

Научный журнал

Scientific journal

**ВЕСТНИК
ПЕРМСКОГО УНИВЕРСИТЕТА.
СЕРИЯ БИОЛОГИЯ**

Основан в 1994 г.
Выходит 4 раза в год

**BULLETIN OF
PERM UNIVERSITY.
BIOLOGY**

Founded in 1994
Published 4 times a year

2026

Том 17, выпуск 2

2026

Volum 17, issue 2

Учредитель и издатель:

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

Founder and Publisher:

Perm State University

Журнал «Вестник Пермского университета. Серия Биология» является рецензируемым научным изданием и предназначен для публикаций результатов оригинальных фундаментальных и прикладных исследований в виде научных статей, докладов, информационных сообщений, библиографических обзоров и рецензий. Журнал принимает к публикации как теоретические обзоры, так и статьи, содержащие результаты конкретных исследований по ботанике, микробиологии, зоологии, генетике, экологии, почвоведению, микологии, иммунологии, клинической лабораторной диагностике, а также рецензии на публикации и персоналии.

Journal "Bulletin of Perm University. Biology" is a peer-reviewed scientific publication and is intended for publishing the results of original fundamental and applied research in the form of scientific articles, reports, information messages, bibliographic reviews and reviews. The journal accepts for publication both theoretical reviews and articles containing the results of specific studies in botany, microbiology, zoology, genetics, ecology, soil science, mycology, immunology, clinical laboratory diagnostics.

Журнал включен в Перечень ведущих рецензируемых научных журналов и изданий, в которых должны быть опубликованы основные научные результаты диссертаций на соискание ученой степени доктора и кандидата наук (по научным специальностям 1.5.9. Ботаника, 1.5.11. Микробиология, 1.5.12. Зоология, 1.5.7. Генетика, 1.5.18. Микология, 3.2.7. Аллергология и иммунология (биологические и медицинские науки), 3.3.8. Клиническая лабораторная диагностика).

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

Распространяется бесплатно и по подписке. Подписка на журнал осуществляется онлайн на сайте «Урал-пресс» <https://www.ural-press.ru/catalog/97266/8940022/>. Подписной индекс 41000

© ПГНИУ, 2026

РЕДАКЦИОННЫЙ СОВЕТ

Артамонова Валентина Сергеевна, д.б.н., Институт почвоведения и агрохимии СО РАН, г. Новосибирск, Россия

Баранов Олег Юрьевич, д.б.н., Институт леса НАН Беларуси, г. Гомель, Беларусь

Баранова Ольга Германовна, д.б.н., Ботанический институт им. В.Л. Комарова РАН, г. С.-Петербург, Россия

Винарский Максим Викторович, д.б.н., Санкт-Петербургский государственный университет, г. Санкт-Петербург, Россия

Долгих Олег Владимирович, д.м.н., Федеральный научный центр медико-профилактических технологий управления рисками здоровью населения Роспотребнадзора, г. Пермь, Россия

Заморина Светлана Анатольевна, д.б.н., Пермский государственный национальный исследовательский университет, г. Пермь, Россия

Зиновьев Евгений Витальевич, д.м.н., Институт экологии растений и животных УрО РАН, г. Екатеринбург, Россия

Календарь Руслан Николаевич, к.б.н., "National Laboratory Astana", Назарбаев Университет, г. Нур-Султан, Казахстан

Коркотян Эдуард, к.б.н., Научно-исследовательский институт им. Вейцмана, г. Реховот, Израиль

Литвиненко Александр Иванович, д.б.н., Государственный аграрный университет Северного Зауралья, г. Тюмень, Россия

Михеев Павел Борисович, PhD, доцент, Пермский государственный национальный исследовательский университет, г. Пермь, Россия

Плотникова Елена Генриховна, д.б.н., Институт экологии и генетики микроорганизмов УрО РАН, г. Пермь, Россия

Политов Дмитрий Владиславович, д.б.н., Институт общей генетики им. Н.И. Вавилова РАН, г. Москва, Россия

Пузанов Александр Васильевич, д.б.н., Институт водных и экологических проблем СО РАН, г. Барнаул, Россия

Раев Михаил Борисович, д.б.н., Институт экологии и генетики микроорганизмов УрО РАН, г. Пермь, Россия

Рахимова Елена Владимировна, д.б.н., Институт ботаники и фитоинтродукции Комитета лесного хозяйства и животного мира, г. Алматы, Казахстан

Черешнев Валерий Александрович, д.м.н., академик РАН, Институт иммунологии и физиологии УрО РАН, г. Екатеринбург, Россия

Ширяев Антон Григорьевич, д.б.н., Институт экологии растений и животных УрО РАН, г. Екатеринбург, Россия

РЕДАКЦИОННАЯ КОЛЛЕГИЯ

Куюкина Мария Станиславовна, д.б.н., Пермский государственный национальный исследовательский университет, г. Пермь, Россия (*главный редактор*)

Овеснов Сергей Александрович, д.б.н., Пермский государственный национальный исследовательский университет, г. Пермь, Россия (*заместитель главного редактора*)

Еремченко Ольга Зиновьевна, д.б.н., Пермский государственный национальный исследовательский университет, г. Пермь, Россия (*заместитель главного редактора*)

Ефимик Елена Герасимовна, к.б.н., Пермский государственный национальный исследовательский университет, г. Пермь, Россия (*секретарь редколлегии*)

Боронникова Светлана Витальевна, д.б.н., Пермский государственный национальный исследовательский университет, г. Пермь, Россия

Власов Дмитрий Юрьевич, д.б.н., Санкт-Петербургский государственный университет, г. Санкт-Петербург, Россия

Гейн Сергей Владимирович, д.м.н., Институт экологии и генетики микроорганизмов УрО РАН, г. Пермь, Россия

Елькин Андрей Анатольевич, к.б.н., Пермский государственный национальный исследовательский университет, г. Пермь, Россия

Есюнин Сергей Леонидович, д.б.н., Пермский государственный национальный исследовательский университет, г. Пермь, Россия

Зайцева Нина Владимировна, д.м.н., академик РАН, Федеральный научный центр медико-профилактических технологий управления рисками здоровью населения Роспотребнадзора, г. Пермь, Россия

Ившина Ирина Борисовна, д.б.н., академик РАН, Институт экологии и генетики микроорганизмов УрО РАН, г. Пермь, Россия

Ишбирдин Айрат Римович, д.б.н., профессор, Башкирский государственный университет, г. Уфа, Россия

Устинова Ольга Юрьевна, д.м.н., Федеральный научный центр медико-профилактических технологий управления рисками здоровью населения Роспотребнадзора, г. Пермь, Россия

Адрес учредителя и издателя:

614068, Пермский край, г. Пермь, ул. Букирева, 15

Адрес редакционной коллегии:

614068, Пермский край, г. Пермь, ул. Букирева, 15,
биологический факультет
Тел. +7(342)239-62-33
E-mail: vestnik_psu_bio@mail.ru
Сайт: <https://press.psu.ru/index.php/bio/>

Редактор: А. С. Беляева

Компьютерная вёрстка: С. А. Овеснов

Отпечатано в типографии ПГНИУ.
614068, г. Пермь, ул. Букирева, 15.
Тел. (342) 239-65-47
E-mail: tipograf@psu.ru

Подписано в печать 01.06.2026. Выход в свет 09.07.2026
Формат 60×84/8. Усл. печ. л. 14,41. Тираж 500 экз. Заказ 83.

EDITORIAL COUNCIL

Valentina S. Artamonova, Dr. Biol. Sc., Institute of Soil Science and Agrochemistry of the SB RAS, Novosibirsk, Russia

Oleg Yu. Baranov, Dr. Biol. Sc., Institute of Forest of the NAS of Belarus, Gomel, Belarus

Olga G. Baranova, Dr. Biol. Sc., Botanical Institute of the RAS, St. Petersburg, Russia

Maxim V. Vinarski, Dr. Biol. Sc., St. Petersburg State University, St. Petersburg, Russia

Oleg V. Dolgikh, Dr. Med. Sc., Federal Scientific Center for Medical and Preventive Health Risk Management Technologies, Perm, Russia

Svetlana A. Zamorina, Dr. Biol. Sc., Perm State University, Perm, Russia

Evgeniy V. Zinoviev, Dr. Med. Sc., Institute of Plant and Animal Ecology of UB RAS, Ekaterinburg, Russia

Ruslan A. Kalendar, Cand. Biol. Sc. "National Laboratory Astana", Nazarbaev University, Nur-Sultan, Kazakhstan

Eduard A. Korkotyan, Cand. Biol. Sc. Weizmann Institute of Science, Rehovot, Israel

Alexandr I. Litvinenko, Dr. Biol. Sc., State agrarian University of Northern TRANS-Urals, Tyumen, Russia

Pavel B. Mikheev, PhD, Perm State University, Perm, Russia

Elena G. Plotnikova, Dr. Biol. Sc., Institute of Ecology and Genetics of Microorganisms of the UB RAS, Perm, Russia

Dmitry V. Politov, Dr. Biol. Sc., Vavilov Institute of General Genetics of the RAS, Moscow, Russia

Alexandr V. Puzanov, Dr. Biol. Sc., Institute for Water and Environmental Problems of the SB RAS, Barnaul, Russia

Michail B. Raev, Dr. Biol. Sc., Institute of Ecology and Genetics of Microorganisms of the UB RAS, Perm, Russia

Elena V. Rachimova, Dr. Biol. Sc., Institute of Botany and Phytointroduction of the Committee for Forestry and Wildlife, Almaty, Kazakhstan

Valery A. Chereshev, Dr. Med. Sc., Full Member of the RAS, Institute of Immunology and Physiology of UB RAS, Ekaterinburg, Russia

Anton G. Shiryaev, Dr. Biol. Sc., Institute of Plant and Animal Ecology of the UB RAS, Ekaterinburg, Russia

EDITORIAL BOARD

Maria S. Kuyukina, Dr. Biol. Sc., Perm State University, Perm, Russia (**Editor-in-Chief**)

Sergey A. Ovesnov, Dr. Biol. Sc., Perm State University, Perm, Russia (**Deputy Editor-in-Chief**)

Olga Z. Eremchenko, Dr. Biol. Sc., Perm State University, Perm, Russia (**Deputy Editor-in-Chief**)

Elena G. Efimik, Cand. Biol. Sc., Perm State University, Perm, Russia (**secretary of the editorial board**)

Svetlana V. Boronnikova, Dr. Biol. Sc., Perm State University, Perm, Russia

Dmitry Yu. Vlasov, Dr. Biol. Sc., St. Petersburg State University, St. Petersburg, Russia

Sergey V. Gein, Dr. Med. Sc., Institute of Ecology and Genetics of Microorganisms of the UB RAS, Perm, Russia

Andrey A. Elkin, Cand. Biol. Sc., Perm State University, Perm, Russia

Sergey L. Esyunin, Dr. Biol. Sc., Perm State University, Perm, Russia

Nina V. Zaitseva, Dr. Med. Sc., Full Member of the RAS, Federal Scientific Center for Medical and Preventive Health Risk Management Technologies, Perm, Russia

Irina B. Ivshina, Dr. Biol. Sc., Full Member of the RAS, Institute of Ecology and Genetics of Microorganisms of the UB RAS, Perm, Russia

Airat R. Ishbirdin, Dr. Biol. Sc., Bashkir State University, Ufa, Russia

Olga Yu. Ustinova, Dr. Med. Sc., Federal Scientific Center for Medical and Preventive Health Risk Management Technologies, Perm, Russia

Address of the Founder and Publisher:
15, Bukireva st., Perm, 614068, Russia

Address of the Editorial Office:
15, Bukireva st., Perm, 614068, Russia
Perm State University, Faculty of Biology
Phone +7(342)239-62-33
E-mail: vestnik_psu_bio@mail.ru
Website: <https://press.psu.ru/index.php/bio/>

Editor: A.S. Beljaeva
Computer layout: Sergey A. Ovesnov

Print House PSU: 15, Bukireva st., Perm, 614068, Russia
Phone: (342) 239-65-47
E-mail: tipograf@psu.ru
Signed in print 01.06.2026. The publication 09.07.2026.
Printed Format: 60×84/8. Conventional Printed Sheet: 14,42.
Circulation: 500 copies. Order 83.

Содержание

Ботаника

- Анищенко И. Е., Жигунов О. Ю.* К биологии редкого эфемероида *Cardamine quinquefolia* (M. Bieb.) Schmalh. в культуре 118
- Бочкова И. Ю., Хохлачева Ю. А.* Многолетники, перспективные для городского озеленения, в условиях недостаточной инсоляции (на базе коллекции-экспозиции «Теневой сад» Главного ботанического сада им. Н.В. Цицина РАН) 125

Микробиология

- Галямина В. В., Шаравин Д. Ю.* Влияние ионов меди и цинка на зеленую микроводоросль *Chlorella vulgaris* 139
- Горшков-Кантакузен В. А., Хлопова К. В., Тимофеев В. С.* Патогенный потенциал *Bacillus cereus* sensu stricto и *Bacillus thuringiensis* 150
- Ковалёва И. А., Шутко А. П., Шепелева Т. С., Хорошунцова А. О.* Антиоксидантный и антибактериальный потенциал эпифитных микроорганизмов наземных и водных растений . . . 159
- Лобанов А. Н., Антипьева М. В., Ерошенко Д. В., Полюдова Т. В.* Моделирование инфекционного процесса у личинок *Galleria mellonella* для оценки антибактериального действия катионных пептидных соединений в условиях *in vivo* 169
- Якушева О. А., Алексеева Л. П., Евдокимова В. В., Мелоян М. Г., Симакова Д. И.* Взаимодействие везикул штаммов *Vibrio cholerae* O1 El Tor с клетками-мишенями 179

Генетика

- Сорокина А. В.* Влияние полиморфизма генов *AGT* и *AGTR1* на развитие артериальной гипертензии и уровень физического состояния у единоборцев города Перми 191

Экология

- Егорова Д. О., Кирьянова Т. Д., Мансурова А. Р., Кочергина Д. А., Кузнецова М. В.* Оценка экологического риска побочных продуктов животноводства и птицеводства 200

Иммунология

- Колесникова Н. В., Чупрынин Г. П., Мелконян К. И.* Современные подходы к управлению фенотипическим балансом макрофагов для модуляции иммунитета при хроническом воспалении 213
- Хасанишина З. Р., Богачева Н. В.* Оценка влияния индуцированного состояния иммуносупрессии на возможный исход экстракорпорального оплодотворения 225

Contents

Botany

- Anishchenko I. E., Zhigunov O. Yu.** To the biology of the rare ephemeroïd *Cardamine quinquefolia* (M. Bieb.) Schmalh. under the culture 118
- Bochkova I. J., Khokhlacheva J. A.** Perennials promising for urban greening under insufficient insolation (based on the collection-exposition "Shadow Garden" of the N.V. Tsitsin Main Botanical Garden of Russian Academy of Sciences) 125

Microbiology

- Galyamina V. V., Sharavin D. Y.** Effects of copper and zinc ions on green microalgae *Chlorella vulgaris* 139
- Gorshkov-Cantacuzene V. A., Khlopova K. V., Timofeev V. S.** Pathogenic potential of *Bacillus cereus* sensu stricto and *Bacillus thuringiensis* 150
- Kovaleva I. A., Shutko A. P., Shepeleva T. S., Khoroshunova A. O.** Antioxidant and antibacterial potential of epiphytic microorganisms from terrestrial and aquatic plants 159
- Lobanov A. N., Antipeva M. V., Eroshenko D. V., Polyudova T. V.** Modeling of the infectious process in *Galleria mellonella* larvae to evaluate the antibacterial effect of cationic peptide compounds *in vivo* 169
- Yakusheva O. A., Alekseeva L. P., Evdokimova V. V., Meloyan M. G., Simakova D. I.** Interaction of *Vibrio cholerae* O1 El Tor vesicles with target cells 179

Genetics

- Sorokina A. V.** Influence of AGT and AGTR1 gene polymorphisms on the development of arterial hypertension and physical fitness level in martial artists from the city of Perm 191

Ecology

- Egorova D. O., Kir'yanova T. D., Mansurova A. R., Kochergina D. A., Kuznetsova M. V.** Ecological risk assessment of livestock and poultry by-products 200

Immunology

- Kolesnikova N. V., Chuprynin G. P., Melkonian K. I.** Contemporary strategies for modulating immune response by regulating the M1/M2 macrophage phenotype balance through cytokines and growth factors 213
- Khasanshina Z. R., Bogacheva N. V.** Evaluating the effect of induced immunosuppression on possible IVF outcomes 225

БОТАНИКА

Научная статья

УДК 582.683.2

EDN: ZJHYFG

<http://dx.doi.org/10.17072/1994-9952-2026-2-118-124>



К биологии редкого эфемероида
Cardamine quinquefolia (M. Bieb.) Schmalh. в культуре

Ирина Евгеньевна Анищенко¹, Олег Юрьевич Жигунов¹

¹ Южно-Уральский ботанический сад-институт Уфимского федерального исследовательского центра
РАН, Уфа, Россия

Автор, ответственный за переписку: Олег Юрьевич Жигунов, zhigunov2007@yandex.ru

Аннотация. Изложены итоги исследования некоторых особенностей биологии (наступление основных фаз, морфометрия и устойчивость в культуре) одного из представителей группы весеннецветущих эфемероидных редких растений – *Cardamine quinquefolia* (M. Bieb.) Schmalh. (зубянка пятилистная). Вид занесен в Красные книги ряда регионов России (Пензенской, Тамбовской, Рязанской, Саратовской, Ульяновской обл. и др.). Растения зубянки пятилистной отличаются высокой декоративностью (красивоцветущее растение). Их чрезмерный сбор (букеты) и вырубка широколиственных лесов являются лимитирующими факторами. Исследования проводились в коллекции теневыносливых растений (теневого сада) в Южно-Уральском ботаническом саду-институте УФИЦ РАН в течение двух вегетационных периодов (2024–2025 гг.). Отрастание *C. quinquefolia* отмечено в первых числах апреля, во второй декаде появляются бутоны, начало цветения – в третьей декаде апреля, плодоношение – в середине мая. Длительность цветения составляет около двух недель (среднедлительноцветущий вид). Растения этого вида относятся к группе ранневесеннецветущих эфемероидов (весеннезеленые с периодом летне-осенне-зимнего покоя). Такие показатели, как высота генеративного побега, число листьев, ширина листа и диаметр цветка, характеризуются небольшим варьированием (C_v – 0.0–4.4%). Остальные параметры имеют нормальную степень варьирования (C_v – 5.5–12.1%). По результатам проведенной оценки перспективности *C. quinquefolia* установлено, что вид обладает устойчивостью к местным климатическим условиям, отличается регулярным и массовым цветением, хорошо разрастается и образует куртины. Для него характерна высокая зимостойкость, вид не подвержен влиянию весенних заморозков, засухоустойчив. Введение в культуру редких и исчезающих растений позволяет удовлетворить потребность в этих видах, что будет способствовать предотвращению полного уничтожения их запасов в природной среде.

Ключевые слова: *Cardamine quinquefolia*, ранневесеннецветущий эфемероид, редкий вид, особенности биологии, успешность в культуре

Для цитирования: Анищенко И. Е., Жигунов О. Ю. К биологии редкого эфемероида *Cardamine quinquefolia* (M. Bieb.) Schmalh. в культуре // Вестник Пермского университета. Сер. Биология. 2026. Т.17, вып. 2. С. 118–124. <http://dx.doi.org/10.17072/1994-9952-2026-2-118-124>.

Финансирование: работа выполнена в рамках темы: «Биологическое разнообразие растительных ресурсов России: состояние, динамика, экология видов и сообществ, сохранение генофонда, проблемы интродукции, воспроизводства и неистощительного использования» № НИОКТР 125012200599-6.

BOTANY

Original article

To the biology of the rare ephemeroid *Cardamine quinquefolia*
(M. Bieb.) Schmalh. under the culture

Irina E. Anishchenko¹, Oleg Yu. Zhigunov¹

¹South-Ural Botanical Garden-Institute of the Ufa Federal Research Center of the RAS, Ufa, Russia

Corresponding author: Oleg Yu. Zhigunov, zhigunov2007@yandex.ru

Abstract. The article presents research results regarding certain biological features (the onset of main phenophases, morphometry, and cultivation stability) of *Cardamine quinquefolia* (M. Bieb.) Schmalh. (five-leaved toothwort), a plant belonging to a group of rare spring-flowering ephemerooids. The species is listed in the Red Data Books of several regions of Russia (Penza, Tambov, Ryazan, Saratov, Ulyanovsk, etc.). *C. quinquefolia* plants are highly decorative (beautiful flowering plants). Excessive collection (for bouquets) and deciduous forest clearing constitute the limiting

factors. The research was conducted within a collection of shade-tolerant plants (shade garden) at the South- Ural Botanical Garden-Institute of the Ufa Federal Research Center of the Russian Academy of Sciences over two growing seasons (2024–2025). *C. quinquefolia* sprouts in early April, buds appear in the second decade of the month, flowering begins in the third decade of April, and fruiting occurs in mid-May. The flowering period lasts approximately two weeks (a medium-long-flowering species). Plants of this species belong to the group of early spring-flowering ephemeroïds (spring-green plants with a summer-autumn-winter dormancy period). Parameters such as the height of the generative shoot, the number of leaves, the leaf width, and the flower diameter are characterized by slight variation (Cv–0.0–4.4%). Parameters such as generative shoot height, leaf count, leaf width, and flower diameter show low variation (Cv–0.0–4.4%). The remaining parameters show moderate variation (Cv–5.5–12.1%). Based on the results of the conducted assessment of *C. quinquefolia*'s introduction potential, the species is found to be resilient to local climatic conditions, characterized by regular and abundant flowering, and capable of expanding well to form clumps. It features high winter hardiness, is unaffected by spring frosts, and is drought-resistant. The introduction of rare and endangered plants into cultivation meets the demand for these species, helping to prevent the complete depletion of their wild populations.

Keywords: *Cardamine quinquefolia*, early spring-flowering ephemeroïd, rare species, features of biology, success in culture

For citation: Anishchenko I. E., Zhigunov O. Yu. [To the biology of the rare ephemeroïd *Cardamine quinquefolia* (M. Bieb.) Schmalh. under the culture]. Bulletin of Perm University. Ser. Biology. Vol. 17, iss. 2 (2026): pp. 118-124. (In Russ.). <http://dx.doi.org/10.17072/1994-9952-2026-2-118-124>.

Financing: the work was carried out within the framework of the project: "Biological diversity of plant resources of Russia: the state, dynamics, ecology of species and communities, preservation of the gene pool, problems of introduction, reproduction and sustainable use" No. NIOKTR 125012200599-6.

Введение

Исследование редких и исчезающих видов растений является важнейшим и эффективным направлением в современной биологии. В век повышенной антропогенной нагрузки на природные экосистемы (усиленное потребление природных ресурсов, включая растительные сообщества) наблюдается снижение биологического разнообразия растительного покрова. Численность и запасы большинства хозяйственно ценных для человека растений сокращаются и могут в дальнейшем исчезнуть в природе. Это обусловлено тем, что некоторые виды растений довольно незначительно возобновляются после нарушений, либо их нативные местообитания полностью освоены человеком.

Выращивание и размножение редких растений в условиях интродукции с последующим возвращением их в природные местообитания является одним из действенных способов сохранения биоразнообразия. Это основополагающая задача и направленность ботанических садов. Биоресурсные коллекции растений, созданные в ботанических садах, позволяют сохранить генофонд редких и исчезающих видов. Разностороннее изучение биологических особенностей редких растений позволяет выявить их свойства, признаки и причины сокращения численности популяций. Работы по исследованию таких видов в ботанических садах должны проводиться интенсивно, поскольку это направление в настоящее время является весьма актуальным [Клюй, 2010; Каримова, Абрамова, 2016; Мустафина и др., 2023].

Один из представителей группы редких растений – *Cardamine quinquefolia* (M. Bieb.) Schmalh. (зубянка пятилистная) из семейства *Brassicaceae* Burnett, nom. cons. (Крестоцветные). Вид занесен в Красные книги ряда регионов России (Пензенской, Тамбовской, Рязанской, Саратовской, Ульяновской обл. и др.) [Красная ..., 2011; 2015; 2017; 2019; 2021; 2024].

Растения зубянки пятилистной отличаются высокой декоративностью (красивоцветущее растение). Их чрезмерный сбор (букеты) и вырубка широколиственных лесов являются лимитирующими факторами. Корневища этого вида применяются в народной медицине – в них содержатся алкалоиды, дубильные вещества (обладают кровоостанавливающим действием). Зубянка пятилистная является прекрасным медоносом и отнесена к группе растений, составляющих мелиттофильный комплекс (обеспечивает пчел пыльцой и нектаром в горно-лесных экосистемах Крыма) [Быкова и др., 2020; Шпилева, 2020].

Целью работы было изучение некоторых особенностей биологии (наступление основных фаз, морфометрия и устойчивость в культуре) зубянки пятилистной в коллекции теневыносливых растений (теневой сад) в Южно-Уральском ботаническом саду-институте УФИЦ РАН (ЮУБСИ).

Материал и методика исследования

Растения зубянки пятилистной (рис. 1), которые послужили материалом для исследований, были привезены нами в виде корневищ из Главного ботанического сада РАН (г. Москва) в 2019 г.

C. quinquefolia – неморальный вид, который произрастает преимущественно в европейской части России (тенистые широколиственные леса и заросли кустарников). Влаго- и тенелюбивое растение. Корневищный (корневище с треугольными чешуйками) травянистый многолетний ранневесенний эфемероид, прямостоячие побеги которого достигают высоты до 35 см. Растения без прикорневых листьев, листья на

стебле перистые (их обычно 3), в основном сближены в мутовку, цветочные кисти несут до 15 фиолетово-розовых цветков, плод – стручок. Размножение – семенами и вегетативно (пазушные почки), распространение семян – автохория [Рыжова, 2024].



Рис. 1. *C. quinquefolia* в фазе цветения

[*C. quinquefolia* in the flowering phase]

Климатические условия района исследования – умеренно-континентальный климат, северная лесостепь, Башкирское Предуралье. Участок произрастания *C. quinquefolia* (коллекция теневыносливых растений, теневой сад) находится под пологом дуба черешчатого с серой лесной, уплотненной, с низким содержанием гумуса почве.

Выявление особенностей биологии *C. quinquefolia* при интродукции выполнено в соответствии с научными методическими рекомендациями [Минин и др., 2020; Черемушкина, Барсукова, 2020; Богослов и др., 2021]. При анализе количественных показателей определяли среднее арифметическое (M), ошибки среднего арифметического (m), коэффициент вариации (C_v , %). Оценка успешности вида в условиях выращивания в ботаническом саду (г. Уфа, Башкирское Предуралье) выполнена по методике, которая отражена в работе В.В. Бакановой [1984].

Результаты исследований

2024 год характеризовался следующими погодными условиями: апрель был теплым месяцем, в течение всего мая было холодно, наблюдались частые ночные заморозки, вторая половина лета была достаточно теплой, но с обильными и продолжительными осадками (рис. 2). 2025 г. – весна теплая, без возвратных заморозков, лето было достаточно теплым, но с обильными и продолжительными осадками в виде затяжных дождей и ливней. Средняя температура в летние месяцы составляла около 20°C. Осень (сентябрь, октябрь) 2025 г. была более теплая и дождливая (количество выпавших осадков в 4.5 раза больше), чем в 2024 г. Данные метеоусловий описаны согласно сайту архива погоды [Погода и климат: эл. ресурс].

Одним из методов изучения сезонных явлений является анализ данных, полученных в результате ведения фенологических наблюдений за растениями – важного направления научных исследований, проводимых в ботанических садах и дендрариях.

В культуре в ЮУБСИ у *C. quinquefolia* отрастание отмечено в первых числах апреля, во второй декаде появляются бутоны, начало цветения – в третьей декаде апреля, плодоношение – в середине мая. Длительность цветения составляет около двух недель (среднедлительноцветущий вид). Растения этого вида относятся к группе ранневесеннецветущих эфемероидов (весеннезеленые с периодом летне-осенне-зимнего покоя).

Измерения морфологических параметров (таблица) надземной части растений выполнены в полевых условиях на участке теневого сада в период массового цветения и их максимального развития. Для получения достоверных среднестатистических данных морфометрии нами были измерены параметры 25 модельных растений.

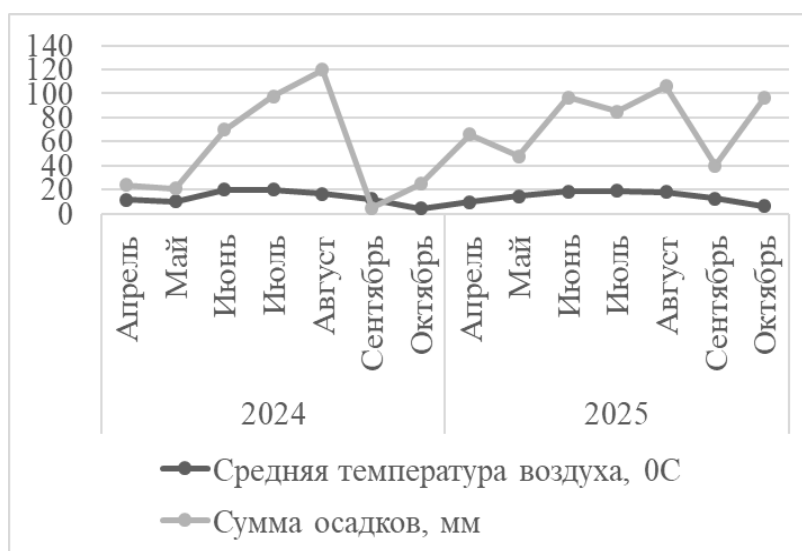


Рис. 2. Метеорологические условия г. Уфы (вегетационный сезон 2024–2025 гг.)
[Meteorological conditions of Ufa (growing season 2024–2025)]

Показатели морфометрических параметров *C. quinquefolia* в условиях интродукции Южно-Уральского ботанического сада-института УФИЦ РАН
[Morphometric parameters of *C. quinquefolia* in the introduction conditions at the South-Ural Botanical Garden-Institute of the UFRC RAS]

Параметр	2024		2025		t _{факт}
	M±m	C _v , %	M±m	C _v , %	
Высота генеративного побега, см	29.4±0.37	3.3	30.1±0.34	3.0	1.805*
Толщина генеративного побега, см	0.3±0.01	9.8	0.3±0.01	9.6	0.612*
Число листьев на генеративном побеге, шт.	3.0±0.00	0.0	3.0±0.00	0.0	0.000
Длина листа, см	9.9±0.28	7.5	10.5±0.14	3.4	1.879*
Ширина листа, см	9.6±0.14	3.9	10.0±0.11	2.9	2.455*
Число цветков в соцветии, шт.	14.0±0.31	5.8	13.7±0.29	5.5	0.679*
Диаметр цветка, см	3.1±0.05	4.4	3.1±0.05	4.0	0.196*
Длина лепестка, см	1.7±0.05	7.7	1.6±0.02	3.1	0.475*
Ширина лепестка, см	0.9±0.04	10.9	0.8±0.02	6.3	0.339*
Длина чашелистика, см	0.6±0.02	9.6	0.5±0.02	9.2	0.408*
Ширина чашелистика, см	0.2±0.01	12.1	0.2±0.01	11.4	0.000

Примечание: М – среднее значение; m – ошибка среднего; C_v, % – коэффициент вариации; *достоверно при 5%-ном уровне значимости.

Из данных в таблице очевидно, что такие показатели, как высота генеративного побега, длина, ширина листа и ширина чашелистика были выше в 2025 г. Высота генеративного побега, число листьев, ширина листа и диаметр цветка характеризуются небольшим варьированием (C_v – 0.0–4.4%). Остальные параметры имеют нормальную степень варьирования (C_v – 5.5–12.1%).

Сравнительный анализ морфометрических параметров *C. quinquefolia* между годами с использованием t-критерия Стьюдента показал, что в большинстве случаев различия статистически незначимы (p > 0,05). Это относится к таким показателям, как высота и толщина побега, длина листа, число цветков, диаметр цветка, а также размеры лепестков и чашелистиков. По таким параметрам, как число листьев и ширина чашелистиков, вариация не выявлена. Статистически значимые различия выявлены только для ширины листа (t = 2,455 при p < 0,05), где в 2025 г. отмечено увеличение данного показателя по сравнению с 2024 г. В целом полученные результаты свидетельствуют о стабильности морфометрических характеристик в межгодовом аспекте.

По результатам интродукционных исследований проведена оценка перспективности изученного в культуре редкого вида *C. quinquefolia*, который может быть рекомендован для выращивания в качестве декоративного почвопокровного растения в теневых композициях. Критерии оценки были следующие: развитие вегетативных органов, наличие регулярного цветения и образования семян, зимостойкость, засухоустойчивость, способность растений к саморасселению (единичное и массовое).

Оценка позволила установить, что растения обладают устойчивостью к местным климатическим условиям, отличаются регулярным и массовым цветением, хорошо разрастаются и образуют куртины. Для них характерна высокая зимостойкость, они не подвержены влиянию весенних заморозков, обладают засухоустойчивостью.

Заключение

Таким образом, проведенные интродукционные испытания редкого вида *C. quinquefolia* позволили выявить, что растения в условиях культуры в ЮУБСИ (Башкирское Предуралье) проходят полный цикл развития, отличаются ежегодным массовым цветением, плодобразованием и формированием полноценных семян. Растения этого вида относятся к группе ранневесеннецветущих эфемероидов. Оценка перспективности в культуре позволила установить, что растения обладают устойчивостью к местным климатическим условиям, хорошо разрастаются и образуют куртины. Для них характерна высокая зимостойкость, они не подвержены влиянию весенних заморозков, засухоустойчивы. Введение в культуру редких и исчезающих растений позволяет удовлетворить потребность в этих видах, что будет способствовать предотвращению полного уничтожения их запасов в природной обстановке.

Список источников

1. Баканова В.В. Цветочно-декоративные многолетники открытого грунта. Киев: Наукова думка, 1984. 155 с.
2. Богослов А.В. и др. Виталитетная структура популяций *Colchicum bulbocodium* subsp. *versicolor* (Colchicaceae, Liliopsida) в условиях Нижнего Поволжья // Поволжский экологический журнал. 2021. № 2. С. 127–145. DOI: 10.35885/1684-7318-2021-2-127-145. EDN: OBNRCG.
3. Быкова Т.О. и др. Мелиттофильный комплекс растений, обеспечивающих кормовую базу медоносных пчел (*Apis mellifera*) в горно-лесной зоне Крыма // Экосистемы. 2020. № 21(51). С. 123–141. DOI: 10.37279/2414-4738-2020-21-123-141. EDN: OOPPRF.
4. Каримова О.А. Абрамова Л.М. Некоторые итоги интродукции видов Красной книги России в Ботаническом саду-институте УНЦ РАН (Уфа) // Бюлл. ГБС. 2016. № 1(202). С. 3–11.
5. Ключ М.А. Возможность создания комплексов эфемероидов широколиственных лесов в искусственных сообществах антропогенно нарушенных местообитаний методом трансплантации дерновины // Проблемы ботаники Южной Сибири и Монголии. 2010. № 9. С. 108–110. EDN: QFTQXH.
6. Красная книга Пензенской области. Том 1: Сосудистые растения, мхи, лишайники, грибы. М.; Пенза: Студия онлайн, 2024. 300 с.
7. Красная книга Республики Мордовия. Том 1. Редкие виды растений и грибов. Саранск: Изд-во Мордовского ун-та, 2017. 409 с.
8. Красная книга Рязанской области: официальное научное издание. Рязань: Голос Губернии, 2011. 626 с.
9. Красная книга Саратовской области: Грибы. Лишайники. Растения. Животные. Саратов: Папирус, 2021. 496 с.
10. Красная книга Тамбовской области: Мхи, сосудистые растения, грибы, лишайники. Тамбов: ТПС, 2019. 480 с.
11. Красная книга Ульяновской области. М.: Буки Веди, 2015. 550 с.
12. Минин А.А. и др. Рекомендации по унификации фенологических наблюдений в России // Nature Conservation Research. Заповедная наука. 2020. № 5(4). С. 89–110. DOI: 10.24189/ncr.2020.060. EDN: WLAFWF.
13. Мустафина А.Н., Абрамова Л.М., Каримова О.А. Онтогенез и структура популяций *Rindera tetraspis* Pall. (Boraginaceae) в Оренбургской области // Аридные экосистемы. 2023. Т. 29, № 4 (97). С. 48–55. DOI: 10.24412/1993-3916-2023-4-48-55. EDN: OWOUIU.
14. Погода и климат. [Электронный ресурс]. URL: <http://www.pogodaiklimat.ru/> (дата обращения: 09.02.2026).
15. Рыжова Ю.А. Охрана редких эфемероидов в Пензенской области // Самарская Лука: проблемы региональной и глобальной экологии. 2024. Т. 33, № 2. С. 52–58. DOI: 10.24412/2073-1035-2024-33-2-52-58. EDN: EYCCQS.

16. Черемушкина В.А., Барсукова И.Н. Ритм сезонного развития и малый жизненный цикл *Prunella vulgaris* L. (Lamiaceae) в Хакассии // Журнал Сибирского федерального университета. Серия Биология. 2020. Т. 13, № 1. С. 94–108. DOI: 10.17516/1997-1389-0295. EDN: ZPVAYA.

17. Шпилевая Н.В. Раритетные лекарственные растения флоры Донбасса в коллекции ГУ «Донецкий ботанический сад» // Проблемы ботаники Южной Сибири и Монголии. 2020. № 19–2. С. 52–55. DOI: 10.14258/pbssm.2020074. EDN: EEUHAZ.

References

1. Bakanova V.V. *Cvetočno-dekorativnye mnogoletniki otkrytogo grunta* [Flower-decorative perennials of open ground]. Kiyev, Naukova dumka Publ., 1984. 155 p. (In Russ.).

2. Bogoslov A.V., Kashin A.S., Parkhomenko A.S., Kulikova L.V., Shilova I.V., Knyazeva A.K. [Vital structure of *Colchicum bulbocodium* subsp. *versicolor* (Colchicaceae, Liliopsida) in the Lower Volga region]. *Povolzhskij ekologičeskij žurnal*. No. 2 (2021): pp. 127–145. (In Russ.). DOI: 10.35885/1684-7318-2021-2-127-145.

3. Bykova T.O., Ivashov A.V., Ivanov S.P., Sattarov V.N., Vakhrusheva L.P. [Melittophilic complex of plants that provide a feeding base for honey bees (*Apis mellifera*) in the mountain forest zone of Crimea]. *Ėkosistemy*. No. 21(51) (2020): pp. 123–141. (In Russ.). DOI: 10.37279/2414-4738-2020-21-123-141.

4. Karimova O.A., Abramova L.M. [Some results of the introduction of species of the Red Book of Russia at the Botanical Garden-Institute of the USC RAS (Ufa)]. *Bjull. GBS*. No. 1(202) (2016): pp. 3–11. (In Russ.).

5. Klyuy M.A. [Possibility of creating broad-leaved forest ephemeroïd complexes in artificial communities of anthropogenically disturbed habitats by sod transplantation]. *Problemy botaniki Južnoj Sibiri i Mongolii*. No. 9 (2010): pp. 108–110. (In Russ.).

6. *Krasnaja kniga Penzenskoj oblasti. T. 1: Sosudistye rastenija, mchi, lišajniki, griby* [Red Book of the Penza Region. V. 1: Vascular plants, mosses, lichens, fungi]. Moscow, Penza, Studija onlajn Publ., 2024. 300 p. (In Russ.).

7. *Krasnaja kniga Respubliki Mordovija. T. 1. Redkie vidy rastenij i gribov* [Red Book of the Republic of Mordovia. Vol. 1. Rare species of plants and fungi]. Saransk, Izd-vo Mordovskogo un-ta Publ., 2017. 409 p. (In Russ.).

8. *Krasnaja kniga Rjazanskoj oblasti: oficial'noe naučnoe izdanie* [Red Book of the Ryazan Region: official scientific publication]. Ryazan', Golos Gubernii Publ., 2011. 626 p. (In Russ.).

9. *Krasnaja kniga Saratovskoj oblasti: Griby. Lišajniki. Rastenija. Životnye* [Red Book of the Saratov Region: Mushrooms. Lichens. Plants. Animals]. Saratov, Papirus Publ., 2021. 496 p. (In Russ.).

10. *Krasnaja kniga Tambovskoj oblasti: Mchi, sosudistye rastenija, griby, lišajniki* [Red Book of the Tambov Region: Mosses, vascular plants, mushrooms, lichens]. Tambov, TPS Publ., 2019. 480 p. (In Russ.).

11. *Krasnaja kniga Ul'janovskoj oblasti* [Red Book of the Ulyanovsk Region]. Moscow, Buki Vedi Publ., 2015. 550 p. (In Russ.).

12. Minin A.A., Ananin A.A., Buyvolov Yu.A., Larin E.G., Lebedev P.A., Polikarpova N.V., Prokosheva I.V., Rudenko M.I., Sapel'nikova I.I., Fedotova V.G., Shuyskaya E.A., Yakovleva M.V., Yantser O.V. [Recommendations for unification of phenological observations in Russia]. *Nature Conservation Research. Zapovednaja nauka*. No. 5(4) 2020: pp. 89–110. DOI: 10.24189/ncr.2020.060. (In Russ.).

13. Mustafina A.N., Abramova L.M., Karimova O.A. [Ontogeny and population structure of *Rindera tetraspis* Pall. (Boraginaceae) in the Orenburg region]. *Aridnye ekosistemy*. V. 29, No. 4 (97) (2023): pp. 48–55. DOI: 10.24412/1993-3916-2023-4-48-55. (In Russ.).

14. *Pogoda i klimat*. Available at: <http://www.pogodaiklimat.ru/> (accessed 09.02.2026). (In Russ.).

15. Ryzhova Yu.A. [Protection of rare ephemeroïds in the Penza region]. *Samarskaja Luka: problemy regional'noj i global'noj ekologii*. V. 33, No 2 (2024): pp. 52–58. DOI: 10.24412/2073-1035-2024-33-2-52-58. (In Russ.).

16. Cheremushkina V.A., Barsukova I.N. [Rhythm of seasonal development and small life cycle of *Prunella vulgaris* L. (Lamiaceae) in Hakassia]. *Žurnal Sibirskogo federal'nogo universiteta. Seriya Biologija*. V. 13, No. 1 (2020): pp. 94–108. DOI: 10.17516/1997-1389-0295. (In Russ.).

17. Shpilevaya N.V. [Rare medicinal plants of the flora of Donbass in the collection of the State Institution "Donetsk Botanical Garden"]. *Problemy botaniki Južnoj Sibiri i Mongolii*. No. 19-2 (2020): pp. 52–55. DOI: 10.14258/pbssm.2020074. (In Russ.).

Статья поступила в редакцию 03.03.2026; одобрена после рецензирования 31.03.2026; принята к публикации 01.06.2026.

The article was submitted 03.03.2026; approved after reviewing 31.03.2026; accepted for publication 01.06.2026.

Информация об авторах

И. Е. Анищенко – канд. биол. наук, ведущий научный сотрудник лаборатории флоры и растительности, irina6106@mail.ru;

О. Ю. Жигунов – канд. биол. наук, старший научный сотрудник лаборатории флоры и растительности, zhigunov2007@yandex.ru.

Information about the authors

I. E. Anishchenko – candidate of biological sciences, leading researcher of the laboratory of flora and vegetation of South-Ural Botanical Garden-Institute, irina6106@mail.ru;

O. Yu. Zhigunov, candidate of biological sciences, senior researcher of the laboratory of flora and vegetation of South-Ural Botanical Garden-Institute, zhigunov2007@yandex.ru.

Вклад авторов:

Анищенко И. Е. – написание исходного материала; статистическая обработка материала.

Жигунов О. Ю. – написание исходного материала; статистическая обработка материала.

Contributors of the authors:

Anishchenko I. E. – writing the original draft; statistical data analysis.

Zhigunov O. Yu. – writing the original draft; statistical data analysis.

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

The authors declare no conflict of interest.



**Многолетники, перспективные для городского озеленения,
в условиях недостаточной инсоляции (на базе коллекции-
экспозиции «Теневой сад» Главного ботанического сада
им. Н.В. Цицина РАН)**

Ирина Юрьевна Бочкова¹, Юлия Анатольевна Хохлачева²

¹ Мытищинский филиал «Московский государственный технический университет им. Н.Э. Баумана (национальный исследовательский университет)», Москва, Россия

² Главный ботанический сад им. Н.В. Цицина РАН, Москва, Россия

Автор, ответственный за переписку: Юлия Анатольевна Хохлачева, ldr_gbsran@mail.ru

Аннотация. В настоящее время введение в массовое городское озеленение теневыносливых и тенелюбивых декоративных травянистых многолетников, в том числе полукустарников, становится все более актуальным. Но на сегодняшний день ассортимент многолетников, рекомендуемых для массового городского озеленения объектов различных режимов пользования, ограничен и требует расширения. Цель исследования – выявление устойчивых и декоративных многолетников, в том числе и полукустарников, перспективных для использования на различных городских объектах общего пользования (площади, скверы, бульвары, парки). Работа проводилась на территории коллекции-экспозиции «Теневой сад» Главного ботанического сада им. Н.В. Цицина РАН. За более чем 80-летний период существования коллекции-экспозиции было испытано более 1000 таксонов из различных регионов. За растениями ежегодно проводились различные наблюдения по общепринятым методикам: фиксировались фенологические фазы, определялись феноритмотипы, оценивались успешность интродукции и перспективность введения в городское озеленение исследуемых образцов. Одним из итогов длительного интродукционного эксперимента является перечень, который включает в себя 58 наименований декоративных травянистых теневыносливых и тенелюбивых многолетников. Представлен календарь цветения рекомендуемых декоративных травянистых многолетников. Проанализирован характер разрастания исследуемых образцов. Выявлено, что у 78% исследуемых образцов отмечен зарослевый характер роста, что позволяет использовать их при создании покрова под кронами старых деревьев. Проанализирована продолжительность декоративности исследуемых растений. Установлено, что 83% относится к группе весенне-летне-осеннезеленых, которые сохраняют декоративность в течение всего вегетационного периода.

Ключевые слова: ботанический сад, биоразнообразие, коллекция-экспозиция «Теневой сад», теневыносливые и тенелюбивые многолетники, городское озеленение

Для цитирования: Бочкова И. Ю., Хохлачева Ю. А. Многолетники, перспективные для городского озеленения, в условиях недостаточной инсоляции (на базе коллекции-экспозиции «Теневой сад» Главного ботанического сада им. Н.В. Цицина РАН) // Вестник Пермского университета. Сер. Биология. 2026. Т. 17, вып. 2. С. 125–138. <http://dx.doi.org/10.17072/1994-9952-2026-2-125-138>.

Финансирование: работа выполнена в рамках госзадания ГБС РАН «Биологическое разнообразие, ресурсный потенциал и сохранение природной и культурной флоры в условиях климатических и антропогенных изменений», № госрегистрации 126020916823-0.

BOTANY

Original article

Perennials promising for urban greening under insufficient insolation (based on the collection-exposition "Shadow Garden" of the N.V. Tsitsin Main Botanical Garden of Russian Academy of Sciences)

Irina J. Bochkova¹, Julia A. Khokhlacheva²

¹ Mytishchi Branch of Bauman Moscow State Technical University, Moscow, Russia

² N. V. Tsitin Main Botanical garden of Russian Academy of Sciences, Moscow, Russia

Corresponding author: Julia A. Khokhlacheva, ldr_gbsran@mail.ru

Abstract. Currently, the introduction of shade-tolerant and shade-loving ornamental herbaceous perennials, including subshrubs, into mass urban greening landscaping is becoming increasingly relevant. However, today the range of perennials recommended for mass urban greening of sites with various use patterns is limited and requires expansion. The aim of the study is to identify sustainable and ornamental herbaceous perennials, including subshrubs, that are promising for use in various urban public green spaces (squares, public gardens, boulevards, and parks). The work was carried out on the territory of the "Shadow Garden" collection-exposition of the N.V. Tsitsin Main Botanical Garden of RAS. Over the more than 80-year history of the collection, more than 1,000 taxa from various regions have been tested. Various observations were carried out annually according to generally accepted methods: phenological phases were recorded, phenorhythmotypes were determined, and the introduction success and prospects for urban greening of the studied samples were evaluated. One of the results of the long-term introduction experiment is a list that includes 58 species and cultivars of ornamental herbaceous shade-tolerant and shade-loving plants. A flowering calendar for the recommended ornamental plants is presented. The growth pattern of the studied samples is analyzed. Notably, 78% of the studied samples were revealed to exhibit a clonal growth pattern, allowing them to be used to create ground cover under the canopies of mature trees. The ornamental period of the studied plants is analyzed. Additionally, 83% of the samples were found to belong to the spring-summer-autumn-green phenorhythmotype, retaining their ornamental value throughout the entire growing season.

Keywords: botanical garden, biodiversity, collection-exhibition "Shadow Garden", shade-tolerant and shade-loving perennials, urban landscaping

For citation: Bochkova I. J., Khokhlacheva J. A. [Perennials promising for urban greening under insufficient insolation (based on the collection-exposition "Shadow Garden" of the N.V. Tsitsin Main Botanical Garden of Russian Academy of Sciences)]. *Bulletin of Perm University. Biology*. Vol. 17, iss. 2 (2026): pp. 125-138. (In Russ.). <http://dx.doi.org/10.17072/1994-9952-2026-2-125-138>.

Financing: the work was carried out within the framework of the state assignment of the N.V. Tsitsin Main Botanical Garden of RAS "Biological diversity, resource potential and conservation of natural and cultural flora under climate and anthropogenic changes", state registration no. 126020916823-0.

Введение

В настоящее время введение ассортимента теневыносливых и тенелюбивых декоративных растений в городскую среду приобретает все большую перспективность и актуальность [Han, Yoo, 2020; Бочкова, Хохлачева, 2021; Хохлачева, 2021; Исаенко, 2022; Шелехова, 2023; Гусев и др., 2024; Yang et al, 2024; Čarni et al, 2025]. Связано это, в первую очередь, со старением территорий общественных мест пользования, таких как площади, парки, скверы, бульвары. Со временем древесные насаждения сильно разрастаются, увеличивая диаметр кроны и корневой системы. В местах, где раньше можно было создавать цветники из летников и светолюбивых многолетников, в настоящее время не растут не только цветочные культуры, но и газонное покрытие. Именно в таких местах заменить цветочные композиции могут теневыносливые растения. Но на сегодняшний день ассортимент многолетников, рекомендуемых для массового городского озеленения объектов различных режимов пользования, крайне ограничен и требует своего расширения за счет не только декоративных, но и устойчивых в культуре в рамках региона, хорошо переносящих городские условия видов.

Одна из основных задач ботанических садов – это сохранение биоразнообразия [Сангулия, 2021; Westwood et al, 2021; Hurdu et al, 2022; Li, Li, Zhao, 2023; Кузеванов, Лаевская, 2024; Mohd Radi, Baharuddin, Sani 2024; Neves, 2024; Blackmore, 2024; Ефимов, Дегтярева, Дацюк, 2025]. Кроме того, немаловажным является не только сохранение коллекционных фондов, состоящих как из представителей природной флоры, так и интродуцентов, перспективных для выращивания в регионе, но и обогащение региональной культурной флоры [Bondarina et al, 2020]. Главный ботанический сад им. Н.В. Цицина РАН (ГБС РАН) – не исключение. В лаборатории (ранее – отделе) декоративных растений ГБС РАН формирование коллекционного фонда началось практически с основания сада [Декоративные многолетники..., 1960]. Согласно годовым отчетам, первые поступления коллекционных образцов были зафиксированы в 1946 г. За период с 1947 по 1956 гг. была сформирована основа коллекционного фонда лаборатории, которая включала в себя более 5000 наименований декоративных многолетников. Основной упор при сборе коллекционных образцов делался на те многолетние культуры, которые наиболее сильно пострадали в годы войны (*Iris* L., *Paeonia* L., *Phlox* L., *Tulipa* L.). Поэтому для данных родовых комплексов поступления тех лет до настоящего времени являются основой коллекции [Цветочно-декоративные травянистые..., 1983; Травянистые декоративные многолетники..., 2009].

Кроме того, важным направлением пополнения коллекционного фонда являлся сбор малораспространенных, но перспективных для культивирования многолетников. Благодаря этому направлению работы в конце 1940-х гг. XX в. была заложена коллекция-экспозиция «Теневой сад» – собрание теневыносли-

вых и тенелюбивых представителей травяного яруса широколиственных лесов Северного полушария, а также ряд полукустарников.

Цель работы – выявление наиболее перспективных декоративных растений на базе коллекции-экспозиции «Теневой сад» ГБС РАН, перспективных для использования на различных городских объектах общественного пользования (площади, скверы, бульвары, парки) в условиях IV зоны зимостойкости по USDA.

Материалы и методы исследований

Работа проводилась на территории коллекции-экспозиции «Теневой сад» ГБС РАН. Были проанализированы данные, полученные в период с 1946 по 2025 гг. При формировании коллекции-экспозиции «Теневой сад», а также при дальнейшей работе по ее поддержанию и расширению, было использовано 3 метода интродукции:

1) фитоценотический [Карписонова, 1982], который предполагает формирование искусственно созданных растительных ценозов, где за основу берутся растительные сообщества;

2) эколого-географический [Аврорин, 1947], который заключается в объединении, в рамках территории экспозиции, растений по отдельным группам в соответствии с их приуроченностью к той или иной географической области;

3) дифференциальный ботанико-географический [Вавилов, 1935], который заключается в сборе растений с учетом их дифференциации в соответствии с их экологическими потребностями.

На территории коллекции-экспозиции ежегодно проводится комплекс наблюдений за растениями. Феноритмотипы определяются по методике И.В. Борисовой [1972]. Сезонный ритм и развитие исследуемых растений изучаются согласно общепринятым методикам [Методика фенологических наблюдений..., 1975], характер разрастания определялся, согласно описанию А.П. Орехова [1987]. Оценка успешности интродукции исследуемых растений проводится по двум методикам, разработанным В.Н. Быловым [1976] и В.В. Бакановой [1983]. Перспективность использования исследуемых растений в городских условиях оценивается с учетом принципов, разработанных Р.А. Карписоновой [2011].

Систематическая принадлежность исследуемых видов, а также их латинские названия указаны в соответствии с открытым Интернет-ресурсом [POWO: эл. ресурс].

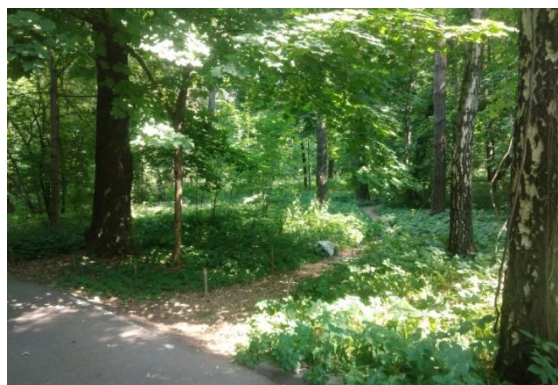
По данным осенней инвентаризации 2025 г., коллекция-экспозиция «Теневой сад» насчитывает 372 вида, 335 из которых – представители природной флоры различных регионов, 37 – сорта теневыносливых и тенелюбивых декоративных растений.

Результаты и их обсуждение

На территории коллекции-экспозиции «Теневой сад» был создан экотоп, который можно назвать типичным для широколиственных лесов. На экспозиции сложился специфический режим освещенности, который меняется в течение сезона. Наибольший уровень инсоляции (до 80%) наблюдается в период, который начинается с момента осеннего листопада и до момента раскрытия листьев у древесно-кустарниковых растений в весенний период. Наименьший уровень инсоляции фиксируется в летний период, когда уровень освещенности снижается до 15...20% (рис. 1).



а



б

Рис. 1. Территория коллекции-экспозиции «Теневой сад»: а) весна, б) лето
[Territory of the collection-exposition "Shadow Garden": a) spring, b) summer]

Экспонируемые растения размещены на территории коллекции-экспозиции в соответствии с их географическим происхождением. В рамках сложившейся структуры представлен ряд участков, которые

представляют травяной ярус различных географических территорий: Восточная Европа, Дальний Восток, Кавказ, Карпаты, Крым, Северная Америка, Сибирь, Средняя Азия (рис. 2). Кроме того, на территории экспозиции расположены 2 горки, растения на которых размещены без учета их распространения.

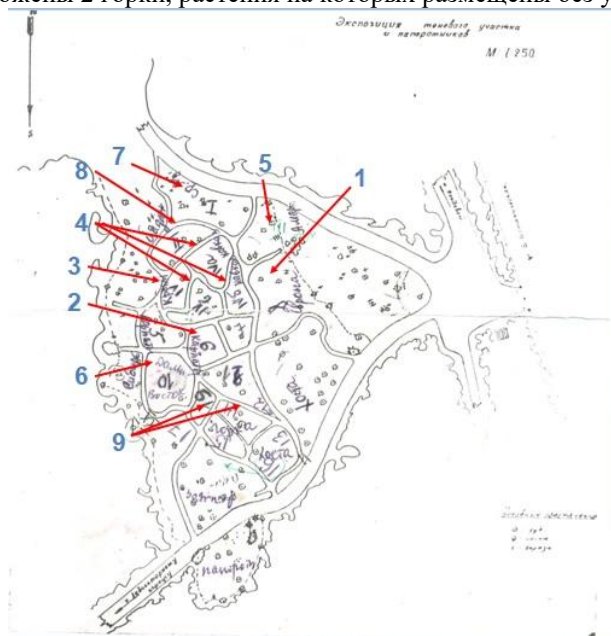


Рис. 2. План коллекции-экспозиции «Теневой сад» (участки: Восточная Европа (1), Карпаты (2), Крым (3), Кавказ (4), Северная Америка (5), Дальний Восток (6), Средняя Азия (7), Сибирь (8), 2 горки без учета географической принадлежности (9))

[The plan of the collection-exposition "Shadow Garden" (sections: Eastern Europe (1), Carpathians (2), Crimea (3), Caucasus (4), North America (5), Far East (6), Central Asia (7), Siberia (8), 2 rockeries without geographical affiliation (9))]

За более чем 80-летний период существования коллекции-экспозиции было испытано более 1000 наименований теневыносливых и тенелюбивых многолетников из различных регионов. Данный многолетний эксперимент позволил выделить 150 видов теневыносливых и тенелюбивых растений, в том числе и полукустарников, которые оказались перспективными и очень перспективными в культуре в условиях IV зоны зимостойкости по USDA. Для массового городского озеленения на различных городских объектах общественного пользования рекомендован ассортимент, включающий в себя 58 наименований

Список рекомендуемых декоративных растений, перспективных для массового городского озеленения объектов общего пользования

1. *Actaea erythrocarpa* Fisch. (Воронец красноплодный).
2. *Actaea spicata* L (Воронец колосистый).
3. *Ajuga reptans* L (Живучка ползучая).
4. *Anemonastrum canadense* (L.) Mosyakin = *Anemone canadensis* L. (Ветреница канадская).
5. *Aruncus dioicus* (Walter) Fernald (Волжанка двудомная).
6. *Aruncus sylvester* var. *sylvester* = *Aruncus asiaticus* Pojark. (Волжанка азиатская).
7. *Astrantia maxima* Pall. (Астранция наибольшая).
8. *Athyrium rubripes* (Kom.) Kom. (Кочедыжник красночерешковый).
9. *Brachybotrys paridiformis* Maxim. ex Oliv. (Короткокистник воронеглазый).
10. *Cardamine glanduligera* O. Schwarz = *Dentaria glandulosa* Waldst. & Kit. (Зубянка железистая).
11. *Cicerbita macrophylla* (Willd.) Wallr. (Цицербита крупнолистная).
12. *Darmera peltata* (Torr. ex Benth.) Voss = *Peltiphyllum peltatum* (Torr. ex Benth.) Engl. (Пельтифиллум щитовидный).
13. *Dryopteris crassirhizoma* Nakai = *D. buschiana* Fomin (Щитовник толстокорневищный).
14. *Epimedium* × *rubrum* C. Morren (Горянка красная).
15. *Epimedium* × *versicolor* hort. 'Sulphureum' (Горянка разноцветная).
16. *Epimedium alpinum* L. (Горянка альпийская).
17. *Epimedium perralderianum* Coss. (Горянка Перральдери).
18. *Epimedium pinnatum* subsp. *colchicum* (Boiss.) N. Busch = *E. colchicum* (Boiss.) Trautv. (Горянка колхидская).
19. *Filipendula camtschatica* (Pall.) Maxim. (Лабазник камчатский).
20. *Galium odoratum* (L.) Scop. = *Asperula odorata* L (Подмаренник душистый).
21. *Geranium phaeum* L. (Герань темно-бурая).
22. *Hydrophyllum canadense* L. (Водолистник канадский).
23. *Hylomecon vernalis* Maxim. (Лесной мак весенний).
24. *Inula magnifica* Lipsky (Девясил великолепный).
25. *Isopyrum thalictroides* L. (Равноплодник василистниковый).
26. *Lamium galeobdolon* subsp. *galeobdolon* = *Galeobdolon luteum* Huds. (Зеленчук желтый).
27. *Luzula luzuloides* (Lam.) Dandy & Wilmott (Ожика ожиковидная).
28. *Luzula sylvatica* (Huds.) Gaudin (Ожика лесная).
29. *Omphalodes verna* Moench (Пупочник весенний).
30. *Pachyphragma macrophyllum* (Hoffm.) N. Busch (Толстостенка крупнолистная).
31. *Pachysandra terminalis* Siebold et Zucc (Пахизандра верхушечная).
32. *Petasites hybridus* (L.) G. Gaertn.,

B. Mey. & Scherb. (Белокопытник гибридный). 33. *Petasites japonicus* subsp. *giganteus* Kitam. = *Petasites amplius* Kitam. (Белокопытник широкий). 34. *Phedimus stoloniferus* (S.G. Gmel.) 't Hart = *Sedum stoloniferum* S.G. Gmel. (Очиток побегоносный). 35. *Podophyllum hexandrum* Royle = *P. emodi* Wall. ex Honigberger (Подофилл Эмода). 36. *Podophyllum peltatum* L. (Подофилл щитовидный). 37. *Polygonatum biflorum* (Walter) Elliott (Купена двухцветковая). 38. *Polygonatum humile* Fisch. ex Maxim. (Купена приземистая). 39. *Polygonatum involucratum* (Franch. & Sav.) Maxim. (Купена обертковая). 40. *Polygonatum latifolium* (Jacq.) Desf. (Купена волосистая). 41. *Polygonatum multiflorum* (L.) All. (Купена многоцветковая). 42. *Polygonatum odoratum* (Mill.) Druce (Купена душистая). 43. *Polygonatum odoratum* var. *odoratum* = *Polygonatum obtusifolium* Weinm. (Купена туполистная). 44. *Polygonatum verticillatum* (L.) All. (Купена мутовчатая). 45. *Pulmonaria angustifolia* L. (Медуница узколистная). 46. *Pulmonaria rubra* Schott (Медуница красная). 47. *Rodgersia aesculifolia* Batalin (Роджерсия конскокаштановидная). 48. *Rodgersia pinnata* Franch. (Роджерсия перистая). 49. *Rodgersia podophylla* A.Gray (Роджерсия подофиллоидная). 50. *Rodgersia sambucifolia* Hemsl. (Роджерсия бузинолистная). 51. *Scopolia carniolica* Jacq. (Скополия карниольская). 52. *Symphytum caucasicum* M. Bieb. = *S. caucasicum* D. Don (Окопник кавказский). 53. *Symphytum cordatum* Waldst. & Kit. ex Willd. (Окопник сердцевидный). 54. *Symphytum grandiflorum* DC. (Окопник крупноцветковый). 55. *Thalictrum aquilegifolium* L. (Василисник водосборолистный). 56. *Veronicastrum sibiricum* (L.) Pennell (Вероникаструм сибирский). 57. *Vinca minor* L. (Барвинок малый). 58. *Waldsteinia geoides* Willd. (Вальдштейния гравилатовидная).

