blockade of H1 receptors, its effect is also due to the blockade of M-cholinergic receptors, which is why a wide range of actions of this drug is associated. In this study, the effect of promethazine at different doses (0.5 mg/kg, 5 mg/kg and 20 mg/kg) on the amplitude-spectral characteristics of electrocorticograms in rats was evaluated, followed by analysis of the principal components. As a result, it was found that promethazine has a dose-dependent increase in the values of the main component PC1, which reflects the amplitude characteristics of electrocorticographic activity. At the same time, the effects of the drug on the spectral characteristics of the recorded signals were multidirectional and did not have statistical significance.

Keywords: pharmacoelectroencephalography, electrocorticography, promethazine, antihistamines

For citation: Shits D. D., Puchik M. M., Prikhodko V. A., Sysoev Yu. I., Okovityi S. V. Effects of promethazine on the amplitude and spectral characteristics of electrocorticograms in rats. *Bulletin of the Perm University. Biology*. Iss. 4 (2022): pp. 352-356. <http://dx.doi.org/10.17072/1994-9952-2022-4-352-356>.

Introduction

Pharmaco-electroencephalography (pharmaco-EEG) is an effective method of pharmacological research, which makes possible to classify psychotropic drugs of different groups and determine their effect on the central nervous system by analyzing the amplitude-spectral characteristics. This method is widely used in various fields of biomedicine to assess the effect of psychotropic drugs on the electrophysiological activity of the brain, both in clinical [Jobert, 2012, 2015] and preclinical (non-clinical) [Drinkenburg et al., 2015, Koncz et al., 2021, Dimpfel, 2008, 2013] studies.

First-generation antihistamines (FGAH) are often used in clinical practice due to their wide spectrum of action. The pharmacological effects of this group of drugs are due to the blockade of central and peripheral H1 receptors, as well as M-cholinergic receptors. Thus, promethazine, a derivative of phenothiazine, in addition to antiallergic, has a sedative, antiemetic, anxiolytic, and hypnotic effect [Борисова, 2005].

Given the variety of effects of this drug, it is of great interest to identify its dose-dependent effects. For example, in the vocalization test in rats, promethazine at low doses (1.25 mg/kg to 5 mg/kg) facilitated nociception, and at high doses (10-40 mg/kg) had an antinociceptive effect [Paalzow, Paalzow, 1985].

The pilot electrocorticogram records we obtained in rats using promethazine at high doses (20 mg/kg) were distinguished by a very interesting set of effects, so we decided to decrease the dosage of the administered drug to study its effect on electrocorticograms in different dose ranges.

The purpose of this work was to study the effect of promethazine in 3 dose ranges (0.5, 5 and 20 mg/kg) on the parameters of electrocorticographic activity in rats.

Materials and methods

Materials. The study was carried out in accordance with the principles of the Basel Declaration, the Order of the Ministry of Health of the Russian Federation No. 199n dated 01.04.16 "On the Approval of the Rules for Good Laboratory Practice" and the recommendations of the Bioethical Commission of the SPCPU of the Ministry of Health of Russia. The rats were kept under standard vivarium conditions on a normal diet with free access to water. All experimental and control animals were taken from the same batch and were quarantined for 14 days.

The experiments were performed on 10 outbred male rats weighing 250–300 g obtained from the Rappolovo Federal State Unitary Enterprise (Leningrad region).

Methods. The manufacturing process and procedure for implanting electrodes, as well as the features of postoperative care for animals, were described in detail in a previously published work [Sysoev, 2022]. Electrodes FP1 and FP2 were placed in the region of the primary motor cortex (AP = 0.0, ML = 2.5, DV = 1.0), C3 and C4 were placed in the primary somatosensory cortex above the hippocampus (AP = –4.0, ML = 2.5, DV = 1.0), and O1 and O2, secondary visual cortex (AP = –7.0, ML = 2.5, DV = 1.0). The reference electrode was placed in the nasal bone, and the ground electrode was placed under the skin in the neck area.