Рекомендуемые растения – представители флоры различных регионов: Дальнего Востока, Карпат, Крыма, Кавказа, Средней Азии, Сибири, Восточной Европы и Северной Америки. Большинство из них имеет поверхностную корневую систему, что позволяет им расти в непосредственной близости от стволов крупных деревьев (*Galium odoratum*, *Lamium galeobdolon* subsp. *galeobdolon*, *Vinca minor*). Такое их свойство особенно ценно при использовании на тех объектах ландшафтной архитектуры, где представлены старовозрастные древесные насаждения.

В рамках данной работы было проведено распределение рекомендуемых растений по окраске их цветков (рис. 3).

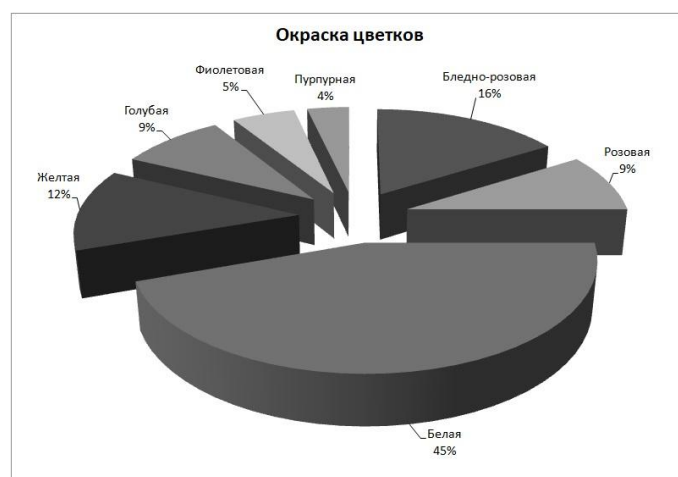


Рис. 3. Распределение исследуемых растений по окраске цветков
[Distribution of the studied plants by flower color]

Окраска цветков и соцветий – один из важных параметров при оценке декоративности растений. Для территорий, где наблюдается недостаточный уровень инсоляции, предпочтительнее использование растений со светлыми, пастельными окрасками, так как они высветляют пространство и хорошо заметны на фоне листвы [Соколова, Бочкова, Бобылева, 2007; Бочкова, 2017]. На рис. 3 представлено распределение исследуемых растений по окраске цветков. Среди рекомендуемых декоративных травянистых многолетников почти 43% занимают растения с белой окраской; 15.3% – с бледно-розовой, 12.0% – с желтой окраской, по 9% приходится на голубую и розовую окраску, 5.1 % – с фиолетовой и 3.3% – с пурпурной окраской. 3.3% занимают папоротники (*Athyrium rubripes*, *Dryopteris crassirhizoma*).

Еще один важный показатель – продолжительность декоративности растений. Он определяется сроками и длительностью цветения, а также сроками и длительностью вегетации (феноритмотипами). Исследуемые растения были распределены по 4 группам: эфемероиды, весенне-летне-осеннезеленые, вечнозеленые, а также зимнезеленые (рис. 4).

На рис. 4 видно, что среди рекомендуемых растений большая часть относится к группе весенне-летне-осеннезеленых (почти 83%). Они сохраняют декоративность в течение всего сезона, часто имеют несколько волн роста. Установлено, что 9% видов относятся к зимнезеленым (все представители рода

Epimedium Tourn. ex L.). Такие растения характеризуются сохранением листвы в течение зимы под снегом. В зимний период обмен веществ замедляется, но листья остаются живыми. Старые листья часто сменяются новыми уже в весенне-летний период.

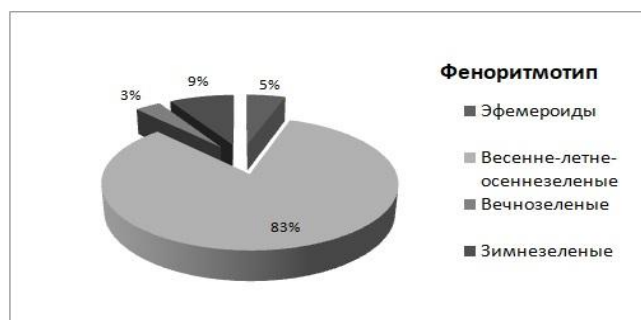


Рис. 4. Распределение исследуемых растений по феноритмотипу
[Distribution of the studied plants by phenorhythmotype]

Наиболее ценными с точки зрения длительности декоративности являются вечнозеленые растения. Для городских объектов отобрано два вида – *Pachysandra terminalis* и *Vinca minor*.

Растения из группы эфемероидов обеспечивают раннее цветение, практически сразу после схода снега, при этом имеют короткий период вегетации и уже в начале лета уходят на покой (*Cardamine glanduligera*, *Hylomecon vernalis*, *Isopyrum thalictroides*). Как правило, к началу летнего периода от них в цветниках остаются пустые места. Для продления декоративности в цветниках необходимо предусматривать для эфемероидов совместную посадку с видами из группы весенне-летне-осеннезеленых или зимнезеленых растений.

В рамках данной работы был составлен календарь цветения. Он представлен в таблице.

Календарь цветения исследуемых растений
[The flowering calendar of the studied plants]

Наименование	Март	Апрель	Май	Июнь	Июль	Август	Сентябрь	Октябрь
<i>Actaea erythrocarpa</i> Fisch. (Воронец красноплодный)								
<i>Actaea spicata</i> L (Воронец колосистый)								
<i>Ajuga reptans</i> L (Живучка ползучая)								
<i>Anemonastrum canadense</i> (L.) Mosyakin = <i>Anemone canadensis</i> L. (Ветреница канадская)								
<i>Aruncus dioicus</i> (Walter) Fernald (Волжанка двудомная)								
<i>Aruncus sylvester</i> var. <i>sylvester</i> = <i>A. asiaticus</i> Pojark. (Волжанка азиатская)								
<i>Astrantia maxima</i> Pall. (Астранция наибольшая)								
<i>Brachybotrys paridiformis</i> Maxim. ex Oliv. (Короткокистник воронеглазый)								
<i>Cardamine glanduligera</i> O.Schwarz = <i>Dentaria glandulosa</i> Waldst. & Kit. (Зубянка железистая)								
<i>Cicerbita macrophylla</i> (Willd.) Wallr. (Цицербита крупнолистная)								

Наименование	Март	Апрель	Май	Июнь	Июль	Август	Сентябрь	Октябрь
<i>Darmera peltata</i> (Torr. ex Benth.) Voss = <i>Peltiphyllum peltatum</i> (Torr. ex Benth.) Engl. (Пельтифиллум щитовидный)								
<i>Epimedium</i> × <i>rubrum</i> C. Morren (Горянка красная)								
<i>Epimedium</i> × <i>versicolor</i> hort. 'Sulphureum' (Горянка разноцветная)								
<i>Epimedium alpinum</i> L. (Горянка альпийский)								
<i>Epimedium perralderianum</i> Coss. (Горянка Перральдери)								
<i>Epimedium pinnatum</i> subsp. <i>colchicum</i> (Boiss.) N. Busch = <i>E. colchicum</i> (Boiss.) Trautv. (Горянка колхидская)								
<i>Filipendula camtschatica</i> (Pall.) Maxim. (Лабазник камчатский)								
<i>Galium odoratum</i> (L.) Scop. = <i>Asperula odorata</i> L (Подмаренник душистый)								
<i>Geranium phaeum</i> L. (Герань темно-бурая)								
<i>Hydrophyllum canadense</i> L. (Водолистник канадский)								
<i>Hylomecon vernalis</i> Maxim. (Лесной мак весенний)								
<i>Inula magnifica</i> Lipsky (Девясил великолепный)								
<i>Isopyrum thalictroides</i> L. (Равноплодник василистниковый)								
<i>Lamium galeobdolon</i> subsp. <i>galeobdolon</i> = <i>Galeobdolon luteum</i> Huds. (Зеленчук желтый)								
<i>Luzula luzuloides</i> (Lam.) Dandy & Wilmott (Ожика ожиковидная)								
<i>Luzula sylvatica</i> (Huds.) Gaudin (Ожика лесная)								
<i>Omphalodes verna</i> Moench (Пупочник весенний)								
<i>Pachyphragma macrophyllum</i> (Hoffm.) N. Busch (Толстостенка крупнолистная)								
<i>Pachysandra terminalis</i> Siebold et Zucc (Пахизандра верхушечная)								

Наименование	Март	Апрель	Май	Июнь	Июль	Август	Сентябрь	Октябрь
<i>Petasites hybridus</i> (L.) G. Gaertn., B. Mey. & Scherb. (Белокопытник гибридный)								
<i>Petasites japonicus</i> subsp. <i>giganteus</i> Kitam. = <i>P. amplius</i> Kitam. (Белокопытник широкий)								
<i>Phedimus stoloniferus</i> (S.G. Gmel.) 't Hart = <i>Sedum stoloniferum</i> S.G. Gmel. (Очиток побегоносный)								
<i>Podophyllum hexandrum</i> Royle = <i>P. emodi</i> Wall. ex Honigberger (Подофилл Эмода)								
<i>Podophyllum peltatum</i> L. (Подофилл щитовидный)								
<i>Polygonatum biflorum</i> (Walter) Elliott (Купена двухцветковая)								
<i>Polygonatum humile</i> Fisch. ex Maxim. (Купена приземистая)								
<i>Polygonatum involucreatum</i> (Franch. & Sav.) Maxim. (Купена оберточная)								
<i>Polygonatum latifolium</i> (Jacq.) Desf. (Купена волосистая)								
<i>Polygonatum multiflorum</i> (L.) All. (Купена многоцветковая)								
<i>Polygonatum odoratum</i> (Mill.) Druce (Купена душистая)								
<i>Polygonatum odoratum</i> var. <i>odoratum</i> = <i>P. obtusifolium</i> Weinm. (Купена туполистная)								
<i>Polygonatum verticillatum</i> (L.) All. (Купена мутовчатая)								
<i>Pulmonaria angustifolia</i> L. (Медуница узколистная)								
<i>Pulmonaria rubra</i> Schott (Медуница красная)								
<i>Rodgersia aesculifolia</i> Batalin (Роджерсия конскокаштанолистная)								
<i>Rodgersia pinnata</i> Franch. (Роджерсия перистая)								
<i>Rodgersia podophylla</i> A. Gray (Роджерсия подофилловая)								
<i>Rodgersia sambucifolia</i> Hemsl. (Роджерсия бузинолистная)								

Наименование	Март	Апрель	Май	Июнь	Июль	Август	Сентябрь	Октябрь
<i>Scopolia carniolica</i> Jacq. (Скополия карниольская)								
<i>Symphytum caucasicum</i> M. Bieb. = <i>S. caucasicum</i> D. Don (Окопник кавказ- ский)								
<i>Symphytum cordatum</i> Waldst. & Kit. ex Willd. (Окопник сердцевидный)								
<i>Symphytum grandiflorum</i> DC. (Окопник крупноцвет- ковый)								
<i>Thalictrum aquilegiifolium</i> L. (Василисник водосбо- ролистный)								
<i>Veronicastrum sibiricum</i> (L.) Pennell (Вероника- струм сибирский)								
<i>Vinca minor</i> L. (Барвинок малый)								

Самое раннее цветение (в марте) обеспечивают *Omphalodes verna* (цветет 3 месяца) и *Pachysandra terminalis* (цветение продолжается до 2-х месяцев). В апреле цветение начинается у 12 видов (около 21%). У большинства видов из этой группы цветение длится 2 месяца. Исключение составляют *Podophyllum peltatum*, цветущий 3 месяца и *Scopolia carniolica*, которая цветет в течение месяца.

В мае цветение продолжается у 27 видов растений (46%). Большинство видов цветут в течение 2-х месяцев. В июне зацветает 6 видов, в их числе *Polygonatum verticillatum*, *Rodgersia podophylla*, *Thalictrum aquilegiifolium*. Однако за счет длительного цветения видов с ранними сроками зацветания всего в июне на экспозиции фиксируется цветение у 35 видов (почти 59% рекомендуемых видов).

Аналогичная картина наблюдается и в июле. Зацветает 5 видов: *Astrantia maxima*, *Cicerbita macrophylla*, *Filipendula camtschatica*, *Inula magnifica* и *Phedimus stoloniferus*. При этом общее количество цветущих растений в этом время насчитывает 18 видов. Во второй половине лета (август) цветет 9 видов, в основном за счет доцветающих растений предыдущих сроков цветения.

Анализ рекомендуемых для городского озеленения теневых растений показал, что у большей части видов цветение приходится на весенние (март – май) и летние (июнь – август) месяцы. Осенью теневой цветник декоративен за счет зимнезеленых и вечнозеленых растений, папоротников и осенней окраски ряда растений.

Высота растений также учитывается при создании теневых цветников. В рекомендуемый список вошли растения из разных групп по высоте. Основная масса растений относится к группе с высотой от 15 до 30 см (17 видов), 13 видов имеют высоту от 60 до 100 см, 7 видов – высотой 30–40 см, от 40 до 60 см – 13 видов и 8 видов, которые относятся к группе растений с высотой 150–200 см.

Такое разнообразие растений по высоте дает возможность создавать не только низкорослые, почвопокровные композиции, но и классический цветник с разными ярусами растений.

При создании цветников и композиций из теневых растений большое значение имеет их характер разрастания. По этому показателю рекомендуемые растения делятся на 3 группы: кустовые (образуют компактное растение с мало изменяющимися границами), куртинные (образуют в процессе роста кусты с нечеткими границами) и зарослевые (активно разрастающиеся, образующие пятна и заросли неопределенной формы, такие виды еще называют почвопокровные) (рис. 5).

На рис. 5 видно, что основная масса растений из рекомендуемого списка имеют зарослевый характер роста (45 видов), т. е. их можно использовать при создании напочвенного покрова под кронами старых деревьев, они мало подходят для создания классического миксбордера. 8 видов относятся к группе куртинных многолетников: *Actaea erythrocarpa*, *Actaea spicata*, *Aruncus sylvestris* var. *sylvestris* и *Aruncus dioicus*, *Astrantia maxima*, *Athyrium rubripes*, *Geranium phaeum*, *Pachyphragma macrophyllum*, *Pulmonaria angustifolia* и *Thalictrum aquilegiifolium*. Эти виды можно рекомендовать для групповых посадок разной высоты среди почвопокровных зарослей. И только 3 вида (*Podophyllum hexandrum*, *Scopolia carniolica*, *Veronicastrum sibiricum*) относятся к группе кустовидных растений.

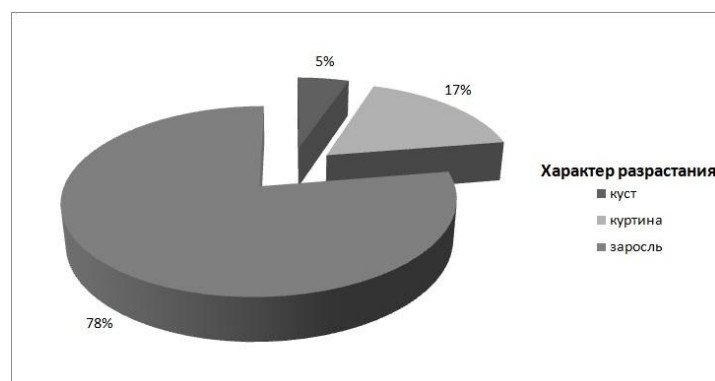


Рис. 5. Распределение растений по характеру разрастания
[Distribution of plants by growth pattern]

Учитывая разный характер разрастания рекомендуемых растений, представляет интерес разработка технологии создания теневых композиций методом совмещенной (послойной) посадки. При этом основу композиции должны составлять зарослевые (почвопокровные) растения, которые могут дополняться группами растений, имеющих куртинный и кустовой характер разрастания. Такие композиции можно дополнять эфемероидными корневищными и луковичными растениями, внедряя их между почвопокровными растениями. Данный способ создания теневых композиций обеспечивает длительную и стабильную декоративность, особенно при использовании вечнозеленых растений.

На территории г. Москвы уже создан объект, где высажены композиции, в которых учитываются не только экологические особенности используемых растений, базовые принципы создания цветочных композиций, но и разный характер разрастания рекомендуемых растений – «Березовая роща» на территории дома культуры «ГЭС-2» (рис. 6).

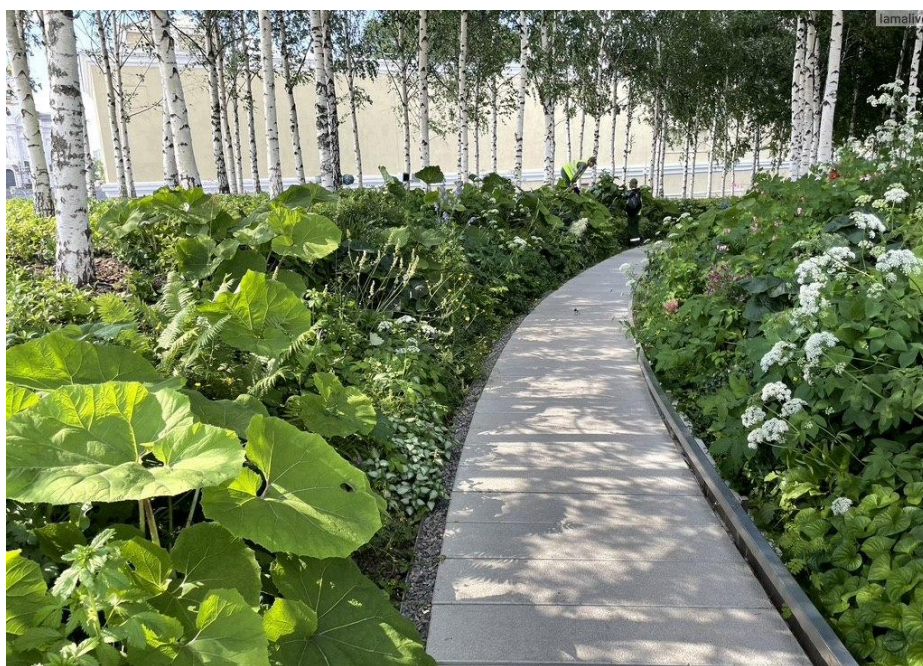


Рис. 6. «Березовая роща», дом культуры «ГЭС-2»
["Birch Grove", GES-2 House of Culture]

Выводы

В результате длительного интродукционного эксперимента (с 1946 по 2025 г.) выявлен перечень декоративных растений, перспективных для использования на различных городских объектах общественного пользования (площади, скверы, бульвары, парки), который включает в себя 58 наименований.

На участках в тени предпочтительно использование растений со светлыми, пастельными окрасками. Выявлено, что среди рекомендуемых декоративных многолетников почти 43% занимают растения с белой окраской цветков.

Представлен календарь цветения рекомендуемых декоративных растений.

Проанализирован характер разрастания исследуемых образцов. Примечательно, что у большинства растений зарослевый характер роста (45 видов). Это позволяет использовать данные виды при создании напочвенного покрова под кронами старых деревьев.

Для групповых посадок разной высоты рекомендуются многолетники с куртинным характером разрастания – *Actaea erythrocarpa*, *Actaea spicata*, *Aruncus sylvestris* var. *sylvestris* и *Aruncus dioicus*, *Astrantia maxima*, *Athyrium rubripes*, *Geranium phaeum*, *Pachyphragma macrophyllum*, *Pulmonaria angustifolia* и *Thalictrum aquilegifolium*.

Проанализирована продолжительность декоративности растений. Исследуемые растения распределены по 4 группам: эфемероиды, весеннее-летне-осеннезеленые, вечнозеленые, а также зимнезеленые. Установлено, что 83% относится к группе весенне-летне-осеннезеленых, которые сохраняют декоративность в течение всего вегетационного периода. Выявлено два вечнозеленых полукустарника (*Pachysandra terminalis* и *Vinca minor*¹).

Список источников

1. Аврорин Н.А. Географическая закономерность интродукции растений в Полярном ботаническом саду // Доклады Академии наук СССР. 1947. Т. 55, № 5. С. 449–452.
2. Баканова В.В. Цветочно-декоративные многолетники открытого грунта. Киев: Наукова думка, 1983. 156 с.
3. Борисова И.В. Сезонная динамика растительного сообщества // Полевая геоботаника. Л.: Наука, 1972. Т. 4. С. 5–94.
4. Бочкова И.Ю. Создаем красивый цветник: Принципы подбора ассортимента растений. Основы проектирования. М.: Фитон XXI, 2017. 263 с.
5. Бочкова И.Ю., Хохлачева Ю.А. Исследование почвопокровных растений с целью их использования на объектах ландшафтной архитектуры // Лесной вестник. 2021. Т. 25, № 1. С. 53–63. DOI: 10.18698/2542-2021-1-53-63. EDN: RUJSNZ.
6. Былов В.Н. Основы сравнительной сортооценки декоративных растений при интродукции: автореф. дис. ... докт. биол. наук. М., 1976. 42 с.
7. Вавилов Н.И. Ботанико-географические основы селекции. М.; Л.: Огиз-Сельхозгиз, 1935. 60 с.
8. Гусев А.В. и др. Возможности использования некоторых представителей родов *Paonia* L. и *Hosta* Tratt. в составе ландшафтных композиций на городских объектах общего пользования // Известия Санкт-Петербургской лесотехнической академии. 2024. Вып. 248. С. 138–159. DOI: 10.21266/2079-4304.2024.248.138-159. EDN: YFJGIM.
9. Декоративные многолетники: краткие итоги интродукции в Главном ботаническом саду. М.: Изд-во АН СССР, 1960. 333 с.
10. Ефимов С.В., Дегтярева Г.В., Дацюк Е.И. Научная ценность коллекций живых растений, собранных в ботанических садах // Бюллетень Московского общества испытателей природы. Отдел биологический. 2025. Т. 130, № 5. С. 12–22. DOI: 10.55959/MSU0027-1403-BB-2025-130-5-12-22. EDN: PKOUP1.
11. Исаенко Т.Н. Травянистые многолетники для озеленения теневого сада // Аграрная наука. 2022. № 5. С. 109–112. DOI: 10.32634/0869-8155-2022-359-5-109-112. EDN: LQDZIH.
12. Карпионов Р.А. Фитоценотический метод интродукции растений // Докл. VIII конференции дендрологов. Тбилиси, 1982. С. 221–222.
13. Карпионов Р.А. Принципы подбора декоративных многолетников для городских цветников // Бюллетень ГБС. 2011. Вып. 197. С. 132–137. EDN: TMFBRF.
14. Кузеванов В.Я., Лаевская А.В. Изменение миссии ботанических садов в системах природопользования и сохранения растений // Ботанические сады и озеленение населенных мест: материалы Всероссийской науч.-практ. конф. Симферополь, 2024. С. 35–42. DOI: 10.5281/zenodo.12732541. EDN: ANDYKJ.
15. Методика фенологических наблюдений в ботанических садах СССР. М., 1975. 136 с.
16. Орехов А.П. Принципы биологически обоснованного подбора многолетников для композиции посадок: автореф. дис. ... канд. биол. наук. М., 1987. 24 с. EDN: ZLGMFZ.
17. Сангулия А.Н. Теневыносливые растения в экспозиции Сухумского ботанического сада // Биологическое разнообразие. Интродукция растений. СПб.: Первый ИПХ, 2021. С. 148–151. DOI: 10.24412/cl-36598-2021-1-148-151. EDN: OMUQML.
18. Соколова Т.А., Бочкова И.Ю., Бобылева О.Н. Цвет в ландшафтном дизайне. М.: Фитон+, 2007. 128 с.
19. Травянистые декоративные многолетники Главного ботанического сада им. Н.В. Цицина РАН: 60 лет интродукции. М.: Наука, 2009. 396 с.

¹ В большинстве литературных источников указывается, что пахизандра верхушечная – это травянистый многолетник, а барвинок малый – вечнозеленый кустарничек (Прим. отв. ред.).

20. Трулевич Н.В. Эколого-фитоценотические основы интродукции растений. М.: Наука, 1991. 213 с.
21. Хохлачева Ю.А. Теневыносливые низкорослые и почвопокровные многолетники, перспективные для введения в городское озеленение (на базе коллекции-экспозиции «Теневой сад» ГБС РАН) // Биологическое разнообразие. Интродукция растений. СПб.: Первый ИПХ, 2021. С. 209–212. DOI: 10.24412/cl-36598-2021-1-209-212. EDN: PPQGNR.
22. Цветочно-декоративные травянистые растения (краткие итоги интродукции). М.: Наука, 1983. 272 с.
23. Шелехова О.М. Возможности использования *Astilbe* в городском озеленении // Ботанические сады в современном мире. СПб., 2023. С. 229–232. DOI: 10.24412/cl-36595-2023-3-229-232. EDN: HTQLOO.
24. Blackmore S. Botanic gardens are vital for delivering the Kunming-Montreal global biodiversity framework // Biological Diversity. 2024. Vol. 1, № 3-4. P. 120–123. DOI: 10.1002/bod2.12022. EDN: ZESFDG.
25. Bondorina I.A. et al. Collection Fund of the Laboratory of Ornamental Plants of the Tsitsin Main Botanical Garden: Historical Overview and Current State // Moscow University Biological Sciences Bulletin. 2020. Vol. 75(2). P. 83–88. DOI: 10.3103/S0096392520020017. EDN: BTTMJT.
26. Han S.W., Yoo S.Yu. Selection of Urban Shade Tolerant Ground Cover Plant Through Photochemical Assessment // Korean Journal of Soil Science and Fertilizer. 2020. Vol. 53, № 1. P. 82–94. DOI: 10.7745/kjssf.2020.53.1.082. EDN: HVDLGN.
27. Čarni A. et al. Horticultural Potential of the Flora from Karstic Dolines in the Northern Dinarides // Horticulturae. 2025. Vol. 11, № 11. Art. 1355. DOI: 10.3390/horticulturae11111355. EDN: FFFFFG.
28. Hurdu B.I. et al. Ex situ conservation of plant diversity in Romania: A synthesis of threatened and endemic taxa // Journal for Nature Conservation. 2022. Vol. 68. Art. 126211. DOI: 10.1016/j.jnc.2022.126211. EDN: ZDFXFW.
29. Li Y., Li Sh., Zhao G. Spatiotemporal development of national botanic gardens worldwide and their contributions to plant diversity conservation from 1593 to 2023 // Frontiers in Forests and Global Change. 2023. Vol. 6. DOI: 10.3389/ffgc.2023.1310381. EDN: NSNSGR.
30. Mohd Radi N.N., Baharuddin Z.M.B.Hj., Sani Ja.B.Ab. Kepong botanical Garden: the role and challenge towards conservation plant diversity // Journal of Architecture, Planning and Construction Management. 2024. Vol. 14, № 2. DOI 10.31436/japcm.v14i2.886. EDN: XKWNYN.
31. Neves K.G. Botanic Gardens in Biodiversity Conservation and Sustainability: History, Contemporary Engagements, Decolonization Challenges, and Renewed Potential // Journal of Zoological and Botanical Gardens. 2024. Vol. 5, № 2. P. 260–275. DOI 10.3390/jzbg5020018. EDN: UCNNT.
32. POWO: Plants of the World Online [Электронный ресурс]. URL: <https://powo.science.kew.org>. (дата обращения: 11.04.2026).
33. Yang Yu. et al. Towards a conceptual design framework for bee botanic gardens: integrating perceptions on urban biodiversity into landscape design processes // Urban Ecosystems. 2024. Vol. 27, № 6. P. 2613–2633. DOI 10.1007/s11252-024-01589-z. EDN: DFRXTT.
34. Westwood M. et al. Botanic garden solutions to the plant extinction crisis // Plants People Planet. 2021. Vol. 3, № 1. P. 22–32. DOI 10.1002/ppp3.10134. EDN: YJKLTC.

References

11. Avrorin N.A. [Geographical pattern of plant introduction in the Polar Botanical Garden]. *Doklady Akademii Nauk SSSR*. 1947. V. LV, No. 5 (1947): pp. 449–452. (In Russ.).
2. Bakanova V.V. *Cvetočno-dekorativnye mnogoletniki otkrytogo grunta* [Flower-decorative perennials of the open ground]. Kiev: Naukova dumka Publ., 1983. 156 p. (In Russ.).
3. Borisova I.V. [Seasonal dynamics of the plant community]. *Polevaja geobotanika*. Leningrad: Nauka Publ. V. 4 (1972): pp. 5–94. (In Russ.).
4. Bochkova I.Yu. *Sozdaem krasivyy cvetnik: Principy podbora assortimenta rastenij. Osnovy proektirovaniya* [Creating a beautiful flower garden: Principles of selection of an assortment of plants. Fundamentals of design]. Moscow, Fiton XXI Publ., 2017. 263 p. (In Russ.).
5. Bochkova I.Yu., Khokhlacheva Yu.A. [Ground cover plants research for objects of landscape architecture]. *Lesnoj vestnik*. V. 25, No. 1 (2021): pp. 53–63. (In Russ.). DOI 10.18698/2542-2021-1-53-63.
6. Bylov V.N. *Osnovy sravnitel'noj sortoocenki dekorativnykh rastenij pri introdukcii*. Avtoref. diss. doct. biol. nauk [Fundamentals of comparative variety assessment of ornamental plants during introduction. Abstract Doct. Diss.]. Moscow, 1976. 42 p. (In Russ.).
7. Vavilov N.I. *Botaniko-geografičeskie osnovy selekcii* [The botanical and geographical foundations of breeding]. Moscow-Leningrad, Ogiz-Sel'chozgiz Publ., 1935. 60 p. (In Russ.).
8. Gusev A.V., Mamayeva N.A., Malova D.R., Sharafetdinova D.M., Khokhlacheva Yu.A. [The possibilities of using some representatives of the genera *Paeonia* L. and *Hosta* Tratt. as part of landscape compositions on urban public facilities]. *Izvestija Sankt-Peterburgskoj lesotekhnicheskoy akademii*. Iss. 248 (2024): pp. 138–159. (In Russ.). DOI: 10.21266/2079-4304.2024.248.138-159.

9. *Dekorativnye mnogoletniki: kratkie itogi introdukcii v Glavnom botaničeskom sadu* [Decorative perennials: brief results of the introduction in the Main Botanical Garden]. Moscow, Publishing House of the USSR Academy of Sciences, 1960. 333 p. (In Russ.).
10. Efimov S.V., Degtyareva G.V., Daczyuk E.I. [The scientific value of collections of living plants collected in the botanical gardens]. *Bjulleten` Moskovskogo obščestva ispytatelej prirody`. Otdel biologičeskij*. 2025. V. 130, No. 5 (2025): pp. 12-22. (In Russ.).
11. Isaenko T.N. [Herbaceous perennials for gardening shade garden]. *Agrarnaja nauka*. No. 5 (2022): pp. 109-112. (In Russ.). DOI: 10.32634/0869-8155-2022-359-5-109-112. EDN: LQDZIH.
12. Karpisonova R.A. [Phytocenotic method of plant introduction]. *Doklady VIII konferencii dendrologov* [Reports of the VIII Conference of Dendrologists]. Tbilisi, 1982. pp. 221-222. (In Russ.).
13. Karpisonova R.A. [Principles of selection of decorative perennials for urban flower beds]. *Bjulleten` GBS*. Iss. 197 (2011): pp. 132-137. (In Russ.).
14. Kuzevanov V.Ya., Laevskaya A.V. [Changing the mission of botanical gardens in the systems of nature management and plant conservation]. *Botaničeskije sady i ozelenenie naselennykh mest. Materialy Vserossijskoj naučno-praktičeskoj konferencii* [Botanical gardens and landscaping of populated areas: materials of the All-Russian Scientific and Practical Conference]. Simferopol, 2024, pp. 35-42. (In Russ.). DOI: 10.5281/zenodo.12732541. EDN: AHDYKJ.
15. *Metodika fenologičeskikh nabljudenij v botaničeskich sadach SSSR* [The methodology of phenological observations in the botanical gardens of the USSR]. Moscow, 1975. 136 p.
16. Orexov A.P. *Principy` biologičeski obosnovannogo podbora mnogoletnikov dlja kompozicii posadok*. Avtoref. diss. kand. biol. nauk [Principles of biologically based selection of perennials for the composition of plantings. Abstract Cand. Diss.]. Moscow, 1987. 24 p. (In Russ.).
17. Sanguliya A.N. [Shadow plants in the exposition of the Sukhum botanical garden]. *Biologičeskoe raznoobrazie. Introdukcija rastenij*. Saint-Petersburg, Pervyj IPX Publ., 2021, pp. 148-151. (In Russ.). DOI: 10.24412/cl-36598-2021-1-148-151. EDN: OMUQML.
18. Sokolova T.A., Bochkova I.Yu., Bobyleva O.N. *Cvet v landšaftnom dizajne* [Color in landscape design]. Moscow, ZAO «Fiton +» Publ., 2007. 128 p. (In Russ.).
19. *Travjanistye dekorativnye mnogoletniki Glavnogo botaničeskogo sada im. N.V. Cicina RAN: 60 let introdukcii* [Herbaceous ornamental perennials of the N.V. Tsitsin Main Botanical Garden of the Russian Academy of Sciences: 60 years of introduction]. Moscow, Nauka Publ., 2009. 396 p. (In Russ.).
20. Trulevich N.V. *Èkologo-fitocenozičeskije osnovy introdukcii rastenij* [Ecological and phytocenotic bases of plant introduction]. Moscow, Nauka Publ., 1991. 213 p. (In Russ.).
21. Khokhlacheva Yu.A. [Shade-tolerant low-growing and ground-cover perennials, promising for introduction to urban landscaping (on the basis of the collection-exhibition «Shadow garden» of the MBG RAS)]. *Biologičeskoe raznoobrazie. Introdukcija rastenij*. Saint-Petersburg, Pervyj IPX Publ., 2021, pp. 209-212. (In Russ.). DOI: 10.24412/cl-36598-2021-1-209-212. EDN: PPQGNR.
22. *Cvetočno-dekorativnye travjanistye rastenija (kratkie itogi introdukcii)* [Floral and ornamental herbaceous plants (summary of the introduction)]. Moscow, Nauka Publ., 1983. 272 p. (In Russ.).
23. Shelexova O.M. [The possibilities of using *Astilbe* in urban landscaping]. *Botaničeskije sady v sovremenom mire*. Saint-Petersburg, St. Petersburg State Electrotechnical University "LETI" named after V.I. Ulyanov (Lenin) Publ., 2023, pp. 229-232. (In Russ.). DOI: 10.24412/cl-36595-2023-3-229-232. EDN: HTQLOO.
24. Blackmore S. Botanic gardens are vital for delivering the Kunming-Montreal global biodiversity framework. *Biological Diversity*. V. 1, No. 3-4 (2024): pp. 120-123. DOI: 10.1002/bod2.12022. EDN: ZESFDG.
25. Bondorina I.A., Kabanov A.V., Mamaeva N.A., Khokhlacheva J.A. Collection Fund of the Laboratory of Ornamental Plants of the Tsitsin Main Botanical Garden: Historical Overview and Current State. *Moscow University Biological Sciences Bulletin*. V. 75, No. 2 (2020): pp. 83-88. DOI: 10.3103/S0096392520020017.
26. Han S.W. Selection of Urban Shade Tolerant Ground Cover Plant Through Photochemical Assessment. *Korean Journal of Soil Science and Fertilizer*. V. 53, No. 1 (2020): pp. 82-94. DOI: 10.7745/kjssf.2020.53.1.082. EDN: HVDLGN.
27. Čarni A. et al. Horticultural Potential of the Flora from Karstic Dolines in the Northern Dinarides. *Horticulturae*. Vol. 11, No. 11 (2025). Art. 1355. DOI: 10.3390/horticulturae11111355. EDN: FFFFFG.
28. Hurdu B.I. et al. Ex situ conservation of plant diversity in Romania: A synthesis of threatened and endemic taxa. *Journal for Nature Conservation*. 2022. V. 68 (2022). Art. 126211. DOI: 10.1016/j.jnc.2022.126211. EDN: ZDFXFW.
29. Li Y., Li Sh., Zhao G. Spatiotemporal development of national botanic gardens worldwide and their contributions to plant diversity conservation from 1593 to 2023. *Frontiers in Forests and Global Change*. V. 6 (2023). DOI 10.3389/ffgc.2023.1310381. EDN: NSNSGR.
30. Mohd Radi N.N., Baharuddin Z.M.B.Hj., Sani Ja.B.Ab. Kepong botanical Garden: the role and challenge towards conservation plant diversity. *Journal of Architecture, Planning and Construction Management*. V. 14, No. 2 (2024). DOI 10.31436/japcm.v14i2.886. EDN: XKWNYN.

31. Neves K.G. Botanic Gardens in Biodiversity Conservation and Sustainability: History, Contemporary Engagements, Decolonization Challenges, and Renewed Potential. *Journal of Zoological and Botanical Gardens*. V. 5, No. 2 (2024): pp. 260-275. DOI 10.3390/jzbg5020018. EDN: UCZNNT.

32. POWO: Plants of the World Online. Available at: <https://powo.science.kew.org>.

33. Yang Yu., Ignatieva M., Gaynor A., Hu Yu. Towards a conceptual design framework for bee botanic gardens: integrating perceptions on urban biodiversity into landscape design processes. *Urban Ecosystems*. V. 27, No. 6 (2024): pp. 2613-2633. DOI 10.1007/s11252-024-01589-z. EDN: DFRXTT.

34. Westwood M., Cavender N., Smith P., Meyer A. Botanic garden solutions to the plant extinction crisis. *Plants People Planet*. V. 3, No. 1 (2021): p. 22–32. DOI 10.1002/ppp3.10134. EDN: YJKLTC.

Статья поступила в редакцию 14.05.2026; одобрена после рецензирования 27.05.2026; принята к публикации 01.06.2026.

The article was submitted 14.05.2026; approved after reviewing 27.05.2026; accepted for publication 01.06.2026.

Информация об авторах

И. Ю. Бочкова – frog-flower@yandex.ru, канд. с/х наук, доцент кафедры ландшафтной архитектуры и садово-паркового строительства;

Ю. А. Хохлачева – ldr_gbsran@mail.ru, канд. с/х наук, старший научный сотрудник лаборатории декоративных растений.

Information about the authors

I. J. Bochkova – frog-flower@yandex.ru, Cand. Sci. (Agric.), Associate Professor at the Department of Landscape architecture and landscape gardening;

J. A. Khokhlacheva – ldr_gbsran@mail.ru, Cand. Sci. (Agric.), Senior Researcher at the Laboratory of Ornamental Plants.

Вклад авторов:

Бочкова И. Ю. – написание исходного текста; доработка текста.

Хохлачева Ю. А. – проведение исследования; написание исходного текста; доработка текста, подготовка рукописи статьи.

Contribution of the authors:

Bochkova I. J. – writing the draft; research concept; final conclusions; text revision.

Khokhlacheva J. A. – conducting the research; writing the draft; text revision; manuscript preparation.

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

The authors declare no conflicts of interests.

МИКРОБИОЛОГИЯ

Научная статья

УДК 574.24: 579.68: 582.263

EDN: EVWHFU

<http://dx.doi.org/10.17072/1994-9952-2026-2-139-149>



Влияние ионов меди и цинка на зеленую микроводоросль *Chlorella vulgaris*

Валентина Владимировна Галямина¹, Дмитрий Юрьевич Шаравин¹

¹ Институт экологии и генетики микроорганизмов УрО РАН – филиал ПФИЦ УрО РАН, Пермь, Россия
Автор, ответственный за переписку: Дмитрий Юрьевич Шаравин, dima-sharavin@yandex.ru

Аннотация. Представлены результаты исследования токсического действия меди и цинка в диапазоне концентраций 1–17 мкМ Cu^{2+} и 5–60 мкМ Zn^{2+} на пресноводную зеленую микроводоросль *Chlorella vulgaris* IMBR-19. В недельном эксперименте оценку токсичности тяжелых металлов давали по таким показателям, как численность живых и мертвых клеток, содержание внутриклеточных пигментов, углеводов и пролина. Установлено, что наибольшим угнетающим действием по отношению к хлорелле обладает медь. Пороговыми концентрациями, при которых рост культуры не наблюдается, а количество мертвых клеток приближается к 100%, были 13 и 40 мкМ для меди и цинка соответственно. Установлено, что при увеличении концентрации тяжелых металлов (в диапазоне роста микроводоросли) не происходит статистически достоверного снижения концентрации фотосинтетических пигментов. Для концентраций 7–11 мкМ меди обнаружен существенный рост содержания хлорофиллов и каротиноидов. Полученные данные свидетельствуют, что при повышении концентрации тяжелых металлов происходит увеличение содержания углеводов в клетках хлореллы в 2 и 3 раза по сравнению с контролем в случае меди и цинка соответственно. Аналогичная зависимость была выявлена и в случае с пролином, где опытные варианты с медью и цинком при 13 мкМ и 30 мкМ соответственно превышали контроль в 2.7 и 4 раза.

Ключевые слова: *Chlorella vulgaris*, ионы меди и цинка, хлорофиллы, каротиноиды, углеводы, пролин, токсичность

Для цитирования: Галямина В. В., Шаравин Д. Ю. Влияние ионов меди и цинка на зеленую микроводоросль *Chlorella vulgaris* // Вестник Пермского университета. Сер. Биология. 2026. Т. 17, вып. 2. С. 139–149. <http://dx.doi.org/10.17072/1994-9952-2026-2-139-149>.

Финансирование: исследование выполнено в рамках государственного задания Министерства науки и высшего образования Российской Федерации (124020500028-4).

MICROBIOLOGY

Original article

Effects of copper and zinc ions on green microalgae *Chlorella vulgaris*

Valentina V. Galyamina¹, Dmitry Yu. Sharavin¹

¹ Institute of Ecology and Genetics of Microorganisms UB RAS – branch of the PFRC of the UB RAS, Perm, Russia
Corresponding author: Dmitry Y. Sharavin, dima-sharavin@yandex.ru

Abstract. The paper presents the results of a study on the toxic effects of copper and zinc in the concentration ranges of 1–17 μM Cu^{2+} and 5–60 μM Zn^{2+} on the freshwater green microalgae *Chlorella vulgaris* IMBR-19. In a one-week experiment, the toxicity of heavy metals was assessed based on such parameters as the number of live and dead cells, and the content of pigments, carbohydrates, and proline. Copper was found to have a greater inhibitory effect on *Chlorella* than zinc. The threshold concentrations at which no culture growth was observed and the number of dead cells approached 100% were 13 and 40 μM for copper and zinc, respectively. It was found that with an increase in heavy metal concentrations (within the microalgal growth range) does not lead to a statistically significant decrease in the concentration of photosynthetic pigments. A significant increase in chlorophyll and carotenoid content was observed at copper concentrations of 7–11 μM . The obtained data indicate that an increase in heavy metal concentrations leads to a 2- and 3-fold increase in carbohydrate content in *Chlorella* cells compared to the control, for copper and zinc, respectively. A similar relationship was observed for proline, where the experimental treatments with copper and zinc at 13 μM and 30 μM , respectively, exceeded the control by 2.7 and 4 times.

Keywords: *Chlorella vulgaris*, copper and zinc ions, chlorophylls, carotenoids, carbohydrates, proline, toxicity

For citation: Galyamina V. V., Sharavin D. Yu. [Effects of copper and zinc ions on green microalgae *Chlorella vulgaris*]. *Bulletin of Perm University. Biology*. Vol. 17, iss. 2 (2026): pp. 139-149. (In Russ.). <http://dx.doi.org/10.17072/1994-9952-2026-2-139-149>.

Financing: the research was carried out within the framework of the state assignment of the Ministry of Science and Higher Education of the Russian Federation (124020500028-4).

Введение

Воды рек и водохранилищ Пермского края регулярно подвергаются загрязнению тяжелыми металлами (ТМ), которые попадают в водотоки с промышленными стоками и шахтными водами. Значительно загрязнены ТМ воды малых рек, протекающих через промышленные зоны и густонаселенные районы Пермского края.

Некоторые ТМ, такие как ртуть, свинец, кадмий, токсичны для живых организмов даже в следовых количествах. Другие, такие как медь, цинк, марганец, кобальт, никель и хром, являются необходимыми микроэлементами, которые участвуют во многих метаболических процессах [Manzoor, Karbassi, Golzary, 2019]. Однако повышенные концентрации этих металлов в водотоках отрицательно влияют на гидробионтов, ухудшая качество питьевой воды, могут наносить вред здоровью человека. ТМ накапливаются в организме, способствуя развитию раковых заболеваний, язв, аллергических реакций, нарушению в сердечно-сосудистой, дыхательной, выделительной систем и т.д. [Coelho et al., 2015; Ankit, Baudhdh, Korstad, 2022].

Большинство методов очистки вод от ТМ, таких как химическое осаждение, ионный обмен, флокуляция, выщелачивание и др., являются трудоемкими и дорогостоящими. Как альтернатива физико-химическим технологиям очистки были предложены более доступные и экологически безопасные методы биоремедиации. Биоремедиация – это процесс использования метаболического потенциала живых организмов для очистки окружающей среды от ТМ [Dwivedi, 2012]. Различные виды бактерий, грибов и водорослей получили широкое распространение в биологической очистке сточных вод. Среди них микроводоросли имеют преимущество, так как благодаря коротким циклам роста и активной фиксации углерода отличаются высокой продуктивностью биомассы. Большое соотношение площади поверхности к объему клеток микроводорослей способствует эффективной адсорбции загрязняющих веществ, в том числе ТМ [Coelho et al., 2015; Manzoor, Karbassi, Golzary, 2019; Mahlangu et al., 2024]. Метаболизм большинства изученных микроводорослей позволяет им хелатировать ионы металлов и откладывать в вакуолях, хлоропластах или в полифосфатных тельцах. Кроме того, в процессе фотосинтетической активности микроводоросли повышают pH окружающей среды, что способствует осаждению некоторых металлов в виде нерастворимых соединений. В частности, при высоких уровнях pH такие металлы, как цинк, марганец и железо образуют нерастворимые гидроксиды [Li et al., 2020; Cavalletti et al., 2022; Ali, Hassan, El-Sheekh, 2024].

Клетки зеленой водоросли *Chlorella vulgaris* имеют малые размеры (диаметр в среднем 4–6 мкм), но большую удельную площадь поверхности, что значительно повышает эффективность адсорбции металлов на поверхности клеточной стенки. Простота выращивания и высокая скорость роста *Chlorella vulgaris* делают эту водоросль удобной тест-системой для изучения биodeградации токсикантов. Выявлено, что *Chlorella vulgaris* способна к эффективному удалению из сточных вод таких ТМ, как медь, цинк, никель, кадмий, свинец. При этом оптимальный период очистки от них составлял 5–7 дней [Manzoor, Karbassi, Golzary, 2019]. Для определения фитотоксичности ионов металлов для водорослей наиболее часто используются тесты на ингибирование роста и фотосинтеза при внесении в ростовую среду различных концентраций солей ТМ [Exposito et al., 2021]. Mehta и Gaur [1999] при изучении влияния ТМ на клетки *Chlorella vulgaris* в присутствии пролина отметили, что дополнительная обработка клеток хлореллы этой аминокислотой (выполняющей защитную функцию при стрессе) привела к снижению негативных последствий, таких как перекисное окисление липидов, разрушение клеточных мембран и утечка электролитов.

Несмотря на высокую степень изученности *Chlorella vulgaris*, существуют противоречия в литературных данных о том, какие концентрации ТМ (в нашем случае меди и цинка) являются критическими для роста микроводоросли, а также недостаточное количество сведений о влиянии этих ТМ на некоторые биохимические параметры клеток.

Таким образом, цель исследования – выявление ингибирующих концентраций ионов меди и цинка, а также их влияния на некоторые биохимические параметры *Chlorella vulgaris* IMBR-19 в исследуемом диапазоне концентраций.

Материалы и методы

Штамм *Chlorella vulgaris* IMBR-19 был предоставлен Институтом биологии южных морей им. А.О. Ковалевского РАН. В эксперименте использовалась культура микроводоросли на поздней экспоненциальной фазе роста (недельная). Засевали хлореллу в 500 мл колбы Эрленмейера в соотношении 1:19 на среду BG-II следующего состава (мг/л): NaNO₃ – 75; MgSO₄·7H₂O – 19; K₂HPO₄·2H₂O – 10;

$\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ – 9; Na_2CO_3 – 5; $\text{Fe}(\text{NH}_4)_3(\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7)_3$ – 1.5; лимонная кислота – 1.5; ЭДТА – 1.2. После автоклавирования добавляли 1 мл/л микроэлементов (мг/100 мл): H_3BO_3 – 286; $\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ – 181; $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ – 22; $\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ – 39; $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ – 8; $\text{Co}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ – 5. Конечная численность хлореллы в засеянных колбах составляла 10^6 клеток на мл. Культуру микроводоросли выращивали в термостате при температуре $+28^\circ\text{C}$ на платформе со встроенными светодиодами (освещенность ≈ 5000 люкс). Режим освещения культуры составлял 12ч /12ч.

Через 1 сутки (ранняя экспоненциальная фаза) культуру хлореллы разливали по 100 мл в 250 мл колбы и вносили добавки металлов: Cu^{2+} , мкМ (1, 3, 5, 7, 9, 11, 13, 15); Zn^{2+} , мкМ (5, 10, 20, 30, 40, 50, 60). Исходные растворы ТМ готовили из солей аналитической чистоты: $\text{CuCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ и ZnCl_2 .

Хлореллу с добавками ТМ инкубировали в стандартных условиях (см. выше), колбы встряхивали вручную 2 раза в день. Наблюдения за ростом хлореллы при разных концентрациях ТМ вели в течение 7 дней с промежуточными подсчетами численности клеток в камере Горяева через 2, 5 и 7 суток. Для выявления соотношения живых и мертвых клеток аликвоту культуры хлореллы из каждой колбы перед подсчетом окрашивали 1% метиленовым синим в соотношении 3 мкл красителя на 100 мкл суспензии клеток. При этом живые клетки сохраняли светло-зеленую окраску, а мертвые клетки окрашивались в синий цвет.

Содержание пролина в клеточном осадке измеряли по методу Bates, Waldren, Tear [1973]. К осадку из 80 мл культуры водорослей добавляли 200 мг очищенного кварцевого песка и растирали в фарфоровой ступке. Затем осадок ресуспендировали в 2 мл 3% сульфосалициловой кислоты и центрифугировали 10 мин при 8000 об./мин. Свободный пролин, присутствующий в супернатанте, обрабатывали 2 мл кислого нингидрина (1.25 г нингидрина, 30 мл ледяной уксусной кислоты, 20 мл 6М ортофосфорной кислоты) и 2 мл ледяной уксусной кислоты при $+80^\circ\text{C}$ в течение 1 ч. Реакцию останавливали на ледяной бане, а окрашенный комплекс экстрагировали толуолом. Оптическую плотность регистрировали на спектрофотометре при длине волны 520 нм. Концентрацию пролина определяли по калибровочной кривой стандартных растворов данной аминокислоты.

Определение внутриклеточных пигментов проводили методом экстракции метанолом. Из каждой колбы отобрали по 2 мл культуры, осаждали центрифугированием 10 мин. при 8000 об./мин. Осадок дважды промывали ресуспендированием в dH_2O с последующим осаждением. Для экстракции пигментов осадок заливали 90% метанолом, перемешивали на встряхивателе и помещали на водяную баню на 1 ч при $+60^\circ\text{C}$. Затем смесь осаждали, а окрашенный супернатант анализировали на спектрофотометре при длинах волн 470, 650, 652, 660, 665 и 750 нм. Концентрацию пигментов определяли по формулам приведенным в статье Ogbonna, Nweze, Ogbonna [2021].

Общее содержание углеводов определяли по методу Герберта с использованием антронового реактива [Herbert, Phipps, Strange, 1971]. Окрашенный комплекс с белком анализировали на спектрофотометре при длине волны 625 нм. Концентрацию углеводов вычисляли по калибровочной кривой стандартных растворов глюкозы. Все спектры снимали на спектрофотометре Cary 100 (Agilent Technologies).

Хлорофиллы (Хл) *a*, *b*, каротиноиды, общее содержание углеводов и уровень пролина анализировали в конце экспериментального периода – через 7 суток роста водорослей с ионами меди и цинка. Все эксперименты проводились в трех повторностях. Статистический анализ и визуализация данных были проведены в программах Microsoft Excel 2010 и Grapher 13.

Результаты и их обсуждение

Диаграммы роста культуры *Chlorella vulgaris*, подвергшейся влиянию меди и цинка, представлены на рис. 1. На 5-е и 7-е сутки численность контроля составила 13.4 и 20.8×10^6 клеток. На 7-е сутки медь в концентрации 1 и 5 мкМ оказала небольшое достоверное положительное воздействие на рост хлореллы: при 1 мкМ Cu^{2+} 22.5×10^6 , при 5 мкМ Cu^{2+} 22.1×10^6 клеток соответственно. Увеличение концентрации Cu^{2+} до 9 мкМ привело к снижению численности клеток на 6% на 7 сутки, в то время как 13–17 мкМ Cu^{2+} резко угнетали рост водорослей, вплоть до полной гибели на 7-й день эксперимента. При 15–17 мкМ количество мертвых клеток доходило до 100% со 2-го дня эксперимента. Слабый стимулирующий эффект меди в диапазоне концентраций до 5 мкМ (рис. 1) объясняется использованием этого металла в метаболизме фотосинтезирующих клеток. Известно, что медь в качестве кофактора участвует в дыхании, азотном обмене и защите от окислительного стресса. В составе белка пластоцианина медь обеспечивает обратимый перенос электронов от цитохромного комплекса *b6f* к фотосистеме I [Chen et al., 2016]. Тем не менее, в более высоких концентрациях медь ингибирует фотосинтез. Кроме того, ионы меди связывают тиольные группы, что меняет баланс между восстановленным глутатионом и окисленным и нарушает формирование веретена деления клеток [Stauber, Florence, 1987; Jonson et al., 2007].

Стоит отметить, что при микроскопировании культуры хлореллы в опытах с 9 мкМ меди и выше мы наблюдали увеличение доли аномально крупных клеток: 12–15 мкм в диаметре, с заметными выпячива-

ниями стенок. Для сравнения, в контрольной культуре исследуемого нами штамма *Chlorella vulgaris* размер клеток не превышает 8–10 мкм в диаметре, при средних величинах 5–6 мкм.

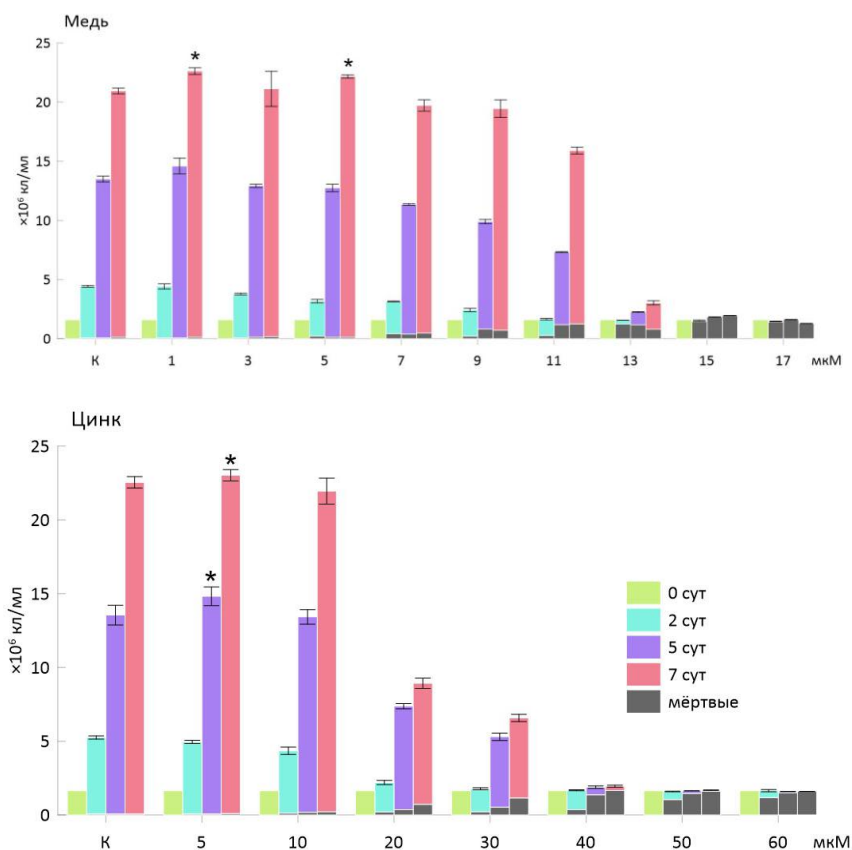


Рис. 1. Влияние различных концентраций Cu^{2+} и Zn^{2+} на численность клеток *Chlorella vulgaris* в недельном эксперименте, черным цветом обозначена доля мертвых клеток, «*» – достоверное положительное отличие от контроля при $p < 0.05$

[The effect of various concentrations of Cu^{2+} and Zn^{2+} on *Chlorella vulgaris* cell number in a week-long experiment. The black color indicates the proportion of dead cells; “*” indicates significant positive differences]

В нашем исследовании самая низкая концентрация цинка (5 мкМ) оказала стимулирующий эффект на рост хлореллы на 5-е и 7-е сутки по сравнению с контролем (рис. 1). При концентрации 10 мкМ не фиксировалось существенных отклонений от контроля. Добавка 20 мкМ Zn^{2+} подавляла рост хлореллы на 60%. Увеличение концентрации этого ТМ до 40 мкМ оказалось высокотоксичным и привело к снижению числа клеток на 90% и более. Микроскопирование хлореллы в эксперименте с цинком (с 20 мкМ) выявило укрупнение одиночных клеток, а также появление сдвоенных клеток, большая часть которых – мертвые. Также отмечалось наличие слизистых тяжей с агрегированными на них клетками, причем частота образования скоплений прямо пропорциональна увеличению дозы цинка. Аналогичную секрецию слизистого матрикса при добавлении низких концентраций меди (150–320 мкМ Cu^{2+}) и цинка наблюдали ранее другие исследователи при изучении чувствительности к ТМ *Chlorella vulgaris* и *Raphidocelis subcapitata* [Exposito et al., 2017, 2021]. Внеклеточная слизь, образованная преимущественно экзополисахаридами и экзопротеинами, пассивно связывает ионы ТМ, препятствуя их проникновению внутрь клеток [Karlan, 2013; Zhang et al., 2015].

Цинк является кофактором многих ферментов, участвующих в фиксации CO_2 (например, карбоангидразы), транскрипции ДНК (например, РНК-полимеразы), поглощении фосфора (щелочной фосфатазы), синтезе пигментов и в других жизненно важных процессах [Hassler, Behra, Wilkinson, 2005]. При превышении необходимой концентрации цинк в первую очередь вызывает нарушение всасываемости других жизненно важных ионов металлов, в частности ионов кальция. Недостаток Ca^{2+} ведет к снижению активности Са-АТФазы, необходимой для деления клеток [Arunakumara, Zhang, 2008].

Поскольку график роста культуры отражает метаболизм клеток микроводорослей, он используется в качестве ключевого индикатора токсичности ионов металлов. При этом наномолярные концентрации

некоторых ТМ могут стимулировать увеличение численности. С повышением вносимой в среду дозы металла рост культуры водорослей замедляется, нарушается деление клеток [Arunakumara, Zhang, 2008; El-Naggar, Sheikh, 2014; Chen et al., 2016]. В нашем исследовании результаты подсчета численности указывают на большую чувствительность хлореллы к меди, чем к цинку (рис. 1). Медь в концентрации 15 мкМ является летальной, в то время как цинк полностью ингибирует рост культуры в концентрации 50 мкМ. При этом наблюдается адаптация хлореллы к меди в диапазоне концентраций от 1 до 11 мкМ, а затем резкое угнетение роста при 13 мкМ, в то время как цинк вызывает более плавное подавление роста микроводорослей с повышением его концентрации в среде.

В отличие от результатов, полученных нами, в работе Bajguz [2000] цинк оказывал большее угнетающее действие на *C. vulgaris*, чем медь, тогда как El-Naggar и Sheikh [2014] утверждают, что медь существенно токсичнее цинка, при том, что малые концентрации этих элементов обладают стимулирующим эффектом. Медь и цинк в недельном эксперименте оказывали стимулирующий эффект до 25 и 77 мкМ и начинали угнетать с 32 и 154 мкМ соответственно [El-Naggar, Sheikh, 2014]. Mehta и Gaur [1999] также указывают, что медь токсичнее цинка в диапазоне концентраций 2.5–50 мкМ. Afkar, Ababna, Fathi пришли к аналогичному заключению, но при других концентрациях ТМ. Ростстимулирующее действие наблюдалось в наномолярном диапазоне, при переходе к микромолярным концентрациям фиксировалось ингибирующее действие [Afkar, Ababna, Fathi, 2010]. Другой представитель рода *Chlorella* (*Chlorella sorokiniana*) согласно León-Vaz et al. [2021] был более устойчив к меди, показывая уверенный рост при концентрациях до 1 мМ, при этом динамика численности не существенно отличалась от контроля даже при 250 мкМ. А в работе Zhou et al. [2012] для *C. pyrenoidosa* ростстимулирующим действием обладали концентрации до 8 и 150 мкМ для Cu^{2+} и Zn^{2+} соответственно.

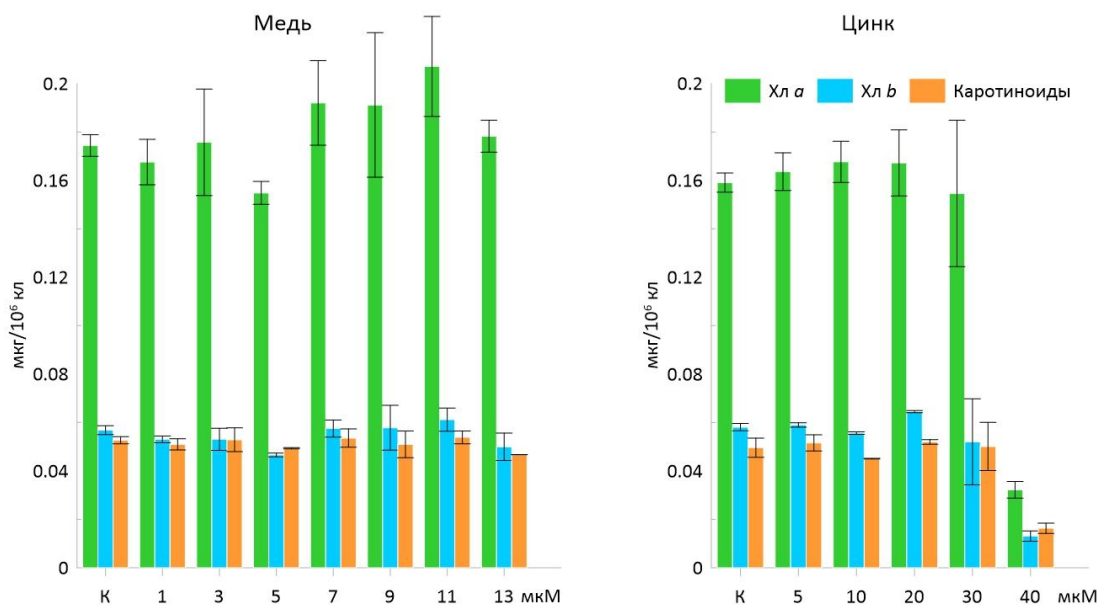


Рис. 2. Содержание пигментов в клетках *Chlorella vulgaris* через 7 суток воздействия Cu^{2+} и Zn^{2+}
[Pigment content in *Chlorella vulgaris* cells after 7 days of exposure to Cu^{2+} and Zn^{2+} exposure]

Пигментный анализ показал, что медь в исследуемом диапазоне концентраций не оказала статистически значимого негативного влияния на синтез пигментов (рис. 2). Концентрации Хл *a*, Хл *b* и каротиноидов в контроле на 7 сут составили 0.16–0.17, 0.06 и 0.05 мкг/10⁶ клеток соответственно. Токсичная доза меди 13 мкМ, которая привела к 7-кратному снижению численности клеток, не вызвала существенного снижения внутриклеточных пигментов, что можно объяснить значительным укрупнением угнетенных клеток. При концентрации 15 мкМ и выше определения пигментов не проводилось вследствие гибели культуры.

Внесение 5–20 мкМ цинка также привело к небольшому увеличению концентраций Хл *a* и Хл *b*, в то время как присутствие 40 мкМ Zn^{2+} вызвало 5-кратное снижение как Хл *a*, так и Хл *b* (рис. 2). Анализ содержания каротиноидов не выявил заметных колебаний их уровня при внесении меди и цинка. Только присутствие цинка в количестве 40 мкМ привело к 70% снижению синтеза этих пигментов (рис. 2).

Согласно литературным данным, влияние ТМ на содержание пигментов водорослей носит дозозависимый характер, при этом медь обладает более высокой токсичностью, чем эквивалентные дозы цинка [Afkar, Ababna, Fathi, 2010; Exposito et al., 2021]. Стимулирующий эффект малых концентраций (до 8

мкМ Cu^{2+} и до 30 мкМ Zn^{2+}) на синтез пигментов хлореллы был отмечен в работах Zhou et al. [2012]. При дальнейшем росте концентраций ТМ проявляется ингибирующий эффект [Afkar, Ababna, Fathi, 2010; Zhou et al. 2012].

Под влиянием абиотического стресса микроводоросли способны накапливать множество метаболитов, выполняющих осмотическую функцию, в том числе различные углеводы [Barera, Forlani, 2023]. На 7-е сутки содержание углеводов в контроле составило 0.68 мкг/10⁶ клеток. В зависимости от концентрации меди в среде нами отмечено увеличение продукции углеводов на 6–90%, до 1.3 мкг/10⁶ клеток при 13 мкМ Cu^{2+} (рис. 3). Почти двукратное превышение контрольных значений углеводов в культуре хлореллы при воздействии 13 мкМ меди можно объяснить как повышенной продукцией, так и значительным укрупнением клеток. На диаграмме ниже также можно обнаружить увеличение содержания углеводов при концентрации Cu^{2+} 5–7 мкМ с дальнейшим снижением при 9–11 мкМ (рис. 3).

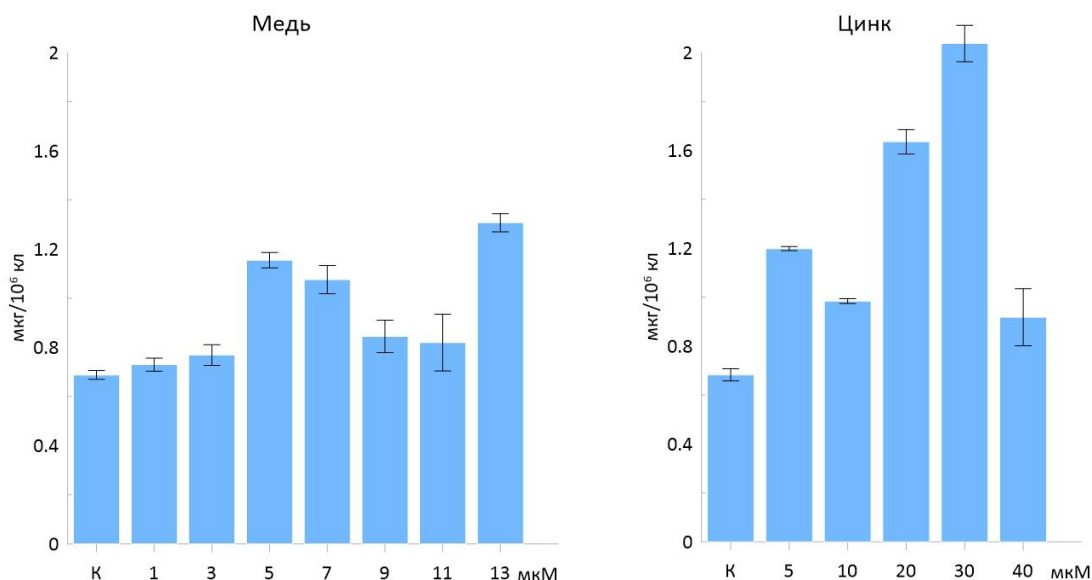


Рис. 3. Содержание углеводов в клетках *Chlorella vulgaris* через 7 суток воздействия Cu^{2+} и Zn^{2+}
[Carbohydrate content in *Chlorella vulgaris* cells after 7 days of exposure to Cu^{2+} and Zn^{2+} exposure]

Цинк оказывал более выраженное влияние на продукцию углеводов хлореллой. Было выявлено, что кроме внутриклеточного накопления углеводов цинк, по-видимому, стимулировал выработку внеклеточных экзополисахаридов, заметных в виде слизистых тяжей. Через 7 дней роста хлореллы общее содержание углеводов на 44–197% превышало контроль (максимум – 2.04 мкг при 30 мкМ), в зависимости от вносимой концентрации цинка (рис. 3).

Исходя из литературных данных, повышенные концентрации ТМ чаще вызывают увеличение концентрации углеводов в клетках микроводорослей [Ganguly et al., 2024]. Согласно Afkar, Ababna, Fathi [2010], в диапазоне (10^{-9} – 10^{-8} М) меди и цинка наблюдался большой разброс в содержании углеводов в клетках культуры хлореллы, а при приближении к 10^{-6} М эти значения выравниваются около 200 мкг/мг. Повышение уровня внутриклеточного пролина – это одна из ранних реакций на широкий спектр абиотических стрессов [Barera, Forlani, 2023]. Кроме основной своей функции в качестве осмолита, пролин нейтрализует некоторые активные формы кислорода, стабилизирует структуру белков, в том числе антиоксидантных ферментов, влияет на пролиферацию клеток, а также участвует в хелатировании ионов ТМ с образованием нетоксичных металл-белковых комплексов [Тарчевский, Егорова, 2022; Islam, Saxena, Sharma, 2024].

В контроле на 7-е сутки содержание пролина фиксировалось на уровне 4–5 нг/10⁶ клеток. Добавление меди в среду культивирования в диапазоне 1–11 мкМ привело к плавному росту содержания пролина (рис. 4). Максимальная концентрация меди 13 мкМ (при которой наблюдался рост культуры) вызвала увеличение уровня пролина в 2.7 раза по сравнению с контролем. В эксперименте с цинком клетки микроводоросли активировали синтез внутриклеточного пролина при увеличении содержания этого ТМ. Максимальная концентрация цинка 30 мкМ, при которой хлорелла сохраняет жизнеспособность, вызвала увеличение уровня пролина более чем в 4 раза – 18.2 нг/10⁶кл против 4.2 мкг/10⁶ кл в контроле (рис. 4).

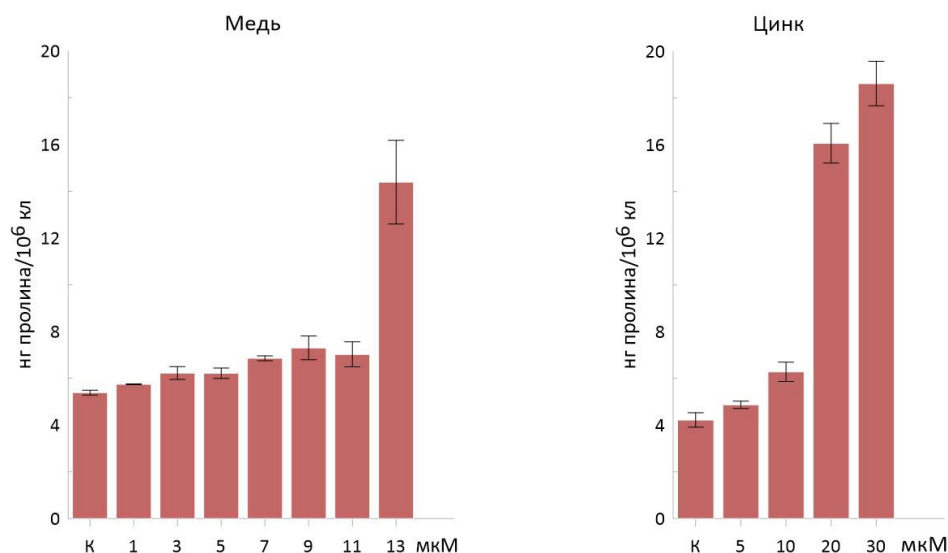


Рис. 4. Содержание пролина в клетках *Chlorella vulgaris* через 7 суток воздействия Cu^{2+} и Zn^{2+}
[Proline content in *Chlorella vulgaris* cells after 7 days of exposure to Cu^{2+} and Zn^{2+} exposure]

В работе Mehta и Gaur [1999] показано, что в клетках хлореллы на протяжении 24 ч под воздействием меди пролин накапливается в больших количествах, чем в среде с цинком, однако с ростом концентрации этих ТМ (более 10 мкМ) зависимость приобретает обратный характер. Накопление пролина ингибируется медью и доходит до минимальных значений, а под воздействием растущих концентраций цинка плавно увеличивается. В исследовании Wu, Hsieh, Kow [1998] обнаружен 6-кратный рост содержания пролина у *Chlorella* sp. относительно контроля в среде с Cu^{2+} . В ряде статей описывается снижение токсического эффекта ТМ на микроводоросли при наличии пролина в среде, при этом увеличивается концентрация пигментов [El-Enany, Issa, 2001; Barera, Forlani, 2025]. В работе Afkar, Ababna, Fathi [2010] также отмечалось увеличение доли свободных аминокислот в опытах по воздействию меди и цинка на хлореллу.

Заключение

В данном исследовании показано, что для пресноводной зеленой микроводоросли *Chlorella vulgaris* концентрации меди и цинка до 5 мкМ являются ростстимулирующими. Обнаружено, что медь является более токсичным ТМ, чем цинк. Исходя из графиков роста и содержания пигментов установлено, что высокотоксичной для хлореллы является концентрация меди 13 мкМ, а цинка – 40 мкМ. При этом увеличение концентрации ТМ (в диапазоне роста) не приводило к соответствующему снижению в содержании пигментов (в пересчете на 1 млн клеток) относительно контроля.

После 7 дней культивирования было определено, что с увеличением концентрации ТМ растет и содержание углеводов, достигая максимума для меди при 13 мкМ (в 2 раза больше контроля) и при 30 мкМ для цинка (в 3 раза больше контроля). Такая же зависимость наблюдалась и для пролина, где при 13 мкМ меди и 30 мкМ цинка уровни свободного пролина превышали контрольные в 2.7 и 4 раза соответственно.

Следует учитывать, что установленные в Российской Федерации предельно-допустимые концентрации (ПДК) токсинов в водах рыбохозяйственного значения для Cu^{2+} и Zn^{2+} составляют 0.001 мг/л и 0.01 мг/л [Об утверждении нормативов ..., 2025]. Выявлено, что *Chlorella vulgaris* IMBR-19 способна к росту при концентрации ионов меди в 800 раз выше ПДК (0.83 мг/л) и концентрации ионов цинка в 260 раз выше ПДК (2.6 мг/л).

На основании полученных нами результатов штамм *Chlorella vulgaris* IMBR-19 может найти применение на стадии доочистки сточных вод от загрязнений тяжелыми металлами.

Список источников

1. Об утверждении нормативов качества воды водных объектов рыбохозяйственного значения, в том числе нормативов предельно допустимых концентраций загрязняющих веществ в водах водных объектов рыбохозяйственного значения. Приказ Росрыболовства № 296 от 26.05.2025 г. 121 с..
2. Тарчевский И.А., Егорова А.М. Участие пролина в адаптации растений к действию стресс-факторов и его использование в агробиотехнологии (обзор) // Прикладная биохимия и микробиология. 2022. Т. 58, № 4. С. 315–329. DOI: 10.31857/S055510992204016X. EDN: YWXHZA.

3. Afkar E., Ababna H., Fathi A.A. Toxicological response of the green alga *Chlorella vulgaris*, to some heavy metals // American Journal of Environmental Sciences. 2010. Vol. 6, № 3. P. 230–237. DOI: 10.3844/ajessp.2010.230.237.
4. Ali S.S., Hassan L.H.S., El-Sheekh M. Microalgae-mediated bioremediation: current trends and opportunities – a review // Archives of microbiology. 2024. Vol. 206, № 8. Art. 343. DOI: 10.1007/s00203-024-04052-x. EDN: SAPXKL.
5. Ankit, Baudh K., Korstad J. Phycoremediation: Use of algae to sequester heavy metals // Hydrobiology 2022. Vol. 1, № 3. P. 288–303. DOI: 10.3390/hydrobiology1030021. EDN: NBXIAE.
6. Arunakumara K.K.I.U., Zhang X. Heavy metal bioaccumulation and toxicity with special reference to microalgae // Journal of Ocean University of China. 2008. Vol. 7, №1. P. 60–64. DOI: 10.1007/s11802-008-0060-y.
7. Bajguz A. Blockade of heavy metals accumulation in *Chlorella vulgaris* cells by 24-epibrassinolide // Plant Physiology and Biochemistry. 2000. Vol. 38, № 10. P. 797–801. DOI: 10.1016/S0981-9428(00)01185-2.
8. Barera S., Forlani G. Osmo-induced proline accumulation in *Chlorella vulgaris* SAG 211-11p // Journal of Applied Phycology. 2025. Vol. 37. P. 3557–3566. DOI: 10.1007/s10811-025-03607-9. EDN: DHRIMP.
9. Barera S., Forlani G. The role of proline in the adaptation of eukaryotic microalgae to environmental stress: an underestimated tool for the optimization of algal growth // Journal of Applied Phycology. 2023. Vol. 35. P. 1635–1648. DOI: 10.1007/s10811-023-03017-9. EDN: FDBSRA.
10. Bates L.S., Waldren R.P., Tear I.D. Rapid determination of free proline for water stress studies // Plant and Soil. 1973. Vol. 39. P. 205–207. DOI: 10.1007/BF00018060.
11. Cavalletti E. et al. Copper effect on microalgae: toxicity and bioremediation strategies // Toxics. 2022. Vol. 10. Art. 527. DOI: 10.3390/toxics10090527. EDN: QMZRHW.
12. Chen Z. et al. Toxicity of Cu (II) to the green alga *Chlorella vulgaris*: a perspective of photosynthesis and oxidant stress // Environmental science and pollution research international. 2016. Vol. 23, № 18. P. 17910–17918. DOI: 10.1007/s11356-016-6997-2. EDN: KQNHND.
13. Coelho L.M. et al. Bioremediation of polluted waters using microorganisms. In: Nasofumi S. (ed) Advances in bioremediation of wastewater and polluted soil. InTech, Rijeka, Croatia, 2015. 23 p. DOI: 10.5772/60770.
14. Dwivedi S. Bioremediation of heavy metal by algae: Current and future perspective // Journal of Advanced Laboratory Research in Biology. 2012. Vol. 3, № 3. P. 195–199.
15. El-Enany A.E., Issa A.A. Proline alleviates heavy metal stress in *Scenedesmus armatus* // Folia microbiologica. 2001. Vol. 46, № 3. P. 227–230. DOI: 10.1007/BF02818538. EDN: JKVZRA.
16. El-Naggar A.H., Sheikh H.M. Response of the green microalga *Chlorella vulgaris* to the oxidative stress caused by some heavy metals // Life Science Journal. 2014. Vol. 11, № 10. P. 1349–1357. DOI: 10.7537/marslsj111014.197.
17. Exposito N. et al. Performance of *Chlorella vulgaris* exposed to heavy metal mixtures: linking measured endpoints and mechanisms // International Journal of Environmental Research and Public Health. 2021. Vol. 18, № 3. Art. 1037. DOI: 10.3390/ijerph18031037
18. Exposito N. et al. Performance of *Raphidocelis subcapitata* exposed to heavy metal mixtures // The Science of the total environment. 2017. Vol. 601-602. P. 865–873. DOI: 10.1016/j.scitotenv.2017.05.177.
19. Ganguly A. et al. Bioremediation of chromium (VI) and arsenic (III) using isolated microalgal (*Chlorella thermophila*): Analysis of growth, biomolecular compositions (carbohydrate, protein, chlorophyll) and biosorption kinetics // Algal Research. 2024. Vol. 82. Art. 103635. DOI: 10.1016/j.algal.2024.103635. EDN: RNPPXR.
20. Hassler C.S., Behra R., Wilkinson K.J. Impact of zinc acclimation on bioaccumulation and homeostasis in *Chlorella kesslerii* // Aquatic Toxicology. 2005. Vol. 74, № 2. P. 139–149. DOI: 1016/j.aquatox.2005.02.008.
21. Herbert D., Phipps P.J., Strange R.E. Chemical analysis of microbial cells // Norris J.R., Ribbons D.W., (eds). Methods in Microbiology. New York: Academic Press, 1971. P. 209–344.
22. Islam M.M., Saxena N., Sharma D. Phytoremediation as a green and sustainable prospective method for heavy metal contamination: a review // RSC Sustainability. 2024. Vol. 2. Art. 1269. DOI: 10.1039/d3su00440f. EDN: WSBCBW.
23. Jiří M., Torzillo G., Koblížek M. Photosynthesis in microalgae. Handbook of microalgal culture: Applied phycology and biotechnology / ed. by Richmond A. and Hu Q., 2nd ed. Wiley-Blackwell, 2013. P. 21–56.
24. Jonson H.L. et al. Copper and zinc tolerance of two tropical microalgae after copper acclimation // Environmental Toxicology. 2007. Vol. 22, № 3. P. 234–244. DOI: 10.1002/tox.20265.
25. Kaplan D. Absorption and adsorption of heavy metals by microalgae. Handbook of microalgal culture: Applied phycology and biotechnology / ed. by Richmond A. and Hu Q., 2nd ed. Wiley-Blackwell, 2013. P. 602–611.
26. León-Vaz A. et al. Impact of heavy metals in the microalga *Chlorella sorokiniana* and assessment of its potential use in cadmium bioremediation // Aquatic Toxicology. 2021. Vol. 239. Art. 105941. DOI: 10.1016/j.aquatox.2021.105941. EDN: CFETNS.

27. Li H. et al. Environment-enhancing process for algal wastewater treatment, heavy metal control and hydrothermal biofuel production: a critical review // *Bioresource Technology*. 2020. Vol. 298. Art. 122421. DOI: 10.1016/j.biortech.2019.122421. EDN: FUYXDC.
28. Mahlangu D. et al. Microalgae-mediated biosorption for effective heavy metals removal from wastewater: a review // *Water*. 2024. Vol. 16. Art. 718. DOI: 10.3390/w16050718. EDN: VNDKKC.
29. Manzoor F., Karbassi A., Golzary A. Removal of heavy metal contaminants from wastewater by using *Chlorella vulgaris* Beijerinck: a review // *Current Environmental Management*. 2019. Vol. 6, № 3. P. 174–187. DOI: 10.2174/2212717806666190716160536.
30. Mehta S.K., Gaur J.P. Heavy-metal-induced proline accumulation and its role in ameliorating metal toxicity in *Chlorella vulgaris* // *New Phytologist*. 1999. Vol. 143, № 2. P. 253–259. DOI: 10.1046/j.1469-8137.1999.00447.x.
31. Ogbonna J.C., Nweze N.O., Ogbonna C.N. Effects of light on cell growth, chlorophyll, and carotenoid contents of *Chlorella sorokiniana* and *Ankistrodesmus falcatus* in poultry dropping medium // *Journal of applied biology and biotechnology*. 2021. Vol. 9, № 2. P. 157–163. DOI: 10.7324/JABB.2021.9215.
32. Stauber J.L., Florence T.M. Mechanism of toxicity of ionic copper and copper complexes to algae // *Marine Biology*. 1987. Vol. 94. P. 511–519. DOI: 10.1007/bf00431397 EDN: AMREAY.
33. Wu J.T., Hsieh M.T., Kow L.C. Role of proline accumulation in response to toxic copper in *Chlorella* sp. (*Chlorophyceae*) cells // *Journal of Phycology*. 1998. Vol. 34, № 1. P. 113–117. DOI: 10.1046/j.1529-8817.1998.340113.x.
34. Zhang W. et al. Metallomics and NMR-based metabolomics of *Chlorella* sp. reveal the synergistic role of copper and cadmium in multi metal toxicity and oxidative stress // *Metallomics*. 2015. Vol. 7. Art. 426. DOI: 10.1039/c4mt00253a. EDN: XQEFMT.
35. Zhou G.J. et al. Biosorption of zinc and copper from aqueous solutions by two freshwater green microalgae *Chlorella pyrenoidosa* and *Scenedesmus obliquus* // *Environmental science and pollution research international*. 2012. Vol. 19, № 7. P. 2918–2929. DOI: 10.1007/s11356-012-0800-9. EDN: ULCYYT.

References

1. Prikaz Rosrybolovstva ot 26.05.2025 g. No. 296 "Ob utverzhdenii normativov kachestva vody..." [Order of the Federal Agency for Fisheries of May 26, 2025, No. 296 "On approval of water quality standards..."]. (In Russ.).
2. Tarchevsky I.A., Egorova A.M. Participation of proline in plant adaptation to stress factors and its application in agrobiotechnology (Review). *Applied biochemistry and microbiology*. V. 58, No. 4 (2022): pp. 347-360. DOI: 10.1134/s0003683822040160.
3. Afkar E., Ababna H., Fathi A.A. Toxicological response of the green alga *Chlorella vulgaris*, to some heavy metals. *American Journal of Environmental Sciences*. V. 6, No. 3 (2010): pp. 230-237. DOI: 10.3844/ajessp.2010.230.237.
4. Ali S.S., Hassan L.H.S., El-Sheekh M. Microalgae-mediated bioremediation: current trends and opportunities – a review. *Archives of microbiology*. V. 206, No. 8 (2024). Art. 343. DOI: 10.1007/s00203-024-04052-x.
5. Ankit, Bauddh K., Korstad J. Phycoremediation: Use of algae to sequester heavy metals. *Hydrobiology*. V. 1, No. 3 (2022): pp. 288-303. DOI: 10.3390/hydrobiology1030021.
6. Arunakumara K.K.I.U., Zhang X. Heavy metal bioaccumulation and toxicity with special reference to microalgae. *Journal of Ocean University of China*. V. 7, No. 1 (2008): pp. 60-64. DOI: 10.1007/s11802-008-0060-y.
7. Bajguz A. Blockade of heavy metals accumulation in *Chlorella vulgaris* cells by 24-epibrassinolide. *Plant Physiology and Biochemistry*. V. 38, No. 10 (2000): pp. 797-801. DOI: 10.1016/S0981-9428(00)01185-2.
8. Barera S., Forlani G. Osmo-induced proline accumulation in *Chlorella vulgaris* SAG 211-11p. *Journal of Applied Phycology*. V. 37 (2025): pp. 3557-3566. DOI: 10.1007/s10811-025-03607-9.
9. Barera S., Forlani G. The role of proline in the adaptation of eukaryotic microalgae to environmental stress: an underestimated tool for the optimization of algal growth. *Journal of Applied Phycology*. V. 35 (2023): pp. 1635-1648. DOI: 10.1007/s10811-023-03017-9.
10. Bates L.S., Waldren R.P., Tear I.D. Rapid determination of free proline for water stress studies. *Plant and Soil*. V. 39 (1973): pp. 205-207. DOI: 10.1007/BF00018060.
11. Cavalletti E., Romano G., Palma Esposito F., Barra L., Chiaiese P., Balzano S., Sardo A. Copper effect on microalgae: toxicity and bioremediation strategies. *Toxics*. V. 10 (2022). Art. 527. DOI: 10.3390/toxics10090527.
12. Chen Z., Song S., Wen Y., Zou Y., Liu H. Toxicity of Cu (II) to the green alga *Chlorella vulgaris*: a perspective of photosynthesis and oxidant stress. *Environmental science and pollution research international*. V. 23, No. 18 (2016): pp. 17910-17918. DOI: 10.1007/s11356-016-6997-2.
13. Coelho L.M., Rezende H.C., Coelho L.M., de Sousa P.A.R., Melo D.F.O., Coelho N.M.M. Bioremediation of polluted waters using microorganisms. In: Nasofumi S. (ed.) *Advances in bioremediation of wastewater and polluted soil*. InTech, Rijeka, Croatia, 2015. 23 p. DOI: 10.5772/60770.
14. Dwivedi S. Bioremediation of heavy metal by algae: Current and future perspective. *Journal of Advanced Laboratory Research in Biology*. V. 3, No. 3 (2012): pp. 195-199.

15. El-Enany A.E., Issa A.A. Proline alleviates heavy metal stress in *Scenedesmus armatus*. *Folia microbiologica*. V. 46, No. 3 (2001): pp. 227-230. DOI: 10.1007/BF02818538.
16. El-Naggar A.H., Sheikh H.M. Response of the green microalga *Chlorella vulgaris* to the oxidative stress caused by some heavy metals. *Life Science Journal*. V. 11, No. 10 (2014): pp. 1349-1357. DOI: 10.7537/marslsj111014.197.
17. Exposito N., Carafa R., Kumar V., Sierra J., Schuhmacher M., Papiol G. Performance of *Chlorella vulgaris* exposed to heavy metal mixtures: linking measured endpoints and mechanisms. *International Journal of Environmental Research and Public Health*. V. 18, No. 3 (2021). Art. 1037. DOI: 10.3390/ijerph18031037.
18. Exposito N., Kumar V., Sierra J., Schuhmacher M., Gimenez Papiol G. Performance of *Raphidocelis subcapitata* exposed to heavy metal mixtures. *The Science of the total environment*. V. 601-602 (2017): pp. 865-873. DOI: 10.1016/j.scitotenv.2017.05.177.
19. Ganguly A., Nag S., Bhowmick T.K., Gayen K. Bioremediation of chromium (VI) and arsenic (III) using isolated microalgal (*Chlorella thermophila*): Analysis of growth, biomolecular compositions (carbohydrate, protein, chlorophyll) and biosorption kinetics. *Algal Research*. V. 82 (2024). Art. 103635. DOI: 10.1016/j.algal.2024.103635.
20. Hassler C.S., Behra R., Wilkinson K.J. Impact of zinc acclimation on bioaccumulation and homeostasis in *Chlorella kesslerii*. *Aquatic Toxicology*. V. 74. No. 2. (2005): pp. 139-149. DOI: 10.1016/j.aquatox.2005.02.008
21. Herbert D., Phipps P.J., Strange R.E. Chemical analysis of microbial cells. In: Norris J.R., Ribbons D.W., (eds). *Methods in Microbiology*. New York, Academic Press, 1971, pp. 209-344.
22. Islam M.M., Saxena N., Sharma D. Phytoremediation as a green and sustainable prospective method for heavy metal contamination: a review. *RSC Sustainability*. V. 2 (2024). Art. 1269. DOI: 10.1039/d3su00440f.
23. Jiří M., Torzillo G., Koblížek M. Photosynthesis in microalgae. *Handbook of microalgal culture: Applied phycology and biotechnology*, edited by Richmond A. and Hu Q., 2nd ed., Wiley-Blackwell, 2013, pp. 21-56.
24. Jonson H.L., Stauber J.L., Adams M., Jolley D.F. Copper and zinc tolerance of two tropical microalgae after copper acclimation. *Environmental Toxicology*. V. 22, No. 3 (2007): pp. 234-244. DOI: 10.1002/tox.20265.
25. Kaplan D. Absorption and adsorption of heavy metals by microalgae. *Handbook of microalgal culture: Applied phycology and biotechnology*, edited by Richmond A. and Hu Q., 2nd ed., Wiley-Blackwell, 2013, pp. 602-611.
26. León-Vaz A., León R., Giráldez I., Vega J.M., Vigara J. Impact of heavy metals in the microalga *Chlorella sorokiniana* and assessment of its potential use in cadmium bioremediation. *Aquatic Toxicology*. V. 239 (2021). Art. 105941. DOI: 10.1016/j.aquatox.2021.105941.
27. Li H., Watson J., Zhang Y., Lu H., Liu Z. Environment-enhancing process for algal wastewater treatment, heavy metal control and hydrothermal biofuel production: a critical review. *Bioresource Technology*. V. 298 (2020). Art. 122421. DOI: 10.1016/j.biortech.2019.122421.
28. Mahlangu D., Mphahlele K., De Paola F., Mthombeni N.H. Microalgae-mediated biosorption for effective heavy metals removal from wastewater: a review. *Water*. V. 16 (2024). Art. 718. DOI: 10.3390/w16050718.
29. Manzoor F., Karbassi A., Golzary A. Removal of heavy metal contaminants from wastewater by using *Chlorella vulgaris* Beijerinck: a review. *Current Environmental Management*. V. 6, No. 3 (2019): pp. 174-187. DOI: 10.2174/2212717806666190716160536.
30. Mehta S.K., Gaur J.P. Heavy-metal-induced proline accumulation and its role in ameliorating metal toxicity in *Chlorella vulgaris*. *New Phytologist*. V. 143, No. 2 (1999): pp. 253-259.
31. Ogbonna J.C., Nweze N.O., Ogbonna C.N. Effects of light on cell growth, chlorophyll, and carotenoid contents of *Chlorella sorokiniana* and *Ankistrodesmus falcatus* in poultry dropping medium. *Journal of applied biology and biotechnology*. V. 9, No. 2 (2021): pp. 157-163. DOI: 10.7324/JABB.2021.9215.
32. Stauber J.L., Florence T.M. Mechanism of toxicity of ionic copper and copper complexes to algae. *Marine Biology*. V. 94 (1987): pp. 511-519.
33. Wu J.T., Hsieh M.T., Kow L.C. Role of proline accumulation in response to toxic copper in *Chlorella* sp. (*Chlorophyceae*) cells. *Journal of Phycology*. V. 34, No. 1 (1998): pp. 113-117. DOI: 10.1046/j.1529-8817.1998.340113.x.
34. Zhang W., Tan N.G.J., Fu B., Li S.F.Y. Metallomics and NMR-based metabolomics of *Chlorella* sp. reveal the synergistic role of copper and cadmium in multi metal toxicity and oxidative stress. *Metallomics*. V. 7 (2015). Art. 426. DOI: 10.1039/c4mt00253a.
35. Zhou G.J., Peng F.Q., Zhang L.J., Ying G.G. Biosorption of zinc and copper from aqueous solutions by two freshwater green microalgae *Chlorella pyrenoidosa* and *Scenedesmus obliquus*. *Environmental science and pollution research international*. V. 19, No. 7 (2012): pp. 2918-2929. DOI: 10.1007/s11356-012-0800-9.

Статья поступила в редакцию 20.05.2026; одобрена после рецензирования 28.05.2026; принята к публикации 01.06.2026.

The article was submitted 20.05.2026; approved after reviewing 28.05.2026; accepted for publication 01.06.2026.

Информация об авторах

В. В. Галямина – galhamina_v@mail.ru, канд. биол. наук, инженер Лаборатории клеточной иммунологии и нанобиотехнологии;

Д. Ю. Шаравин – dima-sharavin@yandex.ru, канд. биол. наук, м.н.с. Лаборатории клеточной иммунологии и нанобиотехнологии.

Information about the authors

V. V. Galyamina – galhamina_v@mail.ru, candidate of biology, engineer at the Laboratory of cellular immunology and nanobiotechnology;

D. Yu. Sharavin – dima-sharavin@yandex.ru, candidate of biology, junior researcher at the Laboratory of cellular immunology and nanobiotechnology.

Вклад авторов:

Галямина В. В. – развитие методологии; написание исходного текста; статистическая обработка материала; итоговые выводы.

Шаравин Д. Ю. – научное руководство; концепция исследования; доработка текста; итоговые выводы.

Contribution of the authors:

Galyamina V. V. – methodology; writing the original draft; formal analysis; final conclusions.

Sharavin D. Yu. – research supervision; research concept; text revision; final conclusions.

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

The authors declare no conflicts of interests.

МИКРОБИОЛОГИЯ

Обзорная статья

УДК 579

EDN: DVPOVQ

<http://dx.doi.org/10.17072/1994-9952-2026-2-150-158>.



**Патогенный потенциал *Bacillus cereus sensu stricto*
и *Bacillus thuringiensis***

**Владимир Александрович Горшков-Кантакузен¹, Ксения Валерьевна Хлопова²,
Виталий Сергеевич Тимофеев²**

¹ Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования Министерства здравоохранения Российской Федерации, Москва, Россия

² Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии, Оболensk, Россия

Автор, ответственный за переписку: Владимир Александрович Горшков-Кантакузен,
cantacuzene.patent@gmail.com

Аннотация. *Bacillus cereus sensu stricto* и *Bacillus thuringiensis* являются генетически наиболее близкими видами для *Bacillus anthracis*, хотя, как считается, и обладают меньшим патогенным потенциалом. Более того, *B. thuringiensis* вообще считается безопасным для человека и млекопитающих, и находит свое применение исключительно в качестве энтомопатогена. Тем не менее, накапливается все больше исследований, доказывающих, что реальность куда сложнее. В настоящем обзоре на конкретных примерах показан патогенный потенциал указанных видов, обусловленный обнаружением штаммов с генами, характерными для сибиреязвенного микроба. Особенное внимание уделено штаммам *B. cereus* s.s. с pXO1- и pXO2-подобными плазмидами, поскольку их наличие затрудняет идентификацию патогена существующими лабораторными методами. Кроме того, начиная с нынешнего тысячелетия эти штаммы вызывают пневмонии с фульминантным течением. Также показаны случаи токсикоинфекции и бактериемии, обусловленные штаммами *B. thuringiensis*. Показана их потенциальная возможность вызывать раневую инфекцию у человека. Все это указывает на повышение патогенного потенциала *B. cereus* s.s. и *B. thuringiensis*, что требует пересмотра действующей парадигмы контроля за патогенами.

Ключевые слова: *B. cereus*, *B. thuringiensis*, плазмиды

Для цитирования: Горшков-Кантакузен В. А., Хлопова К. В., Тимофеев В. С. Патогенный потенциал *Bacillus cereus sensu stricto* и *Bacillus thuringiensis* // Вестник Пермского университета. Сер. Биология. 2026. Т. 17, вып. 2. С. 150–158. <http://dx.doi.org/10.17072/1994-9952-2026-2-150-158>.

MICROBIOLOGY

Review article

Pathogenic potential of *Bacillus cereus sensu stricto* and *Bacillus thuringiensis*

Vladimir A. Gorshkov-Cantacuzene¹, Ksenia V. Khlopova², Vitalii S. Timofeev²

¹ Russian Medical Academy of Continuous Professional Education of the Ministry of Health of the Russian Federation, Moscow, Russia

² State Research Center of Applied Microbiology and Biotechnology, Obolensk, Russia

Corresponding author: Vladimir A. Gorshkov-Cantacuzene, cantacuzene.patent@gmail.com

Abstract. *Bacillus cereus sensu stricto* and *Bacillus thuringiensis* are genetically the most closely related species to *Bacillus anthracis*, although they are considered to have a lower pathogenic potential. Furthermore, *B. thuringiensis* is generally considered safe for humans and mammals and is exclusively used as an entomopathogen. However, a growing body of evidence suggests that the reality is much more complex. This review provides specific examples demonstrating the pathogenic potential of these species, due to the detection of strains harboring genes characteristic of *Bacillus anthracis*. Particular attention is paid to *B. cereus* s.s. strains with pXO1- and pXO2-like plasmids, since their presence complicates pathogen identification using existing laboratory methods. Furthermore, since the turn of the millennium, these strains have caused fulminant pneumo-

nia. Cases of toxicoinfection and bacteremia caused by *B. thuringiensis* strains are also presented. Their potential to cause wound infections in humans is demonstrated. All of this points to an increase in the pathogenic potential of *B. cereus* s.s. and *B. thuringiensis*, which requires a revision of the current pathogen control paradigm.

Keywords: *B. cereus*, *B. thuringiensis*, plasmids

For citation: Gorshkov-Cantacuzene V. A., Khlopova K. V., Timofeev V. S. [Pathogenic potential of *Bacillus cereus* sensu stricto and *Bacillus thuringiensis*]. *Bulletin of Perm University. Biology*. Vol. 17, iss. 2 (2026): pp. 150-158. (In Russ.). <http://dx.doi.org/10.17072/1994-9952-2026-2-150-158>.

Введение

Bacillus cereus complex – это группа близкородственных бацилл, в которую традиционно включают девять видов – *B. anthracis*, *B. cereus* s. s., *B. thuringiensis*, *B. mycoides*, *B. pseudomycoides*, *B. weihenstephanensis*, *B. cytotoxicus*, *B. toyonensis* и *B. wiedmannii* [Carroll et al., 2017]. И хотя существуют различные мнения относительно «состава» группы [Carroll et al., 2020, 2022], важными для общественного здравоохранения и обеспечения биологической безопасности населения остаются *B. anthracis* и *B. cereus* s. s., входящие, согласно СанПиН 3.3686-21, во II и IV группы патогенности (опасности) соответственно. Еще один вид, *B. thuringiensis*, не является патогенным биологическим агентом, но находит широкое применение в качестве энтомопатогена. Эти три вида являются наиболее изученными и наиболее близкими генетически [Helgason et al., 2000; Radnedge et al., 2003; Carroll et al., 2020], при этом различие в патогенном потенциале в значительной степени обуславливается наличием внехромосомных элементов. Так, геном *B. anthracis* включает плазмиды pX01 и pX02, кодирующие протективный антиген, летальный и отечный факторы, а также поли-γ-D-глутаматную капсулу; геном *B. cereus* s. s. – плазмиду pBCE8410 (ранее pCER270) или pCERE01, кодирующие токсин цереулид, а геном *B. thuringiensis* содержит крупные плазмиды, кодирующие синтез генов инсектицидных токсинов (*cry*, *cyt* и *vip*), которые формируют параспоровые включения, содержащие белки Cry и Cyt, характерные для данного вида [Muñoz et al., 2014; Ehling-Schulz, Lereclus, Koehler, 2019].

Вместе с тем, не все так однозначно, поскольку с выделением в начале нынешнего тысячелетия штаммов *B. cereus* s. s. с pX01- и pX02-подобными плаزمидами [Leendertz et al., 2004, 2006], так называемыми штаммами из Кот-д’Ивуара (CI) и Камеруна (CA), отнесенными к *B. cereus* bv. *anthracis* (Bcbva), считать *B. anthracis* единственным этиологическим агентом «сибиреязвенных» инфекций уже не приходится. Особенно в ситуации, когда другие представители *B. cereus* complex, также приобретая сибиреязвенные детерминанты патогенности, успешно «осваивают» новые экологические ниши. В первую очередь речь идет о штаммах *B. tropicus* JMT, ранее вызывавших прибрежную лихорадку [Heaslip, 1941], но теперь также паразитирующих на китайских триониксах (*Pelodiscus sinensis*) [Tan et al., 2011], и, с мая прошлого года, на больших рыжих кенгуру (*Macropus rufus*) [De Cecco et al., 2025]. В обоих случаях речь идет о животных, обычно невосприимчивых к действию *B. anthracis*. Таким образом, в настоящей статье будет рассмотрено, что представляют наиболее близкие генетически к сибиреязвенному микробу представители «комплекса».

B. cereus s. s.

Как уже говорилось, патогенный потенциал *B. cereus* s. s. обусловлен наличием pX01-подобных плазмид pBCE8410 (ранее pCER270) или pCERE01, кодирующих токсин цереулид, также известный как «рвотный» токсин из-за характерного симптома, хотя точный механизм действия до конца не изучен [Baldwin, 2020; Perchat et al., 2024]. Первая плазида была выделена из штамма *B. cereus* F4810/72, ставшего причиной пищевого отравления пяти человек в Мидлсбро (Великобритания) в результате употребления контаминированного им жареного риса из китайского ресторана [Ehling-Schulz et al., 2006], а вторая – из штамма *B. cereus* Kinrooi 5975с, ставшего причиной смерти семилетней девочки в Кинрой (Бельгия) в результате употребления контаминированных им макарон [Hoton et al., 2005]. Последний случай отравления, ассоциированный с действием цереулида, на момент написания этой статьи, по видимому, относится к сентябрю 2025 г., когда отравление школьников в Базеле (Швейцария) было вызвано присутствием штамма *B. cereus* BH-1 в соусе Бешамель (1100 КОЕ/г) [Biggel et al., 2026].

Бесплазмидные штаммы также являются патогенными, поскольку способны синтезировать так называемые «диарейные» токсины – гемолизин BL, негемолитический энтеротоксин и(или) цитотоксин K, поскольку кодирующие их гены расположены на хромосоме. Их синтез кодируется регуляторным белком PlcR, который, как известно, не секретируется у сибиреязвенного микроба ввиду инактивации гена *plcR* однонуклеотидной мутацией. Все указанные токсины являются поринами, приводящими к осмотическому лизису энтероцитов; соответственно штаммы, их синтезирующие, становятся причинами вспышек пищевых токсикоинфекций, включая крупные вспышки [Lund, Granum, 1996; Lund, de Buyser, Granum, 2000], поскольку они значительно распространены в продуктах питания – в 23.75% случаев

[Rahnama et al., 2023]. Вместе с тем летальные исходы чаще всего ассоциированы именно с синтезом цереулида [Dierick et al., 2005; Naranjo et al., 2011], который помимо «рвотного» симптома может приводить к развитию острой печеночной недостаточности [Chatelanat et al., 2024]. Однако интересно, что уже упомянутый штамм *B. cereus* BH-1 из Базеля (Швейцария), хотя и синтезирует цереулид, но не несет гены *hblD* и *cytK1*, поэтому в данной вспышке имел место только «рвотный» симптом [Biggel et al., 2026]. Из этого можно предположить, что летальные исходы ассоциированы с синтезом цереулида при наличии синтеза «диарейных» токсинов.

Говоря о Российской Федерации, нельзя не указать, что уже в начале января текущего года Роспотребнадзор приостановил ввоз и запретил оборот уже ввезенных детских сухих смесей Nestle (сухих быстрорастворимых молочных и кисломолочных смесей и сухой смеси на основе аминокислот лечебного диетического питания) из-за содержания в них цереулида¹, а производитель добровольно отозвал партии продукции². При этом ранее, в декабре 2025 г., уже отзывалось несколько партий заменителей грудного молока из-за обнаружения на одной из производственных линий *B. cereus* s. s.³

Помимо пищевых отравлений штаммы *B. cereus* s. s. способны вызвать ряд системных и местных инфекций. Например, в 1998 г. они стали причиной сепсиса у младенцев, находящихся на искусственном вентилировании легких, приведя к летальному исходу в одном случае [Van der Zwet et al., 2000]. В другом случае бактериемия, вызванная штаммами *B. cereus* s. s., развилась у 17-летней пациентки с острым лимфобластным лейкозом, проходившей курс химиотерапии, вследствие обильного употребления заварного зеленого чая [El Saleeby et al., 2004]. Возбудитель обнаружили в большинстве чайных пакетиков, однако другие пациенты инфицированы не были ввиду меньшего потребления чая. Примечательно, что в других напитках, таких как кофе, соки и газированные напитки, возбудитель обнаружен не был. В еще одном случае заражение пациентов произошло через выстиранные при 80°C полотенца (10⁶ м.к./полотенце), а контаминированными оказались также стиральные машины, паровые сушилки и вода для ополаскивания [Dohmae et al., 2008]. Примечательно, что большинство выделенных штаммов не несли генов, кодирующих синтез «рвотного» или «диарейных» токсинов, но проявляли устойчивость к ципрофлоксацину, эритромицину и тетрациклину.

Нельзя не упомянуть способность некоторых штаммов *B. cereus* s. s. вызывать эндофтальмиты. Первый зарегистрированный случай, вероятно, относится к 1953 г., когда поражения глаза, приведшие к его эквисцерации, были вызваны переливанием контаминированной донорской крови. Сейчас такая ситуация вряд ли возможна, однако инфекции глаз все же случаются, поскольку возбудитель может быть занесен гематогенно, например, через систему хемопорта [Park et al., 2024]. Гематогенный занос может также приводить к развитию менингитов у младенцев [Girisch et al., 2003] и иммунонекомпетентных лиц. Последняя категория особенно интересна, поскольку менингиты с летальными исходами возникали вследствие «малозначимых» событий. Так, заражение 19-летнего пациента, проходящего лечение от острого миеломоноцитарного лейкоза, произошло через пищу, содержащую незначительное количество возбудителя (в пределах допустимой нормы). Пациент находился в стерильной палате-изоляторе, а инвазия возбудителя произошла через колонизацию горла [Golpin et al., 1981]. Известно также заражение 18-летнего пациента, проходящего курс химиотерапии на фоне первой полной ремиссии острого лимфобластного лейкоза, которое произошло от падения [Guiot et al., 1986]. Дело в том, что перед помещением в стерильный изолятор для проведения химиотерапии ему разрешили немного погулять по территории больницы, где он случайно упал и поцарапал предплечье, что в конечном счете привело к развитию токсического энцефалита. Этот случай интересен еще и тем, что первоначально пациенту была назначена неверная антимикробная терапия, поскольку возбудитель идентифицировали как *Clostridium* spp. (лаборатория посчитала этот возбудитель более вероятным, поскольку имелся контакт пациента с землей). И это не единственный случай, когда *B. cereus* s. s. идентифицировали в качестве одного из видов клостридий. Так, в 1984 г. 20-летний морской пехотинец получил неполную травматическую ампутацию левой руки с открытым оскольчатым переломом лучевой и локтевой костей, а также полным нейроваскулярным нарушением в результате защемления предплечья между двумя железнодорожными вагонами [Johnson, Aulicino, Newby, 1984]. Из-за развития симптомов, сходных с таковыми при газовой гангрене, выделенный из тканей микроб был идентифицирован как *Cl. perfringens*, однако спустя 2 дня вид микроорганизма был уточнен на *B. cereus* s. s., который также проявлял устойчивость к некоторым антимикробным препаратам.

Говоря о штаммах с плазмидами pBCX01 и pBCX02 нельзя не упомянуть штаммы, в геномах которых отсутствует хромосомный маркер Ba813, характерный для *Bcbva* и *B. anthracis*, что генетически «ставит»

¹ URL: https://www.rospotrebnadzor.ru/about/info/news/news_details.php?ELEMENT_ID=31426;
[https://rospotrebnadzor.ru/about/info/news/news_details.php?ELEMENT_ID=31385.](https://rospotrebnadzor.ru/about/info/news/news_details.php?ELEMENT_ID=31385)

² URL: [https://www.nestle.ru/media/news/oficialnoe-zayavlenie-nestle-rossiya-po-dobrovolnomu-otzyvu-opredelennykh-partiy.](https://www.nestle.ru/media/news/oficialnoe-zayavlenie-nestle-rossiya-po-dobrovolnomu-otzyvu-opredelennykh-partiy)

³ URL: [https://swedenherald.com/article/nestl-recalls-infant-formula.](https://swedenherald.com/article/nestl-recalls-infant-formula)

их между ними [Antonation et al., 2016]. Это, например, штамм *B. cereus* JF3964, изолированный из трупа крупного рогатого скота в Коза (Камерун), и штамм *B. cereus* ISP3191, выделенный из пищи (специи) в Бельгии. Следует отметить, что эти штаммы не вызывают инфекционный процесс у человека, чего не скажешь про штаммы, ответственные за развитие пневмонии у сварщиков, симптомокомплекс которой похож на сибиреязвенную пневмонию («сибиреязвенная пневмония сварщиков»). Так, у сварщика из Луизианы (США) с симптомами тяжелой пневмонии был выделен штамм *B. cereus* G9241 [Hoffmaster et al., 2004], чей геном включает плазмиды pBCX01 и pBC210 (ранее pBC218), причем первая плазида на 99.6% идентична плазмиде pX01 сибиреязвенного микроба, а вторая кодирует синтез экзополисахаридной капсулы, а также токсинов, чья аминокислотная последовательность на 36 и 60% сходна соответственно с летальным фактором и протективным антигеном *B. anthracis* соответственно. Кроме того, она несет гены *atxA2* и *pagA2*, получившие свое название из-за способности кодировать синтез белка, подобного протективному антигену *B. anthracis*. Также в геноме присутствует еще и третий внехромосомный элемент – линейная плазида pBFH_1 (ранее pBClin29), несущая гены профага, индуцируемые действием температуры, т. е. культивирование при 37°C (температура тела млекопитающего) инициирует сборку вирионов, причем только в субкультурах, ввиду чего первых можно обнаружить в культуральной жидкости. Удивительной особенностью этого штамма является то, что, несмотря на наличие сибиреязвенного токсина (причем в том или ином виде кодируемого генами сразу двух плазмид!), подвижность, толстую капсулу и способность вызывать легочную инфекцию у людей (преимущественно сварщиков), он имеет сниженную вирулентность для модельных животных (новозеландских белых кроликов и мышей линий A/J и C57BL/6J) в сравнении со штаммом *B. anthracis* Ames и штаммами Bcbva [Wilson et al., 2011; Ferris et al., 2025].

В другом случае, произошедшем в 2003 г. в штате Техас (США), штамм *B. cereus* 03BB87, имеющий плазмиды pBCX01 и pBCX02, стал причиной инфекционного заболевания 39-летнего мужчины, протекающего по типу сибиреязвенной пневмонии и сопровождающегося диареей [Wright et al., 2011; Johnson et al., 2015]. Однако на фоне высокого содержания возбудителя, прикрепленного к клеткам эпителия в бронхоальвеолярном лаваже, были и не характерные для данного заболевания проявления. В частности, полиморфноядерных лейкоцитов и лимфоцитов в нем оказалось немного, тогда как в крови, наоборот, лейкоцитов было в 3.5 раза больше нормы. Лимфатические узлы средостения оказались не увеличены, хотя именно они при сибирской язве являются «отправным пунктом» для миграции возбудителя в другие органы. С другой стороны, присутствовали тошнота и рвота, т. е. важные дифференциально-диагностические признаки, позволяющие на начальных этапах отличить сибирскую язву от других острых респираторных заболеваний [Kuehnert et al., 2003]. Описанный случай интересен тем, что пациент занимался сваркой дома, и это не было его профессией, поскольку чаще всего такие штаммы колонизируют именно легкие сварщиков, а также тех, кто работает с металлами, поскольку, как считается, сварщики больше подвержены риску респираторных заболеваний, чем остальные группы населения [Marongiu et al., 2016]. Вместе с тем пневмонии, вызванные подобными штаммами, имеют сравнительно высокую летальность – около 86%, что обусловлено фульминантным течением заболевания. С другой стороны, исследование образцов сыворотки крови 1386 добровольцев, проживающих в окрестностях национального парка Таи в Кот-д'Ивуаре, показало, что у 10.46% обследованных лиц были обнаружены антитела к Bcbva, несмотря на отсутствие известных случаев инфекции, связанной с Bcbva [Dupke et al., 2020].

B. thuringiensis

Первое сообщение о потенциальной возможности *B. thuringiensis* вызывать инфекционный процесс у человека, вероятно, относится к марту 1995 г., когда бактерия была выделена из биоцата раневой ткани (абсцессов) подорвавшегося на mine 28-летнего солдата [Hernandez et al., 1998]. Последующее изучение выделенного штамма продемонстрировало его способность вызывать инфекцию и мионекроз у иммунонекомпетентных мышей. Примечательно, что на его хромосоме и единственной плазмиде pBT9727 не обнаружено известных генов, кодирующих синтез Bt-токсинов, однако это обстоятельство не отрицает возможности присутствия кодирующих их пока еще неизвестных генов, поскольку наличие параспирального тела подтвердили визуально в Институте Пастера с помощью окраски фиксированного мазка.

Известен случай токсикоинфекции с рвотным и диарейным синдромами, вызванной употреблением в пищу купленного в магазине салата, обработанного на стадии выращивания инсектицидом, содержащим споры *B. thuringiensis* [EFSA BIOHAZ Panel, 2016]. Штамм *B. thuringiensis* subsp. *aizawai* ABTS-1857 был выделен из всех образцов салата, отобранных из разных партий данного производителя, а последующее его исследование показало присутствие хромосомных генов *cytK2* и *nhe/hbe*, ответственных за синтез компонентов «диарейных» токсинов (гемолизина BL, негемолитического энтеротоксина и цитотоксина K). Плазмидный ген *ses*, ответственный за синтез «рвотного» токсина (цереулида), обнаружен не был, однако рвотный синдром у пострадавших присутствовал. Важно отметить, что гены «диарейных» токсинов были обнаружены авторами настоящего обзора при исследовании 22 штаммов, выделенных

с территории различных государств, а их функциональность доказана на животных моделях [Хлопова и др., 2025(а); Хлопова, Горшков-Кантакузен, Тимофеев, 2025(б)].

Еще один случай нельзя оставить без внимания [Barakat et al., 2024]. В 2024 г. 30-летний мужчина с анамнезом шизоаффективного расстройства, положительным результатом теста на антитела к гепатиту С, злоупотреблением комбинированными психоактивными веществами, внутривенным употреблением наркотиков и ранее перенесенной спленэктомией обратился в отделение неотложной помощи с жалобами на лихорадку (38.3°C) и озноб. Других симптомов пациент не отмечал. Рентгенограмма грудной клетки не выявила отклонений. При осмотре выявлены двусторонние язвенные раны голеней от внутривенных инъекций в этих областях, которые на рентгенограмме визуализированы как линейная металлическая плотность кпереди от дистального вала левой малоберцовой кости, предположительно фрагмент иглы для инъекций. Поскольку в анамнезе имеются эпизоды употребления инъекционных наркотиков, а симптомы указывают на развитие инфекционного процесса, осуществлен посев крови, однако пациент покинул отделение вопреки рекомендациям врача. Спустя 4 дня выросшая культура была идентифицирована как *B. thuringiensis*, ввиду чего пациент был повторно госпитализирован для проведения семидневного курса антибиотикотерапии ванкомицином. Компьютерная томография подтвердила наличие иглы в нижних конечностях, поэтому пациенту предложена операция, от которой после совещания с семьей он отказался из-за опасения, что необходимая пересадка кожи может оказаться неудачной, если продолжить внутривенное употребление наркотиков. Повторные посевы крови дали отрицательный результат, и ввиду улучшения состояния пациент выписался, отказавшись от психиатрической помощи. Данный случай является единственным, когда саморазрешающаяся бактериемия была вызвана *B. thuringiensis*.

Заключение

Рассмотренные нами примеры наглядно показывают возрастание патогенного потенциала штаммов *B. cereus* s. s. и *B. thuringiensis*, в основном за счет приобретения детерминант патогенности сибиреязвенного микроба. Можно предположить, что между членами группы *B. cereus* complex в настоящее время происходит интенсивный генетический обмен, приводящий к появлению штаммов с новыми «функциями», которые стремительно осваивают новые биологические ниши. Все это требует усиления контроля за ними, поскольку является важной составляющей обеспечения биологической безопасности государства согласно Федеральному закону № 492-ФЗ от 30 декабря 2020 г. «О биологической безопасности в Российской Федерации».

Список источников

1. Хлопова К.В., Горшков-Кантакузен В.А., Тимофеев В.С. Патогенный потенциал *Bacillus thuringiensis* // Школа-конференция молодых ученых, аспирантов и студентов «Генетические технологии в микробиологии и микробное разнообразие»: сборник материалов конф. СПб.: Научное издание, 2025. С. 71.
2. Хлопова К.В. и др. Токсичные штаммы *Bacillus thuringiensis* // Эпидемиология-2025: сб. тез. Конгресса с междунар. участием. М., 2025а. С. 174–175.
3. Antonation K.S. et al. *Bacillus cereus* biovar anthracis causing Anthrax in Sub-Saharan Africa – chromosomal monophyly and broad geographic distribution // PLoS Negl. Trop Dis. 2016. Vol. 10, № 9. Art. e0004923. DOI: 10.1371/journal.pntd.0004923. EDN: XUNOVN.
4. Baldwin V.M. You can't *B. cereus* – a review of *Bacillus cereus* strains that cause Anthrax-like disease // Front Microbiol. 2020. Vol. 11. Art. 1731. DOI: 10.3389/fmicb.2020.01731.
5. Barakat S. et al. *Bacillus thuringiensis* bacteremia in a 30-year-old Intravenous drug user: a report of a rare case // Cureus. 2024. Vol. 16, № 10. Art. e71704. DOI: 10.7759/cureus.71704.
6. Biggel M. et al. Foodborne intoxication most likely linked to *Bacillus cereus* in a school canteen hot ready-to-eat meal // J. Food Prot. 2026. Vol. 89, № 4. Art. 100721. DOI: 10.1016/j.jfp.2026.100721.
7. Carroll L.M. et al. Rapid, High-throughput identification of Anthrax-causing and emetic *Bacillus cereus* group genome assemblies via B typer, a computational tool for virulence-based classification of *Bacillus cereus* group isolates by using nucleotide sequencing data // Appl. Environ. Microbiol. 2017. Vol. 83, № 17. Art. e01096-17. DOI: 10.1128/AEM.01096-17.
8. Carroll L.M. et al. Keeping up with the *Bacillus cereus* group: taxonomy through the genomics era and beyond // Crit. Rev. Food Sci. Nutr. 2022. Vol. 62, № 28. P. 7677–7702. DOI: 10.1080/10408398.2021.1916735.
9. Carroll L.M. et al. Proposal of a taxonomic nomenclature for the *Bacillus cereus* group which reconciles genomic definitions of Bacterial species with clinical and industrial phenotypes // mBio. 2020. Vol. 11, № 1. Art. e00034–20. DOI: 10.1128/mBio.00034–20.

10. Chatelanat O. et al. Liver failure after *Bacillus cereus* food poisoning, an under-recognized entity: A case report // World J. Hepatol. 2024. Vol. 16, № 11. P. 1339–1347. DOI: 10.4254/wjh.v16.i11.1339. EDN: PBKJQE.
11. De Cecco B.S. et al. Pathologic and genomic characterization of an outbreak of anthrax-like disease caused by *Bacillus tropicus* (formerly atypical *Bacillus cereus*) in red kangaroos (*Macropus rufus*) // Vet. Pathol. 2025. Vol. 62, № 3. P. 332–342. DOI: 10.1177/03009858241306399.
12. Dierick K. et al. Fatal family outbreak of *Bacillus cereus*-associated food poisoning // J. Clin. Microbiol. 2005. Vol. 43, № 8. P. 4277–4279. DOI: 10.1128/JCM.43.8.4277–4279.2005.
13. Dohmae S. et al. *Bacillus cereus* nosocomial infection from reused towels in Japan // J. Hosp. Infect. 2008. Vol. 69, № 4. P. 361–367. DOI: 10.1016/j.jhin.2008.04.014.
14. Dupke S. et al. Serological evidence for human exposure to *Bacillus cereus* biovar anthracis in the villages around Tai National Park, Côte d'Ivoire // PLoS Negl. Trop. Dis. 2020. Vol. 14, № 5. Art. e0008292. DOI: 10.1371/journal.pntd.0008292. EDN: HSQWYF.
15. EFSA BIOHAZ Panel. Risks for public health related to the presence of *Bacillus cereus* and other *Bacillus* spp. including *Bacillus thuringiensis* in foodstuffs // EFSA J. 2016. Vol. 14. Art. 4524. DOI: 10.2903/j.efsa.2016.4524.
16. Ehling-Schulz M. et al. Cereulide synthetase gene cluster from emetic *Bacillus cereus*: Structure and location on a mega virulence plasmid related to *Bacillus anthracis* toxin plasmid pX01 // BMC Microbiol. 2006. Vol. 6. Art. 20. DOI: 10.1186/1471–2180–6–20.
17. Ehling-Schulz M., Lereclus D., Koehler T.M. The *Bacillus cereus* group: *Bacillus* species with pathogenic potential // Microbiol. Spectr. 2019. Vol. 7, № 3. Art. 2018. DOI: 10.1128/microbiolspec.gpp3-0032-2018.
18. El Saleeby C.M. et al. Association between tea ingestion and invasive *Bacillus cereus* infection among children with cancer // Clin. Infect. Dis. 2004. Vol. 39, № 10. P. 1536–1539. DOI: 10.1086/425358.
19. Ferris A.M. et al. *Bacillus cereus* biovar anthracis causes inhalational anthrax-like disease in rabbits that is treatable with medical countermeasures // PLoS Negl. Trop. Dis. 2025. Vol. 19, № 4. Art. e0012973. DOI: 10.1371/journal.pntd.0012973.
20. Girisch M. et al. Intestinal perforations in a premature infant caused by *Bacillus cereus* // Infection. 2003. Vol. 31, № 3. P. 192–193. DOI: 10.1007/s15010–002–3037–6. EDN: ESMADZ.
21. Golpin G.G. et al. *Bacillus cereus* meningitis in a patient under gnotobiotic care // Lancet. 1981. Vol. 2, № 8248. P. 694–695. DOI: 10.1016/s0140–6736(81)91025–4.
22. Guiot H.F. et al. *Bacillus cereus*: a snake in the grass for granulocytopenic patients // J. Infect. Dis. 1986. Vol. 153, № 6. Art. 1186. DOI: 10.1093/infdis/153.6.1186.
23. Heaslip W. *Bacillus tropicus*, a new species isolated from man and animals described and compared with other *Bacilli* resembling, *Bacillus anthracis* // Med. J. Australia. 1941. Vol. 2, № 19. P. 536–543. DOI: 10.5694/j.1326–5377.1941.tb54246.xopen_in_new.
24. Helgason E. et al. *Bacillus anthracis*, *Bacillus cereus*, and *Bacillus thuringiensis* – one species on the basis of genetic evidence // Appl. Environ. Microbiol. 2000. Vol. 66, № 6. P. 2627–2630. DOI: 10.1128/aem.66.6.2627–2630.2000. EDN: YEQOEZ.
25. Hernandez E. et al. *Bacillus thuringiensis* subsp. konkukian (serotype H34) superinfection: Case report and experimental evidence of pathogenicity in immunosuppressed mice // J. Clin. Microbiol. 1998. Vol. 36, № 7. P. 2138–2139. DOI: 10.1128/jcm.36.7.2138–2139.1998.
26. Hoffmaster A.R. et al. Identification of anthrax toxin genes in a *Bacillus cereus* associated with an illness resembling inhalation anthrax // PNAS. 2004. Vol. 101, № 101. P. 8449–8454. DOI: 10.1073/pnas.0402414101.
27. Hoton F.M. et al. The cereulide genetic determinants of emetic *Bacillus cereus* are plasmid-borne // Microbiology. 2005. Vol. 151. P. 2121–2124. DOI: 10.1099/mic.0.28069–0.
28. Johnson D.A., Aulicino P.L., Newby J.G. *Bacillus cereus*-induced myonecrosis // J. Trauma. 1984. Vol. 24, № 3. P. 267–270. DOI: 10.1097/00005373–198403000–00015.
29. Johnson S.L. et al. Finished genome sequence of *Bacillus cereus* strain 03BB87, a clinical isolate with *B. anthracis* virulence genes // Genome Announc. 2015. Vol. 3, № 1. Art. e01446-01414. DOI: 10.1128/genomeA.01446-14.
30. Kuehnert M.J. et al. Clinical features that discriminate inhalational anthrax from other acute respiratory illnesses // Clin. Infect. Dis. 2003. Vol. 36, № 3. P. 328–336. DOI: 10.1086/346035.
31. Leendertz F.H. et al. Anthrax kills wild chimpanzees in a tropical rainforest // Nature. 2004. Vol. 430, № 6998. P. 451–452. DOI: 10.1038/nature02722.
32. Leendertz F.H. et al. Anthrax in western and central African great apes // Am. J. Primatol. 2006. Vol. 68, № 9. P. 928–933. DOI: 10.1002/ajp.20298. EDN: LURKSD.
33. Leendertz F.H. et al. A New *Bacillus anthracis* found in wild chimpanzees and a gorilla from West and Central Africa // PLoS Pathog. 2006. Vol. 2, № 1. Art. e8. DOI: 10.1371/journal.ppat.0020008.
34. Lund T., de Buyser M.L., Granum P.E. A new cytotoxin from *Bacillus cereus* that may cause necrotic enteritis // Mol. Microbiol. 2000. Vol. 38, № 2. P. 254–261. DOI: 10.1046/j.1365–2958.2000.02147.x. EDN: LWEVQF.