Recording of electrocorticographic activity was carried out no earlier than 7 days after surgery using an 8-channel Neuron-Spectrum-1 encephalograph (Neurosoft, Russia) with a bandwidth of 0.5–35 Hz and a quantization frequency of 500 Hz. The signal was recorded simultaneously with the video recording of behavior in a home cage under artificial lighting. The duration of the recording was 2 hours and included 30 minutes of background activity (before the administration of the drug or saline) and 1.5 hours after the injection. For further

analysis, two 60-second sections of the recording were selected: immediately before the introduction and 20 minutes after. During the selected fragments of electrocorticograms, the animals were in a calm waking state, in the absence of locomotor or exploratory activity, grooming or scratching [Hansen et al., 2019].

Promethazine (EGIS, Hungary) was administered intraperitoneally at doses of 0.5, 5, and 20 mg/kg. As used physiological solution in a volume of 0.5 ml. For each of the groups, 6 entries were made.

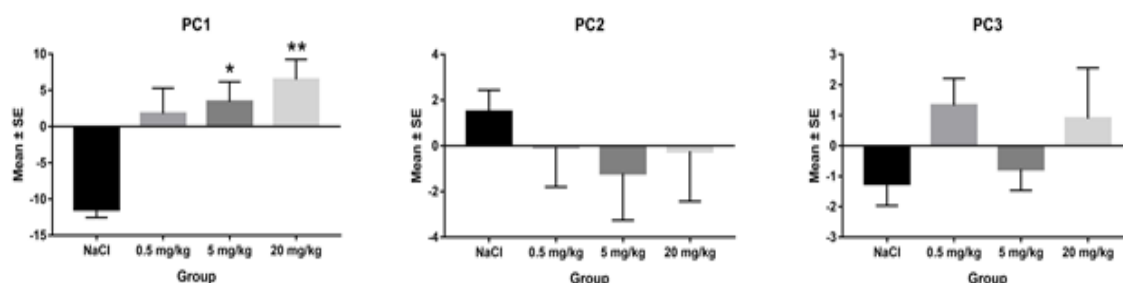
The obtained records were analyzed using the Neuron-Spectrum.NET program (Neurosoft, Russia). For all 6 leads (FP1, FP2, C3, C4, O1, and O2), an amplitude-spectrum analysis was performed with a total of 132 parameters calculated, including the average and maximum signal amplitude, standard deviation, and compression ratio according to Lempel-Ziv, average amplitude of wave rhythms, indices and average powers of rhythms. From the signal were isolated δ - (0.5–4.0 Hz), θ - (4.0–8.0 Hz), α - (8.0–14.0 Hz) and β -rhythms (low-frequency, LF – 14.0–20.0 Hz, and high-frequency, HF – 20.0–35.0 Hz). The data were expressed as ratios of the values of the parameters before administration of the drug to the values of the corresponding parameters after administration (from 0 to 1).

Statistical analysis. Processing and subsequent analysis of the received data was carried out using an add-in for MS Excel XLSTAT 2016. The dimensionality of the data was reduced using the principal component method. The numerical data shown in the figures are presented as average $\pm$ SE.

Results and discussion

During the analysis of the PCM data, it was revealed that 82.8% of the total variance describes the first three components (PC1, PC2 and PC3), which were used for further calculations. The values of the factor loads of the EEG indicators used showed that the PC1 component (64.3% of the variance) depends on the amplitude characteristics of the signal, regardless of the lead. The PC2 component (13.1%) was formed by the ratios of the values of the indices of δ -, θ -, α - and β -rhythms. Similarly, this component did not depend on the localization of the recorded signal. PC3, describing 5.4% of the variance, was formed by the average amplitude and the index of the θ -rhythm in the region of the leads C3 and C4 (somatosensory cortex above the hippocampus).