35. Lund T., Granum P.E. Characterisation of a non-haemolytic enterotoxin complex from *Bacillus cereus* isolated after a foodborne outbreak // *FEMS Microbiol. Lett.* 1996. Vol. 141, № 2–3. P. 151–156. DOI: 10.1111/j.1574-6968.1996.tb08377.x. EDN: YCAFSQ.
36. Marongiu A. et al. Are welders more at risk of respiratory infections? Findings from a cross-sectional survey and analysis of medical records in shipyard workers: the WELSHIP project // *Thorax*. 2016. Vol. 71, № 7. P. 601–606. DOI: 10.1136/thoraxjnl-2015-207912.
37. Muñoz D. et al. *Bacillus thuringiensis* toxins: an overview of their biocidal activity // *Toxins*. 2014. Vol. 6. P. 3296–3325. DOI: 10.3390/toxins6123296. EDN: UPXPHT.
38. Naranjo M. et al. Sudden death of a young adult associated with *Bacillus cereus* food poisoning // *J. Clin. Microbiol.* 2011. Vol. 49, № 12. P. 4379–4381. DOI: 10.1128/JCM.05129-11. EDN: PMNEYL.
39. Park H. et al. *Bacillus cereus* endophthalmitis in a child with hemophilia: a case report // *Korean J. Ophthalmol.* 2024. Vol. 38, № 4. P. 327–329. DOI: 10.3341/kjo.2024.0058. EDN: AHQHGI.
40. Perchat S. et al. The megaplasmid pCER270 of *Bacillus cereus* emetic strain affects the timing of the sporulation process, spore resistance properties, and germination // *Appl. Environ. Microbiol.* 2024. Vol. 90, № 9. Art. e0102924. DOI: 10.1128/aem.01029-24.
41. Radnedge L. et al. Genome differences that distinguish *Bacillus anthracis* from *Bacillus cereus* and *Bacillus thuringiensis* // *Appl. Environ. Microbiol.* 2003. Vol. 69, № 5. P. 2755–2764. DOI: 10.1128/AEM.69.5.2755-2764.2003. EDN: LUJBSF.
42. Rahnema H. et al. A systematic review and meta-analysis of the prevalence of *Bacillus cereus* in foods // *Food Control*. 2023. Vol. 143. Art. 109250. DOI: 10.1016/j.foodcont.2022.109250. EDN: CTQBKY.
43. Tan A.-P. et al. Isolation and identification of *Bacillus cereus* from *Trionyx sinensis* // *Guangdong Agric. Sci.* 2011. Vol. 20. P. 115–116.
44. Van der Zwet W.C. et al. Outbreak of *Bacillus cereus* infections in a Neonatal Intensive Care Unit traced to balloons used in manual ventilation // *J. Clin. Microbiol.* 2000. Vol. 38, № 11. P. 4131–4136. DOI: 10.1128/jcm.38.11.4131-4136.2000.
45. Wilson M.K. et al. *Bacillus cereus* G9241 makes Anthrax toxin and capsule like highly virulent *B. anthracis* Ames but behaves like attenuated toxigenic nonencapsulated *B. anthracis* Sterne in rabbits and mice // *Infect. Immun.* 2011. Vol. 79, № 8. P. 3012–3019. DOI: 10.1128/IAI.00205-11.
46. Wright A.M. et al. Rapidly progressive, fatal, inhalation Anthrax-like infection in a human: case report, pathogen genome sequencing, pathology, and coordinated response // *Arch. Pathol. Lab. Med.* 2011. Vol. 135, № 11. P. 1447–1459. DOI: 10.5858/2011-0362-SAIR.1. EDN: XZWNWK.

References

1. Khlopova K.V., Gorshkov-Cantacuzene V.A., Timofeev V.S. [Pathogenic potential of *Bacillus thuringiensis*]. Conference-school for young scientists, postgraduate students, and students "Genetic technologies in microbiology and microbial diversity": conference proceedings; Pushchino, December 2-4, 2025, edited by L. I. Yevtushenko, St. Petersburg, Science-intensive technologies Publ., 2025, p.71(6). (In Russ.).
2. Khlopova K.V., Gorshkov-Cantacuzene V.A., Chikina Yu.V. et al. [Toxic *Bacillus thuringiensis*] Epidemiology-2025: Collection of Abstracts of the Congress with International Participation (Moscow, October 15–16, 2025), edited by Academician of the Russian Academy of Sciences V. G. Akimkin, Moscow, Central Research Institute of Epidemiology of Rospotrebnadzor Publ., pp. 174–175(a). (In Russ.).
3. Antonation K.S., Grützmacher K., Dupke S. et al. *Bacillus cereus* biovar anthracis causing Anthrax in Sub-Saharan Africa – chromosomal monophyly and broad geographic distribution. *PLoS Negl. Trop Dis.* V. 10, No. 9 (2016). Art. e0004923. DOI: 10.1371/journal.pntd.0004923.
4. Baldwin V. M. You can't *B. cereus* - a review of *Bacillus cereus* strains that cause Anthrax-like disease. *Front Microbiol.* V. 11 (2020). Art. 1731. DOI: 10.3389/fmicb.2020.01731.
5. Barakat S., Kim H., Dankar R. et al. *Bacillus thuringiensis* bacteremia in a 30-year-old Intravenous drug user: a report of a rare case. *Cureus.* V. 16, No. 10 (2024). Art. e71704. DOI: 10.7759/cureus.71704.
6. Biggel M., Weber M., Ebenstreit C. et al. Foodborne intoxication most likely linked to *Bacillus cereus* in a school canteen hot ready-to-eat meal. *J. Food Prot.* V. 89, No. 4 (2026). Art. 100721. DOI: 10.1016/j.jfp.2026.100721.
7. Carroll L.M., Kovac J., Miller R.A. et al. Rapid, High-throughput identification of Anthrax-causing and emetic *Bacillus cereus* group genome assemblies via B typer, a computational tool for virulence-based classification of *Bacillus cereus* group isolates by using nucleotide sequencing data. *Appl. Environ. Microbiol.* V. 83, No. 17 (2017). Art. e01096-17. DOI: 10.1128/AEM.01096-17
8. Carroll L.M., Cheng M. et al. Keeping up with the *Bacillus cereus* group: taxonomy through the genomics era and beyond. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* V. 62, No. 28 (2022): pp. 7677-7702. DOI: 10.1080/10408398.2021.1916735.
9. Carroll L.M., Wiedmann M. et al. Proposal of a taxonomic nomenclature for the *Bacillus cereus* group which reconciles genomic definitions of Bacterial species with clinical and industrial phenotypes. *mBio.* V. 11, No. 1 (2020). Art. e00034-20. DOI: 10.1128/mBio.00034-20.

10. Chatelanat O., de Lorenzi-Tognon M., Spahr L. et al. Liver failure after *Bacillus cereus* food poisoning, an under-recognized entity: A case report. *World J. Hepatol.* V. 16, No. 11 (2024). pp. 1339-1347. DOI: 10.4254/wjh.v16.i11.1339.
11. De Cecco B.S., Falconnier N.G. et al. Pathologic and genomic characterization of an outbreak of anthrax-like disease caused by *Bacillus tropicus* (formerly atypical *Bacillus cereus*) in red kangaroos (*Macropus rufus*). *Vet. Pathol.* V. 62, No. 3 (2025): pp. 332-342. DOI: 10.1177/03009858241306399.
12. Dierick K., Coillie E.V. et al. Fatal family outbreak of *Bacillus cereus*-associated food poisoning. *J. Clin. Microbiol.* V. 43, No. 8 (2005): pp. 4277-4279. DOI: 10.1128/JCM.43.8.4277-4279.2005.
13. Dohmae S., Okubo T., Higuchi W. et al. *Bacillus cereus* nosocomial infection from reused towels in Japan. *J. Hosp. Infect.* V. 69, No. 4 (2008): pp. 361-367. DOI: 10.1016/j.jhin.2008.04.014.
14. Dupke S., Schubert G., Beudjé F. et al. Serological evidence for human exposure to *Bacillus cereus* biovar anthracis in the villages around Taï National Park, Côte d'Ivoire. *PLoS Negl. Trop. Dis.* V. 14, No. 5 (2020). Art. e0008292. DOI: 10.1371/journal.pntd.0008292.
15. EFSA BIOHAZ Panel. Risks for public health related to the presence of *Bacillus cereus* and other *Bacillus* spp. including *Bacillus thuringiensis* in foodstuffs. *EFSA J.* V. 14 (2016). Art. 4524. DOI: 10.2903/j.efsa.2016.4524.
16. Ehling-Schulz M., Fricker M., Grallert H. et al. Cereulide synthetase gene cluster from emetic *Bacillus cereus*: Structure and location on a mega virulence plasmid related to *Bacillus anthracis* toxin plasmid pX01. *BMC Microbiol.* V. 6 (2006). Art. 20. DOI: 10.1186/1471-2180-6-20.
17. Ehling-Schulz M., Lereclus D., Koehler T.M. The *Bacillus cereus* group: *Bacillus* species with pathogenic potential. *Microbiol. Spectr.* V. 7, No. 3 (2019). Art. 2018. DOI: 10.1128/microbiolspec.gpp3-0032-2018.
18. El Saleeby C.M., Howard S.C., Hayden R.T. et al. Association between tea ingestion and invasive *Bacillus cereus* infection among children with cancer. *Clin. Infect Dis.* V. 39, No. 10 (2004): pp. 1536-1539. DOI: 10.1086/425358.
19. Ferris A.M., Dawson D.G., Eyler A.B. et al. *Bacillus cereus* biovar anthracis causes inhalational anthrax-like disease in rabbits that is treatable with medical countermeasures. *PLoS Negl. Trop. Dis.* V. 19, No. 4 (2025). Art. e0012973. DOI: 10.1371/journal.pntd.0012973.
20. Girisch M., Ries M., Zenker M. et al. Intestinal perforations in a premature infant caused by *Bacillus cereus*. *Infection.* V. 31, No. 3 (2003): pp. 192-193. DOI: 10.1007/s15010-002-3037-6.
21. Golpin G.G., Guiot H.F., Simonis R.F. et al. *Bacillus cereus* meningitis in a patient under gnotobiotic care. *Lancet.* V. 2, No. 8248 (1981): pp. 694-695. DOI: 10.1016/s0140-6736(81)91025-4.
22. Guiot H.F., de Planque M.M., Richel D.J. et al. *Bacillus cereus*: a snake in the grass for granulocytopenic patients. *J. Infect. Dis.* V. 153, No. 6 (1986). Art. 1186. DOI: 10.1093/infdis/153.6.1186.
23. Heaslip W. *Bacillus tropicus*, a new species isolated from man and animals described and compared with other *Bacilli* resembling, *Bacillus anthracis*. *Med. J. Australia.* V. 2, No. 19 (1941): pp. 536-543. DOI: 10.5694/j.1326-5377.1941.tb54246.xopen_in_new.
24. Helgason E., Økstad O.A., Caugant D.A. et al. *Bacillus anthracis*, *Bacillus cereus*, and *Bacillus thuringiensis* – one species on the basis of genetic evidence. *Appl. Environ. Microbiol.* V. 66, No. 6 (2000): pp. 2627-2630. DOI: 10.1128/aem.66.6.2627-2630.2000.
25. Hernandez E., Ramisse F., Ducoureaux J.P. et al. *Bacillus thuringiensis* subsp. konkukian (serotype H34) superinfection: Case report and experimental evidence of pathogenicity in immunosuppressed mice. *J. Clin. Microbiol.* V. 36, No. 7 (1998): pp. 2138-2139. DOI: 10.1128/jcm.36.7.2138-2139.1998.
26. Hoffmaster A.R., Ravel J., Rasko D.A. et al. Identification of anthrax toxin genes in a *Bacillus cereus* associated with an illness resembling inhalation anthrax. *PNAS.* V. 22, No. 101 (2004): pp. 8449-8454. DOI: 10.1073/pnas.0402414101.
27. Hoton F.M., Andrup L., Swiecicka I. et al. The cereulide genetic determinants of emetic *Bacillus cereus* are plasmid-borne. *Microbiology.* V. 151 (2005): pp. 2121-2124. DOI: 10.1099/mic.0.28069-0.
28. Johnson D.A., Aulicino P.L., Newby J.G. *Bacillus cereus*-induced myonecrosis. *J. Trauma.* V. 24, No. 3 (1984): pp. 267-270. DOI: 10.1097/00005373-198403000-00015.
29. Johnson S.L., Minogue T.D., Teshima H. et al. Finished genome sequence of *Bacillus cereus* strain 03BB87, a clinical isolate with *B. anthracis* virulence genes. *Genome Announc.* V. 3, No. 1 (2015). Art. e01446-01414. DOI: 10.1128/genomeA.01446-14.
30. Kuehnert M.J., Doyle T.J., Hill H.A. et al. Clinical features that discriminate inhalational anthrax from other acute respiratory illnesses. *Clin. Infect. Dis.* V. 36, No. 3 (2003): pp. 328-336. DOI: 10.1086/346035.
31. Leendertz F.H., Ellerbrok H. et al. Anthrax kills wild chimpanzees in a tropical rainforest. *Nature.* V. 430, No. 6998 (2004): pp. 451-452. DOI: 10.1038/nature02722.
32. Leendertz F.H., Lankester F. et al. Anthrax in western and central African great apes. *Am. J. Primatol.* V. 68, No. 9 (2006): pp. 928-933. DOI: 10.1002/ajp.20298.
33. Leendertz F.H., Yumlu S. et al. A New *Bacillus anthracis* found in wild chimpanzees and a gorilla from West and Central Africa. *PLoS Pathog.* V. 2, No. 1 (2006). Art. e8. DOI: 10.1371/journal.ppat.0020008.

34. Lund T., de Buyser M.L., Granum P.E. A new cytotoxin from *Bacillus cereus* that may cause necrotic enteritis. *Mol. Microbiol.* V. 38, No. 2 (2000): pp. 254-261. DOI: 10.1046/j.1365-2958.2000.02147.x.
35. Lund T., Granum P.E. Characterisation of a non-haemolytic enterotoxin complex from *Bacillus cereus* isolated after a foodborne outbreak. *FEMS Microbiol. Lett.* V. 141, No. 2-3 (1996): pp. 151-156. DOI: 10.1111/j.1574-6968.1996.tb08377.x.
36. Marongiu A., Hasan O., Ali A. et al. Are welders more at risk of respiratory infections? Findings from a cross-sectional survey and analysis of medical records in shipyard workers: the WELSHIP project. *Thorax.* V. 71, No. 7 (2016): pp. 601-606. DOI: 10.1136/thoraxjnl-2015-207912.
37. Muñoz D., Berry C., Murillo J. et al. *Bacillus thuringiensis* toxins: an overview of their biocidal activity. *Toxins.* V. 6 (2014): pp. 3296-3325. DOI: 10.3390/toxins6123296.
38. Naranjo M., Denayer S., Botteldoorn N. et al. Sudden death of a young adult associated with *Bacillus cereus* food poisoning. *J Clin Microbiol.* V. 49, No. 12 (2011): pp. 4379-4381. DOI: 10.1128/JCM.05129-11.
39. Park H., Lee C. S., Kang H. G. et al. *Bacillus cereus* endophthalmitis in a child with hemophilia: a case report. *Korean J Ophthalmol.* V. 38, N 4 (2024). pp. 327-329. DOI: 10.3341/kjo.2024.0058
40. Perchat S., Nevers A., Kranzler M. et al. The megaplasmid pCER270 of *Bacillus cereus* emetic strain affects the timing of the sporulation process, spore resistance properties, and germination. *Appl. Environ. Microbiol.* V. 90, No. 9 (2024). Art. e0102924. DOI: 10.1128/aem.01029-24.
41. Radnedge L., Agron P.G., Hill K.K. et al. Genome differences that distinguish *Bacillus anthracis* from *Bacillus cereus* and *Bacillus thuringiensis*. *Appl. Environ. Microbiol.* V. 69, No. 5 (2003): pp. 2755-2764. DOI: 10.1128/AEM.69.5.2755-2764.2003.
42. Rahnama H., Azari R., Yousefi M.H. et al. A systematic review and meta-analysis of the prevalence of *Bacillus cereus* in foods. *Food Control.* V. 143 (2023). Art. 109250. DOI: 10.1016/j.foodcont.2022.109250.
43. Tan A.-P., Zhao F. et al. Isolation and identification of *Bacillus cereus* from *Trionyx sinensis*. *Guangdong Agric. Sci.* V. 20 (2011): pp. 115-116.
44. Van der Zwet W.C., Parlevliet G.A., Savelkoul P.H. et al. Outbreak of *Bacillus cereus* infections in a Neonatal Intensive Care Unit traced to balloons used in manual ventilation. *J. Clin. Microbiol.* Vol. 38, No. 11 (2000): pp. 4131-4136. DOI: 10.1128/jcm.38.11.4131-4136.2000.
45. Wilson M.K., Vergis J.M., Alem F. et al. *Bacillus cereus* G9241 makes Anthrax toxin and capsule like highly virulent *B. anthracis* Ames but behaves like attenuated toxigenic nonencapsulated *B. anthracis* Sterne in rabbits and mice. *Infect. Immun.* V. 79, No. 8 (2011): pp. 3012-3019. DOI: 10.1128/IAI.00205-11.
46. Wright A.M., Beres S.B., Consamus E.N. et al. Rapidly progressive, fatal, inhalation Anthrax-like infection in a human: case report, pathogen genome sequencing, pathology, and coordinated response. *Arch. Pathol. Lab. Med.* V. 135, No. 11 (2011): pp. 1447-1459. DOI: 10.5858/2011-0362-SAIR.1.

Статья поступила в редакцию 10.03.2026; одобрена после рецензирования 15.05.2026; принята к публикации 01.06.2026.

The article was submitted 10.03.2026; approved after reviewing 15.05.2026; accepted for publication 01.06.2026.

Информация об авторах

В. А. Горшков-Кантакузен – cantacuzene.patent@gmail.com, старший преподаватель кафедры медицинской микробиологии имени акад. З. В. Ермольевой, врач-бактериолог;

К. В. Хлопова – xlopova.12@yandex.ru, м.н.с. лаборатории микробиологии сибирской язвы;

В. С. Тимофеев – timofeev_vitalii@mail.ru, канд. биол. наук, зам. директора по аналитической работе.

Information about the authors

V. A. Gorshkov-Cantacuzene – cantacuzene.patent@gmail.com. Senior Lecturer of the Z.V. Yermolyeva Department of Medical Microbiology, bacteriologist;

K. V. Khlopova – xlopova.12@yandex.ru, junior researcher of the Laboratory of the anthrax microbiology;

V. S. Timofeev – timofeev_vitalii@mail.ru, PhD in biology, Deputy Director for Analytical Work.

Вклад авторов:

Горшков-Кантакузен В. А. – сбор материалов; написание исходного текста.

Хлопова К. В. – сбор материалов; обсуждение и корректировка текста.

Тимофеев В. С. – вычитка и корректировка текста.

Contribution of the authors:

Gorshkov-Cantacuzene V. A. – data collection; writing of the original text.

Khlopova K. V. – data collection; text discussion and editing.

Timofeev V. S. – proofreading and text editing.

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

The authors declare no conflicts of interests.

МИКРОБИОЛОГИЯ

Обзорная статья

УДК 579.2

EDN: JJMNRD

<http://dx.doi.org/10.17072/1994-9952-2026-2-159-168>



**Антиоксидантный и антибактериальный потенциал
эпифитных микроорганизмов наземных и водных растений**

**Ирина Аркадьевна Ковалёва¹, Анна Петровна Шутко¹,
Татьяна Сергеевна Шепелева², Анна Олеговна Хорошунова³**

¹ Институт аграрной генетики и селекции, Ставропольский государственный аграрный университет,
Ставрополь, Россия

² Ставропольский государственный медицинский университет, Ставрополь, Россия

³ Институт агробиологии и природных ресурсов, Ставропольский государственный аграрный
университет, Ставрополь, Россия

Автор, ответственный за переписку: Ирина Аркадьевна Ковалёва, Kovalevairina3006@gmail.com

Аннотация. Подробно разбираются эколого-физиологические предпосылки формирования антиоксидантного и антибактериального потенциалов, включая адаптацию к экстремальным условиям филлосферы (УФ-излучение, pH среды и др.), симбиотические взаимодействия с растениями-хозяевами и эволюционные механизмы синтеза защитных метаболитов. Обобщаются ключевые методологические подходы к изучению: от культуральных методов выделения и молекулярных техник (16S рРНК-секвенирование, метагеномика) до функционального скрининга активности DPPH (2,2-дифенил-1-пикрилгидразил) стабильных свободных радикалов – тест для антиоксидантов, зоны ингибирования для антимикробных веществ. Кроме того, выявляются перспективные направления биотехнологического использования эпифитов: разработка пробиотических препаратов на основе полезных штаммов (*Pseudomonas fluorescens*, *Bacillus subtilis*), интеграция эпифитов в агрономию для повышения устойчивости растений к стрессам. Настоящее обзорное исследование концентрируется на систематизации и всестороннем анализе современных научных данных о метаболическом потенциале эпифитных микроорганизмов, выступающих в роли продуцентов антиоксидантных и антимикробных соединений. Большинство исследований, которые рассматриваются в данной статье, были направлены на выявление и изучение биологически активных соединений, производимых эпифитами, обитающими преимущественно на морских водорослях. Результаты дальнейших исследований в этом направлении могут способствовать созданию новых и перспективных препаратов.

Ключевые слова: эпифитные микроорганизмы, антиоксиданты, антибактериальные свойства, биологически активные вещества

Для цитирования: Антиоксидантный и антибактериальный потенциал эпифитных микроорганизмов наземных и водных растений / И. А. Ковалёва, А. П. Шутко, Т. С. Шепелева, А. О. Хорошунова // Вестник Пермского университета. Сер. Биология. 2026. Т. 17, вып. 2. С. 159–168. <http://dx.doi.org/10.17072/1994-9952-2026-2-159-168>.

MICROBIOLOGY

Review article

**Antioxidant and antibacterial potential of epiphytic
microorganisms from terrestrial and aquatic plants**

Irina A. Kovaleva¹, Anna P. Shutko¹, Tatyana S. Shepeleva², Anna O. Khoroshunova³

¹ Institute of Agricultural Genetics and Breeding, Stavropol State Agrarian University, Stavropol, Russia

² Stavropol State Medical University, Stavropol, Russia

³ Institute of Agricultural Genetics and Breeding, Stavropol State Agrarian University, Stavropol, Russia

Corresponding author: Irina A. Kovaleva, Kovalevairina3006@gmail.com

Abstract. The paper examines in detail the ecological and physiological prerequisites for the formation of antioxidant and antibacterial potentials, including adaptation to extreme phyllosphere conditions (UV radiation,

ambient pH, etc.), symbiotic interactions with host plants, and evolutionary mechanisms of protective metabolite synthesis. Key methodological approaches are summarized, ranging from cultural isolation methods and molecular techniques (16S rRNA sequencing, metagenomics) to functional Screening using the DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) stable free radical scavenging assay for antioxidants and zones of inhibition for antimicrobial substances. In addition, promising areas for the biotechnological use of epiphytes are identified, including the development of probiotic preparations based on beneficial strains (*Pseudomonas fluorescens*, *Bacillus subtilis*) and the integration of epiphytes into agronomy to increase plant stress tolerance. This review study focuses on the systematization and comprehensive analysis of current scientific data on the metabolic potential of epiphytic microorganisms acting as producers of antioxidant and antimicrobial compounds. Most of the studies reviewed in this article focus on identifying and characterizing bioactive compounds produced by epiphytes, which primarily inhabit marine algae. The results of further research in this area may contribute to the development of new and promising preparations.

Keywords: epiphytic microorganisms, antioxidants, antibacterial properties, biologically active substances

For citation: Kovaleva I. A., Shutko A. P., Shepeleva T. S., Khoroshunova A. O. [Antioxidant and antibacterial potential of epiphytic microorganisms from terrestrial and aquatic plants]. *Bulletin of Perm University. Biology*. vol. 17, iss. 2 (2026): pp. 159-168. (In Russ.). <http://dx.doi.org/10.17072/1994-9952-2026-2-159-168>.

Введение

Термин «эпифит» (от греч. *epi* – на, и *phyton* – растение) ввел Шарль Бриссо-де-Мирбель (Charles Brisseau-Mirbel) в 1820-х гг. для растений, обитающих на других без паразитизма, получающих влагу и питание из воздуха (орхидеи, бромелии).

Эпифитные бактерии – это микроорганизмы, обитающие на поверхности растений. Ранее для их обозначения использовали более общие термины, такие как «поверхностная микрофлора растений» или «филлофитная микрофлора». Сам термин «эпифитные бактерии» получил широкое распространение уже во 2-й половине XX в. и используется в микробиологии растений для обозначения бактерий, заселяющих надземные органы растений и существующих за счет продуктов их экзосмоса по настоящее время. Эпифитная микрофлора представляет собой сложное сообщество микроорганизмов, включающее молочнокислые бактерии, бациллы, дрожжи, актиномицеты, плесневые грибы и другие формы. Ее состав варьирует в зависимости от вида растения, состояния поверхности органов, влажности, pH среды, температуры и доступности питательных веществ [Галиева, Галицкая, Селивановская, 2023].

Эпифитные бактерии в первую очередь ассоциированы с наземными растениями, непосредственно с филлосферой; аналогичные сообщества также формируются и на поверхностях водных растений (гидрофитов), где они адаптированы к повышенной влажности и аэробным условиям водной среды [Приходько, Селицкая, 2014]. В микробиологии водных эпифитов (перифитон) преобладают грамотрицательные бактерии, такие как *Pseudomonas*, *Aeromonas*, *Flavobacterium*, *Cyanobacteria*, *Bacillariophyta* и *Levadura*, питающиеся выделениями растений и органическими соединениями водной фазы, описанные с середины XX в. как часть микробных биопленок, конкурирующих с патогенами и участвующих в круговороте азота и фосфора.

В 1903 г. К. Бари в русскоязычной литературе ввел термин «микрофлора надземных частей растений» для описания микроорганизмов на поверхностях растений, подчеркивая их роль в питании и защите. До 1980-х гг. этот термин доминировал в советской микробиологии, охватывая бактерии и грибы, живущие за счет экссудатов и пыли, без проникновения в ткани.

Beattie и Lindow (1999) называли все бактерии листовых поверхностей «филлобактериями» (*phyllobacteria*), аналогично «ризобактериям» корневой зоны. Это стандартизировало терминологию для неинвазивных видов (*Pseudomonas syringae*, *Enterobacteriaceae*).

В 1960–1970-х гг. термин «эпифит» в микробиологии закрепился достаточно прочно, это совпало с исследованиями фитопатогенеза: ученые изучали антагонизм патогенов и силосование кормов. Эпифиты вроде *Lactobacillus plantarum* снижали pH, консервируя корм, и предотвращали гниение. С середины XX в. ранее преобладали синонимы «поверхностные микроорганизмы» или «филлосферная флора» [Мусин и др., 2022].

В работах Malvick и Moore (1988) представлено, что большинство эпифитных бактерий не вредят растению, т. к. составляют в большинстве своем нормальную микрофлору, на которой они обитают, но в некоторых случаях они могут быть как полезными, так и губительными. В качестве примера можно привести бактерии, которые способствуют образованию кристаллов льда. Такие места зарождения льда служат очагами образования льда на растениях при температуре намного выше обычной. Некоторые штаммы распространенных эпифитов, таких как *Pseudomonas fluorescens*, *Pseudomonas syringae* и *Pantoea agglomerans*, обладают потенциалом зарождения льда, а представители *Ps. syringae*, как известно, являются фитопатогенными постоянными обитателями среди эпифитных популяций на травах и деревьях.

Lavermicossa и соавт. (1987) свидетельствуют о видоспецифичности эпифитных штаммов микроорганизмов, отмечая, что, помимо потенциала ледообразования, некоторые патогенные виды *Pseudomonas*, по-видимому, ассоциируются эпифитно на соответствующих растениях-хозяевах. На таких растениях, как олива и олеандр, часто встречается возбудитель оливкового узла *Pseudomonas syringae pathovar savastanoi* и другие псевдомонады, составляющие около 33 % популяции. Другие микроорганизмы эпифитного сообщества включают *Bacillus* (22 %) и *Xanthomonas* (10 %), а также меньшее количество представителей *Acinetobacter*, *Erwinia*, *Serratia*, *Lactobacillus*, *Corynebacterium*, *Flavobacterium* и неопознанные азотфиксаторы.

Ercolani (1978) составил список бактерий для листьев оливы, где основными эпифитными организмами были *Pseudomonas syringae pathovar savastanoi* и *Erwinia herbicola*. Такая тесная связь патогена в эпифитном состоянии может быть важна для его длительного выживания.

S.S. Hirano и C.D. Upper внесли уточнение в определение понятия: «Эпифитные микроорганизмы – это бактерии, способные размножиться на поверхности растений». Они подчеркнули динамику сообществ (10^4 – 10^7 кл/см²), конкурирующих с патогенами вроде *Venturia* или *Alternaria* [Hirano, Upper, 1991].

Beattie и Lindow [1995] разработали общую модель колонизации листьев эпифитными бактериями, которая выглядит следующим образом: иммиграция бактерий → модификация среды обитания → деление бактерий → образование микроколоний → образование крупных агрегатов → проникновение в пространство растения → модификация среды обитания и деление бактерий → миграция на поверхность листа.

Эти этапы будут отличаться у бактерий разных видов. Рассмотренная динамика колонизации и выживания в агрессивной среде филлосферы является основой для ключевого биотехнологически значимого свойства эпифитов – синтеза широкого спектра биологически активных соединений, среди которых особый интерес представляют вещества с антиоксидантной и антимикробной активностью.

Теоретический обзор

Успешная колонизация филлосферы по модели Beattie и Lindow [1995] обеспечивает эпифитам адаптацию к агрессивной среде, стимулируя синтез биологически активных метаболитов. Фитогормоны, которые, по данным B.R. Glick [2012], продуцируют PGPB (plant growth-promoting bacteria), (*Bacillus subtilis*, *Pseudomonas fluorescens*), включая гиббереллины – дитерпеновые регуляторы роста, прерывающие покой семян и стимулирующие цветение.

Glick в обзоре «Plant Growth-Promoting Bacteria: Mechanisms and Applications» [2012] описал бактерии, стимулирующие рост растений PGPB, включая эпифитов рода *Bacillus subtilis*, *B. pumilus*, *licheniformis*, *B. megaterium*, *B. cereus*, *Pseudomonas fluorescens*. Они фиксируют азот, синтезируют фитогормоны (ауксины, гиббереллины) и подавляют патогенов, продвигая устойчивое земледелие без химикатов.

Гиббереллины – группа дитерпеновых фитогормонов, стимулирующих рост стеблей и корней за счет деления и удлинения клеток, прерывающих покой семян, клубней и луковиц, способствующих формированию цветоносов, цветению, плодоношению, прорастанию пыльцы и образованию партенокарпии (бессемянных плодов у винограда, смородины, овощей).

Eiichi Kurosawa открыл гиббереллины при исследовании болезни риса «баканэ» (яп. «болезнь дурных побегов» или «бешеный рис»), вызываемой грибом *Gibberella fujikuroi* (современное название *Fusarium fujikuroi* или *Fusarium proliferatum*). Заболевание проявлялось аномальным удлинением междоузлий стеблей риса, что приводило к их полеганию, слабому образованию колосьев и снижению урожайности; он также экспериментально доказал, что фильтрат культуры гриба, выращенного на питательной среде, воспроизводит симптомы «баканэ» на здоровых растениях риса. Это указало на наличие метаболита гриба – растворимого вещества, стимулирующего чрезмерный рост стеблей. Данные вещества он не выделил химически, но установил причинно-следственную связь между грибом и эффектом [Куросава, 1926].

В 1935 г. японский химик Тосифуми Ябута (Toshiro Yabuta) с коллегами из Токийского императорского университета выделил активное вещество из культуры *Gibberella fujikuroi* в химически чистом кристаллическом виде. В результате это позволило подтвердить химическую природу вещества, провести первые биотесты на рост, заложить основу для синтеза и промышленного применения [Ябута, Сумки, 1938].

В 1939–1950-х гг. в Японии, США и Европе выделили GA2–GA3 Gibberellin A2, дитерпеновый фитогормон (GA3 – наиболее активная гиббереллиновая кислота). Открытие гиббереллинов стало ключевым в фитогормонологии, связав патологию растений с регуляторами роста.

Zotz (2016) в обзоре качественного состава эпифитной микрофлоры отметил определенную степень однородности микробных сообществ. Среди наиболее распространенных представителей выделяется *Pseudomonas herbicola* (ранее *Xanthomonas herbicola*, син. *Erwinia herbicola*) – короткие подвижные грамотрицательные палочки, образующие золотистые колонии на мясопептонном агаре (МПА).

Часто встречаются также *Pseudomonas fluorescens* – полиморфные палочки с полярными жгутиками, флуоресцирующие как в мясопептонном бульоне (МПБ), так и на МПА. Спороносные бактерии (*Bacillus subtilis*, *Bacillus mesentericus*, *Bacillus vulgatus*) и неспорообразующие (*Escherichia coli*) обнаруживаются реже, как и плесневые и дрожжевые грибы, а молочнокислые бактерии и дикие дрожжи рода *Saccharomyces* выступают первичными антагонистами гнилостных микроорганизмов (*Bacillus*, *Pseudomonas*, *Actinomyces*, *Fungi imperfecti*) [Сиротин, Зеленкова, Шкуропат, Кортюкова, 2016].

R.P. Bartelme и соавт. в 2018 г. ввели термин PGPM – *микроорганизмы, стимулирующие рост растений* (*plant growth-promoting microorganisms*), в том числе в системах аквапоники. Эти микроорганизмы заселяют ризосферу, синтезируют фитогормоны, прежде всего гиббереллины, и тем самым ускоряют рост побегов, стимулируют прорастание семян, а также могут влиять на цветение и образование вегетативных органов, например, столонов [Bartelme et al., 2018].

В том же году Jimenez-Gomez и соавт. предложили понятие «пробиотики растений», под которым понимают микробные консорциумы, используемые для улучшения физиологического состояния растений и повышения качества продукции. Такие препараты могут включать представителей родов *Enterobacter* и *Streptomyces*.

R. Backer и соавт. подробно рассмотрели PGPR/PGPB (*plant growth-promoting rhizobacteria*, широкая группа PGPR + эпифиты + эндифиты обитающие на разных частях растения (корни, листья, стебли, внутри тканей)). PGPB (*plant growth-promoting bacteria*), узкая группа, живущих в ризосфере (корневой зоне почвы), специфичны для корневой системы растений как биостимуляторы. Эти бактерии не только повышают урожайность, но и усиливают устойчивость растений к абиотическим и биотическим стрессам, а также участвуют в биоконтроле фитопатогенов. К числу наиболее изученных представителей этой группы относятся *Bacillus*, *Pseudomonas*, *Azotobacter*, *Azospirillum* и *Rhizobium*. Они обитают преимущественно в ризосфере, фиксируют азот, мобилизуют фосфаты и синтезируют антимикробные соединения, улучшая питание и защиту растений [Backer et al., 2018].

Эпифитные микроорганизмы занимают особую экологическую нишу и постоянно испытывают воздействие неблагоприятных факторов: колебаний влажности и температуры, дефицита питательных веществ, ультрафиолетового излучения и кислой среды. В ответ на это у них сформировались адаптационные механизмы, включая пигментацию, повышающую устойчивость к УФ-излучению, а также системы репарации ДНК. Например, у *Pseudomonas syringae* толерантность к ультрафиолету связывают с индукцией плазмидных генов, участвующих в восстановлении ДНК. Исследования эпифитной микробиоты земляники показывают, что изменение ее состава, например, рост доли патогенов вроде *Cladosporium* или, наоборот, полезных антагонистов, может служить индикатором стресса, болезней или нарушений в почвенной среде.

R. Schlechter и соавт. показали, что эпифитные микроорганизмы при колонизации растительных поверхностей формируют биологический барьер – так называемый первичный иммунитет, препятствующий проникновению патогенов в ткани. Большинство из них действует как антагонисты фитопатогенных и гнилостных бактерий и грибов, обеспечивая защиту растений от инфекций. Авторы рассматривают этот антагонизм не как случайное явление, а как результат сложных межмикробных взаимодействий в консорциуме, где конкуренция за ресурсы и пространство стимулирует синтез антибиотиков, а также отмечают перспективность управления эпифитной микрофлорой. Одним из эффективных методов усиления ее размножения и антагонистического действия против фитопатогенов является опрыскивание растений питательными растворами. Такой подход позволяет бороться с заболеваниями растений через целенаправленное воздействие на эпифитную микробиоту [Schlechter et al., 2019].

M.D. Gershman и соавт. [2008] отмечают, что некоторые виды бактерий признаны продуцентами витаминов, среди которых могут быть упомянуты молочнокислые бактерии, являющиеся эпифитами и способные к синтезу витаминов группы В. Кроме того, эти эпифиты известны своими антагонистическими свойствами, позволяющими им эффективно бороться с различными фитопатогенными грибами и бактериями посредством производства антибиотиков.

Именно благодаря этим свойствам эпифиты способны синтезировать широкий спектр биологически активных веществ, оказывающих влияние на рост и продуктивность растений. К числу таких микроорганизмов относятся бактерии рода *Pseudomonas*, широко распространенные на поверхности филлосферы древесных культур. Они способны продуцировать ауксины, гиббереллины, цитокинины, сидерофобы (пиовердин) и антибиотики (пиоцианин, пирролнитрин), стимулируя рост и защищая растения от патогенов [ibid].

A. Norta и соавт. [2014] выделили и идентифицировали эпифитные бактерии с поверхности бурых водорослей *Bifurcaria bifurcata*, а также получили их экстракты для оценки антиоксидантной и антимикробной активности. Идентификацию эпифитных бактерий проводили методом секвенирования гена 16S рРНК, а затем получили 2 типа экстрактов – это метанольный (полярные соединения) и дихлорметановый (липофильные метаболиты) экстракты эпифитных бактерий, используемые для оценки их антиоксидантных и антимикробных свойств. Антиоксидантные свойства экстрактов определяли количественными

методами: по общему содержанию фенолов TPC (*Total Phenolic Content*), активности поглощения радикалов DPPH и ORAC (*Oxygen Radical Absorbance Capacity*), емкости поглощения кислородных радикалов. Антимикробную активность оценивали по влиянию экстрактов на тест-культуры: *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Bacillus subtilis*, *Salmonella enteritidis*, *Staphylococcus aureus*, *Saccharomyces cerevisiae* и *Candida albicans*.

В результате исследований бурой водоросли *Bifurcaria bifurcata* были выделены 39 эпифитных микроорганизмов, среди которых 33 были идентифицированы как представители родов *Vibrio* sp., *Alteromonas* sp., *Shewanella* sp., *Serratia* sp., *Citricoccus* sp., *Cellulophaga* sp., *Ruegeria* sp. и *Staphylococcus* sp. Штамм *Shewanella* sp. показал наивысшую антиоксидантную и антимикробную активность против *Bacillus subtilis*. Некоторые культуры *Alteromonas* sp. и *Vibrio* sp. проявили активность против *S. Aureus*. Данное исследование выявило значительный потенциал эпифитных бактерий *Bifurcaria bifurcata* в качестве источников природных антиоксидантных и антимикробных соединений [Horta et al., 2014].

G. Romano и соавт. отмечают, что антиоксидантный и антибактериальный потенциал эпифитных микроорганизмов наиболее изучен на примере морских экосистем. Эпифитные сообщества морских водорослей признаны исключительно богатым источником новых антибиотиков благодаря жесткой конкуренции в условиях биообрастания. Это направление является наиболее разработанным среди современных исследований [Romano et al., 2022].

F.J. Adeolu и соавт. были изучены фитохимический состав и антиоксидантная активность экстрактов листьев апельсина *Citrus sinensis* (CS) и его эпифитной микрофлоры (CSE) *in vitro* (CSE – *Citrus sinensis* epiphytic microorganisms, микроорганизмы, выделенные с поверхности листьев апельсина). Фитохимический профиль экстрактов определяли методом ВЭЖХ (высокоэффективная жидкостная хроматография, HPLC (*High Performance Liquid Chromatography*)), а антиоксидантные свойства оценивали с помощью ряда спектрофотометрических тестов, включая DPPH, тест на нейтрализацию оксида азота, определение ингибирования перекисного окисления липидов и метод FRAP (*Ferric Reducing Antioxidant Power*). Эпифиты участвуют в круговороте питательных веществ и увеличивают разнообразие и биомассу экосистемы, в которой они обитают, как и любой другой организм. Например, эпифиты какао используются для лечения болезней сердца, эпифиты ореха кола – диабета, а эпифиты моринги – диабета и малярии [Adeolu et al., 2020].

Результаты метода ВЭЖХ, показали наличие в экстрактах CS и CSE ряда биологически активных соединений, в том числе эриоцитрина, кверцетогенина, тангеретин, гесперидина и флавоноидов. При этом в CSE наибольшее содержание было отмечено для эриоцитрина, а в CS – для тангеретин. В целом экстракт CS продемонстрировал более выраженный антиоксидантный потенциал по сравнению с CSE, что, вероятно, связано с более высоким суммарным содержанием фитохимических веществ.

Полученные данные указывают на то, что листья *Citrus sinensis* и их эпифитные микроорганизмы могут служить перспективным источником природных антиоксидантов. Такие соединения потенциально могут использоваться при разработке терапевтических средств и функциональных продуктов, предназначенных для профилактики и коррекции патологических состояний, связанных с окислительным стрессом [Sok Sian Liew, Wan Yong Ho, Swee Keong Yeap, Shaiful Adzni Bin Sharifudin, 2018].

A. Sharma и соавт. отметили, что ключевым этапом оценки биологического потенциала эпифитов стало их прямое сравнение с эндофитами. В исследовании эпифитных и эндофитных бактерий лекарственных растений установлено, что антиоксидантная активность многих эпифитных изолятов не уступает эндофитным. При этом отдельные штаммы родов *Pseudomonas* и *Bacillus* дополнительно проявляют антимикробную активность. Эпифитная ниша является не менее перспективным объектом биопроспекции, чем эндофитная [Sharma et al., 2023].

A. Penesyan и соавт. показали, что эпифитные морские бактерии синтезируют защитные вещества, чтобы бороться с патогенами и не дать другим микробам заселить водоросли. Ключевой пример – троподитиетиновая кислота (TDA) из *Pseudovibrio* sp. D323. TDA убивает морских бактерий разных групп, но сами продуценты устойчивы к ней (благодаря специальному механизму). TDA проявляет мощную антибиотическую активность с высоким потенциалом для разработки новых лекарственных препаратов, а не только антиоксидантных свойств. Выделенные эпифиты с водорослей у берегов о. Малый Андаман (Little Andaman) *Bacillus* sp., *Pseudomonas stutzeri*, *Vibrio*, *Alcanivorax dieselolei*, *Exiguobacterium profundum* подавляют патогенных возбудителей (*Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Shigella*, *Salmonella*) – зоны ингибирования патогенных возбудителей до 30 мм. Они производят фуранопроизводные, 2-пирролидон и фенолы; минимальная концентрация (MIC) – 2.5 мг/мл. Оптимальные условия: среда с 1 % NaCl, глюкозой, дрожжевым экстрактом при pH = 7. На наземных растениях *Pseudomonas* и *Erwinia herbicola* создают барьер против фитопатогенов через антибиотики и конкуренцию за пространство [Penesyan, Kjelleberg, Egan, 2011].

Lemos и соавт. [1985] изучили антибиотические свойства бактерий, живущих на поверхности морских водорослей (эпифитных бактерий). Они взяли 5 видов зеленых и бурых водорослей (*Ulva intestinalis*, *Enteromorpha intestinalis*, *Enteromorpha* spp, *Laminaria* spp, *Fucus* spp), выделили 224 штамма бактерий и

протестировали их на способность производить антибиотики. Из 224 штаммов 38 показали антимикробную активность – они подавляли рост других бактерий, как своих, так и чужих. Больше всего таких штаммов нашли на *Enteromorpha intestinalis*. Все активные бактерии относились к группам *Pseudomonas* и *Alteromonas*. Их антибиотики действовали на следующие патогены: *Staphylococcus*, *Vibrio*, *Pseudomonas* и *Pasteurella*.

Эпифитные бактерии (*Sphaerococcus coronopifolius*) на морских водорослях обладают мощной антиоксидантной активностью, защиту от свободных радикалов измеряли тестами ORAC (*Oxygen Radical Absorbance Capacity*), DPPH (2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl) – это метод улавливания радикалов, при котором стабильный фиолетовый свободный радикал теряет цвет (становится желтым) при контакте с антиоксидантами. Метод измеряет степень и скорость нейтрализации стабильного свободного радикала, где антиоксиданты восстанавливают его до нерадикальной формы. DPPH-тест подтверждает высокую радикальную активность экстрактов. Эта активность обусловлена высоким TPC – содержанием фенолов, которые продуцируют пигментированные *Gammaproteobacteria* (*Pseudoalteromonas*, *Vibrio*, *Shewanella*).

TPC – *Total Phenolic Content* (общее содержание фенольных соединений), ключевой показатель антиоксидантного потенциала растений и микроорганизмов. Пигментированные бактерии класса *Gammaproteobacteria* (*Pseudoalteromonas*, *Vibrio*, *Shewanella*) производят фенольные антиоксиданты с высоким потенциалом применения в медицине и косметике. В растительных системах они усиливают защиту хозяина, повышая ORAC – способность гасить пероксильные радикалы – основные агрессоры окислительного стресса в растениях; TEAC (*Trolox Equivalent Antioxidant Capacity*) определяет антиоксидантную активность экстрактов в эквивалентах тролокса по их способности нейтрализовать катион-радикалы ABTS [Pawar, Majeed, Pal, Singh, 2015].

Методы оценки антиоксидантной активности эпифитных бактерий позволяют количественно измерить их способность нейтрализовать свободные радикалы, восстанавливать окислители и предотвращать окислительный стресс. Эти подходы особенно важны для морских эпифитов на водорослях штаммов *Sphaerococcus* Sp2, Sp12, Sp23, Sp25, Sp27 и Sp4, поскольку такие бактерии часто продуцируют пигменты, ферменты (супероксиддисмутаза, каталаза) и метаболиты с антиоксидантными свойствами, защищающие хозяина от УФ-излучения и патогенов.

Для оценки антиоксидантной активности экстрактов эпифитных бактерий широко применяют спектрофотометрические, флуориметрические, кинетические и электрохимические методы. Чаще всего используют DPPH, ABTS, FRAP, TBARS-тесты и метод Folin – Ciocalteu, поскольку они просты в исполнении, относительно недороги и подходят для первичного скрининга образцов.

DPPH-тест основан на способности антиоксидантов восстанавливать стабильный свободный радикал DPPH, что сопровождается изменением окраски раствора с фиолетовой на бледно-желтую и снижением оптической плотности при 517 нм. По результатам анализа рассчитывают показатель IC50, т. е. концентрацию вещества, при которой ингибируется 50 % радикалов.

ABTS-тест основан на обесцвечивании радикал-катиона ABTS⁺, поглощение которого регистрируют при 734 нм; результат обычно выражают в процентах ингибирования или в эквивалентах Trolox. Этот метод удобен для оценки как водорастворимых, так и липофильных антиоксидантов.

FRAP (*Ferric Reducing Antioxidant Power*) – тест, который позволяет определить восстановительную способность экстракта по восстановлению ионов Fe³⁺ до Fe²⁺ в присутствии комплекса TPTZ (2,4,6-Tris(2-pyridyl)-s-triazine; 2,4,6-три(2-пиридил)-s-триазин); изменение окраски измеряют спектрофотометрически при 593 нм, а результаты нередко выражают в пересчете на Fe (II).

Метод TBARS (*Thiobarbituric Acid Reactive Substances*) применяют для оценки интенсивности перекисного окисления липидов: он основан на определении малонового диальдегида, образующего окрашенный комплекс с тиобарбитуровой кислотой.

Помимо спектрофотометрических методов, в исследованиях антиоксидантных свойств эпифитных бактерий также используют флуориметрические и кинетические подходы, которые позволяют отслеживать реакцию в реальном времени и особенно полезны при анализе слабых антиоксидантов. К таким методам относятся ORAC и HORAC. ORAC оценивается способность соединений защищать флуоресцентный зонд от окисления пероксильными радикалами, а HORAC – от воздействия гидроксильных радикалов, образующихся в реакциях, связанных с ионами металлов. Эти методы считаются более информативными для сложных биологических экстрактов, поскольку учитывают не только конечный результат, но и скорость протекания реакции.

Для более точного анализа также применяют электрохимические методы, в том числе амперометрию и вольтамперометрию. Они основаны на прямом измерении тока окисления антиоксидантов при заданном потенциале и особенно удобны для изучения фенольных и флавоноидных соединений. Такие подходы отличаются высокой чувствительностью и специфичностью, поэтому подходят для анализа чистых культур и очищенных экстрактов.

Качественная пробоподготовка обеспечивает достоверность анализа метаболитов эпифитных микроорганизмов. Экстракция метаболитов проводят ультразвуком или аппаратом Сокслета с использованием метанола/этанола (соотношение 1:10, 40°C, 30–60 мин). Культуральные жидкости центрифугируют при 8000 g, 10 мин. Для живых культур определяют активность ферментов, в частности супероксиддисмутазы (SOD) по замедлению восстановления нитроблещего тетразолия (NBT) до голубого формазана.

Сравнение ведут с контролями: Trolox (аналог витамина E), аскорбиновая кислота IC₅₀ <100 мкг/мл = высокая активность. Штаммы *Sphaerococcus* Sp2, Sp12 показывают результаты в DPPH/FRAP благодаря пигментам (табл. 1) [Яшин, 2018].

Таблица 1

Критерии антиоксидантной активности эпифитных штаммов *Sphaerococcus* Sp2, Sp12, Sp23, Sp25, Sp27 и Sp4

[Criteria for antioxidant activity of epiphytic strains of *Sphaerococcus* Sp2, Sp12, Sp23, Sp25, Sp27 and Sp4]

Критерий	Высокая активность	Средняя активность	Низкая активность
DPPH IC ₅₀	<100 мкг/мл	100–500 мкг/мл	>500 мкг/мл
ABTS	>200 μmol TE/g	50–200 μmol TE/g	<50 μmol TE/g
FRAP	>500 μM Fe (II)/г	100–500 μM Fe (II)/г	<100 μM Fe (II)/г

Спектрофотометрические методы: DPPH-тест – IC₅₀ <100 мкг/мл указывает на высокую активность. Штаммы *Sphaerococcus* Sp2, Sp12 показывают превосходные результаты за счет пигментированных метаболитов. FRAP-тест – восстановление Fe³⁺ → Fe²⁺ с 2,4,6-три(2-пиридил)-s-триазином (TPTZ). ABTS-тест – улавливание катион-радикалов ABTS - +. Показатели DPPH, FRAP сильно коррелируют (r >0.9) с содержанием фенолов/флавоноидов у *Bacillus* и *Pseudomonas*.

Хроматографические методы: ВЭЖХ – профилирование полифенолов и пигментов. Амперометрия – потенциал окисления <0.5 В свидетельствует о высокой активности.

Биохимические методы: TBARS – ингибирование ПОЛ, контроль FeSO₄ и 1,1,3,3-тетраэтоксипропан. SOD – супероксиддисмутазы по замедлению восстановления NBT до формазана.

Критерии отбора:

- АОА >50–100 μmol TE/g (эквиваленты Trolox);
- Снижение окислительного стресса растений на 30–50%;
- Полевое применение: 10⁹ КОЕ/г в биопрепаратах.

Результаты выражают в эквивалентах стандарта (μmol TE/g или mM) (табл. 2) [Козубенко, Рудакова, 2018].

Таблица 2

Контрольные стандарты методов антиоксидантной активности

[Control standards for antioxidant activity methods]

Метод	Контрольные стандарты	Единицы измерения
DPPH	Trolox, аскорбиновая кислота	IC ₅₀ (мг/мл), % ингибирования
ABTS (TEAC)	Trolox	mM TE, % ингибирования
FRAP	FeSO ₄ ·7H ₂ O	мкМ Fe (II)/г
ORAC	Trolox	мкмоль TE/g

Кулонометрия позволяет прямо измерять антиоксидантную активность (АОА) по электрическому току, возникающему при окислении антиоксидантов на электроде, калибруя по троксолу в диапазоне 0,044–0,330 mM, измеряя заряд (Кулон), необходимый для полного окисления антиоксидантов; это напрямую отражает их концентрацию без спектрофотометрии. Метод надежен для бактериальных экстрактов (±10–15% СКО при Ph 4–7), превосходит FRAP по чувствительности (LOD 0,01 mM) и минимизирует помехи от пигментов. Для TBARS или ORAC комбинируют с амперометрией, где потенциал окисления (<0,5 В) подтверждает высокую активность.

Обеспечение воспроизводимости – это бактериальный экстракт (*Bacillus*, *Pseudomonas*), стандарты калибруют кривыми (R² >0.99), проверяя ±15% СКО в 3–5 повторностях; это учитывает матричные эффекты (белки, соли). Рекомендуют нормализацию к сухому весу или CFU, хранение при –80°C и параллельный контроль (FeSO₄ для FRAP). В селекции штаммов это позволяет сравнивать АОА >100 μmol TE/g для биоконтроля.

Заключение

Анализ мирового опыта, накопленного к настоящему моменту, позволяет выявить несколько ключевых моментов в исследовании антиоксидантного и антимикробного потенциала эпифитов. Во-первых, намечился очевидный сдвиг от исследований наземных филлосфер к морским экосистемам, где наблюдается высокий уровень биоразнообразия эпифитных бактерий макроскопических водорослей. Это объясняется жесткой конкуренцией в биоценологических сообществах «водоросль - эпифит».

Во-вторых, актуальным направлением становится прямое сравнительное изучение метаболического потенциала эндо- и эпифитных сообществ в рамках одного растения-хозяина. Работы последних лет (например, [Sharma et al., 2023]) демонстрируют, что эпифитные изоляты с поверхности лекарственных растений могут не уступать, а по некоторым параметрам (например, по разнообразию синтезируемых фенольных соединений) даже превосходить эндофитные, что опровергает устоявшееся представление о вторичности эпифитной ниши.

В-третьих, методология исследований эволюционирует от простого скрининга к комплексному метаболическому и геномному анализу. Определение конкретных биоактивных молекул, секвенирование генов 16S рРНК для точной идентификации и поиск BGCs (*Biosynthetic Gene Clusters*) биосинтетических кластеров генов становятся стандартом, позволяя перейти от констатации активности к пониманию ее молекулярных основ. Таким образом, современный этап характеризуется переходом к целенаправленному изучению эпифитов как самостоятельного и высокоперспективного ресурса, чему способствует конвергенция методов микробной экологии, биохимии и молекулярной биологии.

Следовательно, эпифитные микроорганизмы обладают выраженным антиоксидантным и антибактериальным потенциалом, который может быть использован в различных отраслях – от медицины до пищевой промышленности.

Список источников

1. Галиева Г.Ш., Галицкая П.Ю., Селивановская С.Ю. Растительный микробиом: происхождение, состав и функции // Ученые записки Казанского университета. Сер. Естественные науки. 2023. Т. 165, кн. 2. С. 231–262. DOI: 10.26907/2542-064X.2023.2.231-262 EDN: TJOOQC
2. Козубенко А.А., Рудакова Л.В. Современные методы определения антиоксидантной активности // Молодежный инновационный вестник. 2018. Т. 7, № S1. С. 314. URL: <https://new.vestnik-surgery.com/index.php/2415-7805/article/view/4224> (дата обращения: 30.03.2026). EDN: YXJXAN
3. Куросава Э. Вещество, вызывающее болезнь «дурных побегов» риса // Труды Сельскохозяйственного общества Токио. 1926. Т. 2. С. 411–424.
4. Мусин Р.Р. и др. Влияние комбинации гомоферментативных и гетероферментативных молочнокислых бактерий на качество силоса люцерны // Вестник Алтайского государственного аграрного университета. 2022. № 1 (207). С. 89–94. DOI: 10.53083/1996–4277-2022-207-1-89-94 EDN: AXQQBN
5. Приходько С.И., Селицкая О.В. Исследование качественного состава эпифитных микроорганизмов некоторых культурных и сорных растений Тамбовской и Московской областей // Агрохимический вестник. 2014. № 6. С. 40–43. EDN: SGNLSD
6. Сиротин А.А. и др. Изучение эпифитной микрофлоры некоторых овощных культур // Международный журнал прикладных и фундаментальных исследований. 2016. № 7-2. С. 230–232. URL: <https://applied-research.ru/article/view?id=9799> (дата обращения: 07.04.2026). EDN: WAYERH
7. Ябуга Т., Сумки Ю. On the crystal of gibberellin, a substance to promote plant growth // Journal of the Agricultural Chemical Society of Japan. 1938. Т. 14, № 12. С. 1526–1531.
8. Яшин А.Я. Методология определения антиоксидантной активности и содержания антиоксидантов в образцах растительного и животного происхождения // J.-Analytics. 2018. URL: <https://www.j-analytics.ru/journal/article/9028> (дата обращения: 30.03.2026).
9. Adeolu F.J. et al. Comparative antioxidant potentials and high-performance liquid chromatography of leaf extracts of *Citrus sinensis* and its epiphytes // Достижения современной науки. 2020. № 7. С. 95–96.
10. Backer R. et al. Plant growth-promoting rhizobacteria: context, mechanisms of action, and roadmap to commercialization of biostimulants for sustainable agriculture // Frontiers in Plant Science. 2018. Vol. 9. Art. 1473. DOI: 10.3389/fpls.2018.01473 EDN: VMBDGU
11. Bartelme R.P. et al. Stripping away the soil: plant growth promoting microbiology opportunities in aquaponics // Frontiers in Microbiology. 2018. Vol. 9. Art. 8. DOI: 10.3389/fmicb.2018.00008
12. Gershman M.D. et al. Multistate outbreak of *Pseudomonas fluorescens* bloodstream infection after exposure to contaminated heparinized saline flush prepared by a compounding pharmacy // Clinical Infectious Diseases. 2008. Vol. 47, № 11. P. 1372–1379. DOI: 10.1086/592968
13. Glick B.R. Plant Growth-Promoting Bacteria: Mechanisms and Applications // Scientifica. 2012. № 2012. Art. 963401. DOI: 10.6064/2012/963401

14. Hirano S.S., Upper C.D. Ecology and epidemiology of phyllosphere yeasts in some Wisconsin cranberry marshes // *Canadian Journal of Microbiology*. 1991. Vol. 37. P. 194–201.
15. Horta A. et al. Antioxidant and antimicrobial potential of the *Bifurcaria bifurcata* epiphytic bacteria // *Marine Drugs*. 2014. Vol. 12, № 3. P. 1676–1687. DOI: 10.3390/md12031676 EDN: SOSXQF
16. Pawar V., Majeed A., Pal V., Singh A. Antioxidant activity of *Sphaerococcus coronopifolius* and its Epiphytic bacteria // *Brazilian Journal of Microbiology*. 2015. Vol. 46, № 2. P. 531–538. DOI: 10.1590/S1517-838246220140384
17. Penesyan A., Kjelleberg S., Egan S. Development of novel drugs from marine surface associated microorganisms // *Marine Drugs*. 2011. Vol. 9, № 12. C. 2696–2717.
18. Phytochemical composition and in vitro antioxidant activities of *Citrus sinensis* peel extracts // *J. Pharm. Bioallied Sci.* 2018. Vol. 10, № 3. C. 133–139.
19. Romano G. et al. Secondary metabolites from marine bacteria and fungi as potential antibiotics // *Marine Drugs*. 2022. Vol. 20, № 5. Art. 317.
20. Schlechter R et al. Next generation husbandry: The microbiology of plant surfaces as a path to novel disease control / R. Schlechter et al. // *Current Opinion in Plant Biology*. 2019. Vol. 49. C. 65–71.
21. Sharma A. et al. Comparative analysis of antioxidant and antimicrobial potential of epiphytic and endophytic bacteria from medicinal plants // *Journal of Applied Microbiology*. 2023. Vol. 134, № 3. Art. 045. DOI: 10.1093/jambio/lxad045

References

1. Galieva G.Sh., Galitskaya P.Yu., Selivanovskaya S.Yu. [Plant microbiome: origin, composition and functions]. *Uchenye zapiski Kazanskogo universiteta. Seriya: Estestvennye nauki*. V. 165, iss. 2 (2023) pp. 231-262. (In Russ.) <https://doi.org/10.26907/2542-064X.2023.2.231-262>. EDN: TJOOQC
2. Kozubenko A.A., Rudakova L.V. [Modern methods for determining antioxidant activity]. *Molodezhnyy innovatsionnyy vestnik*, V. 7, No. S1 (2018): pp. 42-48. (In Russ.). Available at: <https://new.vestnik-surgery.com/index.php/2415-7805/article/view/4224> (accessed 30.03.2026).
3. Kurosawa E. [A substance causing the “foolish seedling” disease of rice]. *Trudy Sel'skochozjajstvennogo obščestva Tokio*, V. 2 (1926): pp. 411-424. (In Russ.).
4. Musin R.R., Tremasova A.M., Skvortsov E.V., Bykova P.V., Eroshin A.I., Akhtyamova A.M. [Effect of a combination of homofermentative and heterofermentative lactic acid bacteria on the quality of alfalfa silage]. *Vestnik Altajskogo gosudarstvennogo agrarnogo universiteta*. No. 1 (2022): pp. 89-94. (In Russ.). DOI: 10.53083/1996-4277-2022-207-1-89-94. EDN: AXQQB
5. Prikhodko S.I., Selitskaya O.V. (2014). [Study of the qualitative composition of epiphytic microorganisms of some cultivated and weed plants in Tambov and Moscow regions]. *Agrochimičeskij vestnik*. No. 6 (2014): pp. 40-43. EDN: SGNLSD
6. Sirotin A.A., Zelenkova V.N., Shkuropat M.N., Kortukova E.A. (2016). [Study of epiphytic microflora of some vegetable crops]. *Meždunarodnyj žurnal prikladnyh i fundamental'nyh issledovanij*. No. 7-2 (2016): pp. 230-232. (In Russ.). Available at: <https://applied-research.ru/ru/article/view?id=9799> (accessed 07.04.2026). EDN: WAYERH
7. Yabuta T., Sumiki Yu. On the crystal of gibberellin, a substance to promote plant growth. *Journal of the Agricultural Chemical Society of Japan*. V. 14, No. 12 (1938): pp. 1526-1531.
8. Yashin A.Ya. Methodology for determining antioxidant activity and content of antioxidants in plant and animal samples. *J-Analytics*. (2018). Available at: <https://www.j-analytics.ru/journal/article/9028> (accessed 30.03.2026).
9. Adeolu F.J., Oluwaseun A.A., Olawale J.T., Racheal A.J., Adedoyin O.B., Mary A.A. et al. (2020). Comparative antioxidant potentials and high-performance liquid chromatography of leaf extracts of *Citrus sinensis* and its epiphytes. *Dostiženija sovremennoj nauki*. No. 7 (2020): pp. 95-96.
10. Backer R., Rokem J.S., Ilangumaran G., Lamont J., Praslickova D., Ricci E., Subramanian S., Smith D.L. Plant growth-promoting rhizobacteria: context, mechanisms of action, and roadmap to commercialization of biostimulants for sustainable agriculture. *Frontiers in Plant Science*. V. 9 (2018). Art. 1473. DOI: 10.3389/fpls.2018.01473. EDN: VMBDGU
11. Bartelme R.P., Oyserman B.O., Blom J.E., Sepulveda-Villet O.J., Newton R.J. Stripping away the soil: plant growth promoting microbiology opportunities in aquaponics. *Frontiers in Microbiology*, V. 9 (2018). Art. 8. DOI: 10.3389/fmicb.2018.00008.
12. Gershman M.D., Kennedy D.J., Noble-Wang J., Kim C., Gullion J., Kacica M. et al. Multistate outbreak of *Pseudomonas fluorescens* bloodstream infection after exposure to contaminated heparinized saline flush prepared by a compounding pharmacy. *Clinical Infectious Diseases*. V. 47, No. 11 (2008): pp. 1372-1379. DOI: 10.1086/592968
13. Glick B.R. Plant Growth-Promoting Bacteria: Mechanisms and Applications. *Scientifica*, No. 2012 (2012). Art. 963401. DOI: 10.6064/2012/963401.

14. Hirano S.S., Upper C.D. Ecology and epidemiology of phyllosphere yeasts in some Wisconsin cranberry marshes. *Canadian Journal of Microbiology*. V. 37 (1991): pp. 194-201.
15. Horta A., Pinteus S., Alves C., Fino N., Silva J., Fernandes S., Rodrigues A., Pedrosa R. Antioxidant and antimicrobial potential of the *Bifurcaria bifurcata* epiphytic bacteria. *Marine Drugs*. V. 12, No. 3 (2014): pp. 1676-1687. doi: 10.3390/md12031676. EDN: SOSXQF
16. Pawar V., Majeed A., Pal V., Singh A. Antioxidant activity of *Sphaerococcus coronopifolius* and its epiphytic bacteria. *Brazilian Journal of Microbiology*. V. 46, No. 2 (2015): pp. 531-538. DOI: 10.1590/S1517-838246220140384
17. Penesyan A., Kjelleberg S., Egan S. Development of novel drugs from marine surface associated micro-organisms. *Marine Drugs*. V. 9, No. 12 (2011): pp. 2696-2717.
18. Phytochemical composition and in vitro antioxidant activities of *Citrus sinensis* peel extracts. *Journal of Pharmacy and Bioallied Sciences*. V. 10, No. 3 (2018): pp. 133-139.
19. Romano G. et al. Secondary metabolites from marine bacteria and fungi as potential antibiotics. *Marine Drugs*. V. 20, No. 5 (2022). Art. 317.
20. Schlechter R. et al. Next generation husbandry: The microbiology of plant surfaces as a path to novel disease control. *Current Opinion in Plant Biology*. V. 49 (2019): pp. 65-71.
21. Sharma A., Puri S., Sehgal R., Kumar V., Sharma V. Comparative analysis of antioxidant and antimicrobial potential of epiphytic and endophytic bacteria from medicinal plants. *Journal of Applied Microbiology*. V. 134, No. 3 (2023). Art. 045. DOI: 10.1093/jambio/txad045.

Статья поступила в редакцию 12.12.2025; одобрена после рецензирования 14.05.2026; принята к публикации 01.06.2026.

The article was submitted 12.12.2025; approved after reviewing 14.05.2026; accepted for publication 01.06.2026.

Информация об авторах

И. А. Ковалёва – Kovalevairina3006@gmail.com, канд. биол. наук, доцент, научный сотрудник;

А. П. Шутко – shutko.ap@stgau.ru, д-р с/х наук, профессор;

Т. С. Шепелева – kopteva2388@gmail.com, ассистент;

А. О. Хорошунова – anna.khoroshunovp@bk.ru, студент.

Information about the authors

I. A. Kovaleva – Kovalevairina3006@gmail.com, candidate of biological sciences, associate professor, researcher;

A. P. Shutko – shutko.ap@stgau.ru, doctor of agricultural sciences, professor;

T. S. Shepeleva – kopteva2388@gmail.com, assistant;

A. O. Khoroshunova – anna.khoroshunovp@bk.ru, student.

Вклад авторов:

Ковалёва И. А. – написание исходного текста, доработка текста.

Шутко А. П. – итоговые выводы, доработка текста.

Шепелева Т. С. – написание исходного текста.

Хорошунова А. О. – написание исходного текста.

Contribution of the authors:

Kovaleva I. A. – writing the draft, text revision.

Shutko A. P. – final conclusions, text revision.

Shepeleva T. S. – writing the draft.

Khoroshunova A. O. – writing the draft.

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

The authors declare no conflicts of interests.

МИКРОБИОЛОГИЯ

Научная статья

УДК 57.084.1

EDN: KHNKOH

<http://dx.doi.org/10.17072/1994-9952-2026-2-169-178>



Моделирование инфекционного процесса у личинок *Galleria mellonella* для оценки антибактериального действия катионных пептидных соединений в условиях *in vivo*

Александр Николаевич Лобанов¹, Марина Владимировна Антипьева^{1, 2},
Дарья Владимировна Ерошенко¹, Татьяна Вячеславовна Полюдова¹

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

² Пермский государственный аграрно-технологический университет им. академика Д. Н. Прянишникова, Пермь, Россия

Автор, ответственный за переписку: Александр Николаевич Лобанов, lobanov.aleksandr.n@gmail.com

Аннотация. С использованием личинок большой восковой моли *Galleria mellonella* проведена сравнительная оценка вирулентности штаммов *Escherichia coli* ATCC 25922, *E. coli* M-17, *Pseudomonas fluorescens* ATCC 948, *Bacillus subtilis* ATCC 6633, *Listeria innocua* M-2 и *Listeria welshimeri* Bel-19. Установлено, что все исследованные штаммы бактерий способны вызывать инфекционный процесс с изменением общего состояния личинок (меланизация, снижение подвижности, формирования коконов и гибель). Кроме того, выживаемость личинок понижалась с увеличением инфекционной дозы и зависела от массы личинки. Сравнительный анализ антибактериального действия катионных пептидных соединений (колистина и протамина) в условиях модельного организма показал, что колистин способствовал выживаемости 100% личинок, инфицированных *E. coli* ATCC 25922, а использование протамина увеличивало выживаемость личинок восковой моли после инфицирования *B. subtilis* ATCC 6633 и *L. innocua* M-2. Таким образом, личинки *G. mellonella* могут применяться как простая и экономичная модель для создания бактериального инфекционного процесса с последующей оценкой чувствительности бактерий к катионным пептидам в условиях *in vivo*.

Ключевые слова: восковая моль, антибактериальная активность, катионные пептиды, колистин, протамин, бактериальная инфекция

Для цитирования: Моделирование инфекционного процесса у личинок *Galleria mellonella* для оценки антибактериального действия катионных пептидных соединений в условиях *in vivo* / А. Н. Лобанов, М. В. Антипьева, Д. В. Ерошенко, Т. В. Полюдова // Вестник Пермского университета. Сер. Биология. 2026. Т. 17, вып. 2. С. 169–178. <http://dx.doi.org/10.17072/1994-9952-2026-2-169-178>.

Финансирование: исследование выполнено в рамках государственного задания Министерства науки и высшего образования Российской Федерации (124020500028-4). В работе использовано оборудование ЦКП «Исследования материалов и веществ» ПФИЦ УрО РАН.

MICROBIOLOGY

Original article

Modeling of the infectious process in *Galleria mellonella* larvae to evaluate the antibacterial effect of cationic peptide compounds *in vivo*

Aleksandr N. Lobanov¹, Marina V. Antipeva^{1, 2}, Daria V. Eroshenko¹,
Tatyana V. Polyudova¹

¹ Institute of Ecology and Genetics of Microorganisms, Perm, Russia

² Perm State Agro-Technological University named after academician D. N. Prianishnikov, Perm, Russia

Corresponding author: Aleksandr N. Lobanov, lobanov.aleksandr.n@gmail.com

Abstract. A comparative virulence assessment of *Escherichia coli* ATCC 25922, *E. coli* M-17, *Pseudomonas fluorescens* ATCC 948, *Bacillus subtilis* ATCC 6633, *Listeria innocua* M-2, and *Listeria welshimeri* Bel-19 strains was conducted using the *Galleria mellonella* (greater wax moth) infection model. All tested strains were

capable of causing infection, altering the general condition of the larvae (melanization, decreased motility, and cocoon formation). Furthermore, the study demonstrated that larval survival decreased with increasing infectious dose of bacteria and depended on larval weight. A comparative analysis of the antibacterial activity of cationic peptide compounds (colistin and protamine) in a model organism revealed that colistin ensures 100% survival of larvae infected with *E. coli* ATCC 25922. Protamine increased the survival of wax moth larvae after infection with *B. subtilis* ATCC 6633 and *L. innocua* M-2 compared to the control. Thus, *G. mellonella* larvae can be used as a model for inducing infection and subsequently *in vivo* assessing bacterial sensitivity to cationic peptides.

Keywords: waxworm, antibacterial activity, cationic peptides, colistin, protamine, bacterial infection

For citation: Lobanov A. N., Antipeva M. V., Eroshenko D. V., Polyudova T. V. [Modeling of the infectious process in *Galleria mellonella* larvae to evaluate the antibacterial effect of cationic peptide compounds *in vivo*]. *Bulletin of Perm University. Biology*. Vol. 17, iss. 2 (2026): pp. 169-178. (In Russ.). <http://dx.doi.org/10.17072/1994-9952-2026-2-169-178>.

Financing: the work was carried out within the framework of the state assignment of the Ministry of Science and Higher Education of the Russian Federation (124020500028-4). The work was carried out using the equipment of the Core Facilities Center “Research of materials and substances” at the PFRC UB RAS.

Введение

Бактериальные инфекции являются серьезной проблемой здравоохранения из-за появления и распространения бактерий с множественной лекарственной устойчивостью [World Health Organization, 2022]. Данный факт обуславливает актуальность поиска и разработки новых противомикробных средств. Определение терапевтического потенциала новых соединений начинается со скрининга активности *in vitro*. При этом решающий этап взаимодействия пептида с мишенью происходит в модельной среде, которая сильно отличается от реальной среды живого организма. Мишени атакуемой микробной клетки имеют множество конформаций, на которые влияет окружающая среда. Все перечисленное может привести к расхождению между активностью соединения в условиях *in vitro* и *in vivo*. Поэтому оценка антимикробной активности новых соединений или уже известных соединений, но с еще не установленными антибактериальными свойствами, является важным этапом исследования.

Личинки большой восковой моли (*Galleria mellonella*) в последние десятилетия широко используются в качестве модели для изучения инфекции и оценки антимикробной активности [Piatek, Sheehan, Kavanagh, 2020; Dinh et al., 2021]. Выбор данной модели, альтернативной позвоночным животным, обусловлен концепцией 3R об использовании позвоночных животных в научных экспериментах («Replacement, reduction and refinement of animal testing») [Гайдерова и др., 2025]. Помимо природных патогенов для *G. mellonella* микроорганизмов, таких как микромицеты *Beauveria bassiana* [Vertyporokh, Hulas-Stasiak, Wojda, 2020], личинки этих насекомых широко используются в качестве модели инфекций, вызываемых бактериями-патогенами человека и животных, а также для оценки эффективности новых противомикробных препаратов перед проведением доклинических исследований на млекопитающих [Asai et al., 2023; White, Sykes, Kumar, 2025]. При этом *G. mellonella* имеет ряд преимуществ перед моделями млекопитающих, поскольку не требует этического одобрения, легко поддается манипуляциям и имеет более низкую стоимость. Кроме того, личинки в большом количестве могут быть получены в лабораторных условиях, что обеспечивает быстрое проведение значительного количества экспериментов [Serrano et al., 2023].

Врожденная иммунная система *G. mellonella* неспецифична и является первой линией защиты от микробов, поддерживает гомеостаз и профилирует инфекции. Она включает как клеточную (фагоцитоз, образование узелков и инкапсуляция), так и гуморальную защиту (меланизация, свертывание гемолимфы и производство антимикробных пептидов). Все перечисленное указывает на высокую степень структурного и функционального сходства с иммунной системой млекопитающих [Hoffmann, 1995]. Отсутствие адаптивного иммунитета у *G. mellonella* и других насекомых является преимуществом, поскольку позволяет изучать взаимодействие хозяина и патогена без вмешательства адаптивных ответов [Kavanagh, Sheehan, 2018]. Ввиду перечисленных свойств, личинки *G. mellonella* в настоящее время стали популярной моделью для изучения токсичности соединений и эффективности противомикробных препаратов *in vivo*, которые позволяют получить представление о вероятной дозе и потенциальном эффекте на млекопитающих [Hofkens et al., 2023].

Целью данной работы явилось моделирование инфекционного процесса у личинок большой восковой моли с последующим воздействием на них катионных пептидных соединений.

Материалы и методы

Объекты исследования. В работе использованы личинки восковой моли *Galleria mellonella*, которые были получены из учебно-научного центра «Экологии и морфофизиологии медоносной пчелы» ФГБОУ

ВО Пермский ГАТУ. В качестве инфекционного агента были использованы грамотрицательные бактерии *Escherichia coli* ATCC 25922, *E. coli* M-17, *Pseudomonas fluorescens* ATCC 948, а также грамположительные бактерии *Bacillus subtilis* ATCC 6633, *Listeria innocua* M-2 и *L. welshimeri* Bel-19 (получены из Государственной коллекции патогенных микроорганизмов «ГКПМ-Оболонск»). Для получения накопительных культур бактерии культивировали в жидкой питательной среде Luria Broth (LB) («Нортебио», Китай) в течение ночи при 37°C, после чего клетки дважды отмывали в 10 мМ фосфатно-солевом буфере (pH 7.2), осадки суспендировали в питательной среде до $\sim 10^6$ – 10^8 КОЕ/мл. Количество колониеобразующих единиц в суспензиях определяли методом десятичных разведений и последующих точечных высевов на агаризованные чашки Петри [Веслополова, 1995].

Бабочки и личинки *G. mellonella* содержались при температуре 28–30°C в 3-литровых стеклянных банках, закрытых мелкоячеистой сеткой. В качестве корма использовали отработанные пчелиные соты. Использовали личинки массой 150–220 мг, для ряда экспериментов калибровали их по массе путем взвешивания на аналитических весах («Ohaus», Китай). За сутки до проведения эксперимента отобранные личинки выдерживали в термостате при 37°C на искусственном субстрате следующего состава: мед (11 г), воск (11 г), глицерин (10 г), сухие дрожжи (10 г), отруби пшеничные (20 г), кукурузная мука (20 г), пшеничная мука (10 г), сухое молоко (10 г) [Коновалова, 2009]. Все компоненты за исключением сухого молока, подвергали стерилизации автоклавированием при 1 атм 30 мин [Осокина, Колбина, Гущин, 2016]. Распределение животных на группы по 10–20 личинок в каждой проводили методом слепой рандомизации.

В работе оценивали антибактериальное действие катионных соединений: пептидный антибиотик колистин (Sigma, США) и пептидное соединение сульфат протамина (1%, 850 ЕД/мл) (СООАО «Ферейн», Беларусь). Исходные растворы колистина и протамина концентрацией 0.1 мг/мл в деионизованной воде стерилизовали фильтрованием через нейлоновый фильтр с диаметром пор 0.22 мкм («Labfil® Economy Nylon», Китай).

Моделирование инфекционного процесса. Перед инфицированием гусениц помещали в чистые чашки Петри и выдерживали при 2–6°C в течение 4 ч для обеспечения анестезии. После обездвиживания гусениц холодом им вводили по 10 мкл приготовленной суспензии бактерий. Введение бактерий проводили путем инъекции в левую последнюю ложноножку с помощью инсулиновых шприцев иглой 30G (0.3 мм) («BD» Micro-FinePlusDemiU-100», США). После инфицирования личинки переносили в стерильные чашки Петри и помещали в термостат при 37°C. Для изучения влияния бактерий на развитие инфекционного процесса использовали личинки массой 150–220 мг, инфицированные суспензиями *E. coli* ATCC 25922, *E. coli* M-17, *P. fluorescens* ATCC 948, *B. subtilis* ATCC 6633, *L. innocua* M-2 и *L. welshimeri* Bel-19 в дозе 10^5 КОЕ/личинку.

Для оценки влияния инфекционной дозы на выживаемость личинок использовали 3 группы из 10–20 личинок для каждого вида бактерий, которые инфицировали 10 мкл бактериальной суспензии, содержащей 1×10^6 , 1×10^7 и 1×10^8 КОЕ/мл.

Исследование влияния массы личинок на их выживаемость после инфицирования бактериями *E. coli* ATCC 25922, *L. innocua* M-2 и *L. welshimeri* Bel-19 проводили на трёх группах личинок, отличающихся по массе (159 ± 10 , 185 ± 4 и 210 ± 7 мг), каждая из групп включала не менее 10 особей. После завершения испытаний все инфицированные личинки выводились из эксперимента путем помещения в морозильную камеру при –20 °C на 20–24 ч с последующим погружением в 96% раствор этилового спирта на 24 ч для дезинфекции.

Определение минимальной ингибирующей концентрации (МИК) соединений. Определение чувствительности бактерий к исследуемым соединениям проводили методом последовательных двукратных микроразведений в 96-луночных полистироловых планшетах («Медполимер», Россия) [Определение чувствительности..., 2024]. В лунки планшета вносили по 100 мкл питательной среды Muller-Hinton (BD, США), затем в первую лунку ряда вносили 100 мкл раствора колистина или протамина с исходной концентрацией 0.1 мг/мл, и проводили серию двукратных разведений, после чего в каждую лунку добавляли по 10 мкл бактериальной суспензии, содержащей 10^6 КОЕ/мл. Планшеты инкубировали в термостате при 37°C 18–20 ч. По окончании инкубации в каждую лунку вносили по 10 мкл 2,3,5-трифенилтетразолия х. (ТТХ, 10 мг/мл) и инкубировали 20–30 мин до развития окраски, обусловленной метаболически активными клетками. За минимальную ингибирующую концентрацию (МИК) соединения принимали наименьшую концентрацию исследуемого соединения, при которой не выявлялся видимый рост бактерий.

Определение лечебного эффекта соединений *in vivo*. Обработку личинок проводили через 1 ч после введения бактерий *E. coli* ATCC 25922, *B. subtilis* ATCC 6633 или *L. innocua* M-2 в дозе 10^5 КОЕ/личинка и 1 ч анестезии при 2–6°C путем инъекции раствора исследуемого соединения в объеме 10 мкл в правую последнюю ложноножку. Контрольной группе личинок вводили по 10 мкл буферного раствора. Наблю-

дение за гусеницами осуществляли каждые 24 ч в течение 3 сут. После завершения испытаний инфицированные личинки выводились из эксперимента, как указано выше.

Статистическая обработка результатов. Все эксперименты были проведены в 3–5 кратной повторности. Статистическая обработка результатов проведена с помощью компьютерной программы «GraphPad Prism», при этом производили расчет средних значений и доверительных интервалов при $p=0.05$. Анализ выживаемости личинок *G. mellonella* проводили путем построения кривых Каплана – Мейера.

Результаты и их обсуждение

Влияние бактерий на выживаемость личинок *G. mellonella*. Известно, что у личинок *G. mellonella* после введения им некоторых бактерий развивается инфекционный процесс, который может заканчиваться гибелью личинок [Champion, Wagley, Titball, 2016; Asai et al., 2023]. В рамках настоящей работы проведен сравнительный анализ жизнеспособности личинок после воздействия грамотрицательных (двух штаммов *E. coli* и *P. fluorescens* ATCC 948) и грамположительных (*B. subtilis* ATCC 6633 и *Listeria* spp.) бактерий (рис. 1).

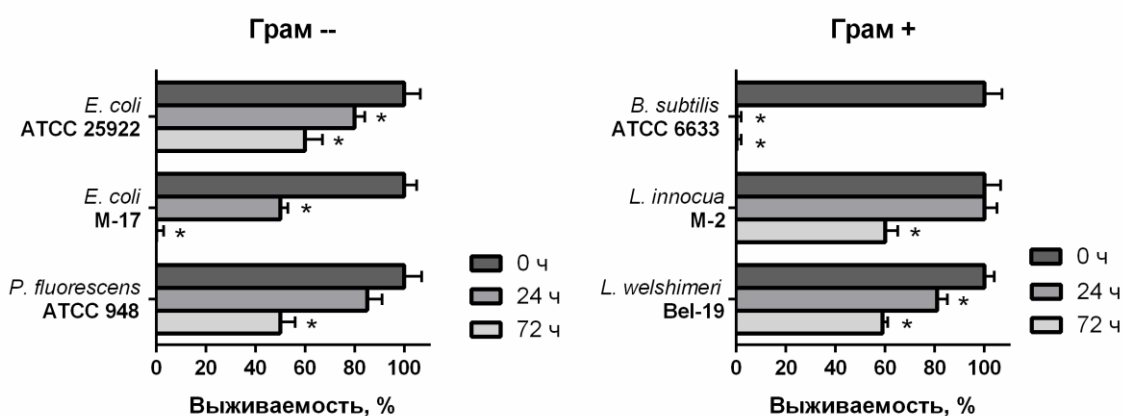


Рис. 1. Выживаемость личинок *G. mellonella* после их инфицирования бактериями *E. coli* ATCC 25922, *E. coli* M-17, *P. fluorescens* ATCC 948, *B. subtilis* ATCC 6633, *L. innocua* M-2 и *L. welshimeri* Bel-19.

* – достоверное отличие от значения в 0 ч

[Survival of *G. mellonella* larvae after their infection with *E. coli* ATCC 25922, *E. coli* M-17, *P. fluorescens* ATCC 948, *B. subtilis* ATCC 6633, *L. innocua* M-2, and *L. welshimeri* Bel-19, * – significant difference from the value at 0 h]

Клетки всех исследованных штаммов, введенные в гемолимфу личинкам в количестве 10^5 КОЕ/личинка, приводили к гибели *G. mellonella* (рис. 1). Примерно 50% личинок восковой моли, зараженных *E. coli* ATCC 25922 и *P. fluorescens* ATCC 948, погибло через 3 сут. Клетки *E. coli* M-17 были более вирулентными по сравнению *E. coli* ATCC 25922 и вызывали гибель всех личинок в выборке через 72 ч. Наиболее агрессивными для *G. mellonella* оказались грамположительные бактерии *B. subtilis* ATCC 6633, введение которых сопровождалось гибелью всех личинок уже через 24 ч после инфицирования. Динамика гибели личинок после инфицирования *L. innocua* M-2 и *L. welshimeri* Bel-19 была схожей и приводила к гибели примерно 40% особей в выборке через 72 ч.

После инфицирования у личинок *G. mellonella* наблюдалось изменение фенотипических признаков (рис. 2). У инфицированных личинок через несколько часов регистрировалось снижение подвижности и меланизация (потемнение), отсутствовало формирование коконов (рис. 2Б). Полностью меланизированные личинки, как правило, всегда погибали, однако меланизация концов тела (переднего и/или заднего) не всегда означала, что личинка погибнет.

Влияние инфицирующей дозы на выживаемость личинок *G. mellonella*. Согласно опубликованным исследованиям, инфицирующая доза для большинства изученных грамположительных и грамотрицательных бактерий составляет от 1.5×10^4 КОЕ/личинка до 10^6 КОЕ/личинка [Chen, Keddie, 2021]. При этом установлено, что выживаемость бактерий напрямую зависит от дозы [Mukherjee et al., 2010; Hesketh-Best et al., 2021]. В настоящем исследовании также изучено развитие инфекционного процесса после введения различных доз исследуемых штаммов (рис. 3).



Рис. 2. Личинки *G. mellonella* до инфицирования (А) и через 18 ч после введения *L. innocua* М-2 (Б)
[*G. mellonella* larvae before infection (A) and 18 h after injection with *L. innocua* M-2 (Б)]

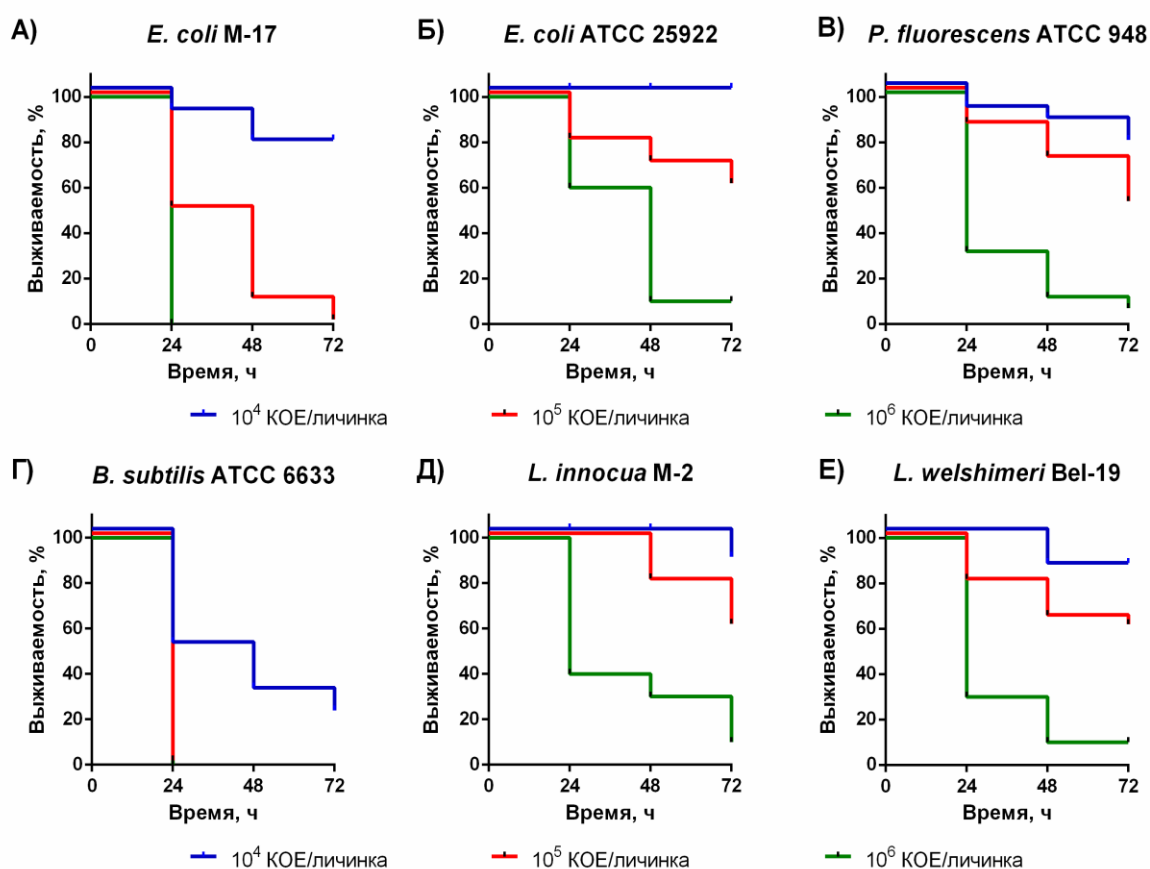


Рис. 3. Выживаемость личинок *G. mellonella* после их инфицирования бактериями *E. coli* ATCC 25922 (А), *E. coli* М-17 (Б), *P. fluorescens* ATCC 948 (В), *B. subtilis* ATCC 6633 (Г), *L. innocua* М-2 (Д) и *L. welshimeri* Bel-19 (Е) в различных дозах (10⁴–10⁶ КОЕ/личинка)

[Survival of *G. mellonella* larvae after their infection with *E. coli* ATCC 25922 (А), *E. coli* М-17 (Б), *P. fluorescens* ATCC 948 (В), *B. subtilis* ATCC 6633 (Г), *L. innocua* М-2 (Д) и *L. welshimeri* Bel-19 (Е) in various doses (10⁴–10⁶ CFU/larva)]

Введение суспензии клеток *E. coli* М-17 в минимальной исследованной дозе приводило к гибели 20% личинок, при этом увеличение количества бактерий в 10 и 100 раз привело к полной гибели личинок через 72 ч и 24 ч после введения соответственно (рис. 3А). При этом другой штамм *E. coli* ATCC 25922 был менее вирулентным и не вызывал гибель личинок в дозе 10⁴ КОЕ/личинка (рис. 3Б). Дальнейшее увеличение количества вводимых бактерий приводило к более выраженному эффекту, так, введение 10⁶ КОЕ/личинка приводило к 90%-ной гибели через 48 ч. Динамика гибели личинок после введения

P. fluorescens ATCC 948 была практически идентичной таковой после введения *E. coli* ATCC 25922 (рис. 3В), что согласуется с ранее проведенными исследованиями [Malmquist, Rogan, McGillivray, 2019; Chen, Keddie, 2021].

Инфицирование личинок клетками *B. subtilis* ATCC 6633 также приводило к гибели насекомых дозозависимым образом (рис. 3Г). Полная гибель личинок происходила через 24 ч после введения им суспензии бактерий *B. subtilis* ATCC 6633 начиная с дозы 10^5 КОЕ/личинка. Снижение количества вводимых бактерий способствовало лучшему выживанию *G. mellonella*. Динамика гибели личинок после инфицирования *L. innocua* M-2 и *L. welshimeri* Bel-19 была сходной, при этом наблюдалась гибель 90% личинок после введения им листерий в максимальной исследованной дозе (10^6 КОЕ/личинка) через 72 ч и 48 ч соответственно (рис. 3Д, Е). Снижение дозы вводимых бактерий в 10 раз приводило к выживанию 40% личинок. Согласно данным литературы, даже непатогенные штаммы листерий, такие как *L. innocua*, могут вызывать септическую гибель личинок большой восковой моли при высокой дозе инфицирования (10^7 КОЕ/личинка), однако при меньших дозах (10^6 КОЕ/личинка) бактериальные клетки могут быть связаны клеточными рецепторами, распознающими пептидогликан бактерий, что приводит к активации врожденной иммунной системы и элиминации бактерий [Mukherjee et al., 2010].

Влияние массы личинок на их выживаемость после инфицирования. Была проведена серия экспериментов по изучению устойчивости личинок к бактериальной инфекции в зависимости от их массы. С этой целью использовали выборки личинок восковой моли со средней массой 159 ± 10 , 185 ± 4 и 210 ± 7 мг, которые были инфицированы бактериями *E. coli* ATCC 25922, *L. innocua* M-2 и *L. welshimeri* Bel-19 в количестве 10^5 КОЕ/личинка (рис. 4).

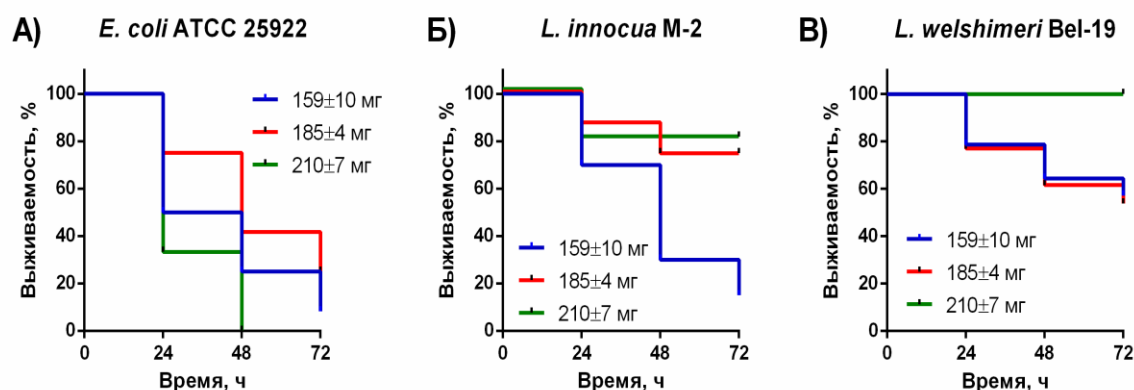


Рис. 4. Выживаемость личинок *G. mellonella* различной массы после их инфицирования бактериями *E. coli* ATCC 25922 (А), *L. innocua* M-2 (Б), *L. welshimeri* Bel-19 (В)

[Survival of *G. mellonella* larvae of varying weights after their infection with *E. coli* ATCC 25922 (А), *L. innocua* M-2 (Б), *L. welshimeri* Bel-19 (В)]

Введение грамотрицательных бактерий *E. coli* ATCC 25922 приводило к гибели личинок, причем наиболее чувствительными были личинки с наибольшей средней массой (210 мг) (рис. 4А). Личинки с меньшей массой были более жизнеспособны, при этом была отмечена гибель 75% личинок массой 185 мг через 72 ч после введения. Аналогичный эффект был ранее отмечен для личинок массой более 260 мг при инфицировании *Staphylococcus aureus*, в связи с чем было высказано предположение, что более крупные личинки старше и ближе к окукливанию, чем личинки меньших весовых групп [Jorjão et al., 2018; Hesketh-Best et al., 2021]. Для тутового шелкопряда было показано, что при развитии личинок наблюдаются существенные динамические метаболомные изменения в гемолимфе, которые затрагивают множество метаболических путей и могут влиять на иммунитет насекомых [Zhou et al., 2015].

Бактерии *L. innocua* M-2 (рис. 4Б) были более агрессивными для личинок восковой моли средним весом 159 и 210 мг, по сравнению с *L. welshimeri* Bel-19 (рис. 4В). Однако, в отличие от инфицирования *E. coli*, при введении листерий личинки со средней массой 210 мг показали наибольшую выживаемость по сравнению с личинками меньшей массы. Наиболее выраженный инфекционный процесс, вызванный бактериями рода *Listeria*, наблюдался у гусениц с наименьшей средней массой 159 мг, вызывая гибель 40–85% личинок. Показано, что голодание и, как следствие, снижение массы может снижать устойчивость *G. mellonella* к инфицированию из-за сокращения продукции внутриклеточных пептидов и количества циркулирующих гемоцитов [Banville, Browne, Kavanagh, 2012]. Кроме того, развитие инфекционного процесса зависит от объема циркулирующей жидкости и соответствующей бактериальной дозы [Andrea, Krogfelt, Jenssen, 2019].

Чувствительность бактерий к антимикробным пептидам. Для исследования антибактериального действия в условиях *in vivo* был выбран пептидный антибиотик колистин, относящийся к антибиотикам последнего резерва для лечения инфекций, вызванных грамотрицательными бактериями с множественной лекарственной устойчивостью [World Health Organization, 2022], а также катионный пептид протамин, являющийся специфическим антагонистом гепарина, у которого были обнаружены антибактериальные свойства [Ookubo et al., 2024]. Выбранные соединения были протестированы методом двукратных разведений в отношении *E. coli* ATCC 25922, *B. subtilis* ATCC 6633 и *L. innocua* M-2 для определения МИК. Все исследованные соединения обладали антибактериальной активностью в отношении исследованных бактерий в условиях *in vitro* (табл.). Грамотрицательные бактерии *E. coli* ATCC 25922 были более устойчивы к действию протамина, но обладали высокой чувствительностью к колистину, тогда как МИК протамина в отношении грамположительных культур было в 2–4 раза меньше, чем в отношении *E. coli* ATCC 25922.

Минимальные ингибирующие концентрации катионных соединений (МИК, мкг/мл)

[Minimum inhibitory concentrations of cationic compounds (MIC, µg/ml)]

Бактериальные культуры	Колистин	Протамин
<i>E. coli</i> ATCC 25922	0.78	25
<i>B. subtilis</i> ATCC 6633	25	6.25
<i>L. innocua</i> M-2	25	12.5

Антибактериальное действие соединений в условиях *in vivo*. Антибактериальное действие ряда катионных пептидов было ранее протестировано в условиях модельного организма – восковой моли *G. mellonella*, по результатам которого эта модель показала надежные и воспроизводимые результаты [Hofkens et al., 2023]. Поэтому мы изучили действие колистина в отношении бактерий *E. coli* ATCC 25922, а также протамина в отношении бактерий *B. subtilis* ATCC 6633 и *L. innocua* M-2 после их введения личинкам *G. mellonella* (рис. 5).

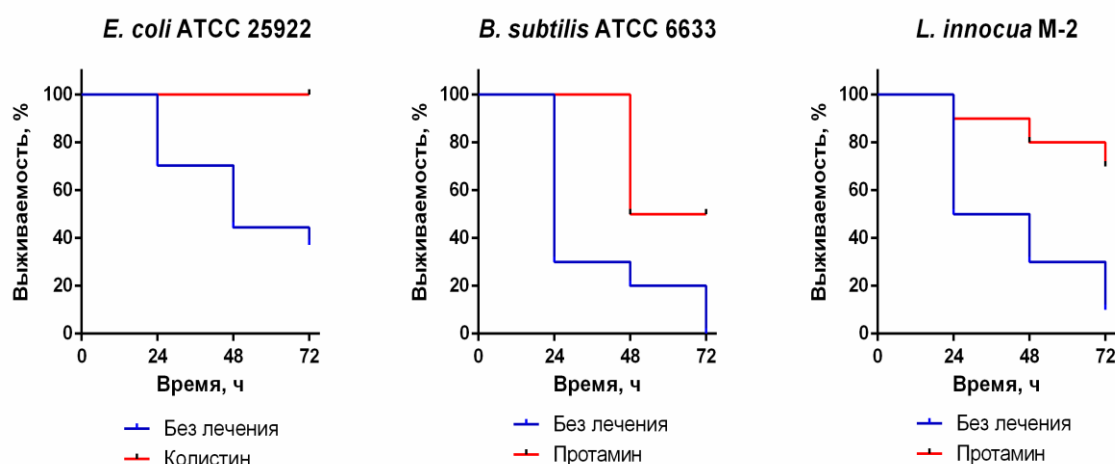


Рис. 5. Выживаемость личинок *G. mellonella* после их инфицирования *E. coli* ATCC 25922 (10^5 КОЕ/личинка) и введения колистина (0.78 мкг/личинку) (А), *B. subtilis* ATCC 6633 (Б) и *L. innocua* M-2 (В) после введения протамина (6.25 и 12.5 мкг/личинка)

[Survival of *G. mellonella* larvae after their infection with *E. coli* ATCC 25922 (10^5 CFU/larva) and treatment with colistin (2 µg/larva) (A), *B. subtilis* ATCC 6633 (B) and *L. innocua* M-2 (C) after the introduction of protamine (6.25 and 12.5 µg/larva)]

При введении колистина гусеницам, инфицированным *E. coli* ATCC 25922, уровень выживания личинок составлял 100% в течение всего периода наблюдения, тогда как без введения препарата наблюдалось снижение жизнеспособности на 30–60%. После инфицирования бактериями *B. subtilis* ATCC 6633 наблюдалась 100% гибель личинок, тогда как введение протамина способствовало выживанию 50% особей. Воздействие протамина на *L. innocua* M-2 в условиях *in vivo* также способствовало выживанию 70% особей в выборке, тогда как в отсутствие лечения наблюдалась гибель 90% личинок.

Заключение

В результате проведенных исследований установлено, что все исследованные бактерии вызывали инфекционный процесс у личинок большой восковой моли, при этом дозу введения необходимо регулировать в зависимости от вида и штамма бактерий. Кроме того, большое значение для анализа степени инфицирования личинок *G. mellonella* имеет средняя масса гусениц в выборке. Установлено, что катионные пептидные соединения (колистин и протамин) проявляют антибактериальное действие в условиях модельного организма в отношении протестированных штаммов бактерий, о чем свидетельствует повышение выживаемости инфицированных бактериями гусениц *G. mellonella* после введения им антибактериальных соединений.

Таким образом, использование личинок *G. mellonella* в качестве инфекционной модели для оценки эффективности антибактериальных соединений в условиях *in vivo* характеризуется относительной простотой и экономичностью анализа, что позволяет ускорить определение потенциальных терапевтических доз для млекопитающих при проведении доклинических испытаний новых противомикробных средств.

Список источников

1. Веслополова Е.Ф. Микрометод определения численности колониеобразующих микроорганизмов // Микробиология. 1995. Т. 64, № 2. С. 279–284.
2. Гайдерова Л.А. и др. Реализация концепции 3Rs при контроле качества биологических препаратов: современное состояние и перспективы (обзор) // Безопасность и риск фармакотерапии. 2025. Т. 13(2). С. 229–239. DOI: 10.30895/2312-7821-2025-13-2-229-240. EDN: KAUZG
3. Коновалова Т.В. Лабораторное содержание и разведение большой восковой огневки *Galleria mellonella* L. // Российский ветеринарный журнал. 2009. № 4. С. 45–47. EDN: PGQJDP
4. Осокина А.С., Колбина Л.М., Гуцин А.В. Влияние кормления и условий содержания на рост личинок большой восковой моли (*Galleria mellonella* L.) // Достижения науки и техники АПК. 2016. Т. 30, № 7. С. 88–92. EDN: WJXNYX
5. Определение чувствительности микроорганизмов к антимикробным препаратам. Российские рекомендации. Версия 2024-02 / МАКМАХ, СГМУ: Смоленск, 2024. 192 с.
6. Andrea A., Krogfelt K.A., Jenssen H. Methods and challenges of using the greater wax moth (*Galleria mellonella*) as a model organism in antimicrobial compound discovery // Microorganisms. 2019. Vol. 7(3). Art. ftab85. DOI: 10.3390/microorganisms7030085.
7. Asai M. et al. *Galleria mellonella*-intracellular bacteria pathogen infection models: the ins and outs // FEMS Microbiol. Rev. 2023. Vol. 47(2). Art. fuad011. DOI: 10.1093/femsre/fuad011. EDN: PBWDQO
8. Banville N., Browne N., Kavanagh K. Effect of nutrient deprivation on the susceptibility of *Galleria mellonella* larvae to infection // Virulence. 2012. Vol. 3, № 6. P. 497–503. DOI: 10.4161/viru.21972.
9. Champion O.L., Wagley S., Titball R.W. *Galleria mellonella* as a model host for microbiological and toxin research // Virulence. 2016 Vol. 7(7). P. 840–5. DOI: 10.1080/21505594.2016.1203486.
10. Chen R.Y., Keddie B.A. The *Galleria mellonella*-enteropathogenic *Escherichia coli* model system: characterization of pathogen virulence and insect immune responses // J. Insect Sci. 2021. Vol. 21(4). Art. 7. DOI: 10.1093/jisesa/ieab046. EDN: UYWYR
11. Dinh H. et al. Microbiology's next top model: *Galleria* in the molecular age // Pathog. Dis. 2021. Vol. 79(2). Art. ftab006. DOI: 10.1093/femspd/ftab006. EDN: TKXTAQ
12. Hesketh-Best P.J. et al. *Galleria mellonella* larvae exhibit a weight-dependent lethal median dose when infected with methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* // Pathogens and disease. 2021. Vol. 79, № 2. Art. ftab003. DOI: 10.1093/femspd/ftab003. EDN: GKKTAB
13. Hoffmann J.A. Innate immunity of insects // Curr. Opin. Immunol. 1995. Vol. 7(1). P. 4–10. DOI: 10.1016/0952-7915(95)80022-0.
14. Hofkens N. et al. Microbisporicin (NAI-107) protects *Galleria mellonella* from infection with *Neisseria gonorrhoeae* // Microbiol. Spectr. 2023. Vol. 11(6). Art. e0282523. DOI: 10.1128/spectrum.02825-23. EDN: CPQYFJ
15. Jorjão A.L. et al. From moths to caterpillars: Ideal conditions for *Galleria mellonella* rearing for *in vivo* microbiological studies // Virulence. 2018. Vol. 9. P. 383–389. DOI: 10.1080/21505594.2017.1397871.
16. Kavanagh K., Sheehan G. The use of *Galleria mellonella* larvae to identify novel antimicrobial agents against fungal species of medical interest // J. Fungi (Basel). 2018. Vol. 4(3). Art. 113. DOI: 10.3390/jof4030113.
17. Malmquist J.A., Rogan M.R., McGillivray S.M. *Galleria mellonella* as an infection model for *Bacillus anthracis* Sterne // Front. Cell. Infect. Microbiol. 2019. Vol. 9. Art. 360. DOI: 10.3389/fcimb.2019.00360.
18. Mukherjee K. et al. *Galleria mellonella* as a model system for studying *Listeria pathogenesis* // Appl. Environ. Microbiol. 2010. Vol. 76(1). P. 310–317. DOI: 10.1128/AEM.01301-09. EDN: NYONEB

19. Ookubo M. et al. "Rich arginine and strong positive charge" antimicrobial protein protamine: From its action on cell membranes to inhibition of bacterial vital functions // *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Biomembranes*. 2024. T. 1866, № 5. Art. 184323. DOI: 10.1016/j.bbamem.2024.184323. EDN: NYWNRO
20. Piatek M., Sheehan G., Kavanagh K. Utilising *Galleria mellonella* larvae for studying *in vivo* activity of conventional and novel antimicrobial agents // *Pathog. Dis.* 2020. Vol. 78(8). Art. ftaa059. DOI: 10.1093/femspd/ftaa059. EDN: TTMTSY
21. Serrano I. et al. The virtuous *Galleria mellonella* model for scientific experimentation // *Antibiotics (Basel)*. 2023. Vol. 12(3). Art. 505. DOI: 10.3390/antibiotics12030505. EDN: ITADWL
22. Vertyporokh L., Hułas-Stasiak M., Wojda I. Host-pathogen interaction after infection of *Galleria mellonella* with the filamentous fungus *Beauveria bassiana* // *Insect Sci.* 2020. Vol. 27(5). P. 1079–1089. DOI: 10.1111/1744-7917.12706. EDN: ZKIICX
23. Wang G. et al. APD6: the antimicrobial peptide database is expanded to promote research and development by deploying an unprecedented information pipeline // *Nucleic Acids Res.* 2026. Vol. 54(D1). P. 363–374. DOI: 10.1093/nar/gkaf860.
24. White D., Sykes E.M.E., Kumar A. *Galleria mellonella* as an infection and antibiotic treatment model for *Acinetobacter baumannii* // *J. Vis. Exp.* 2025. № 221. Art. e68625. DOI: 10.3791/68625. EDN: WCGDLI
25. World Health Organization. The WHO AWaRe (access, watch, reserve) antibiotic book. World Health Organization, 2022.
26. Zhou L. et al. Developmental changes for the hemolymph metabolome of silkworm (*Bombyx mori* L.) // *J. Proteome Res.* 2015. Vol. 14(5). P. 2331–2347. DOI: 10.1021/acs.jproteome.5b00159.

References

1. Veslopolova E.F. [Micromethod for determining the number of colony-forming microorganisms]. *Mikrobiologija*. V. 64, No. 2 (1995): pp. 279-284. (In Russ.).
2. Gaiderova L.A. et al. [Implementation of the 3Rs concept in quality control of biological products: current state and prospects (review)]. *Bezopasnost' i risk farmakoterapii*. V. 13(2) (2025): pp. 229-239. (In Russ.). DOI: 10.30895/2312-7821-2025-13-2-229-240. EDN: KAUZG
3. Konovalova T.V. [Laboratory maintenance and breeding of the greater wax moth *Galleria mellonella* L.]. *Rossijskij veterinarnyj žurnal*. No. 4 (2009): pp. 45-47. (In Russ.). EDN: PGQJDP
4. Osokina A.S., Kolbina L.M., Gushchin A.V. [Effect of feeding and maintenance conditions on the growth of larvae of the greater wax moth (*Galleria mellonella* L.)]. *Dostižnija nauki i tehniki APK*. V. 30, No. 7 (2016): pp. 88-92. (In Russ.). EDN: WJXNYX
5. *Opređenje čuvstvitel'nosti mikroorganizmov k antimikrobnym preparatam. Rossijskie rekomendacii. Versija 2024-02* [Russian guidelines. Determination of antimicrobial susceptibility of microorganisms. Version 2024-02]. MAKMAKH, SGMU: Smolensk, 2024. 192 p. (In Russ.).
6. Andrea A., Krogfelt K.A., Jenssen H. Methods and Challenges of Using the Greater Wax Moth (*Galleria mellonella*) as a Model Organism in Antimicrobial Compound Discovery. *Microorganisms*. V. 7(3) (2019). Art. ftab85. DOI: 10.3390/microorganisms7030085.
7. Asai M. et al. *Galleria mellonella*-intracellular bacteria pathogen infection models: the ins and outs. *FEMS Microbiol. Rev.* V. 47(2) (2023). Art. fuad011. DOI: 10.1093/femsre/fuad011. EDN: PBWDQO
8. Banville N., Browne N., Kavanagh K. Effect of nutrient deprivation on the susceptibility of *Galleria mellonella* larvae to infection. *Virulence*. V. 3, No. 6 (2012): pp. 497-503. DOI: 10.4161/viru.21972.
9. Champion O.L., Wagley S., Titball R.W. *Galleria mellonella* as a model host for microbiological and toxin research. *Virulence*. V. 7(7) (2016): pp. 840-5. DOI: 10.1080/21505594.2016.1203486.
10. Chen R.Y., Keddie B.A. The *Galleria mellonella*-enteropathogenic *Escherichia coli* model system: characterization of pathogen virulence and insect immune responses. *J. Insect Sci.* V. 21(4) (2021). Art. 7. DOI: 10.1093/jisesa/ieab046. EDN: UYWYR
11. Dinh H. et al. Microbiology's next top model: *Galleria* in the molecular age. *Pathog. Dis.* V. 79(2) (2021). Art. ftab006. DOI: 10.1093/femspd/ftab006. EDN: TKXTAQ
12. Hesketh-Best P.J. et al. *Galleria mellonella* larvae exhibit a weight-dependent lethal median dose when infected with methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Pathogens and disease*. V. 79, No. 2 (2021). Art. ftab003. DOI: 10.1093/femspd/ftab003. EDN: GKKTAB
13. Hoffmann J.A. Innate immunity of insects. *Curr. Opin. Immunol.* V. 7(1). (1995): pp. 4-10. DOI: 10.1016/0952-7915(95)80022-0.
14. Hofkens N. et al. Microbisporicin (NAI-107) protects *Galleria mellonella* from infection with *Neisseria gonorrhoeae*. *Microbiol. Spectr.* V. 11(6) (2023). Art. e0282523. DOI: 10.1128/spectrum.02825-23. EDN: CPQYFJ
15. Jorjão A.L. et al. From moths to caterpillars: Ideal conditions for *Galleria mellonella* rearing for *in vivo* microbiological studies. *Virulence*. V. 9 (2018): pp. 383-389. DOI: 10.1080/21505594.2017.1397871.
16. Kavanagh K., Sheehan G. The Use of *Galleria mellonella* Larvae to Identify Novel Antimicrobial Agents against Fungal Species of Medical Interest. *J. Fungi (Basel)*. V. 4(3) (2018). Art. 113. DOI: 10.3390/jof4030113.

17. Malmquist J.A., Rogan M.R., McGillivray S.M. *Galleria mellonella* as an Infection Model for *Bacillus anthracis* Sterne. *Front. Cell. Infect. Microbiol.* V. 9 (2019). Art. 360. DOI: 10.3389/fcimb.2019.00360.
18. Mukherjee K. et al. *Galleria mellonella* as a model system for studying *Listeria pathogenesis*. *Appl. Environ. Microbiol.* V. 76(1) (2010); pp. 310-317. DOI: 10.1128/AEM.01301-09. EDN: NYONEB
19. Ookubo M. et al. "Rich arginine and strong positive charge" antimicrobial protein protamine: From its action on cell membranes to inhibition of bacterial vital functions. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Biomembranes*. V. 1866. No. 5 (2024). Art. 184323. DOI: 10.1016/j.bbamem.2024.184323. EDN: NYWNRO
20. Piatek M., Sheehan G., Kavanagh K. Utilising *Galleria mellonella* larvae for studying *in vivo* activity of conventional and novel antimicrobial agents. *Pathog. Dis.* V. 78(8) (2020). Art. ftaa059. DOI: 10.1093/femspd/ftaa059. EDN: TTMTSY
21. Serrano I. et al. The Virtuous *Galleria mellonella* Model for Scientific Experimentation. *Antibiotics* (Basel). V. 12(3) (2023). Art. 505. DOI: 10.3390/antibiotics12030505. EDN: ITADWL
22. Vertyporokh L., Hulas-Stasiak M., Wojda I. Host-pathogen interaction after infection of *Galleria mellonella* with the filamentous fungus *Beauveria bassiana*. *Insect Sci.* V. 27(5) (2020); pp. 1079-1089. DOI: 10.1111/1744-7917.12706. EDN: ZKIICX
23. Wang G. et al. APD6: the antimicrobial peptide database is expanded to promote research and development by deploying an unprecedented information pipeline. *Nucleic Acids Res.* V. 54(D1) (2026); pp. 363-374. DOI: 10.1093/nar/gkaf860.
24. White D., Sykes E.M.E., Kumar A. *Galleria mellonella* as an Infection and Antibiotic Treatment Model for *Acinetobacter baumannii*. *J. Vis. Exp.* No. 221 (2025). Art. e68625. DOI: 10.3791/68625. EDN: WCGDLI
25. World Health Organization. The WHO AWaRe (access, watch, reserve) antibiotic book. - World Health Organization, 2022.
26. Zhou L. et al. Developmental Changes for the Hemolymph Metabolome of Silkworm (*Bombyx mori* L.). *J. Proteome Res.* V. 14(5) (2015); pp. 2331-2347. DOI: 10.1021/acs.jproteome.5b00159.

Статья поступила в редакцию 21.05.2026; одобрена после рецензирования 25.05.2026; принята к публикации 01.06.2026.

The article was submitted 21.05.2026; approved after reviewing 25.05.2026; accepted for publication 01.06.2026.

Информация об авторах

А. Н. Лобанов – lobanov.aleksandr.n@gmail.com, инженер «ИЭГМ УрО РАН», аспирант ПФИЦ УрО РАН;
 М. В. Антипина – girmar@mail.ru, канд. биол. наук, младший научный сотрудник «ИЭГМ УрО РАН», доцент ПГАТУ.
 Д. В. Ерошенко – dasha.eroshenko@gmail.com, канд. биол. наук, инженер «ИЭГМ УрО РАН»;
 Т. В. Полюдова – poludova76@mail.ru, канд. биол. наук, зав. лабораторией «ИЭГМ УрО РАН».

Information about the authors

A. N. Lobanov – lobanov.aleksandr.n@gmail.com, engineer «IEGM UB RAS», postgraduate student PFRC UB RAS;
 M. V. Antipeva – girmar@mail.ru, candidate of biological sciences, junior researcher «IEGM UB RAS», associate professor Perm State Agro-Technological University named after academician D. N. Prianishnikov.
 D. V. Eroshenko – dasha.eroshenko@gmail.com, candidate of biological sciences, engineer «IEGM UB RAS»;
 T. V. Polyudova – poludova76@mail.ru, candidate of biological sciences, head of laboratory «IEGM UB RAS».

Вклад авторов:

Лобанов А. Н. – экспериментальная работа; статистическая обработка материала; написание исходного текста.
 Антипина М. В. – экспериментальная работа; доработка текста.
 Ерошенко Д. В. – статистическая обработка материала; доработка текста.
 Полюдова Т. В. – научное руководство, концепция исследования, работа над текстом.

Contribution of the authors:

Lobanov A. N. – experimental work; statistical processing of material; writing the original draft.
 Antipeva M. V. – experimental work; text revision.
 Eroshenko D. V. – statistical processing of material; text revision.
 Polyudova T. V. – research supervision, research concept, text revision.

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

The authors declare no conflicts of interests.

МИКРОБИОЛОГИЯ

Научная статья

УДК 579.834.1:612.017.4:579.61:577.112

EDN: KQHN LZ

<http://dx.doi.org/10.17072/1994-9952-2026-2-179-190>



**Взаимодействие везикул штаммов *Vibrio cholerae* O1 El Tor
с клетками-мишенями**

**О. А. Якушева¹, Л. П. Алексеева¹, В. В. Евдокимова¹, М. Г. Мелоян¹,
Д. И. Симакова¹**

¹ Ростовский-на-Дону противочумный институт Роспотребнадзора, Ростов-на-Дону, Россия

Автор, ответственный за переписку: Ольга Александровна Якушева, yakusheva_oa@antiplague.ru

Аннотация. Установлено, что типичный штамм и геноварианты *Vibrio cholerae* O1 при культивировании в течение 18 ч на агаре Мартена с добавлением 0.1% желчи образуют везикулы наружной мембраны (ВНМ). С помощью трансмиссионной электронной микроскопии показано, что везикулы *V. cholerae* O1 El Tor в жидкой и плотной среде имеют целую, непрерывную мембрану. При визуальной оценке препаратов везикул обнаружено, что они сферической формы, а диапазон их размеров находится в пределах от 50 до 200 нм. Отработана методика конъюгации ВНМ, полученных из бульонных и агаровых культур типичного штамма и геновариантов *V. cholerae* O1 El Tor и моноклональных антител (МКА) к белку наружной мембраны OmpU с ФИТЦ. Определены оптимальные концентрации ВНМ, дающие четкий флуоресцентный сигнал. Установлено взаимодействие везикул наружной мембраны холерных вибрионов с клетками-мишенями на основе флуоресцирующих МКА и флуоресцентно-меченых везикул. Показано, что в течение 20 мин ВНМ агрегируют и связываются с клеточной плазматической мембраной. Через час начинается интернализация. Через 3 часа практически все везикулы проникают в клетки-мишени. Отмечено, что ВНМ, образуемые типичным штаммом и геновариантами *V. cholerae* O1 El Tor, выделенные из бульонных и агаровых культур, интернализируются клетками-мишенями и накапливаются внутриклеточно за одинаковое время. В использованных экспериментальных условиях не было выявлено участия липополисахаридов в интернализации везикул *V. cholerae* O1 El Tor клетками-мишенями. На модели культуры клеток двух линий кишечного эпителия *Caco-2* и *HuTu 80* показано также, что ВНМ усиливают способность бактериальных клеток прикрепляться к эпителиальным клеткам кишечника.

Ключевые слова: *Vibrio cholerae*, везикулы наружных мембран, липополисахариды, холерный токсин, адгезия к клеткам-мишеням

Для цитирования: Взаимодействие везикул штаммов *Vibrio cholerae* O1 El Tor с клетками-мишенями / О. А. Якушева, Л. П. Алексеева, В. В. Евдокимова, М. Г. Мелоян, Д. И. Симакова // Вестник Пермского университета. Сер. Биология. 2026. Т. 17, вып. 2. С. 179–190. <http://dx.doi.org/10.17072/1994-9952-2026-2-179-190>.

MICROBIOLOGY

Original article

Interaction of *Vibrio cholerae* O1 El Tor vesicles with target cells

**O. A. Yakusheva¹, L. P. Alekseeva¹, V. V. Evdokimova¹, M. G. Meloyan¹,
D. I. Simakova¹**

¹ Rostov-on-Don Antiplague Scientific Research Institute of Rospotrebnadzor, Rostov-on-Don, Russia

Corresponding author: Olga A. Yakusheva, yakusheva_oa@antiplague.ru

Abstract. Cultivation of the typical strain and genovariants of *Vibrio cholerae* O1 for 18 hours on Marten agar supplemented with 0.1% bile induced the formation of outer membrane vesicles (OMVs). TEM analysis showed that *V. cholerae* O1 El Tor vesicles in both liquid and solid media have an intact, continuous membrane. Visual inspection of the vesicle preparations revealed a spherical shape, with sizes ranging from 50 to 200 nm. A method was developed for conjugating OMVs obtained from broth and agar cultures of the typical strain and genovariants of *V. cholerae* O1 El Tor with FITC-labeled monoclonal antibodies (mAbs) against the outer membrane protein OmpU. The optimal OMVs concentrations providing a clear fluorescent signal were determined. The interaction of

V. cholerae outer membrane vesicles with target cells was established using fluorescent mAbs and fluorescently labeled vesicles. OMVs were shown to aggregate and bind to the cell plasma membrane within 20 minutes. Internalization began within an hour. After three hours, virtually all vesicles penetrated the target cells. It was noted that OMVs produced by the typical strain and genovariants of *V. cholerae* O1 El Tor isolated from broth and agar cultures were internalized by target cells and accumulated intracellularly within identical timeframes. Under the experimental conditions used, no LPS involvement was detected in the internalization of *V. cholerae* O1 El Tor vesicles by target cells. Using cell culture models of two intestinal epithelial cell lines, *Caco-2* and *HuTu 80*, OMVs were shown to enhance the ability of bacterial cells to adhere to intestinal epithelial cells.

Keywords: *Vibrio cholerae*, outer membrane vesicles, LPS, cholera toxin, adhesion to target cells

For citation: Yakusheva O. A., Alekseeva L. P., Evdokimova V. V., Meloyan M. G., Simakova D. I. [Interaction of *Vibrio cholerae* O1 El Tor vesicles with target cells]. *Bulletin of Perm University. Biology*. Vol. 17, iss. 2 (2026): pp. 179-190. (In Russ.). <http://dx.doi.org/10.17072/1994-9952-2026-2-179-190>.

Введение

В 90-х гг. прошлого столетия в результате мутаций появились и получили широкое распространение природные геноварианты *V. cholerae* El Tor. Данные штаммы содержат в опероне *ctxAB*, кодирующем биосинтез холерного токсина (ХТ), ген *ctxB* классических вибрионов (*ctxB1*), в отличие от типичных El Tor вибрионов, имеющих аллель *ctxB* El Tor (*ctxB3*). Были также обнаружены и другие геноварианты возбудителя, несущие новую аллель гена *ctxAB7*, который, в отличие от аллеля *ctxAB1*, имеет дополнительную замену С/А в позиции 58. Геноварианты синтезируют повышенное количество ХТ I (классического) типа, приближаясь по данному показателю к высокотоксигенным штаммам классического биовара [Заднова и др., 2019].

Как и другие грамотрицательные бактерии, холерные вибрионы образуют везикулы наружной мембраны (ВНМ), которые признаны общим механизмом бесконтактного транспорта и коммуникации [Guertgero-Mandujano et al., 2017]. С помощью ВНМ большинство грамотрицательных бактерий экспортируют комплексы белков, липидов и связанных с наружной мембраной [Аронова и др., 2021]. Образование везикул наружной мембраны штаммами *V. cholerae* classical и El Tor, их композиционный состав и протективные свойства описаны как отечественными, так и зарубежными исследователями [Zingl et al., 2021; Омельченко и др., 2023; Дуванова и др., 2024]. Образование ВНМ из клеток *V. cholerae* наблюдается во время роста бактерий в жидких и агаровых средах, в составе биопленки, а также во время инфекции внутри организма хозяина. Ранее нами было показано, что типичные штаммы и геноварианты *V. cholerae* El Tor в жидкой среде АК1 образуют ВНМ, содержащие холерный токсин, локализованный внутри везикул, а также определено его биологическое действие на культуру клеток *CHO-K1* и *HuTu 80* [Алексеева и др., 2024; Якушева и др., 2024].

Поскольку ВНМ содержат биологически активные молекулы, они выполняют множество биологических функций, включая доставку токсинов и протеаз во время инфекции [Rompikuntal et al., 2015; Rasti, Brown, 2019], влияют на структуру биопленок [Potarova, 2024], защищают от антимикробных препаратов и бактериофагов [Reyes-Robles et al., 2018], усиливают адгезию бактерий к эукариотическим клеткам [Божокина, Берсон, 2021]. Зарубежными исследователями показано, что ВНМ *V. cholerae* classical и El Tor проникают в эпителиальные клетки кишечника и высвобождают факторы вирулентности, такие как холерный токсин, протеазы и др. [Chatterjee, Chaudhuri, 2011; Rompikuntal et al., 2015; Zingl et al., 2021].

Поглощение везикул клетками-мишенями происходит либо путем фагоцитоза, либо путем классического эндоцитоза, после чего факторы вирулентности дифференцированно разделяются во время внутриклеточного транспорта везикул и могут проявлять свою токсическую активность [Bielaszewska et al., 2017]. Для изучения этих процессов применяются различные способы обнаружения поглощения везикул клетками-хозяевами, одним из которых является обработка антителами. Такое окрашивание можно обнаружить с помощью проточной цитометрии или микроскопии. Еще один метод, используемый в практике для изучения поглощения везикул клетками-хозяевами, основан на окрашивании везикул флуоресцирующими красителями, такими как липофильный краситель Dio, ФИТЦ (флуоресцеинизотиоцианат) [O'Donoghue, Krachler, 2016]. Эти красители позволяют неспецифически метить липиды или белки ВНМ, применяются для изучения кинетики поглощения на живых клетках и используются для обнаружения везикул снаружи и внутри клеток-хозяев. Данный метод относят к неспецифическим, поэтому его необходимо использовать в сочетании с мечеными антителами [Macion et al., 2021]. Несмотря на достигнутые успехи в области изучения взаимодействия ВНМ с клетками-мишенями, остается много вопросов, требующих продолжения исследований. Так, конкретные механизмы связывания везикул геновариантов с клетками-хозяевами и проникновение в них, до сих пор полностью не исследованы.

Цель работы – получение ВНМ *V. cholerae* El Tor, изучение их поглощения клетками-мишенями и влияния на адгезивные свойства.

Материалы и методы исследования

Все этапы работы были выполнены в соответствии с СанПин 3.3686-21 «Санитарно-эпидемиологические требования по профилактике инфекционных болезней». В работе использовали токсигенные штаммы *V. cholerae* O1 El Tor Ogawa: (ctx B3, tcpA^{ET}, rtxA1) – № 1310; (ctx B1, tcpA^{ET}, rtxA1) – № 18367; (ctxB7, tcpA^{CIRS}, rtxA4) – № 19188/2; (ctxB7, tcpA^{CIRS}, rtxA4a) – № 19667, полученные из лаборатории «Коллекция патогенных микроорганизмов» ФКУЗ Ростовский-на-Дону противочумный институт Роспотребнадзора. Штаммы *V. cholerae* O1 El Tor с различными генотипами были подобраны согласно их паспортным данным. Все исследуемые штаммы были типичными по морфологическим, культуральным, биохимическим и серологическим свойствам. Бактерии культивировали на агаре Мартена, pH 7.7.