Comparison of the average values of the main components PC1, PC2 and PC3 showed that promethazine dose-dependently increases the value of PC1. The values of this component were higher in groups of rats administered promethazine at doses of 5 and 20 mg/kg compared with the control ($p < 0.05$ and $p < 0.01$, respectively). The effects of the drug on PC2 and PC3 components were multidirectional depending on the dose and were not statistically significant (Figure).



Values of the main components PC1, PC2 and PC3 for brain electrical activity in animals of the NaCl (control) and promethazine groups at doses of 0.5, 5 and 20 mg/kg

* – $p < 0.05$, ** – $p < 0.01$

[Значения главных компонент PC1, PC2 и PC3 электрокортикографической активности животных групп NaCl (контроль) и прометазина в дозах 0,5, 5 и 20 мг/кг]

Conclusions

Promethazine induces a dose-dependent increase in the values of the main component PC1, which reflects the amplitude characteristics of electrocorticographic activity in rats. As a result, the effects of the drug on the spectral characteristics of the recorded signals are multidirectional and statistically insignificant.

Список источников

1. Борисова Е.О. Антигистаминные препараты: вопросы безопасности // Лечебное дело. 2005. № 2. С. 37–43.

2. Dimpfel W. Pharmacological modulation of dopaminergic brain activity and its reflection in spectral frequencies of the rat electropharmacogram // *Neuropsychobiology*. 2008. Vol. 58, № 3–4. P. 178–186. DOI: 10.1159/000191124.
3. Dimpfel W. Pharmacological classification of herbal extracts by means of comparison to spectral EEG signatures induced by synthetic drugs in the freely moving rat. // *J. Ethnopharmacol.* 2013. Vol. 149, № 2. P. 583–589. DOI: 10.1016/j.jep.2013.07.029.
4. Drinkenburg W.H. et al. Pharmacology-EEG Studies in Animals: A History-Based Introduction to Contemporary Translational Applications // *Neuropsychobiology*. 2015. Vol. 72, № 3–4. P. 139–150. DOI: 10.1159/000443175.
5. Hansen I.H. et al. Pharmacology-electroencephalographic responses in the rat differ between active and inactive locomotor states // *European Journal of Neuroscience*. 2019. Vol. 50, № 2. P. 1948–1971. DOI: 10.1111/ejn.14373.
6. Jobert M., Arns M. Pharmacology-EEG, Pharmacology-Sleep and EEG-Based Personalized Medicine // *Neuropsychobiology*. 2015. Vol. 72. P. 137–138. DOI: 10.1159/000443192.
7. Jobert M. et al. Guidelines for the recording and evaluation of pharmacology-EEG data in man: the International Pharmacology-EEG Society (IPEG) // *Neuropsychobiology*. 2012. Vol. 66, № 4. P. 201–220. DOI: 10.1159/000343478
8. Koncz S. et al. EEG and Sleep Effects of Tramadol Suggest Potential Antidepressant Effects with Different Mechanisms of Action // *Pharmaceuticals (Basel)*. 2021. Vol. 14, № 5. P. 431. DOI: 10.3390/ph14050431.
9. Paalzow G.H.M., Paalzow L.K. Promethazine both facilitates and inhibits nociception in rats: Effect of the testing procedure // *Psychopharmacology*. 1985. Vol. 85. P. 31–36. DOI: <https://doi.org/10.1007/BF00427318>.
10. Sysoev Yu.I. et al. A method for chronic registration of brain cortical electrical activity in rats // *Journal of Evolutionary Biochemistry and Physiology*. 2022. Vol. 58, № 1. P. 292–301. DOI: 10.1134/S0022093022010252.