Для сравнительного анализа проникновения в клетки-мишени были использовано два типа токсинсодержащих везикул, полученных ранее при культивировании типичного штамма *V. cholerae* O1 El Tor 1310 и геновариантов 18367, 19188/2, 19667, выращенных в бульоне АК1 до логарифмической фазы роста [Якушева и др., 2024] и после выращивания в течение 18 ч на агаре Мартена с добавлением 0.1% желчи [Avila-Calderón et al., 2018]. Бактерии смывали с помощью стеклянного шпателя 0.1 М фосфатно-солевым буфером pH 7.2 до образования однородной суспензии, далее полученную бактериальную массу разводили в объеме 250 мл. Обеззараженные мертиолятом натрия (1:10000) микробные клетки удаляли центрифугированием при 10 000 g в течение 30 мин. Супернатант пропускали через фильтры типа GVWP с диаметром 0.45 мкм и 0.22 мкм, чтобы исключить клеточный детрит, и добавляли ингибитор протеаз, не содержащий ЭДТА (Sigma-Aldrich/Roche) для предотвращения деградации белка. Из бесклеточного супернатанта концентрирование везикул осуществляли центрифугированием при 100 000 g в течение 2 ч при 4° С. Осадок дважды промывали 25 мл стерильного 0.1 М фосфатно-солевого буфера pH 7.2 и центрифугировали при той же скорости в течение 1 ч, затем ресуспендировали в 1 мл 0.1 М фосфатно-солевого буфера, pH 7.2. Разливали на аликвоты и хранили при –20°С.

Концентрацию белка измеряли методом Лоури [Lowry, 1951]. Концентрацию белка рассчитывали по калибровочной кривой, построенной для БСА. Липополисахариды (ЛПС) в везикулах измеряли в иммуноферментном анализе с помощью комплементарных ему специфических моноклональных антител гибридомы (ГХ-F8/O1), депонированной ранее в «Специализированной коллекции перевиваемых соматических клеток позвоночных» Института Цитологии (г. Санкт-Петербург) под номером РККК (П) 386Д. Концентрацию ЛПС рассчитывали по калибровочной кривой, построенной для ЛПС, выделенного по общепринятой методике О. Westphal [Westphal, 1965] из штамма *V. cholerae* O1 El Tor № 5879 (ЛПС O1).

Визуализацию, размеры и форму везикул в полученных препаратах оценивали с помощью трансмиссионной электронной микроскопии (ТЭМ). Образцы наносили на поверхность формаровой пленки-подложки и контрастировали 0.2% раствором уранилацетата в воде.

Поглощение везикул оценивали на перевиваемых клеточных линиях *Caco-2* (человек, аденокарцинома ободочной кишки) и *HuTi 80* (человек, аденокарцинома двенадцатиперстной кишки) (РКККП, Институт цитологии РАН, г. Санкт-Петербург). Выращивание культур клеток *Caco-2* и *HuTi 80* проводили согласно паспортным данным. Вне периода постановки опытов коллекционные культуры хранились в криоконсервированном состоянии в биохранилище с жидким азотом при –196°С. Все этапы с перевиваемыми линиями клеток были выполнены в соответствии с рекомендациями [Фрешни, 2018].

Везикулы метили флуоресцин изотиоцианатом (ФИТЦ). Для этого полученные препараты ресуспендировали в 0.1 М бикарбонате натрия (pH 9.0) и добавляли ФИТЦ в соотношении 1:1. Конъюгацию проводили в течение 1 ч при температуре 25°С при постоянном перемешивании на магнитной мешалке. Свободный краситель удаляли из меченых везикул, дважды промывая фосфатно-солевым буфером (ФСБ) (46 000 ×g, 1 ч).

Культуру клеток промывали 3 раза ФСБ, в бессывороточной среде вносили меченные ФИТЦ везикулы и выдерживали в течение определённого интервала времени (10, 20, 40 мин, 1, 2, 4, 6, 8 ч) при 37°С в СО₂-инкубаторе. По истечении времени 3 раза промывали ФСБ, фиксировали холодным 96° спиртом в течение 20 мин и полностью высушивали. Для гашения неспецифического свечения культуры клеток наносили 0.025% раствор трипанового синего на 20 мин при +4°С. Отмывали 3 раза ФСБ, полностью высушивали и просматривали под флуоресцирующим микроскопом [Chatterjee, Chaudhuri, 2011].

Маркировку ФИТЦ иммуноглобулинов, продуцируемых гибридомой (ГХ-A5D8/OmpU), депонированную в «ГКПМ-Оболensk» (№179) [Евдокимова и др., 2016], направленных к мембранному белку OmpU, осуществляли по методу [Антителя, 1991]. Конъюгация длилась не менее 2 ч в условиях холодильника при постоянном перемешивании на магнитной мешалке. Для освобождения от несвязавшегося флуорохрома меченные ФИТЦ МКА диализовали против 0.15 М NaCl.

Для установления красящего титра высушенные и фиксированные мазки бактериальных взвесей *V. cholerae* O1 El Tor обрабатывали раствором ФИТЦ МКА в разведении начиная 1:2 до 1:32 и помещали во влажную камеру. Через 30 мин промывали 2 раза ФСБ и 1 раз дистиллированной водой, затем подсушивали на воздухе. Учет результатов проводили по 4-крестовой системе на люминесцентном микроско-

пе. Активность поглощения исследовали у всех препаратов везикул в разных концентрациях – от 500 нг/мл до 2 мкг/мл.

Эксперимент проводили в 6-луночных планшетах с покровными стеклами, на которых сформировался разреженный монослой клеток. В лунки планшета вносили препарат нативных везикул и инкубировали в течение определённого интервала времени (10, 20, 40 мин, 1, 2, 4, 6, 8 ч) при 37°C в CO₂-инкубаторе. По истечении времени 3 раза промывали ФСБ, фиксировали холодным 96° спиртом в течение 20 мин и полностью высушивали. Далее для пермеабилзации культуру обрабатывали 1% раствором тритона X-100 в ФСБ в течение 20 мин при комнатной температуре, промывали 3 раза ФСБ и наносили 0.025% раствор трипанового синего на 20 мин при +4°C, промывали 3 раза ФСБ и добавляли меченные ФИТЦ антитела на 40 мин при 37°C, по прошествии времени промывали 3 раза ФСБ, полностью высушивали и просматривали под флуоресцирующим микроскопом.

Для исследования роли ЛПС в поглощении везикул использовали препарат ЛПС из штамма *V. cholerae* O1 El Tor № 5879. ВНМ меченные ФИТЦ 500 нг (количество ЛПС в 500 нг везикул каждого исследуемого препарата представлено в табл. 1) смешивали с препаратом ЛПС, который добавляли с избытком 3 мкг. Клетки-мишени промывали 3 раза ФСБ и в бессывороточной среде вносили смесь везикул с препаратом ЛПС, в контрольную лунку с клетками-мишенями вносили в бессывороточной среде меченные ФИТЦ ВНМ в количестве 500 нг и инкубировали в течение 3 ч в CO₂-инкубаторе при 37°C. Далее 3 раза промывали ФСБ, фиксировали холодным 96° спиртом в течение 20 мин и полностью высушивали. Неспецифическое свечение культуры клеток гасили с помощью 0.025% раствора трипанового синего в течение 20 мин при +4°C. Отмывали 3 раза ФСБ, полностью высушивали и просматривали под флуоресцирующим микроскопом.

Таблица 1

**Количество ЛПС в препаратах везикул, полученных из бульонных и агаровых культур
V. cholerae O1 El Tor**

[LPS content in vesicle preparations obtained from broth and agar cultures of *V. cholerae* O1 El Tor]

Препараты везикул, полученные	Концентрация ЛПС (мкг) в 500 нг препарата			
	1310	18367	19188/2	19667
при культивировании штаммов <i>V. cholerae</i> O1 El Tor в бульоне АК1	0.3	0.13	0.06	0.07
после выращивания культур на агаре Мартена с добавлением 0.1% желчи	0.3	0.16	0.13	0.15

Роль ЛПС в интернализации ВНМ оценивали по конкурентному ингибированию. При участии ЛПС избыток этого препарата конкурирует за сайты связывания и блокирует поглощение везикул – в результате клетки-мишени визуализируются без флуоресцентного свечения. В контрольной лунке флуоресценция сохраняется. Если ЛПС не участвует в поглощении, флуоресцентное свечение наблюдается в обеих лунках.

Количественную оценку адгезии штаммов *V. cholerae* после обработки клеток мембранными везикулами проводили по методу [Патент ..., 2016] одновременно на двух клеточных линиях – *HuTu 80* (человек, аденокарцинома двенадцатиперстной кишки) и *Saco-2* (человек, аденокарцинома ободочной кишки). К разреженному монослою клеток *HuTu 80* или *Saco-2* вносили везикулы в дозе 500 нг и инкубировали в течение 1 ч. Далее среду отбирали, клетки промывали 3 раза раствором Хенкса pH 7.4. Среду заменяли на свежую DMEM, содержащую 10⁶ м. к. / мл испытуемых штаммов холерных вибрионов. Клетки *HuTu 80* или *Saco-2* в присутствии холерных вибрионов культивировали при 37°C в CO₂-инкубаторе 90 мин. После этого среду удаляли, и индекс адгезии определяли, как описано выше.

Статистическую обработку полученных экспериментальных данных проводили в программе <https://medstatistic.ru/>, вычисляя среднюю арифметическую, стандартную ошибку средней арифметической. Оценку статистической достоверности различий средних значений проводили с использованием t-критерия Стьюдента. Критерием статистической ошибки достоверности различия получаемых данных считали величину ошибки $p \leq 0.05$. Все эксперименты проводили в трех повторностях.

Результаты и их обсуждение

В последние годы появилось немало публикаций, касающихся интернализации ВНМ патогенных бактерий в клетки-хозяева. Поглощенные везикулы могут способствовать инфицированию хозяина, нарушать функции его клеток и модулировать иммунную защиту и реакции хозяина [Ellis, Kuehn, 2010].

Для сравнительного анализа проникновения в клетки-мишени были использованы два типа везикул. С помощью ТЭМ установлено, что везикулы *V. cholerae* O1 El Tor в жидкой и плотной среде имели целую, непрерывную мембрану. При визуальной оценке препаратов везикул обнаружено, что они были сферической формы, а диапазон их размеров находился в пределах от 50 до 200 нм (рис. 1). Полученные

данные согласуются с ранее опубликованными нами и результатами зарубежных авторов, показавших, что холерные вибрионы в естественных условиях образуют везикулы с аналогичным размером [Chatterjee, Chaudhuri, 2011; Алексеева и др., 2024; Якушева и др., 2024]. При ТЭМ препаратов везикул не были обнаружены обломки бактериальных клеток, жгутики и пили.

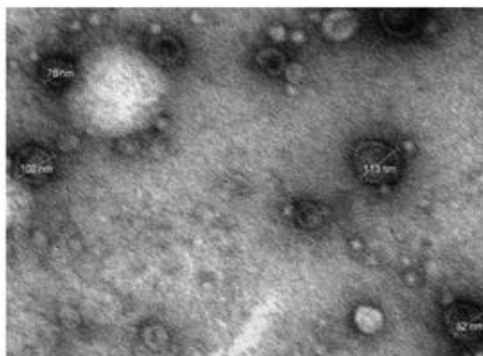


Рис. 1. Электронная микроскопия препарата везикул, на примере штамма *V. cholerae* O1 № 19667, выращенного на агаре Мартена с добавлением 0.1% желчи
[Electron microscopy of a vesicle preparation using the example of *V. cholerae* strain O1 № 19667 grown on Marten agar supplemented with 0.1% bile]

Для оценки клеточной интернализации выделенные препараты везикул были конъюгированы с ФИТЦ. Использование этого флуоресцирующего красителя в процессе изучения интернализации было описано в исследовании [Kesty et al., 2004]. Клетками-мишенями служили одновременно две линии: *CaCo-2*, традиционно применяемая для этих целей, и *HuTu 80*, которая на действие холерного токсина реагирует удлинением и появлением игловидных отростков. Обе клеточные линии относятся к непрофессиональным фагоцитирующим клеткам.

Для определения оптимальной концентрации, дающей четкий флуоресцентный сигнал, использовали разные количества везикул. Для этого флуоресцентно-меченые везикулы, начиная с 100 нг/мл до 1 000 нг/мл, добавляли к монослою эпителиальных клеток *CaCo-2* и *HuTu 80* и через 2 ч после инкубации просматривали под микроскопом. В результате было отмечено, что для визуализации четкого флуоресцентного сигнала при поглощении эпителиальными клетками *CaCo-2* и *HuTu 80* флуоресцентно-меченых везикул необходимо использовать количество ВНМ, равное 500 нг/мл.

Известно, что эндоцитарные процессы в кишечном эпителии протекают быстро [Olofsson et al., 2014], поэтому процесс интернализации оценивали в динамике, начиная от 10 мин до 6 ч. Интенсивность флуоресценции в клетках *CaCo-2* и *HuTu 80* увеличивалась по мере поглощения везикул. После инкубации в течение 20 мин можно было регистрировать, как агрегируют и связываются с клеточной плазматической мембраной флуоресцентно-меченые везикулы. Через час начиналась интернализация. Количество поглощенных везикул в интервале от 1 до 3 ч со временем увеличивалось. Нарастание интернализации везикул со временем также было описано для *Escherichia coli*, *Helicobacter pylori*, *Pseudomonas aeruginosa* в ряде исследований [Kesty et al., 2004; Furuta et al., 2009; Bauman, Kuehn, 2009; Parker et al., 2010]. Через 3 часа практически все везикулы проникали в клетки-мишени.

Ранее было показано, что холерный токсин локализуется внутри везикул и является биологически активным [Алексеева и др., 2024; Якушева и др., 2024]. В экспериментах после 4 ч инкубации меченых ВНМ с клетками *HuTu 80* наблюдали внутриклеточные флуоресцирующие включения и морфологическое изменение клеток, характерное для действия холерного токсина, в клетках *CaCo-2* были также обнаружены флуоресцирующие включения. Известно, что клетки *CaCo-2* на действие холерного токсина не отвечают морфологическими изменениями, регистрируемыми под микроскопом [Moal, Servina, 2013]. Через 6 ч инкубации флуоресценция полностью гасла.

Однако этот метод изучения поглощения флуоресцентно-меченых везикул не является строго специфичным, т. к. в процессе конъюгации везикул с флуоресцирующими красителями молекулы последних могут образовывать агрегаты и обогащенные домены, и в дальнейшем поглощаются клетками-мишенями [O'Donoghue, Krachler, 2016]. Существует другой метод, используемый в практике для изучения поглощения ВНМ клетками-хозяевами, – иммуноокрашивание. Этот метод позволяет продемонстрировать, как доставляется содержимое ВНМ, и изучить вклад этого содержимого во взаимодействие с клеткой-хозяином (связывание/проникновение), а также визуализировать колокализацию с определенными клеточными компартментами. Для иммуноокрашивания везикул *V. cholerae* используют поликлональные антисыворотки против протеаз HAP, VesC [Mondal et al., 2016] и PrtV [Rompikuntal et al., 2015], а также белка везикул OmpU [Bielig et al., 2011].

Для доказательства того, что флуоресценция была вызвана везикулами, меченными ФИТЦ, а не свободным красителем, были проведены дополнительные исследования. Известно, что белок наружной мембраны OmpU является маркером везикул [Elluri et al., 2014; Sjöström et al., 2015]. Располагая гибридомой (ГХ-A5D8/OmpU) были приготовлены экспериментальные образцы флуоресцирующих МКА, направленных к мембранному белку OmpU везикул. Используя мазки штаммов *V. cholerae* O1 El Tor, было определено рабочее разведение полученного препарата ФИТЦ-МКА OmpU, равное 1:4.

Далее для определения поглощения к клеткам мишеням были внесены разные концентрации нативных везикул от 500 нг/мл до 2 мкг/мл и окрашены ФИТЦ-МКА OmpU. Установлено, что разведение ФИТЦ-МКА OmpU, равное 1:4, давало возможность обнаружить четкий флуоресцирующий сигнал везикул в дозе 2 мкг/мл (рис. 2). Также следует отметить, что специфическое свечение наблюдалось в культуре обеих линий с концентрацией 1 мкг/мл везикул, но в поле зрения выявлялись единичные везикулы. Возможно, это связано с тем, что распределение мембранного белка OmpU по поверхности наружной мембраны составляет 30% [Заднова, 2004], а образование везикул происходит локально.

Уточним, что интактные везикулы поглощались за такой же период времени, что и флуоресцентно-меченные везикулы. При визуальной оценке не было отмечено разницы в интенсивности поглощения везикул, выделенных типичным штаммом и геновариантами *V. cholerae* O1 El Tor, а также между везикулами, выделенными из разных сред культивирования.

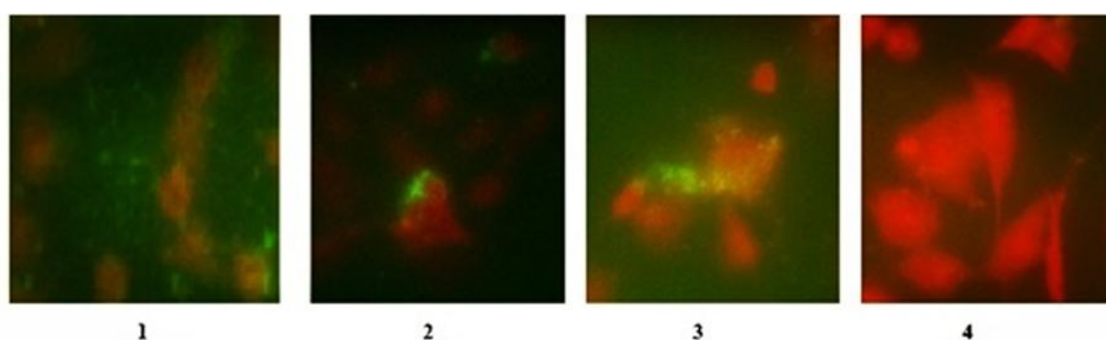


Рис. 2. Интернализация клетками-мишенями *HuTu 80* иммуноокрашенных везикул на примере штамма № 19667. Примечание: 1 – 10 мин воздействия; 2 – 20 мин воздействия; 3 – 4 ч воздействия; 4 – 6 ч воздействия

[Internalization of immunostained vesicles from strain No. 19667 by HuTu 80 target cells.

Note: 1 – 10 minutes of exposure; 2 – 20 minutes of exposure; 3 – 4 hours of exposure; 4 – 6 hours of exposure]

Специфическое взаимодействие холерного вибриона и энтероцита хозяина осуществляется в результате тесного контакта между патогеном и клеткой-хозяином. Поверхности везикул наружной мембраны имеют сходное строение с внешней мембраной бактерий, что обеспечивает широкий спектр веществ для взаимодействия с поверхностью клетки-хозяина. Как было показано нами ранее, везикулы типичного штамма и геновариантов *V. cholerae* O1 El Tor образуются из наружной мембраны и содержат полноценный ЛПС [Якушева и др., 2024]. О-антиген занимает терминальное положение в структурной области ЛПС и, благодаря своему расположению, вероятно, является первым структурным элементом, вступающим в непосредственный контакт с клетками-хозяевами.

По данным литературы, у *E. coli* структура ЛПС, особенно область О-антигена, имеет решающее значение для проникновения ВНМ в клетки-мишени [O'Donoghue et al., 2017]. ВНМ, утратившие О-антиген, могут использовать клатрин-зависимый эндоцитоз для интернализации; в то же время везикулы с полноценным О-антигеном проникают в клетки-мишени зависимым от рафтов путем [Cai et al., 2018].

В настоящее время нет сведений о роли ЛПС в проникновении везикул природных геновариантов *V. cholerae* O1 El Tor в клетку-мишень. Если допустить, что О-антиген, присутствующий на поверхности везикул типичного штамма и геновариантов *V. cholerae* O1 El Tor, может быть основным эпитопом, обеспечивающим адгезию и последующее поглощение ВНМ клетками-мишенями, то очевидно, что в случае предварительного смешивания препарата ЛПС с препаратами везикул и внесения к клеткам-мишеням должно вызвать конкуренцию за сайты связывания и, как следствие, блокировать поглощение везикул. Экспериментальные данные свидетельствуют, что добавление ЛПС к везикулам не влияло на интернализацию последних, т. к. в клетках-мишенях регистрировали специфическое свечение (рис. 3). Следовательно, в использованных экспериментальных условиях не было выявлено участия ЛПС в интернализации везикул *V. cholerae* ЛПС клетками-мишенями.

Развитие любого инфекционного процесса определяется первичным взаимодействием патогена с клетками хозяина, за которым следует проявление его патогенных свойств. Поэтому большое значение придается изучению адгезивных свойств микроорганизмов, в том числе и *V. cholerae*. Согласно данным литературы, везикулы *Serratia grimesii* [Божокина, Берсон, 2021], *Campylobacter jejuni* [My Le et al., 2024]

усиливают способность бактериальных клеток прикрепляться к эпителиальным клеткам. Однако о влиянии везикул холерных вибрионов на прикрепление микробных клеток к клеткам-мишеням сведения отсутствуют. При изучении факторов, влияющих на бактериальную адгезию, важным этапом является определение адгезивных свойств холерных вибрионов к клеткам-мишеням без какого-либо воздействия. Исследование проводили на двух клеточных линиях *HuTu 80* и *Caco-2*, изучали адгезивные свойства холерных вибрионов, из которых выделены везикулы. Для этого на покровное стекло с разреженным монослоем клеток *HuTu 80* или клеток *Caco-2* вносили 1 мл среды DMEM, содержащей 10^6 м. к./мл исследуемых штаммов *V. cholerae* O1 El Tor и инкубировали в течение 90 мин при 37°C в CO₂-инкубаторе и определяли индекс адгезии (табл. 2).

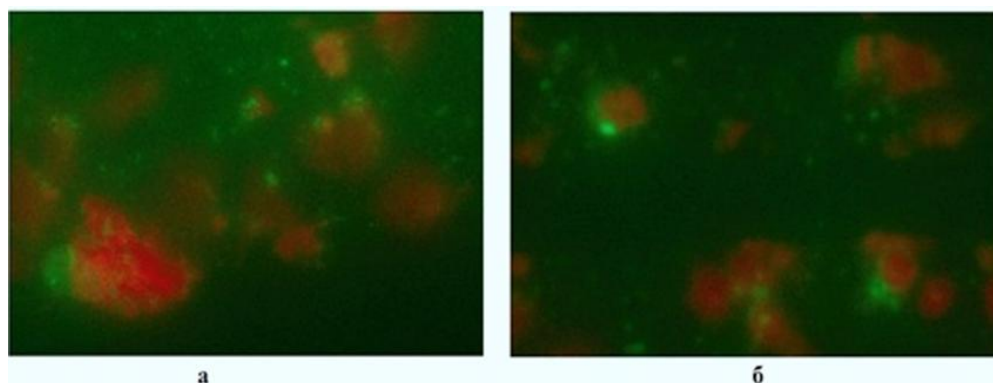


Рис. 3. Интернализация клетками-мишенями *Caco-2* флуоресцентно-меченых везикул на примере штамма № 19667: а – поглощение клетками *Caco-2* флуоресцентно-меченых везикул; б – поглощение клетками *Caco-2* флуоресцентно-меченых везикул с добавлением препарата ЛПС

[Internalization of fluorescently labeled vesicles from strain No. 19667 by *Caco-2* target cells.

Note: a – internalization of fluorescently labeled vesicles by *Caco-2* cells; b – internalization of fluorescently labeled vesicles by *Caco-2* cells with the addition of the LPS preparation]

Таблица 2

Анализ адгезивных свойств штаммов *V. cholerae* O1 El Tor
[Analysis of adhesive properties of *V. cholerae* O1 El Tor strains]

№ п/п	Препараты везикул, полученные из штаммов	Индекс адгезии к клеткам-мишеням			
		до воздействия везикул		после воздействия везикул	
		<i>HuTu 80</i>	<i>Caco-2</i>	<i>HuTu 80</i>	<i>Caco-2</i>
1	<i>V. cholerae</i> O1 El Tor № 1310	3.2±0.025	3.51±0.031	4.8±0.029	5.0±0.025
2	<i>V. cholerae</i> O1 El Tor № 18367	10.18±0.034	10.28±0.037	15.27±0.032	15.34±0.029
3	<i>V. cholerae</i> O1 El Tor № 19188/2	12.28±0.041	12.56±0.042	30.7±0.023	31.0±0.038
4	<i>V. cholerae</i> O1 El Tor № 19667	23.7±0.043	24.0±0.041	59.25±0.022	59.45±0.040

Примечание: приведены средние значения и стандартное отклонение, $p \leq 0.05$.

Сравнение показателей индекса адгезии позволило разделить исследуемые штаммы на три группы. Типичный штамм *V. cholerae* O1 El Tor № 1310 имел значение индекса адгезии 3.2 к клеткам *HuTu 80* и 3.51 к клеткам *Caco-2*, что позволяет отнести его к низкоадгезивным штаммам. Геноварианты штаммов *V. cholerae* O1 El Tor № 18367 и № 19188/2 отличались от типичного штамма более высокими показателями индекса адгезии в отношении обоих типов клеток *HuTu 80* (10.18; 12.28) и *Caco-2* (10.28; 12.56) соответственно. Такие показатели позволяют отнести их к штаммам со средним уровнем адгезии. В то же время у штамма *V. cholerae* O1 El Tor № 19667 был зарегистрирован самый высокий показатель индекса адгезии для обоих типов клеток-мишеней *HuTu 80* и *Caco-2*, который равнялся соответственно 23.7; 24.0 соответственно. На основании этого штамм относится к высокоадгезивным (рис. 4). Далее было оценено влияние везикул, полученных из клеток агаровых культур, на адгезивные свойства штаммов. Предварительно их инкубировали в течение часа с клеточными линиями *HuTu 80* и *Caco-2*, а затем вносили клетки холерных вибрионов, и их совместное культивирование продолжалось 90 мин. В результате проведенных исследований установлено, что везикулы, полученные из агаровых культур, усиливали прикрепление холерных вибрионов к клеткам-мишеням в 1.5–2.5 раза в зависимости от штамма (см. табл. 1, рис. 4).

Можно предположить, что ВМ *V. cholerae* способствуют усилению адгезии за счет изменения экспрессии рецепторов на поверхности клеток-мишеней.

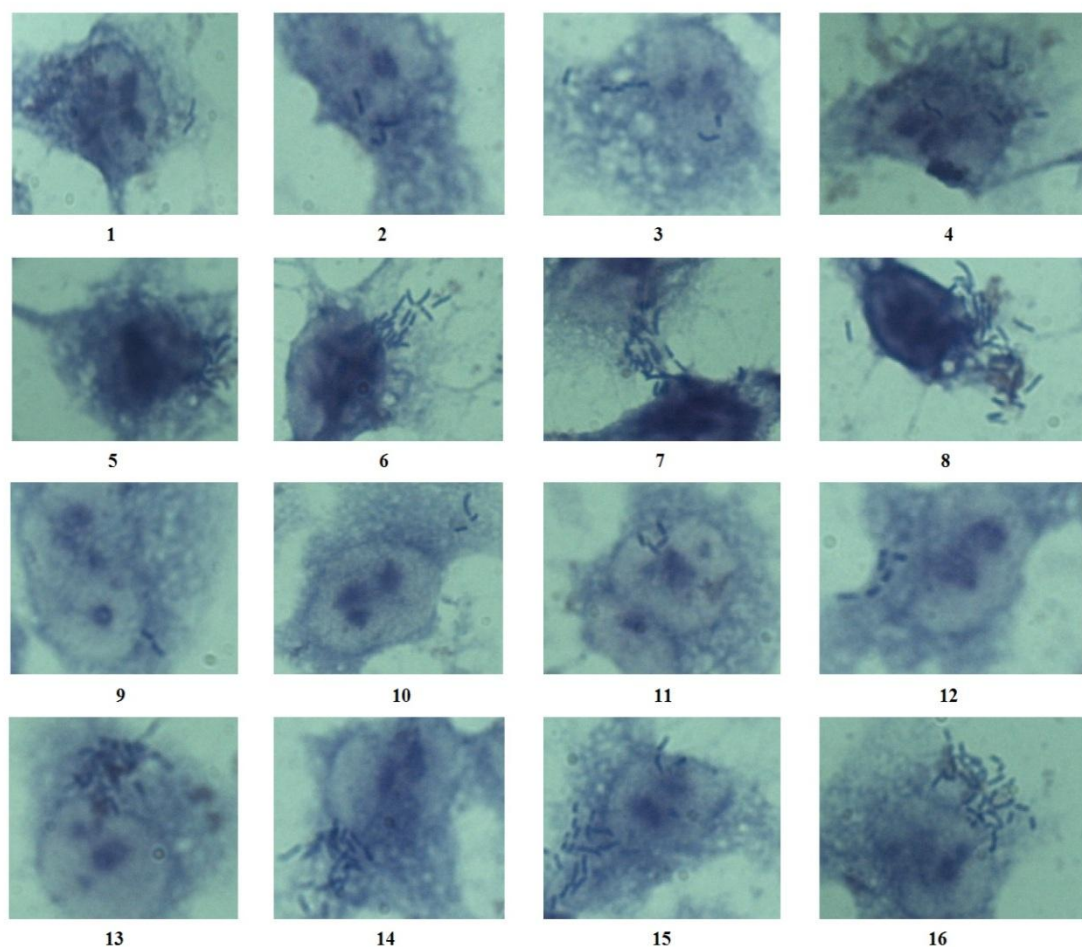


Рис. 4. Адгезия к культуре клеток *Caco-2* и *HuTu 80* (Увеличение 100x10, окраска по Романовскому-Гимзы).

Примечание: адгезия до обработки ВНМ к культуре клеток *HuTu 80* штамма *V. cholerae* O1: 1 – № 1310; 2 – № 18367; 3 – № 19188/2; 4 – № 19667; адгезия после обработки ВНМ к культуре клеток *HuTu 80* штамма *V. cholerae* O1: 5 – № 1310; 6 – № 18367; 7 – № 19188/2; 8 – № 19667; адгезия до обработки ВНМ к культуре клеток *Caco-2* штамма *V. cholerae* O1: 9 – № 1310; 10 – № 18367; 11 – № 19188/2; 12 – № 19667; адгезия после обработки ВНМ к культуре клеток *Caco-2* штамма *V. cholerae* O1: 13 – № 1310; 14 – № 18367; 15 – № 19188/2; 16 – № 19667

[Adhesion to *Caco-2* and *HuTu 80* cell culture (Magnification 100x10, Romanovsky-Giemsa stain) Note: adhesion of *V. cholerae* O1 strains to *HuTu 80* cell culture before OMV treatment: 1 – №. 1310; 2 – № 18367; 3 – № 19188/2; 4 – № 19667; adhesion of *V. cholerae* O1 strains to *HuTu 80* cell culture after OMV treatment: 5 – № 1310; 6 – № 18367; 7 – № 19188/2; 8 – № 19667; adhesion of *V. cholerae* O1 strains to *Caco-2* cell culture before OMV treatment: 9 – № 1310; 10 – № 18367; 11 – № 19188/2; 12 – № 19667; adhesion of *V. cholerae* O1 strains to *Caco-2* cell culture after OMV treatment: 13 – № 1310; 14 – № 18367; 15 – № 19188/2; 16 – № 19667]

Заключение

Таким образом, в настоящей работе представлены данные относительно методических подходов конъюгации токсинсодержащих ВНМ с ФИТЦ, а также моноклональных антител к белку наружной мембраны OmpU. С помощью флуоресцентно-меченых везикул и флуоресцирующих МКА, направленных к белку наружной мембраны OmpU, установлено взаимодействие везикул наружной мембраны холерных вибрионов с клетками-мишенями *HuTu 80* и *Caco-2*.

Показано, что временной интервал интернализации и накопление ВНМ, выделенных из типичного штамма и геновариантов *V. cholerae* O1 El Tor, в клетках-мишенях сопоставим.

Также установлено, что ЛПС не участвует в интернализации ВНМ *V. cholerae* O1 El Tor. Результаты работы показали, что везикулы усиливают способность бактериальных клеток прикрепляться к эпителиальным клеткам кишечника.

Пока остается открытым вопрос, каким эндоцитарным путем везикулы геновариантов холерных вибрионов проникают в клетки-мишени, исследования в этом направлении будут продолжены.

Список источников

1. Алексеева Л.П. и др. Продукция холерного токсина и его локализация в составе везикул геновариантов *Vibrio cholerae* El Tor // Проблемы особо опасных инфекций. 2024. № 2. С. 62–69. DOI: 10.21055/0370-1069-2024-2-62-69.
2. Антитела. Методы / под ред. Д. Кэтти. М.: Мир, 1991. Т. 1. 287 с.
3. Аронова Н.В. и др. Роль везикул наружных мембран возбудителей особо опасных инфекций в патогенезе и иммуногенезе инфекционного процесса // Проблемы особо опасных инфекций. 2021. № 4. С. 6–15. DOI: 10.21055/0370-1069-2021-4-6-15. EDN: DLWWQC
4. Божокина Е.С., Берсон Ю.М. Роль мембранных везикул *Serratia grimesii* при взаимодействии бактерий с клетками *Caco-2* // Цитология. 2021. Т. 63, № 1. С. 43–52. DOI: 10.31857/S0041377121010028. EDN: SWTPSB
5. Дуванова О.В. и др. Композиционный состав везикул атоксигенных штаммов *Vibrio cholerae* O1 El Tor и O139 серогрупп // Проблемы особо опасных инфекций. 2024. № 4. С. 70–77. DOI: 10.21055/0370-1069-2024-4-70-77. EDN: DSVSUU
6. Евдокимова В.В. и др. Иммуноферментные методы анализа в диагностике холеры // Клиническая лабораторная диагностика. 2016. № 5. С. 303–307. DOI: 10.18821/0869-2084-2016-61-5-303-307. EDN: VZXGQX
7. Заднова С.П. Функциональная роль ToxR-регулируемых белков внешней мембраны *Vibrio cholerae* // Проблемы особо опасных инфекций. 2004. № 1(87). С. 9–13. EDN: HUWBIV
8. Заднова С.П. и др. Сравнительный анализ адаптационных свойств типичных и генетически измененных штаммов *Vibrio cholerae* биовара El Tor // Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии. 2019. № 2. С. 25–30. DOI: 10.36233/0372-9311-2019-2-25-30. EDN: DFXKCQ
9. Омельченко Н.Д. и др. Особенности биогенеза везикул наружных мембран микроорганизмов, их иммуногенная, протективная и адьювантная способность // Эпидемиология и вакцинопрофилактика. 2023. Т. 22, № 2. С. 117–123. DOI: 10.31631/2073-3046-2023-22-2-117-123. EDN: TJPJSG
10. Патент на изобретение RU 2595423 C2, 27.08.2016. Способ оценки адгезивных свойств холерных вибрионов *Vibrio cholerae* O1 El Tor и *Vibrio cholerae* O139 на клеточной культуре *HuTu 80* / О.А. Татаренко, В.А. Коршенко, С.В. Титова, Л.П. Алексеева, И.Я. Черепихина
11. Фрешни Р.Я. Культура животных клеток. Практическое руководство. М.: Лаборатория знаний, 2018. 791 с.
12. Якушева О.А. и др. Везикулы типичных и геновариантов штаммов холерных вибрионов O1 Эль Тор, их выделение и характеристика // Вестник Пермского университета. Сер. Биология. 2024. Вып. 1. С. 61–73. DOI: 10.17072/1994-9952-2024-1-61-73. EDN: QWEAFA
13. Avila-Calderón E.D. et al. The Outer Membrane Vesicles of *Aeromonas hydrophila* ATCC® 7966TM: A Proteomic Analysis and Effect on Host Cells // Front Microbiol. 2018. Vol. 16. Art. 2765. DOI: 10.3389/fmicb.2018.02765.
14. Bauman S.J., Kuehn M.J. *Pseudomonas aeruginosa* vesicles associate with and are internalized by human lung epithelial cells // BMC Microbiol. 2009. Vol. 9. Art. 26. DOI: 10.1186/1471-2180-9-26. EDN: ARTGIM
15. Bielaszewska M. et al. Host cell interactions of outer membrane vesicle-associated virulence factors of enterohemorrhagic *Escherichia coli* O157: intracellular delivery, trafficking and mechanisms of cell injury // PLoS Pathog. 2017. Vol. 13(2). Art. e1006159. DOI: 10.1371/journal.ppat.1006159. EDN: YGGFMD
16. Bielig H. et al. NOD-like receptor activation by outer membrane vesicles from *Vibrio cholerae* non-O1 non-O139 strains is modulated by the quorum-sensing regulator HapR // Infect Immun. 2011. Vol. 79, № 4. P. 1418–1427. DOI: 10.1128/IAI.00754-10.
17. Cai W. et al. Bacterial outer membrane vesicles, a potential vaccine candidate in interactions with host cells based // Diagn. Pathol. 2018. Vol. 13, № 1. Art. 95. DOI: 10.1186/s13000-018-0768-y. EDN: PHIBSO
18. Chatterjee D., Chaudhuri K. Association of cholera toxin with *Vibrio cholerae* outer membrane vesicles which are internalized by human intestinal epithelial cells // FEBS Lett. 2011. Vol. 585. P. 1357–1362. DOI: 10.1016/j.febslet.2011.04.017.
19. Ellis T.N., Kuehn M.J. Virulence and immunomodulatory roles of bacterial outer membrane vesicles // Microbiol. Mol. Biol. Rev. 2010. Vol. 74, № 1. P. 81–94.
20. Elluri S. et al. Outer Membrane Vesicles Mediate Transport of Biologically Active *Vibrio cholerae* Cytolysin (VCC) from *V. cholerae* Strains // PLoS One. 2014. Vol. 9, № 9. DOI: 10.1371/journal.pone.0106731.
21. Furuta N. et al. *Porphyromonas gingivalis* outer membrane vesicles enter human epithelial cells via an endocytic pathway and are sorted to lysosomal compartments // Infect. Immun. 2009. Vol. 77. P. 4187–4196. DOI: 10.1128/IAI.00009-09.
22. Guerrero-Mandujano A. et al. The outer membrane vesicles: Secretion system type zero // Traffic. 2017. Vol. 18, № 7. P. 425–432. DOI: 10.1111/tra.12488. EDN: YFANXB
23. Kesty N.C. et al. Enterotoxigenic *Escherichia coli* vesicles target toxin delivery into mammalian cells // EMBO J. 2004. Vol. 23, № 23. P. 4538–4549. DOI: 10.1038/sj.emboj.7600471.
24. Lowry O.H. et al. Protein measurement with the folin phenol reagent // J. Biol. Chem. 1951. Vol. 193, № 1. P. 265–275.

25. Macion A. et al. Delivery of Toxins and Effectors by Bacterial Membrane Vesicles // *Toxins Basel*. 2021. Vol. 13, № 12. Art. 845. DOI: 10.3390/toxins13120845. EDN: RJEPPV
26. Mondal A. et al. Cytotoxic and Inflammatory Responses Induced by Outer Membrane Vesicle-Associated Biologically Active Proteases from *Vibrio cholerae* // *Infect Immun*. 2016. Vol. 84, № 5. P. 1478–1490. DOI: 10.1128/IAI.01365-15.
27. Moal V.L., Servina A.L. Pathogenesis of Human Enterovirulent Bacteria: Lessons from Cultured, Fully Differentiated Human Colon Cancer Cell Lines // *Microbiol. Mol. Biol. Rev.* 2013. Vol. 77, № 3. P. 380–439. DOI: 10.1128/MMBR.00064-12. EDN: RMKOLF
28. My Le L.H. et al. *Campylobacter jejuni* extracellular vesicles harboring cytolethal distending toxin bind host cell glycans and induce cell cycle arrest in host cells // *Microbiol Spectr*. 2024. Vol. 12, № 3. Art. e0323223. DOI: 10.1128/spectrum.03232-23.
29. O'Donoghue E.J. et al. Lipopolysaccharide structure impacts the entry kinetics of bacterial outer membrane vesicles into host cells // *PLoS Pathog.* 2017. Vol. 13, № 11. Art. e1006760. DOI: 10.1371/journal.ppat.1006760.
30. O'Donoghue E.J., Krachler A.M. Mechanisms of outer membrane vesicle entry into host cells // *Cell Microbiol*. 2016. Vol. 18, № 11. P. 1508–1517. DOI: 10.1111/cmi.12655.
31. Olofsson A. et al. Uptake of *Helicobacter pylori* vesicles is facilitated by clathrin-dependent and clathrin-independent endocytic pathways // *mBio*. 2014. Vol. 5, № 3. Art. e00979-14. DOI: 10.1128/mBio.00979-14.
32. Parker H. et al. Uptake of *Helicobacter pylori* outer membrane vesicles by gastric epithelial cells // *Infect. Immun*. 2010. Vol. 78. P. 5054–5061. DOI: 10.1128/IAI.00299-10.
33. Potapova A. Outer membrane vesicles and the outer membrane protein OmpU govern *Vibrio cholerae* biofilm matrix assembly // *mBio*. 2024. Vol. 15, № 2. Art. e0330423. DOI: 10.1128/mbio.03304-23. EDN: HCDSHV
34. Rasti E.S., Brown A.C. Cholera Toxin Encapsulated within Several *Vibrio cholerae* O1 Serotype Inaba Outer Membrane Vesicles Lacks a Functional B-Subunit // *Toxins (Basel)*. 2019. Vol. 11, № 4. Art. 207. DOI: 10.3390/toxins11040207.
35. Reyes-Robles T. et al. *Vibrio cholerae* Outer Membrane Vesicles Inhibit Bacteriophage Infection // *J. Bacteriol*. 2018. Vol. 200, № 15. Art. e00792-17. DOI: 10.1128/JB.00792-17.
36. Rompikuntal P.K. et al. Outer Membrane Vesicle-Mediated Export of Processed PrtV Protease from *Vibrio cholera* // *PLoS One*. 2015. Vol. 10, № 7. Art. e0134098. DOI: 10.1371/journal.pone.0134098.
37. Sjöström A.E. Membrane vesicle-mediated release of bacterial RNA // *Sci. Rep.* 2015. Vol. 5. Art. 15329. DOI: 10.1038/srep15329.
38. Westphal O. Bacterial lipopolysaccharides. Extraction with phenol-water and further applications of the procedure // *Methods Carbohydr. Chem.* 1965. Vol. 5. P. 83–91.
39. Zingl F.G. et al. Outer Membrane Vesicles of *Vibrio cholerae* Protect and Deliver Active Cholera Toxin to Host Cells via Porin-Dependent Uptake // *mBio*. 2021. Vol. 12, № 3. Art. e00534-21. DOI: 10.1128/mBio.00534-21. EDN: EOFAIP

References

1. Alekseeva L.P., Yakusheva O.A., Evdokimova V.V., Meloyan M.G., Zyuzina V.P. [Production of cholera toxin and its localization in the vesicles of *Vibrio cholerae* El Tor genovariants]. *Problemy osobo opasnykh infekcij*. No. 2 (2024): pp. 62-69. (In Russ.). DOI: 10.21055/0370-1069-2024-2-62-69.
2. Catty D., ed. *Antitela. Metody* [Antibodies. Methods]. Moscow, Mir Publ., 1991, V. 1. 387 p. (In Russ.).
3. Aronova N.V., Pavlovich N.V., Tsimbalistova M.V., Golovin S.N., Anisimova A.S. [The role of vesicles of the outer membranes of pathogens of especially dangerous infections in the pathogenesis and immunogenesis of the infectious process]. *Problemy osobo opasnykh infekcij*. No. 4 (2021): pp. 6-15. (In Russ.). DOI: 10.21055/0370-1069-2021-4-6-15. EDN: DLWWQC
4. Bozhokina E.S., Berson Yu.M. [The role of membrane vesicles of *Serratia grimesii* in the interaction of bacteria with *Caco-2* cells]. *Citologija*. V. 63, No. 1 (2021): pp. 43-52. (In Russ.). DOI: 10.31857/S0041377121010028. EDN: SWTPSB
5. Duvanova O.V., Shipko E.S., Pisanov R.V., Tsyurulina O.A., Chemisova O.S., Evdokimova V.V. et al. [Composition of vesicles of atoxigenic strains of *Vibrio cholerae* O1 El Tor and O139 serogroups]. *Problemy osobo opasnykh infekcij*. No. 4 (2024): pp. 70–77. (In Russ.). DOI: 10.21055/0370-1069-2024-4-70-77. EDN: DSVSUU
6. Evdokimova V.V., Alekseeva L.P., Kretenchuk O.F., Kruglikov V.D., Arkhangel'skaya I.V., Bursha O.S. [Enzyme immunoassay methods in the diagnosis of cholera]. *Kliničeskaja laboratornaja diagnostika*. No. 5 (2016): pp. 303-307. (In Russ.). DOI: 10.18821/0869-2084-2016-61-5-303-307. EDN: VZXGQX
7. Zadnova S.P. [Functional role of ToxR-regulated proteins of the outer membrane of *Vibrio cholera*]. *Problemy osobo opasnykh infekcij*. No. 1(87) (2004): pp. 9-13. (In Russ.). EDN: HUWBIB
8. Zadnova S.P., Kritsky A.A., Plekhanov N.A., Cheldyshova N.B., Smirnova N.I. [Comparative analysis of adaptation properties of typical and genetically modified strains of *Vibrio cholerae* biovar El Tor]. *Žurnal mikrobiologii, ėpidemiologii i immunobiologii*. No. 2 (2019): pp. 25-30. (In Russ.). DOI: 10.36233/0372-9311-2019-2-25-30. EDN: DFXKCQ

9. Omelchenko N.D., Ivanova I.A., Duvanova O.V., Shipko E.V., Filippenko A.V., Trufanova A.A. [Features of the biogenesis of outer membrane vesicles of microorganisms, their immunogenic, protective and adjuvant ability]. *Épidemiologija i vakcinoprofilaktika*. V. 22, No. 2 (2023): pp. 117-123. (In Russ.). DOI: 10.31631/2073-3046-2023-22-2-117-123. EDN: TJPJSG
10. Patent for invention RU 2595423 C2, 27.08.2016. [Method for assessing the adhesive properties of cholera vibrios *Vibrio cholerae* O1 El Tor and *Vibrio cholerae* O139 on *HuTu 80* cell culture]. O.A. Tatarenko, V.A. Korshenko, S.V. Titova, L.P. Alekseeva, I.Ya. Cherepakhina. (In Russ.).
11. Freshni R.Ya. *Kul'tura životnykh kletok* [Culture of animal cells. A practical guide]. Moscow, Laboratoriya znaniy Publ., 2018. 691 p. (In Russ.).
12. Yakusheva O.A., Alekseeva L.P., Evdokimova V.V., Meloyan M.G., Zyuzina V.P., Simakova D.I. [Vesicles of typical and genovariants of strains of cholera vibrios O1 El Tor, their isolation and characteristics]. *Bulletin of the Perm University. Biology*. Iss. 1 (2024): pp. 61-73. (In Russ.). DOI:10.17072/1994-9952-2024-1-61-73.
13. Avila-Calderón E.D., Otero-Olarrá J.E., Flores-Romo L., Peralta H., Aguilera-Arreola M.G. et al. The Outer Membrane Vesicles of *Aeromonas hydrophila* ATCC® 7966TM: A Proteomic Analysis and Effect on Host Cells. *Front Microbiol*. V. 16 (2018). Art. 2765. DOI: 10.3389/fmicb.2018.02765.
14. Bauman S.J., Kuehn M.J. *Pseudomonas aeruginosa* vesicles associate with and are internalized by human lung epithelial cells. *BMC Microbiol*. V. 9 (2009). Art. 26. DOI: 10.1186/1471-2180-9-26. EDN: ARTGIM
15. Bielaszewska M., Rüter C., Bauwens A., Greune L., Jarosch K.A., Steil D. et al. Host cell interactions of outer membrane vesicle-associated virulence factors of enterohemorrhagic *Escherichia coli* O157: intracellular delivery, trafficking and mechanisms of cell injury. *PLoS Pathog*. V. 13(2) (2017). Art. e1006159. DOI: 10.1371/journal.ppat.1006159.
16. Bielig H., Rompikuntal P.K., Dongre M., Zurek B., Lindmark B., Ramstedt M. et al. NOD-like receptor activation by outer membrane vesicles from *Vibrio cholerae* non-O1 non-O139 strains is modulated by the quorum-sensing regulator HapR. *Infect Immun*. V. 79, No. 4. (2011): pp. 1418-1427. DOI: 10.1128/IAI.00754-10.
17. Cai W., Kesavan D.K., Wan J., Abdelaziz M.H., Su Z., Xu H. Bacterial outer membrane vesicles, a potential vaccine candidate in interactions with host cells based. *Diagn. Pathol*. V. 13, No. 1 (2018). Art. 95. DOI: 10.1186/s13000-018-0768-y. EDN: PHIBSO
18. Chatterjee D., Chaudhuri K. Association of cholera toxin with *Vibrio cholerae* outer membrane vesicles which are internalized by human intestinal epithelial cells. *FEBS Lett*. V. 585 (2011): pp. 1357-1362. DOI: 10.1016/j.febslet.2011.04.017.
19. Ellis T.N., Kuehn M.J. Virulence and immunomodulatory roles of bacterial outer membrane vesicles. *Microbiol. Mol. Biol. Rev*. V. 74, No. 1 (2010): pp. 81-94.
20. Elluri S., Enow C., Vdovikova S., Rompikuntal P.K., Dongre M., Carlsson S. et al. Outer Membrane Vesicles Mediate Transport of Biologically Active *Vibrio cholerae* Cytolysin (VCC) from *V. cholerae* Strains. *PLoS One*. V. 9, No. 9 (2014). DOI: 10.1371/journal.pone.0106731.
21. Furuta N., Tsuda K., Omori H., Yoshimori T., Yoshimura F., Amano A. *Porphyromonas gingivalis* outer membrane vesicles enter human epithelial cells via an endocytic pathway and are sorted to lysosomal compartments. *Infect. Immun*. V. 77 (2009): pp. 4187-4196. DOI: 10.1128/IAI.00009-09.
22. Guerrero-Mandujano A., Hernández-Cortez C., Ibarra J.A., Castro-Escarpulli G. The outer membrane vesicles: Secretion system type zero. *Traffic*. V. 18, No. 7 (2017): pp. 425-432. DOI: 10.1111/tra.12488.
23. Kesty N.C., Mason K.M., Reedy M., Miller S.E., Kuehn M.J. Enterotoxigenic *Escherichia coli* vesicles target toxin delivery into mammalian cells. *EMBO J*. V. 23, No. 23 (2004): pp. 4538-4549. DOI: 10.1038/sj.emboj.7600471.
24. Lowry O.H., Rosebrough N.J., Farr A.L., Randall R.J. Protein measurement with the folin phenol reagent. *J. Biol. Chem*. V. 193, No. 1 (1951): pp. 265-275.
25. Macion A., Wyszynska A., Godlewska R. Delivery of Toxins and Effectors by Bacterial Membrane Vesicles. *Toxins Basel*. V. 13, No. 12 (2021). Art. 845. DOI: 10.3390/toxins13120845.
26. Mondal A., Tapader R., Chatterjee N.S., Ghosh A., Sinha R., Koley H. et al. Cytotoxic and Inflammatory Responses Induced by Outer Membrane Vesicle-Associated Biologically Active Proteases from *Vibrio cholera*. *Infect. Immun*. V. 84, No. 5 (2016): pp. 1478-1490. DOI: 10.1128/IAI.01365-15.
27. Moal V.L., Servina A.L. Pathogenesis of Human Enterovirulent Bacteria: Lessons from Cultured, Fully Differentiated Human Colon Cancer Cell Lines. *Microbiol. Mol. Biol. Rev*. V. 77, No. 3 (2013): pp. 380-439. DOI: 10.1128/MMBR.00064-12.
28. My Le L.H., Elgamoudi B., Colon N., Cramond A., Poly F., Ying L. et al. *Campylobacter jejuni* extracellular vesicles harboring cytolethal distending toxin bind host cell glycans and induce cell cycle arrest in host cells. *Microbiol. Spectr*. V. 12, No. 3 (2024). Art. e0323223. DOI: 10.1128/spectrum.03232-23.
29. O'Donoghue E.J., Sirisaengtaksin N., Browning D.F., Bielska E., Hadis M., Fernandez-Trillo F. et al. Lipopolysaccharide structure impacts the entry kinetics of bacterial outer membrane vesicles into host cells. *PLoS Pathog*. V. 13, No. 11 (2017). Art. e1006760. DOI: 10.1371/journal.ppat.1006760.
30. O'Donoghue E.J., Krachler A.M. Mechanisms of outer membrane vesicle entry into host cells. *Cell Microbiol*. V. 18, No. 11 (2016): pp. 1508-1517. DOI: 10.1111/cmi.12655.

31. Olofsson A., Skalman L.N., Obi I., Lundmark R., Arnqvist A. Uptake of *Helicobacter pylori* vesicles is facilitated by clathrin-dependent and clathrin-independent endocytic pathways. *mBio*. V. 5, No. 3 (2014). Art. e00979-14. DOI: 10.1128/mBio.00979-14.
32. Parker H., Chitcholtan K., Hampton M.B., Keenan J.I. Uptake of *Helicobacter pylori* outer membrane vesicles by gastric epithelial cells. *Infect. Immun*. V. 78 (2010): pp. 5054-5061. DOI: 10.1128/IAI.00299-10.
33. Potapova A., Garvey W., Dahl P., Guo S., Chang Y., Schwechheimer C. et al. Outer membrane vesicles and the outer membrane protein OmpU govern *Vibrio cholerae* biofilm matrix assembly. *mBio*. V. 15, No. 2 (2024). Art. e0330423. DOI: 10.1128/mbio.03304-23.
34. Rasti E.S., Brown A.C. Cholera Toxin Encapsulated within Several *Vibrio cholerae* O1 Serotype Inaba Outer Membrane Vesicles Lacks a Functional B-Subunit. *Toxins* (Basel). V. 11, no. 4 (2019). Art. 207. DOI: 10.3390/toxins11040207.
35. Reyes-Robles T., Dillard R.S., Cairns L.S., Silva-Valenzuela C.A., Housman M., Ali A. et al. *Vibrio cholerae* Outer Membrane Vesicles Inhibit Bacteriophage Infection. *J. Bacteriol*. V. 200, No. 15 (2018). Art. e00792-17. DOI: 10.1128/JB.00792-17.
36. Rompikuntal P.K. et al. Outer Membrane Vesicle-Mediated Export of Processed PrtV Protease from *Vibrio cholera*. *PLoS One*. V. 10, No. 7 (2015). Art. e0134098. DOI: 10.1371/journal.pone.0134098.
37. Sjöström A.E., Sandblad L., Uhlin B.E., Wai S.N. Membrane vesicle-mediated release of bacterial RNA. *Sci Rep*. V. 5 (2015). Art. 15329. DOI: 10.1038/srep15329.
38. Westphal O., Jann K. Bacterial lipopolysaccharides. Extraction with phenol-water and further applications of the procedure. *Methods Carbohydr. Chem*. V. 5 (1965): pp. 83-91.
39. Zingl F.G., Thapa H.B., Scharf M., Kohl P., Müller A.M., Schild S. Outer Membrane Vesicles of *Vibrio cholerae* Protect and Deliver Active Cholera Toxin to Host Cells via Porin-Dependent Uptake. *mBio*. V. 12, No. 3 (2021). Art. e00534-21. DOI: 10.1128/mBio.00534-21.

Статья поступила в редакцию 20.03.2026; одобрена после рецензирования 16.04.2026; принята к публикации 01.06.2026.

The article was submitted 20.03.2026; approved after reviewing 16.04.2026; accepted for publication 01.06.2026.

Информация об авторах

Ольга Александровна Якушева – yakusheva_oa@antiplague.ru, научный сотрудник;
 Людмила Павловна Алексеева – lpalekseeva@yandex.ru, д-р биол. наук, профессор;
 Вероника Вячеславовна Евдокимова – evdokimova_vv@antiplague.ru, канд. биол. наук, старший научный сотрудник;
 Мисак Геворгович Мелоян – meloyan_mg@antiplague.ru, младший научный сотрудник;
 Диана Игоревна Симакова – simakova_di@antiplague.ru, канд. биол. наук, ведущий научный сотрудник.

Information about the authors

Olga A. Yakusheva – yakusheva_oa@antiplague.ru, research associate;
 Lyudmila P. Alekseeva – lpalekseeva@yandex.ru, doctor of biological sciences, professor;
 Veronika V. Evdokimova – evdokimova_vv@antiplague.ru, candidate of biological sciences, senior researcher;
 Misak G. Meloyan – meloyan_mg@antiplague.ru, junior researcher;
 Diana I. Simakova – simakova_di@antiplague.ru, candidate of biological sciences, leading researcher.

Вклад авторов:

Якушева О. А. – анализ литературы; написание исходного текста; статистическая обработка материала.
 Алексеева Л. П. – научное руководство; концепция исследования; итоговые выводы.
 Евдокимова В. В. – анализ данных; доработка текста; итоговые выводы.
 Мелоян М. Г. – предоставление исходных данных; анализ и интерпретация результатов работы.
 Симакова Д. И. – ответственность за все аспекты работы; надлежащее изучение и решение вопросов, связанных с достоверностью данных и целостностью всех частей статьи.

Contribution of the authors:

Yakusheva O. A. – literature analysis; manuscript drafting writing the original text; statistical processing of the material.
 Alekseeva L. P. – research supervision; research concept; final conclusions.
 Evdokimova V. V. – data analysis; text revision; survey results.
 Meloyan M. G. – providing source data; analysis and interpretation of the results.
 Simakova D. I. – literature analysis; accountability for all aspects of the work; ensuring that questions related to the accuracy and integrity of any part of the work are appropriately investigated and resolved.

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

The authors declare no conflicts of interests.

ГЕНЕТИКА

Научная статья

УДК 575.22:577.29

EDN: KTJTJI

<http://dx.doi.org/10.17072/1994-9952-2026-2-191-199>



Влияние полиморфизма генов *AGT* и *AGTR1* на развитие артериальной гипертензии и уровень физического состояния у единоборцев города Перми

Анна Владимировна Сорокина

Пермский государственный национальный исследовательский университет, Пермь, Россия, vostanyuta@mail.ru

Аннотация. Для спортивного отбора и корректировки тренировочного процесса единоборцев важное значение оказывают данные предрасположенности к развитию физических качеств и к развитию сердечно-сосудистых заболеваний, например, артериальной гипертензии. Цель данного исследования – изучение ассоциации полиморфизма генов *AGT* и *AGTR1* с развитием артериальной гипертензии и уровнем физического состояния (УФС) у единоборцев г. Перми. В исследовании приняли участие 430 человек, среди которых было 312 единоборцев и 118 школьников, не занимающихся спортом, из группы сравнения. Для поиска ассоциаций аллельных форм генов *AGT* и *AGTR1* с артериальной гипертензией испытуемые были распределены на две группы: Группу I, включающую испытуемых с нормальным давлением, и Группу II, которую составили испытуемые с артериальной гипертензией. У испытуемых в возрасте от 10 до 16 лет проведены исследования проб ДНК с использованием полимеразной цепной реакции в реальном времени (ПЦР-РВ) и выявлен полиморфизм C/T гена *AGT* (*rs4762*) и A/C гена *AGTR1* (*rs5186*). С помощью критерия χ^2 – хи-квадрат Пирсона была обнаружена достоверная связь между генотипом T/T гена *AGT* и генотипом C/C гена *AGTR1* и развитием артериальной гипертензии ($\chi^2 = 102.4$). При анализе взаимосвязи видов единоборств и УФС было обнаружено, что во всех видах единоборств соблюдается тенденция к высокому уровню физического состояния ($\chi^2 = 34.340$). Корреляционный анализ Спирмена выявил наличие положительной связи ($r_s = 0.374$) между показателями генотипа T/T гена *AGT* и показателями генотипа C/C гена *AGTR1* ($r_s = 0.390$) у испытуемых и уровнем физического состояния. На основе данных генетического анализа с использованием экспресс-тестирования можно составлять индивидуальные программы тренировок с учетом генотипа и особенностей физической подготовки конкретного спортсмена.

Ключевые слова: полиморфизм генов *AGT*, *AGTR1*, артериальная гипертензия, единоборцы, уровень физического состояния

Для цитирования: Сорокина А. В. Влияние полиморфизма генов *AGT* и *AGTR1* на развитие артериальной гипертензии и уровень физического состояния у единоборцев города Перми // Вестник Пермского университета. Сер. Биология. 2026. Т. 17, вып. 2. С. 191–199. <http://dx.doi.org/10.17072/1994-9952-2026-2-191-199>.

Благодарности: автор выражает благодарность тренерам из спортивных школ г. Перми и лицам, принявшим участие в исследовании.

GENETICS

Original article

Influence of *AGT* and *AGTR1* gene polymorphisms on the development of arterial hypertension and physical fitness level in martial artists from the city of Perm

Anna V. Sorokina

Perm State University, Perm, Russia, vostanyuta@mail.ru

Abstract. To optimize training, it is crucial to understand martial artists' predisposition to developing physical qualities, as well as their susceptibility to cardiovascular diseases such as hypertension. The aim of this study was to investigate the association of *AGT* and *AGTR1* gene polymorphisms with the development of hypertension and physical fitness level (PFL) in martial artists from the city of Perm. The study sample included 430 individuals, including 312

martial artists and 118 schoolchildren who do not participate in sports (a control group). To investigate associations between *AGT* and *AGTR1* allelic forms and hypertension, the subjects were divided into two groups: Group I, including subjects with normal blood pressure, and Group II, which included subjects with hypertension. qPCR was performed on DNA samples from subjects aged 10 to 16 years. The Pearson chi-square test (χ^2) revealed a significant association between the *AGT* T/T genotype, the *AGTR1* C/C genotype, and the development of arterial hypertension ($\chi^2 = 102.4$). An analysis of the relationship between martial arts and physical fitness level (PFL) revealed a tendency toward high levels of physical fitness across all disciplines ($\chi^2 = 34.340$). Spearman's rank correlation analysis revealed a positive association between the *AGT* T/T genotype ($r_s = 0.374$) and the *AGTR1* C/C genotype ($r_s = 0.390$) with the level of physical condition in the subjects. Based on genetic analysis data obtained through rapid testing, individualized training programs at sports schools can be developed considering the specific athlete's genotype and physical fitness characteristics.

Keywords: *AGT* and *AGTR1* gene polymorphism, arterial hypertension, martial artists, physical fitness level

For citation: Sorokina A. V. [Influence of *AGT* and *AGTR1* gene polymorphisms on the development of arterial hypertension and physical fitness level in martial artists from the city of Perm]. *Bulletin of Perm University. Biology*. Vol. 17, iss. 2 (2026): pp. 191-199. (In Russ.). <http://dx.doi.org/10.17072/1994-9952-2026-2-191-199>.

Acknowledgments: the author expresses gratitude to the coaches from sports schools of Perm and to all the individuals who participated in the study.

Введение

Функциональное тестирование в спортивной медицине основано на сопоставлении физиологических показателей организма в условиях мышечного покоя, дозированных и предельных физических нагрузок, а также восстановительного периода [Андриянова, 2020]. Методика определения уровня физического состояния (УФС) [Пирогова и др., 1986] позволяет производить экспресс-оценку уровня физического состояния по показателям системы кровообращения. Уровень физического состояния включает следующие показатели: ЧСС – частота сердечных сокращений (уд/мин) в состоянии покоя; АД_{ср} – среднее артериальное давление (определяется как сумма диастолического давления и 1/3 разности между систолическим и диастолическим давлением); В – возраст обследуемого (годы); m – масса тела (кг), h – рост (см). При высоком УФС у человека наблюдаются максимальные функциональные возможности. Такой УФС может наблюдаться у людей, длительно занимающихся специализированными формами мышечной деятельности. Средний УФС указывает на то, что функциональные резервы и двигательная подготовленность близки к оптимальным, соответствуют полу и возрасту. Он соответствует снижению физической работоспособности до 70–90% от должной величины, что ограничивает функциональные возможности жизнеобеспечивающих систем. Самые низкие величины физической работоспособности дают «низкий» и «ниже среднего» показатели УФС. Уровень развития двигательных качеств при таких показателях снижен. Такое состояние является пограничным между нормой и патологией [Чедов, 2021].