References

1. Borisova E. O. [Antihistamines: safe issues]. *Lečebnoe delo*. No 2 (2005): pp. 37–43. (In Russ.).
2. Dimpfel W. Pharmacological modulation of dopaminergic brain activity and its reflection in spectral frequencies of the rat electropharmacogram. *Neuropsychobiology*. V. 58, No 3–4 (2008): pp. 178–186. DOI: 10.1159/000191124.
3. Dimpfel W. Pharmacological classification of herbal extracts by means of comparison to spectral EEG signatures induced by synthetic drugs in the freely moving rat. *J. Ethnopharmacol.* V. 149, No 2 (2013): pp. 583–589. DOI: 10.1016/j.jep.2013.07.029.
4. Drinkenburg W.H. et al. Pharmacology-EEG Studies in Animals: A History-Based Introduction to Contemporary Translational Applications. *Neuropsychobiology*. V. 72, No 3–4 (2015): pp. 139–150. DOI: 10.1159/000443175.
5. Hansen I.H. et al. Pharmacology-electroencephalographic responses in the rat differ between active and inactive locomotor states. *European Journal of Neuroscience*. V. 50, No 2 (2019): pp. 1948–1971. DOI: 10.1111/ejn.14373.
6. Jobert M., Arns M. Pharmacology-EEG, Pharmacology-Sleep and EEG-Based Personalized Medicine. *Neuropsychobiology*. V. 72 (2015): pp. 137–138. DOI: 10.1159/000443192.
7. Jobert M. et al. Guidelines for the recording and evaluation of pharmacology-EEG data in man: the International Pharmacology-EEG Society (IPEG). *Neuropsychobiology*. V. 66, No 4 (2012): pp. 201–220. DOI: 10.1159/000343478.
8. Koncz S. et al. EEG and Sleep Effects of Tramadol Suggest Potential Antidepressant Effects with Different Mechanisms of Action. *Pharmaceuticals (Basel)*. V. 14, No 5 (2021): pp. 431. DOI: 10.3390/ph14050431.
9. Paalzow G.H.M., Paalzow L.K. Promethazine both facilitates and inhibits nociception in rats: Effect of the testing procedure. *Psychopharmacology*. V. 85 (1985): pp. 31–36. DOI: <https://doi.org/10.1007/BF00427318>.
10. Sysoev Yu.I. et al. A method for chronic registration of brain cortical electrical activity in rats. *Journal of Evolutionary Biochemistry and Physiology*. V. 58, No 1 (2022): pp. 292–301. DOI: 10.1134/S0022093022010252.

Статья поступила в редакцию 02.11.2022; одобрена после рецензирования 16.11.2022; принята к публикации 29.11.2022.

The article was submitted 02.11.2022; approved after reviewing 16.11.2022; accepted for publication 29.11.2022.

Информация об авторах

Дарья Дмитриевна Шиц – студент, darya.shic@spcpu.ru;

Мария Михайловна Пучик – студент, mariya.puchik@spcpu.ru, <https://orcid.org/0000-0003-1281-4354>;

Вероника Александровна Приходько – ассистент кафедры фармакологии и клинической фармакологии; младший научный сотрудник лаборатории направленной внутримозговой доставки препаратов, veronika.prihodko@pharminnotech.com, <https://orcid.org/0000-0002-4690-1811>;

Юрий Игоревич Сысоев – канд. биол. наук, доцент кафедры фармакологии и клинической фармакологии; научный сотрудник лаборатории нейропротезов; старший научный сотрудник лаборатории нейромодуляции двигательных и висцеральных функций; научный сотрудник лаборатории направленной внутримозговой доставки препаратов, susoyev92@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0003-4199-5318>;

Сергей Владимирович Оковитый – д-р мед. наук, зав. кафедрой фармакологии и клинической фармакологии; зав. лабораторией направленной внутримозговой доставки препаратов, sergey.okovity@pharminnotech.com, <https://orcid.org/0000-0003-4294-5531>.

Information about the authors

Daria D. Shits – student, darya.shic@spcpu.ru;

Maria M. Puchik – student, mariya.puchik@spcpu.ru, <https://orcid.org/0000-0003-1281-4354>;

Veronika A. Prihodko – Teaching Assistant at the Department of Pharmacology and Clinical Pharmacology; Junior Research Officer at the Laboratory of Targeted Intra-Brain Drug Delivery, veronika.prihodko@pharminnotech.com, <http://orcid.org/0000-0002-4690-1811>;

Yuri I. Sysoev – Cand. Sc. (Biol.), Associate Professor at the Department of Pharmacology and Clinical Pharmacology; Research Officer at the Laboratory of Neuroprosthetics; Senior Research Officer at the Laboratory of Neuromodulation of Motor and Visceral Functions; Research Officer at the Laboratory of Targeted Intra-Brain Drug Delivery, susoyev92@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0003-4199-5318>;

Sergey V. Okovityi – Dr. Sc. (Med.), Professor, Head of the Department of Pharmacology and Clinical Pharmacology; Head of the Laboratory of Targeted Intra-Brain Drug Delivery, sergey.okovity@pharminnotech.com, <https://orcid.org/0000-0003-4294-5531>.

Вклад авторов:

Шиц Д.Д. – проведение экспериментов, написание драфта статьи.

Пучик М.М. – проведение экспериментов, написание драфта статьи.

Приходько В.А. – проведение экспериментов, написание окончательного текста статьи.

Сысоев Ю.И. – концепция исследования, развитие методологии, проведение экспериментов, написание окончательного текста статьи.

Оковитый С.В. – научное руководство, написание окончательного текста статьи.

Contribution of the authors:

Shits D. D. – investigation; writing the draft.

Puchik M. M. – investigation; writing the draft.

Prihodko V. A. – investigation; revision of the text.

Sysoev Yu. I. – research concept; methodology development; investigation; revision of the text.

Okovityi S. V. – scientific management; revision of the text.

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

The authors declare no conflicts of interests.

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

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

1. Оформление рукописи

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

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

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

1.4. Рукопись статьи должна быть подписана авторами.

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

2. Представление и редакционная подготовка рукописи

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Редакционная коллегия

Материал и методы исследования

Материал

Текст. Текст. Текст. Текст. Текст. Текст. Текст. Текст.
Текст. Текст. Текст. Текст. Текст. Текст. Текст. Текст.

Методы исследования

Текст. Текст. Текст. Текст. Текст [Автор, Автор, Автор, 1999; Author, 2012].
Текст. Текст. Текст [Author, Author, 1992; Автор, 2000]. Текст. Текст.

Результаты и их обсуждение

Текст. Текст. Текст. Текст (рис. 1). Текст. Текст. Текст.
Текст. Текст. Текст (рис. 2, табл. 1). Текст. Текст. Текст. Текст.
Текст. Текст. Текст. Текст. Текст. Текст. Текст. Текст (формула 1)

a = th x + \int_a^b f(x)dx + ch x - 25 \sum_{i=1}^N k_i A_i . (1)

где текст, текст, текст.
Текст. Текст. Текст. Текст (табл. 2). Текст. Текст. Текст. Текст.
Текст. Текст. Текст. Текст (табл. 2). Текст. Текст. Текст. Текст.
Текст. Текст. Текст [Author, 2010]. Текст. Текст. Текст. Текст. Текст. Текст. Текст.

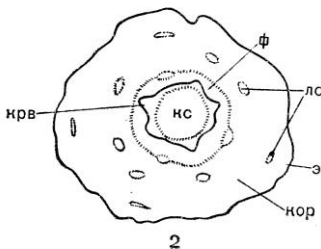


Рис. 1. Название рисунка:
кор – название, крв – название, кс – название, лс – название, ф – название, э – название

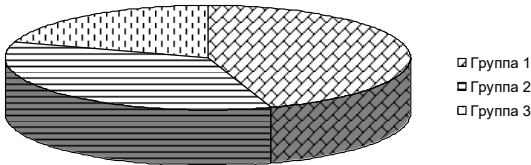


Рис. 2. Название рисунка:
1 – Группа 1 – название, 2 – Группа 2 – название, 3 – Группа 3 – название

Таблица 1

Пример оформления таблицы и заголовка к ней для объекта X

Область оценки	Дисперсия сигнала (D)	v (МГц)	Среднее
А	79	8.91*	5.6
Б	170	13.0	208.0
В	165	12.8	124.05

*Текст примечания.