Ранее установлена ассоциация 235T и 174M полиморфных вариантов гена *AGT* (*Angiotensinogen*) с ишемической болезнью и с риском развития гипертензии [Калакуток, 2002; Нгуен, Шкурят, 2010]. Исследование [Голованова и др., 2023] показало, что присутствие в генотипе аллеля T существенно увеличивает риск развития гипертензии. Данный генотип гена *AGT* связан с повышением концентрации белка ангиотензиногена, что может приводить к увеличению содержания ангиотензина II. Рецептор 1-го типа к ангиотензину II *AGTR1* (*Angiotensin II Receptor Type 1*) оказывает вазопрессорное действие и регулирует секрецию альдостерона. Он, в свою очередь, контролирует артериальное давление и объем крови в сердечно-сосудистой системе [Хигучи и др., 2007]. Ряд исследований подтверждает взаимосвязь однонуклеотидных полиморфизмов генов ангиотензиногена, ангиотензиновых рецепторов 1-го типа (*AGTR1*) и 2-го типа (*AGTR2*) с отягощенной наследственностью по артериальной гипертензии [Пахомия и др., 2014; Потапов и др., 2015]. Несмотря на исследования данных генов, их значение как генов-маркеров артериальной гипертензии практически не изучено у единоборцев. Кроме этого, возникает необходимость в установлении связи между генами и показателем физического состояния спортсмена, в данном случае – с уровнем физического состояния.

Цель работы – изучение ассоциации полиморфизма генов *AGT* и *AGTR1* с развитием артериальной гипертензии и уровнем физического состояния у единоборцев г. Перми.

Материал и методы исследования

Выборка для исследований включала 312 испытуемых из спортивных школ города Перми: 44 вольных борца из МАУ ДО центр детского творчества «Шанс», 22 джитсера из филиала «Mata Leao» международной сети клубов «Beverly Hills Jiu-Jitsu Club» (ВНJJ); 148 дзюдоистов из школы самбо и дзюдо «Витязь» им. И.И. Пономарева, 56 каратистов из МБОУ ДО «Детско-юношеская спортивная школа карате», 42 самбиста из КГБУ ДО «Спортивная детско-юношеская школа по дзюдо и самбо» и МАУ ДО «Спортивная детско-юношеская школа по дзюдо и самбо». Возраст испытуемых варьировал от 10 до 16 лет. Среди них было 275 единоборцев мужского пола и 37 женского пола. Единоборства являются

преимущественно мужскими видами спорта, а потому в выборках преобладают лица мужского пола [Вострикова и др., 2020]. Кроме этого, в качестве группы сравнения были взяты 118 школьников, не занимающихся единоборствами.

Забор биологического материала (буккального эпителия) для генетического анализа проводили с помощью соскоба эпителиальных клеток ротовой полости. От каждого испытуемого было получено добровольное согласие на забор биологического материала. Измерение артериального давления проводили по методу Н. С. Короткова [Иванов, Лившиц, 2005] с использованием стандартных возрастных манжет при каждом визите пациента. Артериальное давление измеряли трехкратно с интервалом 5 мин на обеих верхних конечностях с подсчетом среднего показателя. Нормальным систолическим и диастолическим артериальным давлением считается значение <90-го перцентиля кривой распределения АД, высокое нормальное АД ≥ 90 и <95-го перцентиля, АД в гипертензивном состоянии ≥ 95 -го перцентиля кривой распределения АД в популяции для соответствующего возраста, пола и роста. У подростков 16 лет используются единые критерии диагностики нормального (<130/85 мм рт. ст.), высокого нормального АД ($\geq 130/85$ мм рт. ст.) и $\geq 140/90$ мм рт. ст. для артериальной гипертензии [Александров и др., 2009].

В общей выборке из 430 человек нормальное давление обнаружено у 313 человек, 49 имеют высокое нормальное давление, у 68 человек зарегистрирована артериальная гипертензия. Выделены 2 группы для сравнения между собой, чтобы определить связь между генотипами исследуемых генов и артериальным давлением. Группа I включала испытуемых с нормальным давлением (313 человек), Группа II состояла из 68 человек с высоким риском развития артериальной гипертензии. Сравнение частот генотипов между Группой I испытуемых с нормальным давлением и Группой II с риском развития артериальной гипертензии выполняли с помощью критерия χ^2 – хи-квадрат.

У каждого участника эксперимента определяли частоту сердечных сокращений (ЧСС), среднее артериальное давление (АД_{ср}), возраст (В), вес (m) и рост (h). Полученные данные вносили в формулу: $УФС = (700 - 3 * ЧСС - 2.5 * АД_{ср} - 2.7 * В + 0.28 * m) / (350 - 2.6 * В + 0.21 * h)$. Оценка уровня физического состояния по шкале, предложенной Е.А. Пироговой [Пирогова и др., 1986]: «1» – низкий: 0.375; «2» – ниже среднего: 0.376 – 0.525; «3» – средний: 0.525 – 0.675; «4» – выше среднего: 0.676 – 0.825; «5» – высокий: 0.826 и выше.

ДНК выделяли методом тотального осаждения и лизиса SDS (Sodium Dodecyl Sulfate, додецилсульфат натрия) с помощью коммерческого набора реагентов «EX-511 ДНК-Экстра-2» (Синтол, Россия) в соответствии с инструкцией. Концентрацию проб ДНК определяли с помощью спектрофотометра Spectrofotometr™ NanoDrop 2000 «Thermo scientific» (USA). В ПЦР в реальном времени (ПЦР-РВ), которую проводили на амплификаторе CFX96 (CFX96 Touch Real-Time PCR Detection System, USA), выявлялись аллели генов *AGT* и *AGTR1*. Реактивы для выявления полиморфных локусов Thr174Met гена *AGT* (rs4762) и A1166C гена *AGTR1* (rs5186) синтезированы в ООО «Синтол» (г. Москва, Россия). Реактивы для амплификации ДНК смешивали в нужном объеме непосредственно перед проведением исследований. К реакционной смеси добавляли 5 мкл пробы ДНК индивидуально каждого единоборца. В качестве контроля использовали: а) отрицательный контроль (ОКО); б) положительный контрольный образец (ПКО) для гена *AGT* – ПКО 1 Т/Т, ПКО 2 С/Т, ПКО 3 С/С, для гена *AGTR1* – ПКО 1 А/А, ПКО 2 А/С, ПКО 3 С/С. Определение аллелей и генотипов проводилось при помощи программы Bio-Rad (USA) на амплификаторе CFX96. ПЦР-РВ для амплификации полиморфных локусов проводили по программе, описанной в инструкции к наборам реагентов. По каналу флуоресценции FAM (синий, длина волны возбуждения/детекции 470/515 нм) качественно определялось наличие в пробе аллеля С гена *AGT* и аллеля А гена *AGTR1*. По каналу флуоресценции HEX (зеленый, длина волны возбуждения/детекции 530/560 нм) обнаружен аллель Т гена *AGT* и аллель С гена *AGTR1*. Каждая проба была проанализирована индивидуально. Эксперимент повторялся дважды. ПЦР-РВ проведена при условиях, предусмотренных в инструкции производителя набора реагентов ООО «Синтол». Интерпретация результатов ПЦР-РВ была проведена в программе Bio-Rad CFX Manager по инструкции компании ООО «Синтол».

Анализ полученных данных проводился с использованием программы STATISTICA 6.0 с определением нормальности распределения. Для хранения и обработки результатов исследований была создана матрица данных в виде электронных таблиц MS Excel 2010. Сравнение частот генотипов между разными группами испытуемых (с нормальным давлением и с артериальной гипертензией) выполняли с помощью критерия χ^2 – хи-квадрат Пирсона. Сопоставление аллельных вариантов генов с уровнем физического состояния у единоборцев проводили с помощью коэффициента корреляции Спирмена (r_s), при использовании которого допускается сравнение разных по объему испытуемых выборок.

Результаты и обсуждение

В ПЦР в реальном времени рост по каналу FAM указывает на присутствие аллеля С гена *AGT* в пробе ДНК (рис. 1). Рост по каналу HEX обозначает наличие аллеля Т гена *AGT*. Соответственно, присутствие обоих аллелей в пробе ДНК свидетельствует о наличии генотипа С/Т гена *AGT* у испытуемого. Результаты подлежат учету только в случае, когда положительный контрольный образец имеет положительные

результаты по каналам *FAM* и *HEX*, а отрицательный контрольный образец имеет отрицательные результаты по каналам *FAM* и *HEX*. Положительный контрольный образец необходим для определения специфичности набора реагентов к аллелям Т и С гена *AGT*. Отрицательный контрольный образец необходим для подтверждения отсутствия в реакционной смеси контаминации и ингибирования.

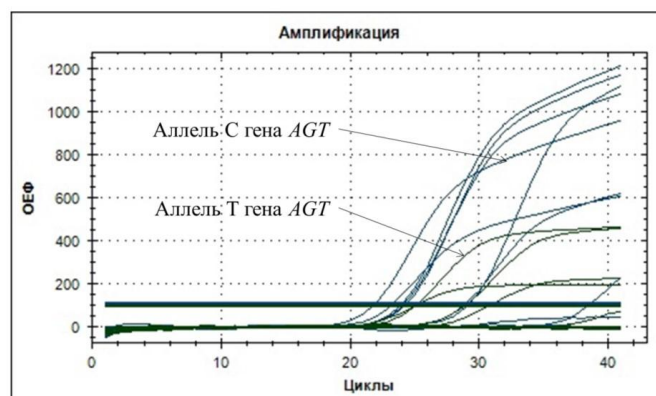


Рис. 1. Кинетические кривые флуоресценции, полученные для проб ДНК из буккального эпителия единоборцев при анализе полиморфных локусов гена *AGT*.

Цвета, соответствующие каналам детекции флуоресценции: *FAM* (аллель С гена *AGT*) – синий, *HEX* (аллель Т гена *AGT*) – зеленый; ОЕФ – относительные единицы флуоресценции, циклы – циклы амплификации

[Fluorescence kinetic curves obtained for DNA samples from the buccal epithelium of martial artists during the analysis of polymorphic loci of the *AGT* gene.

Colors corresponding to fluorescence detection channels: *FAM* (C allele of the *AGT* gene) – blue, *HEX* (T allele of the *AGT* gene) – green; RFU – relative fluorescence units, cycles – amplification cycles]

Частоты аллелей С и Т гена *AGT* у 381 испытуемого равны 0.82 и 0.18 соответственно. По результатам распределения частот полиморфных локусов Thr174Met гена *AGT* (*rs4762*) получены следующие данные: генотип Т/Т, ассоциированный с развитием артериальной гипертензии [Голованова и др., 2023], отмечен у 4 испытуемых Группы I с нормальным давлением (частота 0.01) и у 19 человек из Группы II с артериальной гипертензией (частота 0.28), всего у 23 человек, т. е. с частотой 0.06. Генотип С/Т был обнаружен у 59 человек с нормальным давлением (частота 0.19) и у 30 испытуемых с повышенным риском развития артериальной гипертензии (частота 0.44), всего 89 человек с частотой 0.23. Генотип С/С был определен у 250 человек из Группы I (частота 0.80) и у 19 испытуемых из Группы II (частота 0.28), всего у 269 человек с частотой 0.71 (табл. 1).

Таблица 1

Аллельные варианты гена *AGT* у единоборцев с разным артериальным давлением (n=381)

[*AGT* gene allelic variants in martial artists with different blood pressure levels (n=381)]

Генотип	Группы с разным артериальным давлением (381 человек)		Частоты генотипа на общую выборку (381 человек)	χ^2	p
	Группа I – нормальное давление (313 человек)	Группа II – артериальная гипертензия (68 человек)			
C/C	250 (0.80)	19 (0.28)	269 (0.71)	102.4	0.000001
C/T	59 (0.19)	30 (0.44)	89 (0.23)		
T/T	4 (0.01)	19 (0.28)	23 (0.06)		

Примечание: С/С, С/Т, Т/Т – генотипы гена *AGT*; Группа I – испытуемые с нормальным давлением; Группа II – испытуемые с артериальной гипертензией; в скобках указаны относительные частоты; полужирным шрифтом выделены преобладающие генотипы в каждой группе; сравнение выполнено с использованием критерия χ^2 Пирсона (df = 2 для генотипов и df = 1 для аллелей); p – уровень значимости, статистическая значимость определялась при уровне p < 0.05.

Полученный уровень значимости (p = 0.000001) свидетельствует о наличии статистической значимости, т. к. p < 0.05. В результате, при сравнении частот аллелей и генотипов гена *AGT* у единоборцев показано, что у испытуемых с нормальным давлением (Группа I) частота генотипа Т/Т, ассоциированного с развитием артериальной гипертензии, достоверно ниже по сравнению с группой повышенного риска развития артериальной гипертензии (0.01 против 0.28). Генотип С/С встречается с более высокой частотой в Группе I по сравнению с другой группой (0.80 против 0.28). Генотип С/Т встречается с более высокой

частотой в Группе II, у лиц с артериальной гипертензией. Критерий $\chi^2 = 102.4$ при $p = 0.000001$, что является достоверным ($p < 0.05$).

При использовании анализа по пороговому циклу в ПЦР в реальном времени рост по каналу *FAM* указывает на присутствие аллеля А гена *AGTR1* (рис. 2). Рост по каналу *HEX* обозначает наличие аллеля С гена *AGTR1* в пробе ДНК. Соответственно, присутствие обоих аллелей в пробе свидетельствует о наличии генотипа А/С гена *AGTR1*. Положительный контрольный образец необходим для определения специфичности набора реагентов к аллелям А и С гена *AGTR1*. Отрицательный контрольный образец необходим для подтверждения отсутствия в реакционной смеси контаминации и ингибирования.

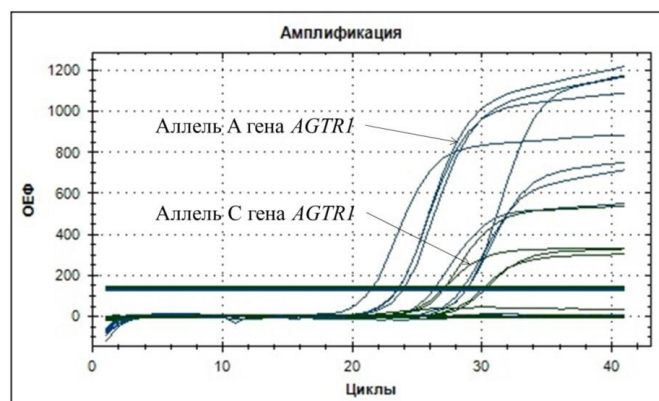


Рис. 2. Кинетические кривые флуоресценции, полученные для проб ДНК из буккального эпителия единоборцев при анализе полиморфных локусов гена *AGTR1*.

Цвета, соответствующие каналам детекции флуоресценции: *FAM* (аллель А гена *AGTR1*) – синий, *HEX* (аллель С гена *AGTR1*) – зеленый; ОЕФ – относительные единицы флуоресценции, циклы – циклы амплификации

[Fluorescence kinetic curves obtained for DNA samples from the buccal epithelium of martial artists when analyzing of polymorphic loci of the *AGTR1* gene.

Colors corresponding to fluorescence detection channels: *FAM* (A allele of the *AGTR1* gene) – blue, *HEX* (C allele of the *AGTR1* gene) – green; RFU – relative fluorescence units, cycles – amplification cycles]

Частоты аллелей А и С гена *AGTR1* у 381 испытуемого составили 0.84 и 0.16 соответственно. По результатам распределения частот полиморфных позиций А1166С гена *AGTR1* (*rs5186*) получены следующие данные: генотип С/С, ассоциированный с развитием артериальной гипертензии [Nalogowska-Glosnicka et al., 2000; Jones et al., 2003], отмечен у 5 человек в Группе с артериальной гипертензией (частота 0.08) и отсутствует в Группе испытуемых с нормальным давлением. Генотип А/А был обнаружен у 228 человек (частота 0.73) из группы с нормальным давлением и у 39 испытуемых (частота 0.57) из Группы II с риском развития артериальной гипертензии, всего 267 человек с частотой 0.70. Генотип А/С был выявлен у 85 человек из Группы I (частота 0.27) и у 24 испытуемых из Группы с риском развития артериальной гипертензии (частота 0.35), всего у 109 человек с частотой 0.29 (табл. 2).

Таблица 2

Аллельные варианты гена *AGTR1* у единоборцев с разным артериальным давлением (n=381)
[*AGTR1* gene allelic variants in judokas with different blood pressure levels (n=381)]

Генотип	Группы с разным артериальным давлением (381 человек)		Частоты генотипа на общую выборку (381 человек)	χ^2	p
	Группа I – нормальное давление (313 человек)	Группа II – артериальная гипертензия (68 человек)			
A/A	228 (0.73)	39 (0.57)	267 (0.70)	26.22	0.000002
A/C	85 (0.27)	24 (0.35)	109 (0.29)		
C/C	0 (0.00)	5 (0.08)	5 (0.01)		

Примечание: Группа I – испытуемые с нормальным давлением; Группа II – испытуемые с артериальной гипертензией; в скобках указаны относительные частоты; полужирным шрифтом выделены преобладающие генотипы в каждой группе; сравнение выполнено с использованием критерия χ^2 Пирсона (df=2 для генотипов и df=1 для аллелей); p – уровень значимости, статистическая значимость определялась при уровне $p < 0.05$.

Полученный уровень значимости ($p = 0.000002$) свидетельствует о наличии статистической значимости, т. к. $p < 0.05$. Результаты сравнения частот аллелей и генотипов гена *AGTR1* у единоборцев г. Перми показали, что в Группе II испытуемых с артериальной гипертензией частота генотипа С/С, ассоциированного с развитием артериальной гипертензии, достоверно выше по сравнению с Группой I испытуемых

с нормальным давлением (0.00 против 0.08). Генотип А/А встречается с более высокой частотой в Группе I по сравнению с группой испытуемых с высоким риском артериальной гипертензии (0.73 против 0.57). Генотип А/С встречается с частотой 0.27 в группе с нормальным давлением с частотой 0.35 в группе с риском развития артериальной гипертензии.

В данной выборке артериальная гипертензия обнаружена у 68 человек из 381 (18% от общей выборки). Обнаружены достоверно значимые различия при анализе полиморфных позиций Thr174Met гена AGT и A1166C гена AGTR1 по критерию хи-квадрат ($\chi^2 = 102.4$ при $p = 0.000001$ для гена AGT; $\chi^2 = 26.22$ при $p = 0.000002$ для гена AGTR1). Прослеживается связь генотипа Т/Т гена AGT и генотипа С/С гена AGTR1 с артериальной гипертензией. Таким образом, данные генотипы могут быть использованы в качестве маркерных.

Уровень физического состояния был определен у каждого участника исследования, а также по группам спортсменов, занимающихся разными видами единоборств (табл. 3). Среднее значение УФС (УФС_{ср}) для спортсменов, занимающихся вольной борьбой, составило 0.705. При этом низкий уровень (УФС_{ср} = 0.492) определен у 2 человек (частота 0.05), средний уровень (УФС_{ср} = 0.615) – у 18 спортсменов; а высокий уровень (УФС_{ср} = 0.790) отмечен у 24 вольных борцов (частота 0.54). Среднее значение УФС для спортсменов, занимающихся джиу-джитсу, равно 0.720. При этом низкий УФС не был установлен среди данной выборки. Средний УФС, равный 0.588, отмечен у 6 спортсменов, а высокий уровень (УФС_{ср} = 0.769) получен у 16 джитсеров. У дзюдоистов среднее значение УФС составило 0.705. При этом низкий уровень физического состояния (УФС_{ср} = 0.472) определен у 10 человек с частотой 0.18, средний уровень (УФС_{ср} = 0.618) – у 50 дзюдоистов (частота 0.34), а высокий уровень (УФС_{ср} = 0.780) – у 88 спортсменов (частота 0.59).

Таблица 3

Уровень физического состояния спортсменов разных видов единоборств
[Physical fitness level of athletes in different martial arts]

УФС	Вольная борьба	Джиу-джитсу	Дзюдо	Карате	Самбо	Всего	χ^2	p
Низкий	0.05 (2)	0	0.07 (10)	0	0	0.04 (12)	34.340	0.0000
Средний	0.41 (18)	0.27 (6)	0.34 (50)	0.18 (10)	0.02 (1)	0.27 (85)		
Высокий	0.54 (24)	0.73 (16)	0.59 (88)	0.82 (46)	0.98 (41)	0.69 (215)		
Всего	44	22	148	56	42	312	-	-

Примечание: сравнение выполнено с использованием критерия χ^2 Пирсона (df = 8); статистическая значимость определялась при уровне $p < 0.01$, где p – уровень значимости.

Среди каратистов среднее значение уровня физического состояния равно 0.766. Среднее значение УФС (УФС_{ср} = 0.614) определено у 10 человек, высокий уровень физического состояния (УФС_{ср} = 0.799) обнаружен у 46 каратистов (с частотой 0.82). Низкий уровень физического состояния также не был определен также, как и в группе самбистов. Среди спортсменов, занимающихся самбо, среднее значение уровня физического состояния равно 0.780, при этом среднее значение уровня физического состояния (УФС_{ср} = 0.647) определено только у 1 человека. У остальных 41 самбиста (частота 0.98) высокий УФС_{ср}, равный 0.784.

Полученные значения указывают, что у спортсменов, занимающихся всеми проанализированными видами единоборств, отмечена тенденция к увеличению уровня физического состояния.

Значение критерия χ^2 Пирсона составляет 34.340, что указывает на статистически значимую связь между низким, средним и высоким уровнями физического состояния при уровне значимости $p < 0.01$. Во всех видах единоборств преобладает высокий уровень физического состояния.

При сравнении уровня физического состояния между единоборцами и группой сравнения (табл. 4) было установлено, что низкий УФС встречается достоверно реже, чем высокий УФС в обеих выборках ($\chi^2 = 9.173$, при $p < 0.05$). Однако в группе единоборцев высокий УФС встречается значительно чаще, чем средний УФС (высокий УФС = 0.69 против средний УФС = 0.27). В группе сравнения разница между средним и высоким УФС небольшая (0.42 против 0.55 соответственно).

Таблица 4

Уровень физического состояния спортсменов в группе сравнения и группе единоборцев
[Physical fitness level of athletes in the control group and the martial arts group]

УФС	Единоборцы	Группа сравнения	Всего	χ^2
Низкий	0.04 (12)	0.03 (3)	0.04 (15)	9.173
Средний	0.27 (85)	0.42 (50)	0.31 (135)	
Высокий	0.69 (215)	0.55 (65)	0.65 (280)	
Всего	312	118	430	

Примечание: сравнение выполнено с использованием критерия χ^2 Пирсона (df = 2); статистическая значимость определялась при уровне $p < 0.05$.

Выявленная у пациентов с эссенциальной гипертензией [Калакуток, 2002; Нгуен, Шкурат, 2010] ассоциация генотипа Т/Т гена *AGT* и генотипа С/С гена *AGTR1* с развитием артериальной гипертензии подтверждена и установлена для спортсменов в данном исследовании для выборки единоборцев.

Сравнение аллельных вариантов гена *AGT* и уровня физического состояния у 430 испытуемых показало прямую и умеренную связь между признаками: $r_s = 0.374$ (табл. 5).

Таблица 5

Коэффициент корреляции Спирмена (r_s) между уровнем физического состояния и аллельными вариантами генов, ассоциированных с развитием артериальной гипертензии, у единоборцев г. Перми

[Spearman's rank correlation coefficient (r_s) between physical fitness level and hypertension-associated gene allelic variants in martial artists in Perm]

Сравнение УФС и аллельных вариантов гена	r_s	Связь между признаками	Сила связи по шкале Чеддока	Зависимость признаков
<i>AGT</i> (C/T)	0.374	прямая	умеренная	Значима ($p = 0.000000$)
<i>AGTR1</i> (A/C)	0.390	прямая	умеренная	Значима ($p = 0.000000$)

Примечание: r_s – коэффициент корреляции Спирмена; УФС – уровень физического состояния, шкала Чеддока – шкала качественной оценки тесноты связи [Chaddock, 1925].

При сравнении аллельных вариантов гена *AGTR1* и УФС был определен коэффициент корреляции равный 0.390, который также указывает на прямую и умеренную связь между признаками. Следовательно, можно сделать вывод: чем ниже ассоциация генотипа с артериальной гипертензией, тем выше уровень физического состояния единоборца. И наоборот, чем выше ассоциация аллельных вариантов гена с развитием артериальной гипертензии, тем ниже уровень физического состояния единоборца

Заключение

В данном исследовании установлено, что генотип Т/Т гена *AGT* и генотип С/С гена *AGTR1* могут быть использованы в качестве маркерных для определения развития артериальной гипертензии у единоборцев. Сравнение аллельных вариантов генов *AGT* и *AGTR1* с уровнем физического состояния показало достоверную связь между генотипами и показателем УФС. Следовательно, можно сказать, что присутствие аллелей, ассоциированных с артериальной гипертензией, генов *AGT* и *AGTR1* указывает на возможность повышения артериального давления и, соответственно, на возможность уменьшения уровня физического состояния. Данные генетического анализа будут полезны в процессе подготовки спортсменов в спортивных школах, т. к. на их основе можно составлять индивидуальные программы подготовки с учетом генотипа и особенностей физической подготовки конкретного спортсмена. Это должно привести к росту спортивных достижений, сохранению здоровья и увеличению спортивного долголетия [Kambouris et al., 2012].

Полученные данные свидетельствуют о том, что в процессе отбора отсеиваются спортсмены с неблагоприятными генотипами. Это происходит по многим причинам, одной из которых является их низкая работоспособность, обусловленная генетически, и долгое время восстановления после тренировки. Артериальная гипертензия является мультифакторным заболеванием, в связи с чем она может проявиться в более позднем возрасте. Одним из факторов развития гипертензии является стресс, который сопровождает спортсменов и на тренировках, и на состязаниях.

На основании всех полученных данных можно сделать вывод, что для единоборцев немаловажное значение имеет выявление генетической предрасположенности к развитию артериальной гипертензии, т. к. ее наличие может привести к развитию более серьезных заболеваний. К тому же, состояние здоровья спортсмена напрямую влияет на его спортивные достижения. Изучение генетической предрасположенности спортсменов позволит в дальнейшем повысить надежность и эффективность системы индивидуального отбора и подготовки высококвалифицированных спортсменов. Полученные данные еще раз доказывают, что важно уделять особое внимание состоянию здоровья и интенсивности тренировок у единоборцев.

Список источников

1. Александров А.А. Повышенное артериальное давление в детском и подростковом возрасте (ювенильная артериальная гипертензия) // РМЖ, 1997. № 9. С. 559–565.
2. Александров А.А. и др. Диагностика, лечение и профилактика артериальной гипертензии у детей и подростков. Российские рекомендации (второй пересмотр) // Кардиоваскулярная терапия и профилактика, 2009. Т. 8, № 4 С. 1–32.

3. Андриянова Е.Ю. Спортивная медицина. М.: Юрайт, 2020. 436 с. EDN: RBBBUI
4. Баранов В.С. Генетический паспорт – основа индивидуальной и предиктивной медицины. СПб.: Изд-во Н-Л, 2009. 528 с.
5. Вострикова А.В., Боронникова С.В., Закиров Р.М. Молекулярно-генетический анализ генов *ACTN3* и *AMPD1* у дзюдоистов спортивной школы по самбо и дзюдо «Витязь» г. Перми // Бюллетень науки и практики, 2020. № 4. С. 27–35. DOI: 10.33619/2414-2948/53/03. EDN: XDBPUZ
6. Голованова Н.Э., Астратенкова И.В., Лукьянова И.Ю. Полиморфизм генов и профессиональная деятельность как факторы риска развития артериальной гипертензии // Вестник Санкт-Петербургского университета. Медицина. 2023. Т. 18, вып. 1. С. 4–11. DOI: 10.21638/spbu11.2023.101. EDN: DCATWS
7. Иванов С.Ю., Лившиц Н.И. Точность измерения артериального давления по тонам Короткова в сравнении с осциллометрическим методом // Вестник аритмологии, 2005. № 40. С. 55–58. EDN: HSSHYP
8. Калакуток З.Н. Полиморфизм генов ренин-ангиотензин-альдостероновой системы и риск развития эссенциальной гипертонии у адыгов и русских: автореф. дис. ... канд. мед. наук. Майкоп, 2002. 24 с.
9. Нгуен Т.Ч., Шкурат Т.П. Исследование ассоциации T174M и M235T гена ангиотензиногена с ишемической болезнью сердца в ростовской популяции // Эпидемиология. 2010. Т. 11. С. 114–121.
10. Пахомя Н.С., Урясьев О.М., Шаханов А.В. Роль полиморфизмов некоторых генов в реализации артериальной гипертензии // Земский врач. 2014. Т. 24. С. 21–24.
11. Пирогова Е.А., Иващенко Л.Я., Стрacho Н.П. Влияние физических упражнений на работоспособность и здоровье человека. Киев: Здоровье, 1986. 152 с.
12. Потапов В.Е. и др. Особенности распределения однонуклеотидных полиморфизмов генов, ассоциированных с артериальной гипертензией у больных с хронической болезнью почек // Смоленский медицинский альманах. 2015. Т. 1. С. 138. EDN: OTJDHH
13. Хигучи С. и др. Передача сигнала ангиотензина II через рецептор AT1: новые данные о механизмах и патофизиологии // Клиническая наука. 2007. Т. 112. С. 417–428.
14. Чедов К.В. Физическая культура. Врачебный контроль и самоконтроль занимающихся физическими упражнениями и спортом [Электронный ресурс]: учебно-методическое пособие. Пермь, ПГНИУ, 2021. URL: <https://elis.psu.ru/node/642456?fragment=page-2> (дата обращения: 03.03.2026). EDN: TFCXSS
15. Chaddock R.E. Principles and methods of statistics. Boston, New York [etc.]: Houghton Mifflin. 1925. 471 p.
16. Jones A. et al. Genetic variants of angiotensin II receptors and cardiovascular risk in hypertension // Hypertension. 2003. Vol. 42, № 4. P. 500–506.
17. Kambouris M. et al. Predictive Genomics DNA Profiling for Athletic Performance // Recent Patents on DNA & Gene Sequences, 2012. Vol. 6, № 3. P. 229–239.
18. Nalogowska-Głosnicka K. et al. PIH Study Group. Angiotensin II type 1 receptor gene A1166C polymorphism is associated with the increased risk of pregnancy-induced hypertension // Med. Sci. Monit. 2000. Vol. 6, № 3. P. 523–529.

References

1. Aleksandrov A.A. [High blood pressure in childhood and adolescence (juvenile arterial hypertension)]. *RMŽ*. No. 9 (1997): pp. 559–565. (In Russ.).
2. Aleksandrov A.A., Kislyak O.A., Leont'eva I.V., Rozanov V.B. [Diagnosis, treatment and prevention of arterial hypertension in children and adolescents]. *Kardiovaskuljarnaja terapija i profilaktika*. V. 8, No. 4 (2009): pp. 1–32. (In Russ.).
3. Andriyanova E.Yu. *Sportivnaja medicina* [Sports medicine]. Moscow, Jurajt Publ., 2020. 436 p. (In Russ.). EDN: RBBBUI
4. Baranov V.S. *Genetičeskij passport - osnova individual'noj i prediktivnoj mediciny* [Genetic passport is the basis of individual and predictive medicine]. St-Peterburg, N-L Publ., 2009. 528 p. (In Russ.).
5. Vostrikova A.V., Boronnikova S.V., Zakirov R.M. [Molecular genetic analysis of the *ACTN3* and *AMPD1* genes in judokas of the sports school for sambo and judo “Vityaz” in Perm]. *Bjulleten' nauki i praktiki*. No. 4 (2020): pp. 27–35. (In Russ.). DOI: 10.33619/2414-2948/53/03. EDN: XDBPUZ
6. Golovanova N.E., Astrahenkova I.V., Luk'yanova I.Yu. [Gene polymorphism and professional activity as risk factors for the development of arterial hypertension]. *Vestnik Sankt-Peterburgskogo universiteta. Medicina*. V. 18, iss. 1 (2023): pp. 4–11. (In Russ.). DOI: 10.21638/spbu11.2023.101. EDN: DCATWS
7. Ivanov S.Yu, Livshits N.I. [Accuracy of blood pressure measurement using Korotkov sounds in comparison with the oscillometric method]. *Vestnik aritmologii*. No. 40 (2005): pp. 55–58. (In Russ.). EDN: HSSHYP
8. Kalakutok Z.N. *Polimorfizm genov renin-angiotenzin-al'dosteronovoj sistemy i risk razvitiya essencijal'noj gipertenzii u adygov i russkich: avtoref. dis. ... kand. med. nauk.* [Polymorphism of the genes of the renin-angiotensin-aldosterone system and the risk of developing essential hypertension in Adyghe and Russians: Abstract of a PhD thesis]. Maikop, 2002. 24 p. (In Russ.).

9. Nguyen T.Ch., Shkurat T.P. [Study of the association of T174M and M235T of the angiotensinogen gene with coronary heart disease in the Rostov population]. *Epidemiologija*. V. 11 (2010): pp. 114-121. (In Russ.).
10. Pakhomya N.S., Uryas'ev O.M., Shakhanov A.V. [The role of polymorphisms of some genes in the development of arterial hypertension]. *Zemskij vrach*. V. 24 (2014): pp. 21-24. (In Russ.). EDN: TAWVST
11. Pirogova E.A., Ivaschenko L.Ya., Strachko N.P. *Vlijanie fizičeskich upražnenij na rabotosposobnost' i zdorov'e čeloveka* [The impact of physical exercise on human performance and health]. Kiev, Zdorov'e Publ., 1986. 152 p. (In Russ.).
12. Potapov V.E., Logvinov A.K., Zarutskiy S.A. et al. [Features of the distribution of single nucleotide polymorphisms of genes associated with arterial hypertension in patients with chronic kidney disease]. *Smolenskij medicinskij al'manach*. V. 1 (2015): p. 138. (In Russ.). EDN: OTJDHH
13. Khiguchi S., Okhcu H., Suzuki H., Sairai H., Frank G.D., Eguchi S. [Angiotensin II signaling through the AT1 receptor: new insights into mechanisms and pathophysiology]. *Kliničeskaja nauka*, V. 112 (2007): pp. 417-428.
14. Chedov K.V. *Fizičeskaja kul'tura. Vračebnyj kontrol' i samokontrol; zanimajuščichsja fizičeskimi upražnenijami i sportom* [Medical supervision and self-monitoring of those involved in physical exercise and sports]. Perm, PGNIU, 2021. (In Russ.). Available at: <https://elis.psu.ru/node/642456?fragment=page-2> (accessed 03.03.2026). EDN: TFCXSS
15. Chaddock R.E. Principles and methods of statistics. Boston, New York [etc.], Houghton Mifflin, 1925. 471 p.
16. Jones A., Dhamrait S.S., Payne J.R. et al. Genetic variants of angiotensin II receptors and cardiovascular risk in hypertension. *Hypertension*. V. 42, No. 4 (2003): pp. 500-506.
17. Kambouris M., Ntalouka F., Ziogas G., Maffulli N. Predictive Genomics DNA Profiling for Athletic Performance. *Recent Patents on DNA & Gene Sequences*. V. 6, No. 3 (2012): pp. 229-239.
18. Nalogowska-Glosnicka K., Lacka B.I., Zychma M.J. et al. PIH Study Group. Angiotensin II type 1 receptor gene A1166C polymorphism is associated with the increased risk of pregnancy-induced hypertension. *Med. Sci. Monit.* V. 6, No. 3 (2000): pp. 523-529.

Статья поступила в редакцию 25.02.2026; одобрена после рецензирования 31.03.2026; принята к публикации 01.06.2026.

The article was submitted 25.02.2026; approved after reviewing 31.03.2026; accepted for publication 01.06.2026.

Информация об авторе

А. В. Сорокина – старший преподаватель кафедры ботаники и генетики растений.

Information about the author

A. V. Sorokina – senior lecturer, department of botany and plant genetics.

ЭКОЛОГИЯ

Научная статья

УДК 614.76; 631.86

EDN: KWKVPR

<http://dx.doi.org/10.17072/1994-9952-2026-2-200-212>



**Оценка экологического риска побочных продуктов
животноводства и птицеводства**

**Д. О. Егорова¹, Т. Д. Кирьянова¹, А. Р. Мансурова², Д. А. Кочергина¹,
М. В. Кузнецова¹**

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

² Пермский государственный национальный исследовательский университет, Пермь, Россия

Автор, ответственный за переписку: Дарья Олеговна Егорова, daryao@rambler.ru

Аннотация. Одной из основных угроз экологическому благополучию являются отходы (в настоящее время – побочные продукты) агропромышленного комплекса, образующиеся и накапливающиеся в больших объемах. Решение данной проблемы видится в технологии рециклинга, позволяющего перерабатывать данные отходы в удобрения. Однако масштабное применение удобрений на основе компостированных побочных продуктов животноводства и птицеводства может приводить к загрязнению почв тяжелыми металлами и тем самым нести угрозу экологического риска для почвенных биомов. В настоящей работе исследованы побочные продукты трех животноводческих и одного птицеводческого хозяйства Пермского края. В их составе установлены щелочные, щелочноземельные и тяжелые металлы, при этом наибольшая загрязненность тяжелыми металлами характерна для образцов птицеводческого хозяйства. Проведен расчет индексов потенциального экологического риска. Для куриного помета данный показатель соответствует среднему уровню опасности, тогда как для побочных продуктов животноводческих хозяйств он оценивается как низкий. Полученные результаты свидетельствуют о том, что компосты на основе побочных продуктов животноводства могут рассматриваться как безопасный источник органических удобрений.

Ключевые слова: тяжелые металлы, экологический риск, побочные продукты животноводства и птицеводства

Для цитирования: Оценка экологического риска побочных продуктов животноводства и птицеводства // Д. О. Егорова, Т. Д. Кирьянова, А. Р. Мансурова, Д. А. Кочергина, М. В. Кузнецова // Вестник Пермского университета. Сер. Биология. 2026. Т. 17, вып. 2. С. 200–212. <http://dx.doi.org/10.17072/1994-9952-2026-2-200-212>.

Финансирование: работа выполнена в рамках темы государственного задания № 124020500028-4.

ECOLOGY

Original article

Ecological risk assessment of livestock and poultry by-products

**D. O. Egorova¹, T. D. Kir'yanova¹, A. R. Mansurova², D. A. Kochergina¹,
M. V. Kuznetsova¹**

¹ Institute of Ecology and Genetics of Microorganisms, Ural Branch of the Russian Academy of Sciences – branch of the Perm Federal Research Center, Ural Branch of the Russian Academy of Sciences, Perm, Russia

² Perm State University, Perm, Russia

Corresponding author: Darya O. Egorova, daryao@rambler.ru

Abstract. Agro-industrial waste (by-products), generated and accumulated in large volumes, poses one of the main threats to environmental well-being. Recycling technologies that convert this waste into fertilizer offer a solution to this problem. However, the large-scale use of fertilizers based on composted livestock and poultry by-products can lead to soil contamination with heavy metals, thereby posing an environmental risk to soil biomes. This study identified the presence of metals from three groups (alkali, alkaline earth, and heavy metals) in by-product samples from livestock and poultry farms in the Perm Krai. Poultry by-products are characterized by the highest levels of heavy metal contamination. The ecological hazard index value for chicken manure corre-

sponds to a medium hazard level. An ecological risk assessment showed that livestock by-products pose a low level of ecological risk. Therefore, compost obtained from livestock by-products can be used as fertilizer.

Keywords: heavy metals, environmental risk, livestock and poultry by-products

For citation: Egorova D. O., Kir'yanova T. D., Mansurova A. R., Kochergina D. A., Kuznetsova M. V. [Ecological risk assessment of livestock and poultry by-products]. *Bulletin of the Perm University. Biology*. Vol. 17, iss. 2 (2026): pp. 200-212. (In Russ.). <http://dx.doi.org/10.17072/1994-9952-2026-2-200-212>.

Financing: this work was completed within the framework of State Assignment No. 124020500028-4.

Введение

Активное развитие агропромышленного комплекса приводит к масштабному образованию органических отходов. Данное явление наблюдается в различных странах, в том числе и в России. Ежегодный объем образования органических отходов на предприятиях агропромышленного комплекса РФ оценивается в диапазоне 600–650 млн тонн, из которых на отходы животноводства и птицеводства приходится значительная часть: образуется не менее 160 млн тонн навозной массы и сырого помета, из которых используется менее 50% [Глеба, 2019].

Одним из вариантов решения проблемы накопления органических отходов животноводства и птицеводства является их переработка с дальнейшим применением в качестве удобрения. Отраслевая программа Министерства сельского хозяйства РФ на период до 2030 г. ставит целью увеличение доли побочных продуктов сельского хозяйства, которые будут переведены в категорию вторичных ресурсов, т. е. органических удобрений. Дальнейшее применение таких ресурсов по назначению способствует повышению плодородия почв, что приводит к увеличению выхода сельскохозяйственной продукции. Однако мировые исследования показывают, что длительное внесение органических отходов животноводства и птицеводства в виде удобрений приводит к загрязнению сельскохозяйственных земель и несет в себе экологическую угрозу. В большинстве случаев загрязнение обусловливается содержанием в побочном продукте (отходе) животноводства и птицеводства не только различных микроорганизмов, антибиотиков и других органических соединений, но и тяжелых металлов [More, Dhakate, 2025]. Так, внесение птичьего помета в качестве удобрения на протяжении 16 лет привело к повышению концентрации кадмия и меди в почве на 20–38% и 9–21% соответственно [Zhang et al., 2025a, b]. Применение для полива воды с разведенным в ней побочным продуктом животноводства повышает концентрацию цинка, мышьяка, кадмия и хрома в почве, при этом индекс потенциальной экологической опасности данной почвы в 3 раза превышал аналогичный показатель для земель, орошаемых чистой водой (см. [Soleimani et al., 2023]). Применение статистического анализа подтвердило, что основной причиной повышения концентрации тяжелых металлов в сельскохозяйственных почвах Малайзии является внесение удобрений [Islam et al., 2025]. При этом наибольшую долю в повышении уровня экологической опасности данных земель вносят такие металлы, как свинец и кадмий.

В ряде работ отмечено, что концентрация тяжелых металлов может увеличиваться с течением времени также из-за химических процессов, протекающих как в почвах, так и в органических удобрениях. В частности, одним из таких процессов является гумификация, при которой образуются макромолекулы гуминовых кислот, содержащие такие функциональные группы, как карбоксильные, гидроксильные и ряд других. Взаимодействие с данными группами приводит к образованию хелатных комплексов с металлами. В работе [Zhang et al., 2025a, b] было обнаружено, что данный механизм приводит к повышению биодоступности меди, цинка, хрома и ртути. Возможно, подобные процессы могут протекать и в побочных продуктах животноводства и птицеводства в период их складирования или компостирования.

Существующее нормативное и техническое регулирование в сфере обращения с отходами, вторичным сырьем и вторичными ресурсами в сельском хозяйстве определяет органические удобрения как побочные продукты животного происхождения, которые подлежат обязательному экологическому контролю в отношении их микробного и химического загрязнения в рамках природоохранного законодательства [РД 52.18.286-91, 1991; О побочных продуктах ..., 2022]. Однако, согласно ГОСТ Р 53117-2008, нормы предельно допустимых концентраций (ПДК) для удобрений, полученных на основе побочных продуктов агропромышленного комплекса, установлены только для четырех тяжелых металлов (свинец, кадмий, ртуть, мышьяк), тогда как спектр данных загрязнителей в составе навоза и помета существенно шире. Так, в СанПиН 1.2.3685-21 для сельскохозяйственных почв установлены предельно допустимые концентрации для таких тяжелых металлов, как никель, хром, цинк и медь. В связи с вышесказанным возникает проблема безопасности использования компоста на основе продуктов животноводства и птицеводства.

Цель работы – оценка экологической безопасности применения побочных продуктов животноводческих и птицеводческих хозяйств Пермского края в качестве органического удобрения.

Материалы и методы

Образцы побочных продуктов. Пробы побочных продуктов были получены из трех животноводческих хозяйств и одного птицеводческого хозяйства Пермского края (Россия), с разными сроками и условиями компостирования, включая свежие (не компостированные) образцы (по 4–8 проб каждого срока из каждого хозяйства) (табл. 1).

Таблица 1

Характеристика образцов органических отходов
[Characteristics of organic waste samples]

№ точки отбора	Шифр образца	Вид побочного продукта	Период	Условия компостирования	Хозяйство
1	X1.1	Коровий навоз	1–3 дня	н/п*	ООО «Агрофирма Труд», д. Кужлево
2	X2.1	Коровий навоз	1–3 дня	н/п	СПК «Хохловка», д. Скобелевка
	X2.2	Коровий навоз	1 месяц	Аэробное/анаэробное хранение	
	X2.3	Коровий навоз	12 месяцев	Аэробное/анаэробное хранение	
3	X3.1	Коровий навоз	1–3 дня	н/п	ООО «Русь», с. Большая Соснова
	X3.2	Коровий навоз	1 месяц	Аэробное/анаэробное хранение	
	X3.3	Коровий навоз	12 месяцев	Аэробное/анаэробное хранение	
4	X4.1	Куриный помет	14 дней	н/п**	АО «Агросила птицефабрика Пермская»
	X4.2	Куриный помет	6 месяцев	Закрытое хранилище	
	X4.3	Куриный помет	12 месяцев	Закрытое хранилище (6 месяцев)+хранение в буртах (6 месяцев)	

Примечание: * н/п – не применимо.

Химический анализ на наличие металлов. Водорастворимые формы металлов извлекали из 10 г сухой пробы органических отходов, ресуспендировали в 125 мл деионизированной воды с последующим перемешиванием в течение 1 ч при комнатной температуре. Полученную суспензию пропускали через фильтровальную бумагу «синяя лента», а фильтрат упаривали на водяной бане при 80–90°C до объема 50 мл. После охлаждения до комнатной температуры раствор количественно переносили в мерную пробирку объемом 50 мл, добавляли 2–3 капли концентрированной HNO₃ и, при необходимости, доливали деионизированной водой до метки. Калибровочные растворы готовили на основе ГСО 7330-96 в концентрациях 0.1–10 мг/л с построением калибровочных кривых (линейность R² > 0.99). Определение содержания металлов проводили по методике РД 52.18.286-91 «Измерение массовой доли водорастворимых форм металлов в почвенных пробах атомно-адсорбционным методом» на атомно-адсорбционном спектрометре AA-6300 (Shimadzu, Япония) в режиме пламенной атомизации с использованием воздух-ацетиленового пламени. Параметры анализа включали: длины волн (нм) – Al 309.3, K 766.5, Ca 422.7, Na 589.0, Fe 248.3, Cd 228.8, Co 240.7, Mg 285.2, Cu 324.8, Mo 313.2, Ni 232.0, Pb 283.3, Zn 213.9; лампы с полым катодом; пределы обнаружения согласно методике.

Показатели экологического риска. Потенциальный экологический риск (PER) для каждого тяжелого металла в исследуемых образцах рассчитывали по методике [Håkanson, 1980] как произведение фактора биологической токсичности металла (Fi) и концентрации данного металла в образце (Ci, мг/кг). Факторы токсичности составляли: F_{Mn} = 1, F_{Zn} = 1, F_{Ni} = 5, F_{Pb} = 5, F_{Cu} = 5, F_{Cd} = 30 [Islam et al., 2025]. Классификация рисков: PER < 1 – низкий, 1 < PER < 5 – средний, 5 < PER < 20 – значительный, PER > 20 – высокий.

Индекс потенциального экологического риска (PERI) определяли как сумму потенциальных экологических рисков всех металлов (PER_i).

Значения индекса потенциального экологического риска интерпретируются следующим образом: PERI < 150 – уровень риска низкий, 150 < PERI < 300 – уровень риска средний, 300 < PERI < 600 – уровень риска высокий, PERI > 600 – уровень риска очень высокий [Soleimani et al., 2023; Islam et al., 2025].

Статистическая обработка данных. Статистическую обработку результатов осуществляли с использованием пакета MS Excel. Нормальность распределения проверяли тестом Шапиро – Уилка. Для сравнения независимых выборок применяли непараметрический t-критерий Стьюдента (n = 4–8 повтор-

ностей). Результаты выражали как среднее значение $\pm$ стандартная ошибка среднего ($M \pm SE$). Проводили одно- и двухфакторный дисперсионный анализ (ANOVA) с помощью апостериорного теста Тьюки при уровне значимости $p < 0.05$, рассчитывали коэффициент корреляции Пирсона.

Графическая визуализация данных. Географическую визуализацию результатов выполняли в ArcMap 10.4.1 в наборе ArcGIS Desktop для создания тематических карт распределения содержания металлов и нанесения точек отбора проб на основании координат.

Результаты и их обсуждение

Содержание металлов в побочном продукте животноводческих и птицеводческого хозяйств. Образцы побочных продуктов трех животноводческих и одного птицеводческого хозяйств проанализированы на наличие в них металлов, входящих в группы щелочных, щелочноземельных и тяжелых (рис. 1, 2).

Щелочные металлы. Содержание натрия (Na) варьировало от 71.1 ± 0.3 мг/кг до 238.2 ± 0.1 мг/кг (рис. 1). Наибольшие значения были характерны для побочных продуктов птицеводческого хозяйства. В продуктах животноводческих ферм концентрация натрия варьировала незначительно. Достоверной корреляционной зависимости между количеством натрия и периодом хранения побочных продуктов животноводства не выявлено. Напротив, при средней силе коэффициента корреляции Пирсона между концентрацией натрия и временем компостирования куриного помета ($r = 0.592$) однофакторный дисперсионный анализ выявил влияние фактора времени на содержание натрия в побочном продукте птицеводства ($F(17.3) > F_{crit}(4.1)$, $p = 0.0001$).

Концентрация калия (K) в исследованных образцах составила от 176.8 ± 0.2 мг/кг до 7992.5 ± 0.1 мг/кг (рис. 1). При этом содержание калия в курином помете было на порядок выше, чем в коровьем навозе. Анализ корреляции Пирсона показал, что концентрация калия находится в линейной прямой зависимости от периода компостирования побочного продукта в образцах X3 и X4 ($r = 0.995$ и 0.885 соответственно), и в обратной линейной зависимости – в образцах X2 ($r = -0.793$). Данные однофакторного дисперсионного анализа также подтвердили влияние периода хранения навоза/помета на содержание калия.

Щелочноземельные металлы. Содержание кальция (Ca) варьировало от 3.8 ± 0.1 мг/кг до 630.1 ± 0.1 мг/кг (рис. 1). Максимальное значение отмечено в образце X1.1 (свежий коровий навоз, 1 сутки хранения), при этом среднее значение данного показателя для исследованных побочных продуктов животноводства остальных хозяйств составило 304.5 ± 0.1 мг/кг. Наибольший разброс значений был выявлен в образцах птицеводческого хозяйства, при этом не выявлено зависимости от периода компостирования. В составе анализируемых образцов побочных продуктов содержался магний (Mg) в концентрации $(52.2 - 216.2) \pm 0.4$ мг/кг (рис. 1). Наиболее богатым по данному показателю был коровий навоз хозяйства «Агрофирма Труд» (X1). Выявлена обратная линейная корреляция между концентрацией магния и временем компостирования побочного продукта хозяйства СПК «Хохловка» (X2), что подтверждено результатами однофакторного дисперсионного анализа. Важно отметить, что для образцов остальных хозяйств подобной взаимосвязи не выявлено.

Тяжелые металлы. Установлено, что в составе исследуемых образцов побочных продуктов животноводства и птицеводства присутствуют кадмий (Cd) $(0.05 - 0.26) \pm 0.01$ мг/кг), никель (Ni) $(0.51 - 1.18) \pm 0.01$ мг/кг), марганец (Mn) $(0.60 - 48.37) \pm 0.01$ мг/кг) и цинк (Zn) $(0.66 - 44.85) \pm 0.01$ мг/кг), а в образцах хозяйств X2 и X4 (табл. 1) также обнаружены медь (Cu) $(6.91 - 42.45) \pm 0.01$ мг/кг) и свинец (Pb) $(0.69 - 2.52) \pm 0.05$ мг/кг) (рис. 2). Суммарная концентрация тяжелых металлов в образцах животноводческих хозяйств варьировала от 8.3 ± 0.2 мг/кг до 20.2 ± 0.1 мг/кг, а в образцах птицефермы данный показатель был выше в 5.9–15.1 раза и составлял $(119.01 - 126.01) \pm 0.08$ мг/кг.

Согласно литературным данным, тяжелые металлы обнаруживаются в побочных продуктах животноводческих хозяйств разных регионов. Так в работе [Богатырева и др., 2018] указано, что в составе коровьего навоза хозяйств Республики Беларусь выявлены железо, медь, цинк, марганец, свинец, никель, кобальт и хром. Содержание железа, цинка и марганца было существенно выше, чем в образцах, представленных в настоящем исследовании, никель находился в сопоставимых концентрациях, а содержание меди и свинца было выше в образцах Пермского края. В образцах коровьего навоза, отобранных в хозяйствах Казахстана, установлено наличие селена, никеля и кобальта [Касым и др., 2023]. Концентрация никеля составляла $(20.7 - 23.2) \pm 1.0$ мг/кг, что существенно превышает данные, полученные для образцов из хозяйств Пермского края.

Корреляционный анализ показал, что практически во всех образцах наблюдается линейная зависимость концентрации тяжелых металлов от времени компостирования (табл. 2). Однако направление этой зависимости различается. При этом характер зависимости (положительный или отрицательный) варьирует в зависимости от хозяйства. Так, в образцах X3 происходит накопление тяжелых металлов в процессе

компостирования навоза, тогда как в образцах X2 и X4 изменения концентрации цинка и марганца носят обратный характер, и с течением времени содержание данных металлов снижается. ANOVA-анализ подтвердил связь данных факторов.

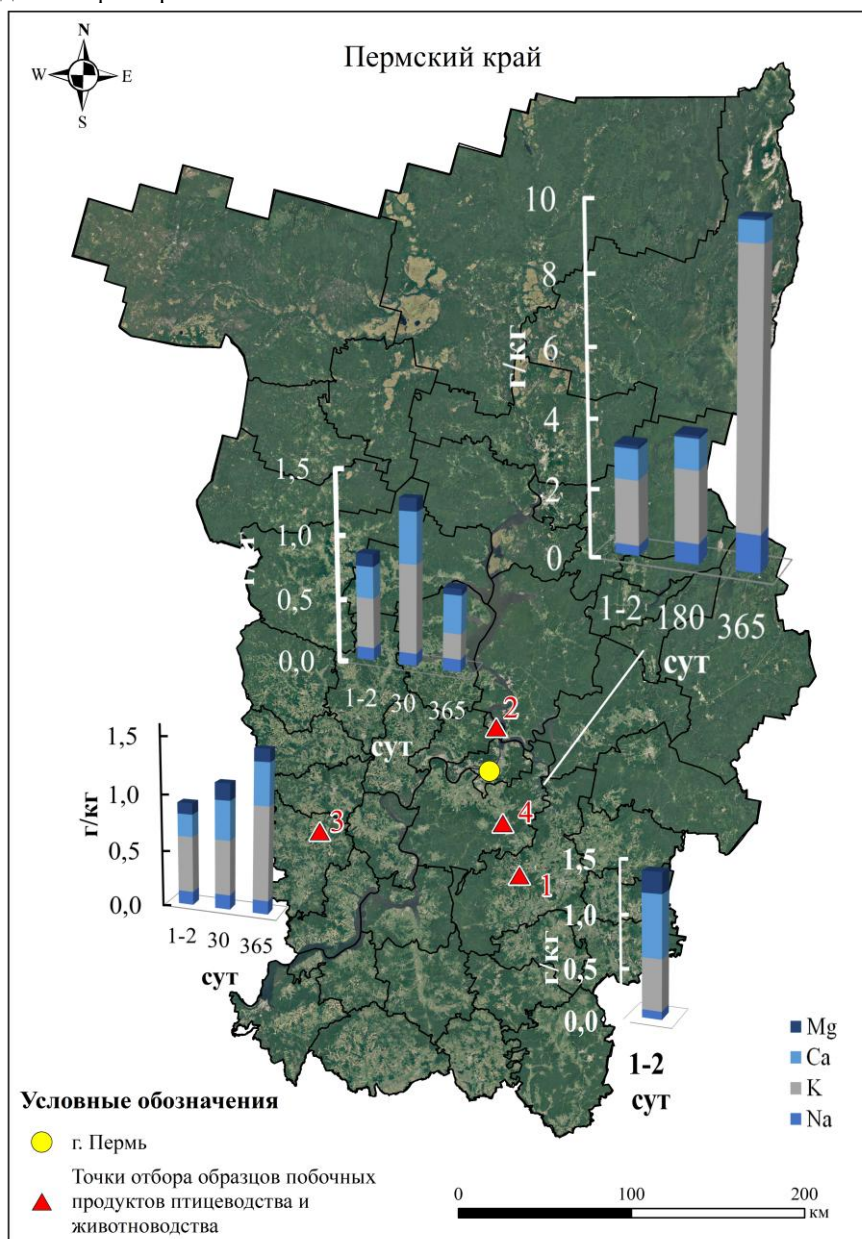


Рис. 1. Щелочные и щелочноземельные металлы в образцах побочных продуктов
[Alkali and alkaline earth metals in by-product samples]

Таблица 2

Корреляция содержания металлов в побочных продуктах птицеводства и животноводства
с «возрастом» данных продуктов
[Correlation of metal content in poultry and livestock by-products with the "age" of these products]

Металл	Образцы		
	X2	X3	X4
Zn	– 0.718	0.909	– 0.997
Cu	0.372	н.п.*	0.518
Pb	0.743	н.п.	– 0.376
Ni	– 0.753	0.923	0.532
Cd	0.997	0.997	– 0.664
Mn	– 0.999	0.908	– 0.995

Примечание: * н/п – не применимо.

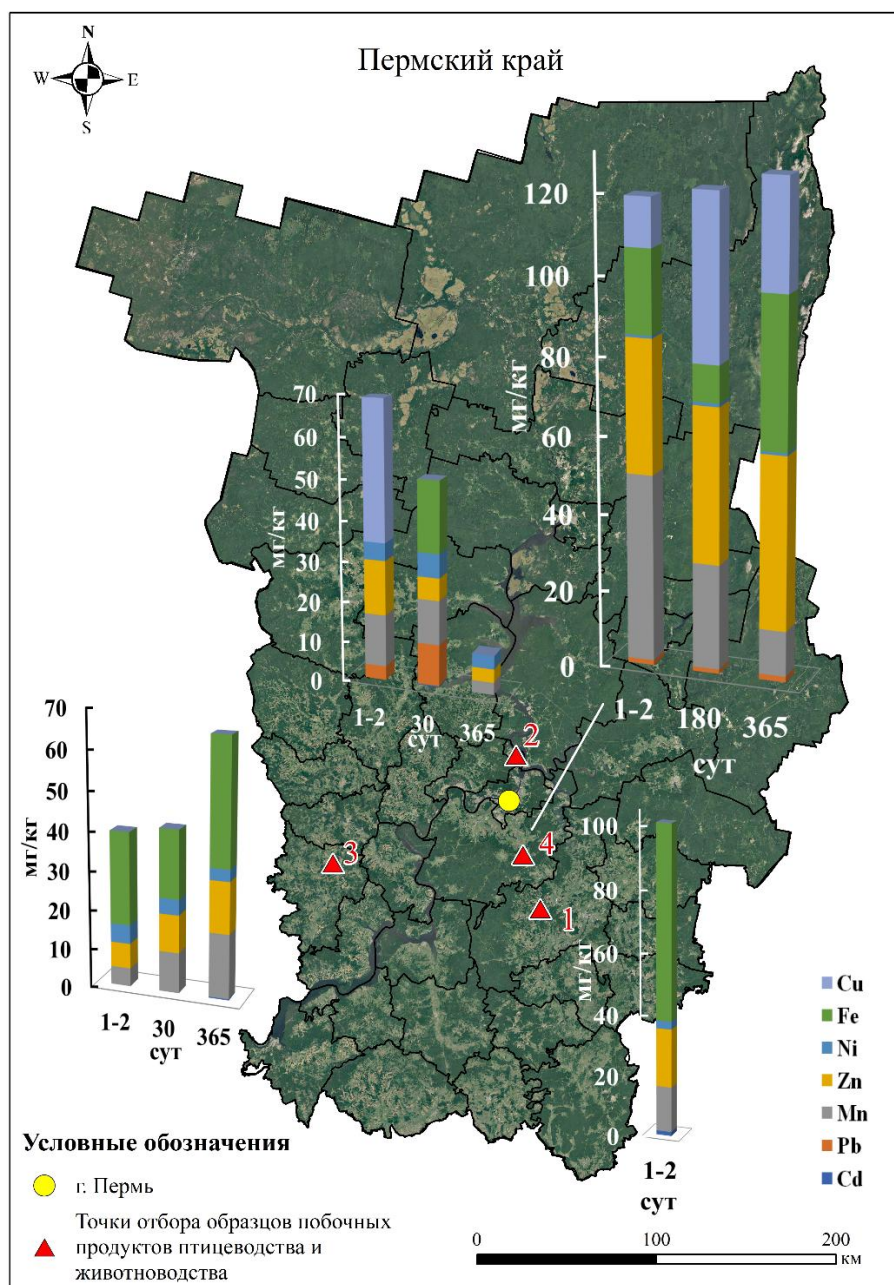


Рис. 2. Тяжелые металлы в образцах побочных продуктов
[Heavy metals in by-product samples]

Наличие тяжелых металлов в органических отходах, используемых в качестве удобрений, может приводить к кумулятивному накоплению тяжелых металлов в сельскохозяйственных почвах, в ряде случаев – до опасных уровней и представлять риск для организмов, обитающих в почве, и, следовательно, для качества почвы в долгосрочной перспективе. Так, в работе [Tuchkova et al., 2021] показано влияние органических отходов птицеводства на уровень загрязнения почвы тяжелыми металлами. Анализ содержания тяжелых металлов (меди, никеля, свинца и цинка) в почвах, подверженных влиянию промышленного птицеводства, выявил превышение ПДК для подвижных форм Cu и Zn. Однако результаты многолетнего сравнительного исследования указывают на неоднозначность данной проблемы [Мерзлая, Замана, Соколов, 2009]. В ходе изучения влияния навоза и двух видов компостов, различающихся режимами подготовки и содержанием тяжелых металлов (Cu: 36, 425 и 1452 мг/кг; Pb: 6, 50 и 167 мг/кг; Ni: 16, 104 и 353 мг/кг; Zn: 160, 1743 и 4589 мг/кг; As: 5, 11 и 31 мг/кг соответственно), было установлено, что их систематическое внесение в почву не привело к превышению нормативно допустимых уровней содержания тяжелых металлов как в почвенном покрове, так и в вегетативной массе растений.

Установлено, что тяжелые металлы, в особенности Cu и Zn, выступают ключевыми факторами, влияющими на структуру и функции бактериальных сообществ почв [Hao et al., 2025; Wei et al., 2025; Zhang et al., 2025a, b; Wu et al., 2025], в то время как низкие концентрации отдельных металлов могут оказывать

стимулирующее действие на рост бактерий, повышенные их уровни вызывают значительное угнетение роста и снижение биоразнообразия почвенных микроорганизмов. Это, в свою очередь, негативно сказывается на процессах, ассоциированных с их полезной деятельностью (таких как трансформация элементов питания и поддержание почвенного плодородия), что косвенно влияет на урожайность сельскохозяйственных растений. На состав почвенной микробиоты существенное воздействие оказывают Zn, Cu, As, Mn и Cd. Показано, что биоразнообразие бактерий значительно снижалось при содержании меди в почве, превышающем 30.70 мг/кг [Li et al., 2025; Nunes et al., 2026]. Кроме того, тяжелые металлы ингибируют общую микробную активность [Gans et al., 2005]. Внесение в почву высоких доз навоза, содержащего медь и цинк, приводит к снижению численности дождевых червей и иных почвенных беспозвоночных [Segat et al., 2019; Segat et al., 2020].