Текст. Текст. Текст. Текст. Текст. Текст. Текст. Текст.

Выводы (Заключение)

Текст. Текст. Текст. Текст. Текст. Текст. Текст. Текст.

Список источников

1. Автор И.О. Заголовок // Источник. Год публикации. Том, номер. Страницы.
2. Автор И.О., Автор И.О. Заголовок // Источник. Год публикации. Том, номер. Страницы.
3. Заголовок / Автор И.О. и др. // Источник. Место публикации, год публикации. Страницы.
4. Author N., Author N. Title // Place of publication. Year Published. Volume Number, Issue Number. Page Numbers.
5. Author N. Title // Place of publication, Year Published. Page Numbers.
6. Title // Place of publication, Year Published. Page Numbers.

References

1. Last Name, First Name. *Title of Book*. Publisher City: Publisher Name, Year Published. Page Numbers.
2. Last Name, First Name. [Title] *Journal Name* Volume Number, Issue Number (Year Published): Page Numbers. (In Russ.).
3. Last Name, First Name. [Title] *Journal Name* Volume Number, Issue Number (Year Published): Page Numbers.
4. Last Name, First Name. *Title of Book*. Publisher City: Publisher Name, Year Published. Page Numbers. (In Russ.).

...

Статья поступила в редакцию __.__.202__; одобрена после рецензирования __.__.202__; принята к публикации __.__.202__.
The article was submitted __.__.202__; approved after reviewing __.__.202__; accepted for publication __.__.202__.

Информация об авторах

И. И. Иванов – доктор биологических наук, профессор, зав. кафедрой;
П. П. Петров – кандидат биологических наук, доцент;
С. С. Сидоров – инженер лаборатории

Information about the authors

I. I. Ivanov – doctor of biology, professor, head of the Department;
P. P. Petrov – candidate of biology, associate professor;
S. S. Sidorov – laboratory engineer.

Вклад авторов:

Иванов И. И. – научное руководство; концепция исследования; развитие методологии; написание исходного текста; итоговые выводы.
Петров П. П. – доработка текста; итоговые выводы.
Сидоров С. С. – статистическая обработка материала.

Contribution of the authors:

Ivanov I. I. – scientific management; research concept; methodology development; writing the draft; conclusions.
Petrov P.P. – followon revision of the text; conclusions.
Sidorov S. S. – statistical processing of the material.

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.
The authors declare no conflicts of interests.

Вестник Пермского университета
БИОЛОГИЯ
2022. Выпуск 4

Bulletin of Perm University
BIOLOGY
2022. Issue 4

Научное издание

Редактор *Л. Л. Савенкова*

Корректор *Л. Л. Соболева*

Компьютерная верстка *С. А. Овеснова*

Подписано в печать 29.11.2022. Выход в свет 22.12.2022. Формат 60×84¹/₈.
Усл. печ. л. 12,7. Тираж 500 экз. Заказ № 112/2022.

Издательский центр Пермского государственного национального исследовательского
университета
614990, г. Пермь, ул. Букирева, 15

Отпечатано с готового оригинал-макета в типографии издательства «Книжный формат»
614000, г. Пермь, ул. Пушкина, 80

Бесплатно.

Подписка на журнал осуществляется онлайн на сайте «Пресса России. Объединенный каталог»
<https://www.pressa-rf.ru/cat/1/edition/e41000/>. Подписной индекс 41000