Согласно имеющимся данным, микроорганизмы в целом обладают более высокой чувствительностью к тяжелым металлам по сравнению с другими компонентами экосистемы, например, растениями. Однако степень токсического воздействия металлов варьирует для разных микробных таксонов [Xie et al., 2016; Abdu et al., 2017]. В частности, некоторые виды бактерий, стимулирующие рост растений (например, представители родов *Pseudomonas*, *Arthrobacter*, *Rhodococcus*, *Mesorhizobium*, *Agrobacterium*, *Bacillus*, *Azoarcus*, *Azospirillum*, *Azotobacter*, *Burkholderia*, *Alcaligenes*, *Serratia*, *Rhizobium* и *Enterobacter*), демонстрируют природную устойчивость к высоким концентрациям тяжелых металлов [González, Ghneim-Herrera, 2021; Wang et al., 2022].

Почвенная ферментативная активность является интегральным показателем, отражающим в том числе деятельность микроорганизмов и корней растений. Тяжелые металлы подавляют активность широкого спектра ферментов, участвующих в циклах углерода, азота, фосфора и серы. Механизмы ингибирования включают прямое связывание металлов с субстратом, фермент-субстратным комплексом или активным центром фермента, их денатурирующее действие, а также опосредованное подавление через угнетение роста микробных популяций, ответственных за синтез этих ферментов [Yeboah et al., 2021]. В качестве иллюстрации: добавление в почву Pb, Zn и Cu приводило к ингибированию активности каталазы, уреазы, инвертазы и фосфатазы, что сопряжено со снижением роста и урожайности ячменя [Belyaeva et al., 2005]. В исследовании Aponte с соавторами показано, что активность семи ферментов была значимо подавлена под влиянием загрязнения почвы Pb, Zn, Cd, Cu и As, а степень ингибирования убывала в следующем порядке: арилсульфатаза > дегидрогеназа > β -глюкозидаза > уреазы > кислая фосфатаза > щелочная фосфатаза > каталаза [Aponte et al., 2020].

Таким образом, длительное и повторное внесение навоза и компостов, содержащих тяжелые металлы, способно индуцировать их кумуляцию в агроценозах до токсических концентраций, что в итоге может негативно отразиться на здоровье почвы и продуктивности возделываемых культур.

Экологические риски. Тяжелые металлы, содержащиеся в органических отходах птицеводства и животноводства, вызывают загрязнение окружающей среды; однако единый сценарий оценки рисков загрязнения почвы при внесении навоза отсутствует. В исследовании [Li et al., 2025] для оценки рисков от внесения удобрений на основе навоза было предложено учитывать несколько факторов, в том числе концентрацию тяжелых металлов, индексов экологического риска и период (продолжительность) внесения навоза. Исследования, проведенные на примере провинции Хунань (Китай), показали, что основным источником повышения концентрации тяжелых металлов в пахотных землях является навоз свиней (49.5%) и крупного рогатого скота (47.6%). Среди восьми тяжелых металлов наибольший риск загрязнения почвы представлял кадмий (Cd). Многолетнее внесение навоза привело к повышению уровня экологической опасности земель с умеренного до высокого [Li et al., 2025].

Основываясь на данных о содержании тяжелых металлов в исследуемых образцах, а также сценарии, описанном как «базовый», в работе [Li et al., 2025], проведена оценка возможного экологического риска от внесения побочных продуктов животноводства и птицеводства в качестве удобрений на сельскохозяйственные поля путем расчета показателей потенциального экологического риска и индекса потенциального экологического риска (рис. 3, 4).

Показатели PER существенно варьировали как при рассмотрении образцов одного хозяйства, так и при рассмотрении каждого элемента в образцах разных хозяйств. Наибольшие значения выявлены при анализе рисков от содержания меди (рис. 3). Значения PER_{Cu} соответствуют высокому уровню экологического риска и существенно превышают пороговые значения. Уровень потенциального экологического риска цинка и марганца был в диапазоне $1.1-44.8 \pm 0.2$ и $0.6-48.3 \pm 0.2$ соответственно.

Уровень данного показателя для побочных продуктов животноводческих хозяйств оценивается как средний, за исключением PER_{Mn} образца X2.3, тогда как для куриного помета – как высокий. PER свинца классифицируется как значительный ($5.6-12.6 \pm 0.3$), за исключением образца X2.1. Потенциальный экологический риск побочных продуктов, обусловленный никелем, находится в диапазоне $2.2-5.9 \pm 0.1$, и, за исключением образца X2.2, классифицируется как средний. Анализ PER кадмия показал, что для образца X1.1 характерен значимый уровень риска, для образца X4.2 – низкий уровень риска, для остальных образцов – средний уровень. Таким образом, наибольший вклад в показатели потенциального экологического риска вносят медь, цинк и марганец, что наиболее ярко проявляется на примере побочного продук-

та птицеводства. В работах [Li et al., 2025; Ejaz et al., 2025] показано, что ведущую позицию, обуславливающую потенциальный экологический риск, занимает Cd. В настоящем исследовании Cd вносит существенный вклад в экологическую опасность только в случае использования побочных продуктов предпринятия ООО «Агрофирма Труд», что составляет 12.5% от всех исследованных образцов.

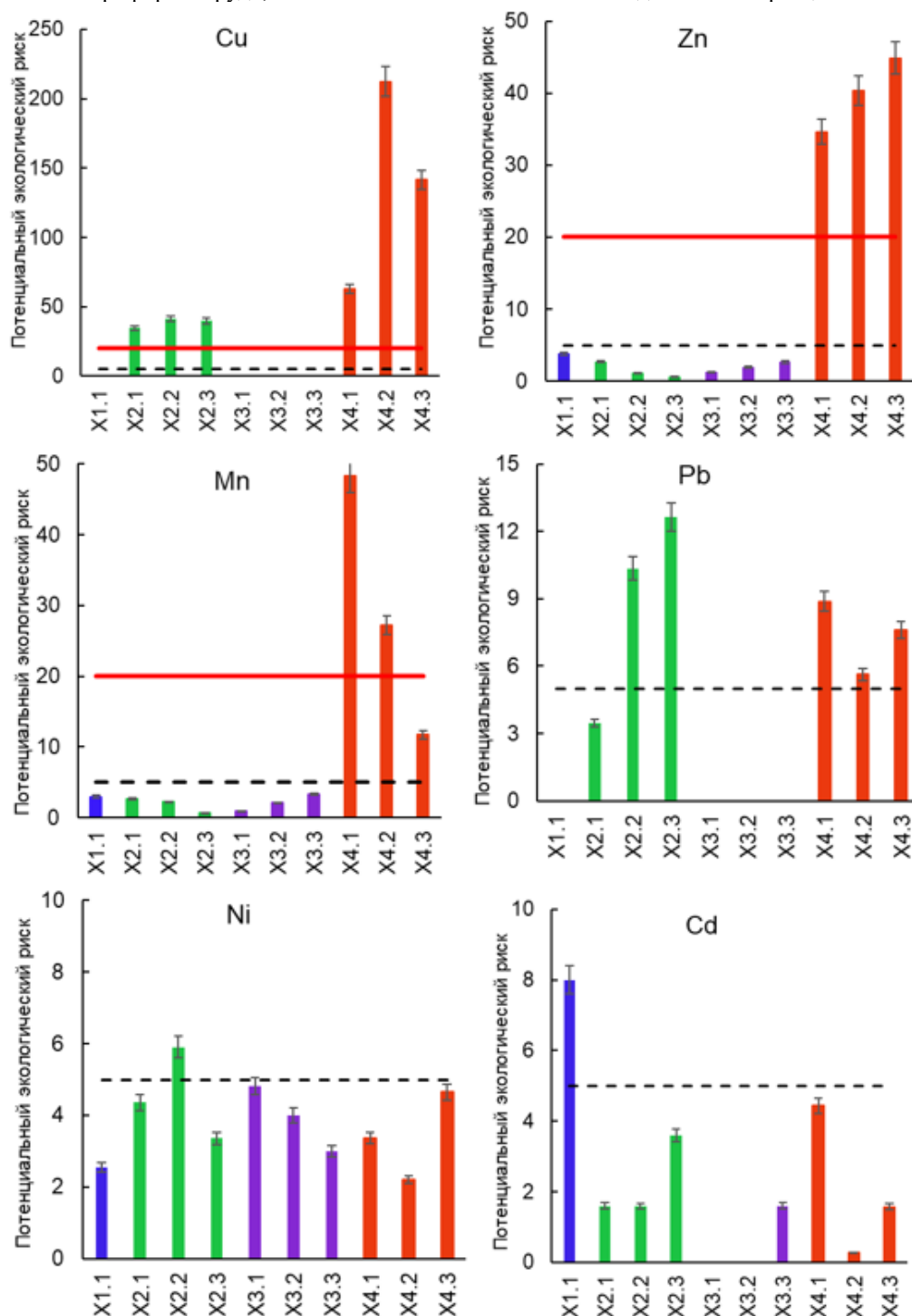


Рис. 3. Показатели экологического риска исследованных образцов побочных продуктов животноводства и птицеводства. Пунктирной линией отмечен уровень значительного экологического риска, сплошной красной линией – уровень высокого экологического риска

[Environmental risk indicators for the studied livestock and poultry by-product samples. The dotted line indicates significant environmental risk; the red line indicates high environmental risk]

Индекс потенциального экологического риска позволяет оценить в целом, насколько опасно применение в качестве удобрения побочного продукта животноводства/птицеводства (рис. 4).

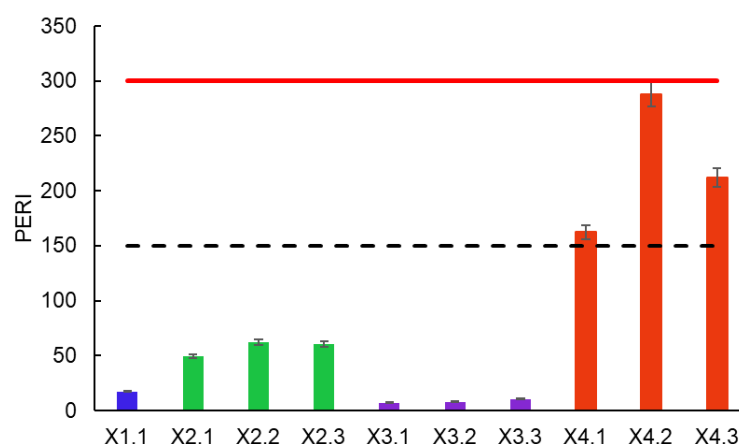


Рис. 4. Индекс потенциального экологического риска (интегральный показатель) исследованных образцов побочных продуктов животноводства и птицеводства. Пунктирной линией отмечен уровень значительного экологического риска, сплошной красной линией – уровень высокого экологического риска

[Potential environmental risk index (integrated indicator) for the studied livestock and poultry by-product samples. The dotted line indicates significant environmental risk, and the red line indicates high environmental risk]

Из полученных результатов можно заключить, что образцы навоза не представляют экологической опасности, так как значения PERI находятся в диапазоне $7.0\text{--}62.4 \pm 0.3$, что соответствует низкому уровню риска. Побочный продукт птицеводства вне зависимости от срока компостирования характеризуется средним уровнем экологического риска ($\text{PERI} = 162.3\text{--}211.8 \pm 0.4$). Дисперсионный анализ показал сложную зависимость между содержанием тяжелых металлов, сроком компостирования и уровнем экологического риска побочных продуктов хозяйств Пермского края.

Показано, что длительное интенсивное внесение органических удобрений способно приводить к значительному накоплению меди и цинка в почве, особенно на сельскохозяйственных угодьях вблизи районов интенсивного животноводства [Duan, Feng, 2021; Liu et al., 2014]. Несмотря на то, что эти элементы относятся к числу необходимых микроэлементов, их чрезмерное накопление может негативно повлиять на структуру почвенного микробного сообщества, ферментативную активность и рост сельскохозяйственных культур. Кроме того, Cu и Zn способны мигрировать по пищевым цепям, представляя потенциальную угрозу для стабильности экосистем и здоровья человека. Следовательно, наряду с приоритетным контролем за кадмием, медь и цинк должны быть включены в системы долгосрочного мониторинга и оценки экологических рисков, что требует внедрения комплексных стратегий, направленных на одновременный контроль нескольких металлов. Для прогнозирования долгосрочных сценариев экологического риска необходимо учитывать агротехнические факторы (частоту и объемы внесения удобрений, плотность поголовья, структуру севооборота), а также региональные особенности, такие как климатические условия и свойства почв. Например, в районах с кислыми почвами может наблюдаться дополнительное увеличение подвижности и биодоступности тяжелых металлов, что способно усугублять экологические риски [Pan et al., 2024].

Заключение

Органические удобрения, получаемые из отходов агропромышленного комплекса, являются важным источником питательных элементов для растений, однако, наряду с другими загрязнителями, они могут содержать факторы химического загрязнения окружающей среды, что определяет их качество и потенциальное воздействие на экосистемы. В настоящем исследовании впервые проведена оценка возможных экологических рисков побочных продуктов животноводческих и птицеводческих комплексов Пермского края (Россия). Установлено, что исследованные образцы содержат значительное количество щелочных и щелочноземельных металлов, а также в них присутствуют тяжелые металлы. Поскольку нормативы содержания большей части тяжелых металлов установлены непосредственно для сельскохозяйственных почв, а не для самих органических удобрений, оценить безопасность исследованных образцов путем прямого сравнения с ПДК (за исключением четырех металлов) не представляется возможным. Расчет показателей потенциального экологического риска позволил установить, что применение куриного помета, вне зависимости от срока компостирования, несет средний уровень экологического риска, тогда как побочный продукт животноводческих производств характеризуется низким уровнем экологического риска. Таким образом, удобрения, полученные на основе отходов животноводства, могут рассматриваться как

предпочтительные для безопасного использования в сельском хозяйстве региона. Результаты исследования предоставляют основу для контроля загрязнения почвы сельскохозяйственных угодий тяжелыми металлами, выявления источников загрязнения и разработки комплекса природоохранных мероприятий.

Список источников

1. Богатырева Е.Н. и др. Агроэкологическая оценка нагрузок жидкого навоза КРС и свиных навозных стоков на содержание тяжелых металлов в дерново-подзолистых почвах в зоне влияния животноводческих комплексов // Почвоведение и агрохимия. 2018. Т. 1, № 60. С. 126–142. EDN: RDRYOI
2. Глеба О.В. Экологические проблемы животноводческой отрасли // Аграрное и земельное право. 2019. № 7. С. 67–72. EDN: DKYKOK
3. Касым Р.Т. и др. Экологические аспекты и влияние на изменения окружающей среды некоторых полезных элементов и опасных тяжелых металлов в овечьем и коровьем навозе // Вестник КазАТК. 2023. Т. 3, № 126. С. 479–489. DOI: 10.52167/1609-1817-2023-126-3-479-489.
4. Мерзлая Г.Е., Замана С.П., Соколов А.В. Тяжелые металлы в системе органическое удобрение-почва-растение // Плодородие. 2009. № 2. С. 49–50. EDN: KYPJZV
5. О побочных продуктах животноводства и о внесении изменений в отдельные законодательные акты Российской Федерации. ФЗ от 14.07.2022, № 248-ФЗ.
6. РД 52.18.286-91. Методика выполнения измерений массовой доли водорастворимых форм металлов (меди, свинца, цинка, никеля, кадмия, кобальта, хрома, марганца) в пробах почвы атомно-абсорбционным анализом. М., 1991.
7. Abdu N., Abdullahi A.A., Abdulkadir A. Heavy metals and soil microbes // Environ. Chem. Lett. 2017. Vol. 15. P. 65–84. DOI: 10.1007/s10311-016-0587-x. EDN: YVUCGL
8. Aponte A.N. et al. Meta-analysis of heavy metal effects on soil enzyme activities // Sci. Total Environ. 2020. Vol. 737. Art. 139744. DOI: 10.1016/j.scitotenv.2020.139744. EDN: TETIFW
9. Belyaeva O.N., Haynes R.J., Birukova O.A. Barley yield and soil microbial and enzyme activities as affected by contamination of two soils with lead, zinc or copper // Biol. Fert. Soils. 2005. Vol. 41, P. 85–94. DOI: 10.1007/s00374-004-0820-9. EDN: LJCURZ
10. Duan B., Feng Q. Comparison of the Potential Ecological and Human Health Risks of Heavy Metals from Sewage Sludge and Livestock Manure for Agricultural Use // Toxics. 2021. Vol. 9, № 7. Art. 145. DOI: 10.3390/toxics9070145. EDN: ZKHQEX
11. Ejaz U. et al. Integrative data-driven analytics for assessing ecological and human health risks of soil heavy metal contamination // Journal of Hazardous Materials Advances. 2025. Vol. 17. Art. 100596. DOI: 10.1016/j.hazadv.2025.100596.
12. Gans J., Wolinsky M., Dunbar J. Computational improvements reveal great bacterial diversity and high metal toxicity in soil // Science. 2005. Vol. 309. P. 1387–1390. DOI: 10.1126/science.1112665.
13. González Henao S., Ghneim-Herrera T. Heavy Metals in soils and the remediation potential of bacteria associated with the plant microbiome // Front. Environ. Sci. 2021. Vol. 9. Art. 604216. DOI: 10.3389/fenvs.2021.604216.
14. Håkanson L. An ecological risk index for aquatic pollution control. a sedimentological approach // Water Research. 1980. Vol. 14, № 8. P. 975–1001. DOI: 10.1016/0043-1354(80)90143-8.
15. Hao X. et al. Migration and risk assessment of heavy metals from swine manure in an organic fertilizer – soil – ryegrass – rex rabbit system: Based on field trials // Sci. Total Environ. 2025. Vol. 959. Art. 178332. DOI: 10.1016/j.scitotenv.2024.178332. EDN: RHXFWV
16. Islam M.S. et al. Spatial assessment and ecological risk evaluation of soil heavy metal contamination using multivariate statistical techniques // CATENA. 2025. Vol. 261. Art. 109550. DOI: 10.1016/j.catena.2025.109550. EDN: EBVWMX
17. Li X. et al. Scenario Analysis of Heavy Metal Ecological Risk in Cropland Soils from Livestock and Poultry Manure Application: A Case Study of Hunan Province, China // Agronomy. 2025. Vol. 15. Art. 2841. DOI: 10.3390/agronomy15122841. EDN: CUPDHI
18. Liu Q. et al. Characteristics of Toxic Metal Accumulation in Farmland in Relation to Long-Term Chicken Manure Application in the Yangtze River Delta Region, China // Bull. Environ. Contam. Toxicol. 2014. Vol. 92. P. 279–284. DOI: 10.1007/s00128-014-1204-y. EDN: TVARCU
19. More S., Dhakate R. Geogenic and anthropogenic sources of heavy metals in soil: An ecological and health risk assessment in the granitic terrain of South India // CATENA. 2025. Vol. 254. Art. 108960. DOI: 10.1016/j.catena.2025.108960. EDN: OFMBSA
20. Nunes I. et al. Coping with copper: legacy effect of copper on potential activity of soil bacteria following a century of exposure // FEMS Microbiol. Ecol. 2016. Vol. 92. Art. fiw175. DOI: 10.1093/femsec/fiw175.

21. Pan S.F. et al. Influence of landform, soil properties, soil Cd pollution and rainfall on the spatial variation of Cd in rice: Contribution and pathway models based on big data // *Sci. Total Environ.* 2024. Vol. 912. Art. 168687. DOI: 10.1016/j.scitotenv.2023.168687. EDN: BLHJSO
22. Segat J.C. et al. Disentangling the effects of the aqueous matrix on the potential toxicity of liquid pig manure in sub-tropical soils under semi-field conditions // *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 2019. Vol. 168. P. 457–465. DOI: 10.1016/j.ecoenv.2018.10.08.
23. Segat J.C. et al. Increasing level of liquid pig manure reduces *Eisenia Andrei* and *Enchytraeus crypticus* reproduction in subtropical soils // *Sci. Rep.* 2020. Vol. 10. Art. 10687. DOI: 10.1038/s41598-020-67360-4. EDN: RCJEYZ
24. Soleimani H. et al. Ecological risk assessment and heavy metals accumulation in agriculture soils irrigated with treated wastewater effluent, river water, and well water combined with chemical fertilizers // *Heliyon.* 2023. Vol. 9, № 3. Art. e14580. DOI: 10.1016/j.heliyon.2023.e14580. EDN: VAXBZS
25. Tuchkova L.E. et al. Assessing the Impact of Industrial Poultry Waste on the Soil Cover // *IOP Conf. Ser.: Earth Environ. Sci.* 2021. Vol. 666. Art. 022005. DOI: 10.1088/1755-1315/666/2/022005. EDN: JVBZTR
26. Wang Y. et al. Plant growth-promoting bacteria in metal contaminated soil: Current perspectives on remediation mechanisms // *Front. Microbiol.* 2022. Vol. 13. Art. 966226. DOI: 10.3389/fmicb.2022.966226. EDN: SMTJJX
27. Wei M. et al. Migration characteristics and human health risk assessment of selenium and heavy metals in rhizosphere soil-crop system in high geological background area of southern Qinling Mountains: A case study of Shiquan County, Shaanxi, China // *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 2025. Vol. 294. Art. 118013. DOI: 10.1016/j.ecoenv.2025.118013. EDN: VTSSCC
28. Wu S. et al. Influence of continuous fertilization on heavy metals accumulation and microorganism communities in greenhouse soils under 22 years of long-term manure organic fertilizer experiment // *Sci. Total Environ.* 2025. Vol. 959. Art. 178294. DOI: 10.1016/j.scitotenv.2024.178294. EDN: BBRAPK
29. Xie Y. et al. Effect of Heavy metals pollution on soil microbial diversity and bermudagrass genetic variation // *Front. Plant Sci.* 2016. Vol. 7. Art. 755. DOI: 10.3389/fpls.2016.00755.
30. Yeboah J., Shi G., Shi W. Effect of Heavy Metal Contamination on Soil Enzymes Activities // *J. Geosci. Environ. Prot.* 2021. Vol. 9. P. 135–154. DOI: 10.4236/gep.2021.96008. EDN: IMGGGE
31. Zhang L. et al. Decoupling total accumulation from ecological and health risks: speciation stabilization of heavy metal(loid)s in soil-maize systems under 16-year application of various organic fertilizers // *Environment International.* 2025a. Vol. 204. Art. 109830. DOI: 10.1016/j.envint.2025.109830. EDN: SMNBOY
32. Zhang L. et al. Heavy metal (loid) s accumulation and human health risk assessment in wheat after long-term application of various urban and rural organic fertilizers // *Sci. Total Environ.* 2025b. Vol. 961. Art. 178389. DOI: 10.1016/j.scitotenv.2025.178389. EDN: KJXYNE

References

1. Bogatyreva E.N., Seraya T.M., Yukhnovets A.V., Kirdun T.M., Torchilo M.M. [Agroecological assessment of the loads of liquid cattle manure and pig manure runoff on the content of heavy metals in sod-podzolic soils in the zone of influence of livestock complexes]. *Počvovedenie i agrochimija.* V. 1, No. 60 (2018): pp. 126–142. (In Russ.).
2. Gleba O.V. [Environmental problems of the livestock industry]. *Agrarnoe i zemel'noe pravo.* No. 7 (2019): pp. 67–72. (In Russ.). EDN: DKYKOK
3. Kasym R.T., Baimukhanbetov A.B., Ermoldina G.T., Isakhanov M.Zh., Tshkmoldaev A.B. [Ecological aspects and influence on environmental changes of some useful elements and dangerous heavy metals in sheep and cow manure]. *Vestnik KazATK.* V. 3, No. 126 (2023): pp. 479–489. (In Russ.). DOI: 10.52167/1609-1817-2023-126-3-479-489.
4. Merzlaya G.E., Zamana S.P., Sokolov A.V. [Heavy metals in the organic fertilizer-soil-plant system]. *Plodorodie.* No. 2 (2009): pp. 49–50. (In Russ.). EDN: KYPJZV
5. Federal Law of July 14, 2022 No. 248-FZ «On Livestock By-Products and Amendments to Certain Legislative Acts of the Russian Federation». (In Russ.).
6. RD 52.18.286-91. Methodology for measuring the mass fraction of water-soluble forms of metals (copper, lead, zinc, nickel, cadmium, cobalt, chromium, manganese) in soil samples using atomic absorption analysis. Moscow, 1991. Available at: <https://base.garant.ru/71178766/>. (In Russ.).
7. Abdu N., Abdullahi A.A., Abdulkadir A. Heavy metals and soil microbes. *Environ. Chem. Lett.* V. 15 (2017): pp. 65–84. DOI: 10.1007/s10311-016-0587-x.
8. Aponte A.N., Meli P., Butler B., Paolin J., Matus F.J., Merino K. et al. Meta-analysis of heavy metal effects on soil enzyme activities. *Sci. Total Environ.* V. 737 (2020). Art. 139744. DOI: 10.1016/j.scitotenv.2020.139744.

9. Belyaeva O.N., Haynes R.J., Birukova O.A. Barley yield and soil microbial and enzyme activities as affected by contamination of two soils with lead, zinc or copper. *Biol. Fert. Soils*. V. 41 (2005): pp. 85-94. DOI: 10.1007/s00374-004-0820-9.
10. Duan B., Feng Q. Comparison of the Potential Ecological and Human Health Risks of Heavy Metals from Sewage Sludge and Livestock Manure for Agricultural Use. *Toxics*. V. 9, No. 7 (2021). Art. 145. DOI: 10.3390/toxics9070145.
11. Ejaz U., Khan S.M., Shah S.F.A., Khalid N., Jehangir S., Rizvi Z.F., Svenning J.-C. Integrative data-driven analytics for assessing ecological and human health risks of soil heavy metal contamination. *Journal of Hazardous Materials Advances*. V. 17 (2025). Art. 100596. DOI: 10.1016/j.hazadv.2025.100596.
12. Gans J., Wolinsky M., Dunbar J. Computational improvements reveal great bacterial diversity and high metal toxicity in soil. *Science*. V. 309 (2005): pp. 1387-1390. DOI: 10.1126/science.1112665.
13. González Henao S., Ghneim-Herrera T. Heavy Metals in soils and the remediation potential of bacteria associated with the plant microbiome. *Front. Environ. Sci.* Vol. 9 (2021). Art. 604216. DOI: 10.3389/fenvs.2021.604216.
14. Hakanson L. An ecological risk index for aquatic pollution control: a sedimentological approach. *Water Research*. V. 14, No. 8 (1980): pp. 975-1001. DOI: 10.1016/0043-1354(80)90143-8.
15. Hao X., Liu K., Zhu L., Rong L., Jiang D., Bai L. Migration and risk assessment of heavy metals from swine manure in an organic fertilizer – soil – ryegrass – rex rabbit system: Based on field trials. *Sci. Total Environ.* V. 959 (2025): art. 178332. DOI: 10.1016/j.scitotenv.2024.178332.
16. Islam M.S., Hassan F.U., Toriman M.E., Ahmad R., Bashir M.A., Rehim A. et al. Spatial assessment and ecological risk evaluation of soil heavy metal contamination using multivariate statistical techniques. *CATENA*. V. 261 (2025). Art. 109550. DOI: 10.1016/j.catena.2025.109550.
17. Li X., Yang L., Qi J., Xu J., Zhang X., Zhao J. et al. Scenario Analysis of Heavy Metal Ecological Risk in Cropland Soils from Livestock and Poultry Manure Application: A Case Study of Hunan Province, China. *Agronomy*. V. 15 (2025). Art. 2841. DOI: 10.3390/agronomy15122841.
18. Liu Q., Sun X., Hu A., Zhang Y., Cao Z. Characteristics of Toxic Metal Accumulation in Farmland in Relation to Long-Term Chicken Manure Application: A Case Study in the Yangtze River Delta Region, China. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* V. 92 (2014): pp. 279-284. DOI: 10.1007/s00128-014-1204-y.
19. More S., Dhakate R. Geogenic and anthropogenic sources of heavy metals in soil: An ecological and health risk assessment in the granitic terrain of South India. *CATENA*. V. 254 (2025). Art. 108960. DOI: 10.1016/j.catena.2025.108960.
20. Nunes I., Jacquioud S., Brejnrod A., Holm P.E., Johansen A., Brandt K.K. Coping with copper: legacy effect of copper on potential activity of soil bacteria following a century of exposure. *FEMS Microbiol. Ecol.* V. 92 (2016). Art. fiw175. DOI: 10.1093/femsec/fiw175.
21. Pan S.F., Ji X.H., Liu X.L., Xie Y.H., Xiao S.Y., Tian F.X. et al. Influence of landform, soil properties, soil Cd pollution and rainfall on the spatial variation of Cd in rice: Contribution and pathway models based on big data. *Sci. Total Environ.* V. 912 (2024). Art. 168687. DOI: 10.1016/j.scitotenv.2023.168687.
22. Segat J.C., Baretta D., Oliveira Filho L.C.I., Sousa J.P., Klauber Filho O. Disentangling the effects of the aqueous matrix on the potential toxicity of liquid pig manure in sub-tropical soils under semi-field conditions. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* V. 168 (2019): pp. 457-465. DOI: 10.1016/j.ecoenv.2018.10.08.
23. Segat J.C., Sousa J.P., Baretta D., Klauber-Filho O. Increasing level of liquid pig manure reduces *Eisenia Andrei* and *Enchytraeus crypticus* reproduction in subtropical soils. *Sci. Rep.* V. 10 (2020). Art. 10687. DOI: 10.1038/s41598-020-67360-4.
24. Soleimani H., Mansouri B., Kiani A., Omer A.K., Tazik M., Ebrahimzadeh G. et al. Ecological risk assessment and heavy metals accumulation in agriculture soils irrigated with treated wastewater effluent, river water, and well water combined with chemical fertilizers. *Heliyon*. V. 9, No. 3 (2023). Art. e14580. DOI: 10.1016/j.heliyon.2023.e14580.
25. Tuchkova L.E., Verkhovets A., Tikhoykina I.M., Chuvashева E.S. Assessing the Impact of Industrial Poultry Waste on the Soil Cover. *IOP Conf. Ser.: Earth Environ. Sci.* V. 666 (2021). Art. 022005. DOI: 10.1088/1755-1315/666/2/022005.
26. Wang Y., Narayanan M., Shi X., Chen X., Li Z., Natarajan D., Ma Y. Plant growth-promoting bacteria in metal contaminated soil: Current perspectives on remediation mechanisms. *Front. Microbiol.* V. 13 (2022). Art. 966226. DOI: 10.3389/fmicb.2022.966226.
27. Wei M., Pan A., Ma R., Wang H. Migration characteristics and human health risk assessment of selenium and heavy metals in rhizosphere soil-crop system in high geological background area of southern Qinling Mountains: A case study of Shiquan County, Shaanxi, China. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* V. 294 (2025). Art. 118013. DOI: 10.1016/j.ecoenv.2025.118013.
28. Wu S., Li K., Diao T., Sun Y., Sun T., Wang C. Influence of continuous fertilization on heavy metals accumulation and microorganism communities in greenhouse soils under 22 years of long-term manure organic fertilizer experiment. *Sci. Total Environ.* V. 959 (2025). Art. 178294. DOI: 10.1016/j.scitotenv.2024.178294.

29. Xie Y., Fan J., Zhu W., Amombo E., Lou Y., Chen L., Fu J. Effect of Heavy metals pollution on soil microbial diversity and bermudagrass genetic variation. *Front. Plant Sci.* V. 7 (2016). Art. 755. DOI: 10.3389/fpls.2016.00755.

30. Yeboah J., Shi G., Shi W. [Effect of Heavy Metal Contamination on Soil Enzymes Activities]. *J. Geosci. Environ. Prot.* V. 9 (2021); pp. 135-154. DOI: 10.4236/gep.2021.96008.

31. Zhang L., Xue W., Sun Q., Liu B., Hu Y., Sun H. et al. Decoupling total accumulation from ecological and health risks: speciation stabilization of heavy metal(loid)s in soil-maize systems under 16-year application of various organic fertilizers. *Environment International.* V. 204 (2025). Art. 109830. DOI: 10.1016/j.envint.2025.109830.

32. Zhang L., Xue W., Sun H., Sun Q., Hu Y., Wu R. et al. Heavy metal (loid) s accumulation and human health risk assessment in wheat after long-term application of various urban and rural organic fertilizers. *Sci. Total Environ.* V. 961 (2025). Art. 178389. DOI: 10.1016/j.scitotenv.2025.178389.

Статья поступила в редакцию 05.03.2026; одобрена после рецензирования 13.04.2026; принята к публикации 01.06.2026.

The article was submitted 05.03.2026; approved after reviewing 13.04.2026; accepted for publication 01.06.2026.

Информация об авторах

Дарья Олеговна Егорова – daryao@rambler.ru, д-р биол. наук, доцент, старший научный сотрудник лаборатории микробиологии техногенных экосистем;

Татьяна Денисовна Кирьянова – kitadi2101@gmail.com, научный сотрудник лаборатории микробиологии техногенных экосистем;

Адель Разилевна Мансурова – mansurova.adel@mail.ru, магистрант;

Дарья Андреевна Кочергина – kocdas@yandex.ru, лаборант лаборатории молекулярной биотехнологии, магистрант Пермского национального исследовательского политехнического университета;

Марина Валентиновна Кузнецова – mar19719@yandex.ru, д-р мед. наук, профессор, ведущий научный сотрудник лаборатории молекулярной биотехнологии.

Information about the authors

Darya O. Egorova – daryao@rambler.ru, Dr. Sci. (Biology), Associate Professor, Senior Researcher, Laboratory of technogenic ecosystems microbiology;

Tatyana D. Kir'yanova – kitadi2101@gmail.com, research fellow, Laboratory of technogenic ecosystems microbiology;

Adel R. Mansurova – mansurova.adel@mail.ru, master's student at Perm State University;

Daria A. Kochergina – kocdas@yandex.ru, Laborant of the Laboratory of molecular biotechnology, master's student at Perm National Research Polytechnic University;

Marina V. Kuznetsova – mar19719@yandex.ru, Dr.Sc. (Medicine), Professor, the Leader Reseacher of the Laboratory of molecular biotechnology.

Вклад авторов:

Егорова Д. О. – расчет рисков; обработка результатов; подготовка статьи.

Кирьянова Т. Д. – анализ образцов на наличие металлов.

Мансурова А. Р. – обработка результатов; подготовка картографического материала.

Кочергина Д. А. – отбор образцов; подготовка статьи.

Кузнецова М. В. – анализ результатов; подготовка статьи.

Contribution of the authors:

Egorova D. O. – risk calculation; results processing; article preparation.

Kir'yanova T. D. – sample analysis for metals.

Mansurova A. R. – results processing; cartographic material preparation.

Kochergina D. A. – sample collection; manuscript preparation.

Kuznetsova M. V. – results analysis; manuscript preparation.

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

The authors declare no conflicts of interests.

ИММУНОЛОГИЯ

Обзорная статья

УДК 616-002:571.27

EDN: PVNTTO

<http://dx.doi.org/10.17072/1994-9952-2026-2-213-224>



Современные подходы к управлению фенотипическим балансом макрофагов для модуляции иммунитета при хроническом воспалении

**Наталья Владиславовна Колесникова¹, Глеб Павлович Чупрынин¹,
Карина Игоревна Мелконян¹**

¹ Кубанский государственный медицинский университет Министерства здравоохранения Российской Федерации, Краснодар, Россия

Автор, ответственный за переписку: Глеб Павлович Чупрынин, chupryningp@ksma.ru

Аннотация. Заживление ран кожного покрова представляет собой каскад сложных биологических процессов, обеспечивающих восстановление тканей, одним из ключевых звеньев которого является поляризация макрофагов, регулирующая переход от воспалительного к противовоспалительному состоянию. Нарушения этого процесса приводят к хроническому воспалению, фиброзу и затягиванию восстановления тканей. Современные исследования, направленные на коррекцию микроокружения в раневом ложе посредством иммуномодуляции, сосредоточены на использовании цитокинов и факторов роста, таких как IL-4, IL-10, PDGF, VEGF, IGF-1, FGF-10 и др., для модуляции активности макрофагов. Все эти биомолекулы, включенные в наноматериалы и системы доставки, способствуют ускорению заживления, снижению рубцевания и регулированию воспаления. В онкологии и воспалительных заболеваниях также изучается возможность переключения макрофагов между M1/M2 фенотипами для достижения терапевтических целей. Эффективность таких подходов повышается за счет использования современных носителей, обеспечивающих целевую доставку и регуляцию высвобождения цитокинов. В данной работе рассматриваются современные достижения применения цитокинов и факторов роста включенных в различные системы для модуляции макрофагов и их фенотипов, и использования их для разработки персонализированных и эффективных методов лечения как различных патологий, так и в особенности поврежденный кожного покрова.

Ключевые слова: цитокины, иммуномодуляция, иммунные клетки, активация макрофагов

Для цитирования: Колесникова Н. В., Чупрынин Г. П., Мелконян К. И. Современные подходы к управлению фенотипическим балансом макрофагов для модуляции иммунитета при хроническом воспалении // Вестник Пермского университета. Сер. Биология. 2026. Т. 17, вып. 2. С. 213–224. <http://dx.doi.org/10.17072/1994-9952-2026-2-213-224>.

IMMUNOLOGY

Review article

Contemporary strategies for modulating immune response by regulating the M1/M2 macrophage phenotype balance through cytokines and growth factors

Natalia V. Kolesnikova¹, Gleb P. Chuprynin¹, Karina I. Melkonian¹

¹ Kuban State Medical University, Krasnodar, Russia

Corresponding author: Gleb P. Chuprynin, chupryningp@ksma.ru

Abstract. Skin wound healing is a cascade of complex biological processes that ensure tissue repair, one of the key mechanisms being macrophage polarization, which regulates the transition from a pro-inflammatory to an anti-inflammatory state. Disruptions in this process lead to chronic inflammation, fibrosis, and delayed tissue recovery. Current research aimed at modifying the wound bed microenvironment through immunomodulation focuses on the use of cytokines and growth factors such as IL-4, IL-10, PDGF, VEGF, IGF-1, FGF-10, and others to modulate macrophage activity. All these biomolecules, when incorporated into nanomaterials and delivery systems, help accelerate healing, reduce scarring, and regulate inflammation. In oncology and inflammatory diseases, the possibility

of switching macrophages between M1 and M2 phenotypes is also being studied to achieve therapeutic goals. The effectiveness of such approaches is enhanced by the use of modern carriers that ensure targeted delivery and controlled release of cytokines. This work reviews recent advances in the application of cytokines and growth factors incorporated into various systems to modulate macrophages and their phenotypes, as well as their use in developing personalized and effective treatments for various pathologies, particularly skin injuries.

Keywords: cytokines, immunomodulation, immune cells, macrophage activation

For citation: Kolesnikova N. V., Chuprynin G. P., Melkonian K. I. [Contemporary strategies for modulating immune response by regulating the M1/M2 macrophage phenotype balance through cytokines and growth factors]. *Bulletin of Perm University. Biology*. Vol. 17, iss. 2 (2026): pp. 213-224. (In Russ.). <http://dx.doi.org/10.17072/1994-9952-2026-2-213-224>.

Введение

Процесс заживления представляет собой многофакторный и строго регулируемый биологический механизм, в основе которого лежит последовательная смена этапов гемостаза, воспаления и пролиферации [Deng et al., 2024]. При этом механизм восстановления поврежденных тканей представляет собой сложные взаимодействия между иммунными и неиммунными клетками, компонентами внеклеточного матрикса (ВКМ), а также множеством растворимых медиаторов, таких как цитокины, хемокины и факторы роста, формирующие общую сеть, которая играет ключевое значение в регуляции этапов заживления [Tottoli, 2020; Piipponen, Li, Landén, 2020]. В результате нарушения этого механизма затягивается восстановление тканей и повышается риск развития осложнений и инфицирования ран [El Ayad, Jay, Prasai, 2020; Razyeva et al., 2021].

Среди процессов, обеспечивающих динамичное и поэтапное заживление, особое значение имеет поляризация макрофагов – ключевой механизм регуляции микроокружения в раневом ложе. Поляризация макрофагов обеспечивает своевременную смену их фенотипов с провоспалительного на противовоспалительный после устранения патогенов и апоптотических клеток на ранних этапах, что предотвращает избыточное воспаление, способствует завершению процессов очищения раны, а также стимулирует пролиферацию клеток и васкуляризацию для эффективного и полноценного заживления. При этом в случае гиперактивации макрофагов при их дисбалансе или нарушении поляризации происходит сбой регуляции раневого микроокружения, провоцируя хроническое воспаление, повреждение тканей, фиброз и аутоиммунные расстройства [Luo et al., 2024].

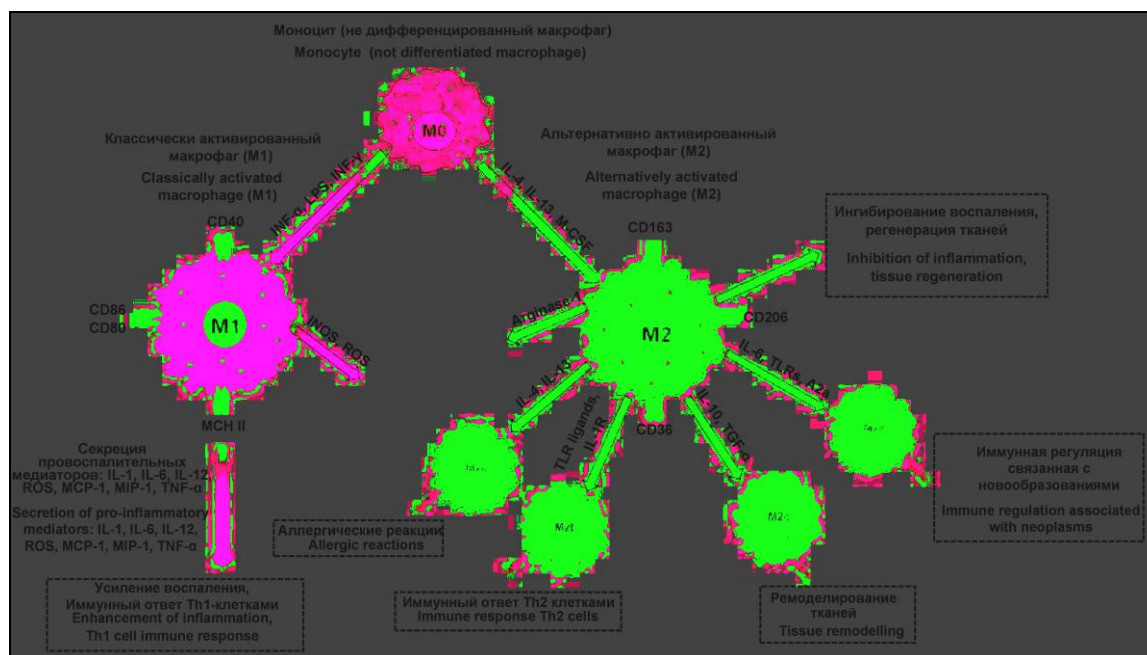
Для коррективки чрезмерного воспаления применяют иммуномодулирующие препараты, которые посредством воздействия на иммунокомпетентные клетки нормализуют иммунный ответ, регулируют выработку цитокинов и восстанавливают баланс цитокинов, тем самым снижая хроническое воспаление и способствуя восстановлению тканевого гомеостаза [Быкова и др., 2023; Нестерова, Халтурина, 2024]. В качестве перспективных агентов для коррекции баланса макрофагов рассматривается применение цитокинов благодаря их иммуномодулирующим свойствам. Они посредством модуляции сигнальных путей, регуляции транскрипционных факторов (NF-κB, STAT1/STAT6) и координации межклеточных взаимодействий способны направлять дифференцировку макрофагов в провоспалительный или противовоспалительный фенотип [Федоров и др., 2022]. Более подробная схема поляризации фенотипов макрофагов изображена на рисунке.

Дисрегуляция поляризации макрофагов как ключевой фактор хронизации процесса репарации

Макрофаги являются одними из ключевых клеток врожденного иммунитета, обеспечивая при этом распознавание и уничтожение патогенных агентов и участвуя в поддержании гомеостаза [Barman, Koh, 2020]. Особенность этих клеток состоит в их пластичности, в способности к динамической смене своих фенотипов в зависимости от сигналов микроокружения: при преобладании липополисахарида (ЛПС) или гамма-интерферона (IFN-γ) происходит дифференцировка в провоспалительный фенотип (M1), тогда как в случае высокого уровня противовоспалительных цитокинов, например, интерлейкина-4 (IL-4), интерлейкина-10 (IL-10), макрофаги приобретают противовоспалительный фенотип (M2).

Поляризованные макрофаги M1-фенотипа стимулируют воспаление благодаря повышенной экспрессии воспалительных факторов: цитокинов и факторов роста (интерлейкин-1 (IL-1), интерлейкин-6 (IL-6), интерлейкин-12 (IL-12), фактор некроза опухоли-α (TNF-α)), активные формы кислорода (АФК) и индуцибельная синтаза оксида азота (iNOS)), хемокины (моноцитарный хемотаксический белок 1 (MCP-1/CCL2), макрофагальный воспалительный белок 2 (MIP-2/CCL4)) и ферменты (циклооксигеназа 2 (ЦОГ-2)) [Delprat et al., 2020; Ross, Devitt, Johnson, 2021; Yu et al., 2022; Xiaoye et al., 2024]. Помимо этого, макрофаги, преимущественно поляризованные в M1-фенотип, осуществляют антигенпрезентирующую функцию, что играет существенную роль в инициации адаптивного иммунного ответа. Данные клетки реализуют комплексный процесс захвата, процессинга и презентации антигенов посредством молекул главного комплекса гистосовместимости II класса (MHC II), локализованных на клеточной по-

верхности. Костимуляторные молекулы CD40, CD80 и CD86, экспрессируемые на поверхности макрофагов, обеспечивают эффективное взаимодействие с Т-лимфоцитами в ходе реализации антигенпрезентирующей функции.



Общая схема поляризации макрофагов, проиллюстрированная согласно последним представлениям о классификации макрофагов (по Z. H. U. Xiaoye и соавт., а также Y. Yu и соавт. [Yu et al., 2022; Xiaoye et al., 2024])

[General scheme of macrophage polarization (according to Xiaoye Z. H. U. and colleagues; Yu Y. and colleagues); [Yu et al., 2022; Xiaoye et al., 2024]]]

CD40, представляющий собой трансмембранный гликопротеин I типа, экспрессируется на поверхности антигенпрезентирующих клеток, включая макрофаги. Его активация стимулирует продукцию медиаторов воспаления, в частности АФК и IL-12, что определяет направленность поляризации макрофагов в сторону M1-фенотипа [Zhang et al., 2025; Chen et al., 2025]. Рецепторы CD80 и CD86 являются костимулирующими молекулами и совместно с главным комплексом гистосовместимости МНС II обеспечивают презентацию антигена и взаимодействие макрофагов с Т-лимфоцитами. Последнее способствует продуктивному взаимодействию с Т-клетками, особенно с Т-хелперами 1 типа (Th1), что существенно усиливает иммунный ответ против внутриклеточных патогенов, включая вирусы и облигатные бактерии [Chen et al., 2022; Aktay-Cetin et al., 2025].

В то же время поляризация макрофагов в сторону M2-фенотипа происходит под действием ответа Т-хелперов 2 типа (Th2) в виде увеличения концентрации таких цитокинов, как IL-4, интерлейкин-13 (IL-13), а также колониестимулирующего фактора макрофагов (M-CSF). Макрофаги M2-фенотипа характеризуются высокой секрецией аргиназы-1 (Arg-1), которая катализирует превращение L-аргинина в орнитин и мочевину. Данный процесс ингибирует синтез оксида азота (NO), поскольку конкуренция за L-аргинин подавляет активность индуцируемой NO-синтазы (iNOS) [Ishida, 2023; Walvekar, 2025].

CD163 и CD206 представляют собой ключевые маркеры, характеризующие M2-фенотип макрофагов. Данные рецепторы, известные как «рецепторы-мусорщики», участвуют в распознавании и связывании разнообразных лигандов, а также играют важную роль в элиминации патогенов, онкогенных и поврежденных клеток. Главной задачей рецептора CD163 при гемолизе является обеспечение устранения комплексов гемоглобин-гаптоглобин, а также распознавание бактериальных агентов. Его экспрессия увеличивается при повышении уровня IL-10, тогда как IL-4 и IL-13 стимулируют повышение экспрессии CD206 – рецептора маннозы 1 С-типа, способного связывать и обнаруживать широкий спектр лигандов, таких как гормоны, коллаген, манноза, CpG-сигнатуры, аллергены и метаболиты микроорганизмов. Известно, что и CD206, и CD163 принимают участие в эндоцитозе, перемещаясь между эндосомами и клеточной поверхностью [Nielsen et al., 2020]. Кроме этого, они способствуют фагоцитозу и удалению поврежденных клеток, а также секреции противовоспалительных цитокинов и факторов роста, за счет чего осуществляется участие макрофагов M2-фенотипа в процессах регенерации тканей и иммунный гомеостаз [Scopelliti et al., 2021].

В свою очередь макрофаги M2-фенотипа разделяют на разные подтипы (M2a, M2b, M2c, M2d) в зависимости от преобладания различных иммунных медиаторов. Так, повышенный уровень IL-4 и IL-13 приводит к формированию макрофагов M2a, основное предназначение которых – участие в фагоцитозе апопти-

ческих клеток, в аллергических реакциях, иницировании ремоделирования поврежденных тканей и в иммунном ответе Th2-клеток [Zhang, Sioud, 2023; Jinno et al., 2024; Xin et al., 2025].

В роли регуляторных макрофагов выступают макрофаги M2b-подтипа, активация которых реализуется посредством комбинации иммунокомплексов с лигандами IL-1 β Ra/TLR. Данные клетки секретируют как провоспалительные цитокины (IL-6, IL-1 β и TNF- α), так и противовоспалительные цитокины (фактор роста эндотелия сосудов (VEGF), IL-4, IL-10), осуществляя поддержание равновесия в иммунных и воспалительных реакциях [Singer et al., 2024; Kulakova et al., 2024]. Макрофаги M2c-подтипа, известные также как альтернативно активированные / деактивированные макрофаги, занимают ключевое место в поддержании тканевого гомеостаза и разрешении воспалительных реакций. Их подтип характеризуется высокой экспрессией ряда поверхностных рецепторов – CD14, CD169, CD163 и CD206, которые не только служат диагностическими маркерами данного подтипа, но и активно участвуют в реализации его биологических функций. Дифференцировка макрофагов в M2c происходит под воздействием повышенных уровней глюкокортикоидов и IL-10. Приобретая противовоспалительные свойства, эти клетки начинают секретировать трансформирующий фактор роста- β (TGF- β), который эффективно нейтрализует провоспалительную активность макрофагов M1-фенотипа, тем самым сдерживая избыточный воспалительный ответ [Oates et al., 2022; Lee et al., 2025; Shen, Chen, 2025].

Макрофаги M2d, называемые также макрофагами, ассоциированными с опухолью (tumor associated macrophages, TAM), участвуют в процессах ангиогенеза, метастазирования, иммуносупрессии и формирования опухолей. Активация TAM происходит под совокупным действием ряда факторов: высокого уровня цитокинов IL-10, TGF- β и VEGF, взаимодействия с лигандами Toll-подобных рецепторов (TLR), а также связывания с поверхностным рецептором макрофагов M1-фенотипа аденозином 2-го типа (A2AR). Особую значимость приобретает гипоксия, выражаемая как пониженное содержание кислорода в микроокружении опухоли, которое усиливает проопухолевую активность TAM [Gu et al., 2022; Mamilos et al., 2023; Kim et al., 2024].

Ключевой патологической особенностью длительно незаживающих или хронических ран является нарушение скоординированной смены фаз раневого процесса, наблюдается чрезмерное воспаление, преобладание провоспалительных цитокинов, протеаз, наряду с ингибированием процессов ангиогенеза и реэпителизации [Kathawala et al., 2019].

При хроническом воспалении наблюдается два ключевых патологических процесса, связанных с макрофагами. Первый патологический процесс характеризуется дисбалансом фенотипов макрофагов с преобладанием M1-фенотипа, что приводит к избыточной секреции провоспалительных медиаторов, включая АФК, металлопротеиназы (ММП-1, ММП-2, ММП-9) и цитокины (TNF- α , IL-1 β , IL-6) при одновременном снижении уровня их ингибиторов. Вторым процессом является нарушение клеточной кооперации: происходит сбой и утрата взаимодействия между макрофагами и неиммунными клетками (фибробластами, эпителиоцитами, резидентными стволовыми клетками). При этом в ходе длительного воспаления у макрофагов наблюдается снижение их фагоцитарной активности, эффективности устранения чужеродных агентов и апоптотических клеток, повышается секреция провоспалительных цитокинов для привлечения большего количества макрофагов и их стимуляции перехода в M1-фенотип [Aitcheson et al., 2021; Zeng, Liu, 2021; Rehak et al., 2022; Luchian et al., 2022].

Результаты

Современные подходы к использованию лекарственных средств для эффективного заживления, в особенности при хроническом воспалении, включают стратегию модуляции иммунного ответа в микроокружении раны, стимуляции противовоспалительного звена иммунитета для предотвращения хронического воспаления, а также стабилизации соотношения макрофагов и их функционального состояния [Torregrossa et al., 2021; Sharifiaghdam et al., 2022]. Методы регуляции фенотипа макрофагов в хронических ранах характеризуются широким разнообразием, включая применение различных цитокинов, включенных в наноматериалы и биоинженерные конструкции [Joorgabloo, Liu, 2022; Mao et al., 2022; He et al., 2023]. Ниже, в таблице, представлен обзор современных экспериментальных исследований, посвященных использованию цитокинов для модуляции соотношения M1/M2 фенотипов макрофагов.

Регуляция M1/M2-поляризации макрофагов цитокинами
[Cytokine-mediated regulation of M1/M2 macrophage polarization]

Цитокин	Поляризация макрофагов	Линия клеток/животные	Маркеры модуляции	Ссылка
IL-4	M2-фенотип	Макрофаги костного мозга мыши линии C57BL/6	↑ экспрессия CD206; ↓ экспрессия CD86; ↑ уровень IL-10	Tian et al., 2021
IL-4, IFN- γ	M2-фенотип	Макрофаги мыши линии RAW 264.7	↓ уровень IL-6 и TNF- α ; ↑ уровень Arg-1 и IL-10; изменение морфологии типичной для M2-фенотипа	Gao et al., 2018

Цитокин	Поляризация макрофагов	Линия клеток/животные	Маркеры модуляции	Ссылка
IL-4	M2-фенотип	Мононуклеарные клетки периферической крови (МКПК); Макрофаги линии KG-1 и линии J774A	↓ уровень TNF- α , iNOS; ↑ уровень Arg-1 и IL-10; ↑ количество рецепторов CD206, CD163	Shahbazi et al., 2018
IL-10, PDGF, VEGF	M2-фенотип	Макрофаги мыши линии RAW264.7, клетки HUVEC	↓ уровень TNF- α , IL-6 и MCP-1; ↑ экспрессия генов JAK11, STAT32 сигнального пути JAK1, ↓ ингибирование сигнального пути NF- κ B; ↓ экспрессия генов VCAM-13, ICAM-14 и COX-25	Kuan et al., 2025
IGF-1C	M2-фенотип	Перитонеальные макрофаги мышей линии BALB/c/peritoneal macrophages from BALB/c mice	↓ активность миелопероксидазы; ↑ секреция простагландина E2 (PGE ₂); ↑ уровень CD206 и IL-10; ↑ количества CD206 ⁺ клеток и ↓ количества iNOS ⁺ клеток	Cao et al., 2020
IFN- γ	Реполяризация макрофагов с M2-фенотипа в M1-фенотип	Макрофаги линии THP-1	↑ уровень iNOS, TNF- α ; ↑ количества CD80 ⁺ клеток; ↓ количества CD206 ⁺ клеток	Chen et al., 2025
FGF-10	M2-фенотип	Макрофаги линии F4/80+Ly6G	↑ CD206 ⁺ iNOS ⁺ ; ↓ CD206 ⁺ iNOS ⁺ ; ↑ экспрессия генов-медиаторов M2 (Arg-1, TGF- β , YM1/CLP, IL-10, CD163, CD206); ↓ экспрессия NOS2	Feng et al., 2025
		Мыши линии C57BL/6	↓ уровень MIP-2 и секреция IL-1 β , IL-6 и TNF- α ; ↑ общего количества макрофагов	
IL-25 (IL-17E)	M2-фенотип	Моноциты линии THP-1	↓ уровень TNF- α , IL-1 β ; ↑ уровень Arg-1 и CD206; ↑ сигнального пути PI3K/Akt/mTOR	Li et al., 2022
IL-36 α	M1-фенотип	Клетки линии B16-vec; Макрофаги костного мозга линии мышей C57BL/6	↓ экспрессия ARG-1, Ym-1, IL-10 и IL-1R; ↑ экспрессия IL-1 β , IL-6, IL-12, TNF- α и iNOS, NAP-3/ CXCL1, MIP2- α ; ↓ сигнального пути JAK1/STAT6 (↓ уровень фосфорилирования JAK1, STAT6)	Lou et al., 2023
		Мыши C57BL/6	↑ выживаемость мышей при ↑ экспрессии IL-36 α ; сверхэкспрессия IL-36 α ↑ инфильтрацию макрофагами МНС II ^{high} ; ↓ количество CD8 ⁺ клеток, Т-регуляторных клеток	
IL-12	M1-фенотип	Макрофаги RAW264.7 мыши, моноциты лейкоцитарной пленки	↑ уровень IFN- γ и уровень NO; ↑ уровень CD86, IL-10; ↓ уровень CD163	Silveira et al., 2025

Примечание: IL-4 – интерлейкин-4; CCL22 – хемокин 22 мотива С-С; BMSC – стволовые клетки костного мозга; CD206 – маннозный рецептор С 1-го типа; CD86 – костимулирующая молекула, антигенпрезентирующих клеток; IL-10 – интерлейкин-10; Col II – коллаген II типа; IL-6 – интерлейкин – 6; TNF- α – фактор некроза опухоли- α ; Arg-1 – аргиназа-1; iNOS – индуцибельная синтаза оксида азота; CD163 – рецептор-мусорщик специфичный для макрофагов; TLR1 – толл-подобный рецептор 1; TLR8 – толл-подобный рецептор 8; TGF- β 1 – трансформирующий фактор роста- β 1; Col I – коллаген I типа; Col III – коллаген III типа; α -SMA – гладкомышечный α -актин; MMP1 – матриксная металлопротеиназа-1; ERK1 (MAPK3) – белок, участвующий в сигнальном пути MAPK; ERK2 – белок-киназа семейства митоген-активируемых протеинов (MAPK); Akt – протеинкиназа В; MCP-1/CCL2 – моноцитарный хемотаксический белок 1; JAK1 – ген, кодирующий тирозинкиназу человека; STAT3 – сигнальный белок и активатор транскрипции из семейства белков STAT; VCAM-1 – ген, кодирующий белок VCAM-1; ICAM-1 – ген, кодирующий молекулу клеточной адгезии; COX-2 – ген, кодирующий циклооксигеназу-2; VEGF – фактор роста эндотелия сосудов; CD80 – мембранный белок В7, тип I; NOS2 – синтаза оксида азота 2, хитиназоподобный белок 3, YM1/CLP – специфичный для грызунов хитиназоподобный белок; IL-1R – рецептор интерлейкина IL-1; IL-12 – интерлейкин-12; NAP-3/CXCL1 – нейтрофил-активирующий белок 3; MIP2- α /CXCL2 – макрофагальный воспалительный белок 2- α ; MIP2b/CXCL3 – макрофагальный воспалительный белок-2- β ; IL-36 α – интерлейкин-36 α (изоформа IL-36); MIG/CXCL9 – хемоаттрактант Т-клеток; (IP-10/CXCL10) – интерферон- γ -индуцированный белок 10; CCL17 – хемокиновый лиганд 17; NO – оксид азота.

Экспериментальные работы, посвященные методам иммунорегуляции иммунокомпетентных клеток, а именно макрофагов, при лечении различных патологий, представляют собой важный и перспективный подход в современной медицине. Для направленной модуляции поляризации макрофагов в сторону M2-фенотипа применяют как противовоспалительные интерлейкины IL-4 и IL-10 [Gao et al., 2018; Shahbazi et al., 2018; Cao et al., 2020; Tian et al., 2021; Mao et al., 2022; Kuan et al., 2025], так и различные факторы роста, например, фактор роста тромбоцитов (PDGF), инсулиноподобный фактор роста-1 (IGF-1), фактор роста фибробластов-10 (FGF-10), включенные в различные биоматериалы или системы доставки для повышения эффективности их иммуномодуляции [Cao et al., 2020; Lou et al., 2023; Feng et al., 2025].

Воздействие IL-4 на макрофаги различных линий индуцирует их поляризацию в M2-фенотип, что проявляется в росте экспрессии IL-10 и Arg-1 при одновременном подавлении маркеров M1-фенотипа, что делает его перспективным агентом для терапии, направленной на заживление тканей и коррекцию макрофагального дисбаланса [Gao et al., 2018; Shahbazi et al., 2018; Tian et al., 2021]. Комбинация IL-10, PDGF и VEGF оказывает синергический иммуномодулирующий эффект, превосходящий действие каждого фактора в отдельности. Она эффективно подавляет провоспалительный ответ (снижает уровни TNF- α , IL-6 и MCP-1/CCL2) и одновременно активирует прорегенеративные механизмы посредством индукции экспрессии генов JAK1 и STAT3, что стимулирует передачу сигналов через путь JAK1/STAT3 – ключевой регулятор M2-поляризации. Этот комплексный эффект делает указанную комбинацию перспективной для терапии состояний, требующих оптимизации заживления ран, минимизации фиброза, разрешения хронического воспаления или стимуляции ангиогенеза в ишемизированных тканях [Cao et al., 2020]. Поляризация перитонеальных макрофагов мышей линии BALB/c в сторону M2-фенотипа с помощью IGF-1C демонстрировала снижение активности миелопероксидазы, усиления секреции простагландина E₂ (PGE₂), что может быть использовано в качестве перспективного метода для стимуляции репаративных процессов и подавления хронического воспаления в клинических условиях [Chen et al., 2025].

Модуляция макрофагов играет существенную роль в развитии неопластических процессов, что обусловлено увеличением популяции M1-макрофагов и одновременным подавлением M2-макрофагов. Так, например, IFN- γ , добавленный в экзосомы, способствует эффективной реполяризации фенотипов макрофагов линии THP-1 из M2-фенотипа в M1-фенотип. При сравнении с действием свободного IFN- γ данный механизм приводит к более значительному повышению уровней iNOS и TNF- α , увеличению доли CD80⁺-клеток и снижению количества CD206⁺-клеток [Feng et al., 2025].

Применение цитокинов IL-36 α и IL-12 демонстрирует поляризацию макрофагов в сторону M1-фенотипа. Под действием IL-36 α снижается экспрессия маркеров M2-фенотипа (ARG-1, Ym-1, IL-10, IL-1R) и одновременно возрастает продукция провоспалительных медиаторов (IL-1 β , IL-6, IL-12, TNF- α , iNOS), а также хемокинов (CXCL1, CXCL2, CXCL3). В то же время IL-12 индуцирует поляризацию макрофагов в сторону M1-фенотипа благодаря повышению секреции IFN- γ , что выражается в повышении количества оксида азота, снижении уровня IL-10. Смещение соотношения между рецепторами CD86/CD163 в сторону CD86 также демонстрирует преобладание провоспалительного профиля макрофагов, что может быть использовано в стратегиях иммунотерапии, нацеленных на активацию противоопухолевого иммунитета [Li et al., 2022; Lou et al., 2023; Silveira et al., 2025].

Заключение

Цитокины представляют собой высокоэффективный инструмент для модуляции иммунокомпетентных клеток, в частности макрофагов. Их действие характеризуется двойной направленностью, т. к. с одной стороны, они способствуют снижению воспалительных процессов и ускорению регенерации тканей, а с другой – активируют провоспалительные механизмы для борьбы с опухолевыми образованиями и инфекционными агентами. Особую значимость цитокины и факторы роста приобретают благодаря способности точно регулировать баланс между про- и противовоспалительными сигналами. Они контролируют экспрессию ключевых маркеров активации (CD86, CD163, iNOS), модулируют важнейшие сигнальные пути (JAK/STAT, NF- κ B), определяющие функциональное состояние макрофагов, а также координируют взаимодействие между различными клеточными популяциями в зоне повреждения или опухолевого роста. При этом эффективность терапевтического воздействия напрямую зависит от возможности целенаправленного влияния на конкретные клетки-мишени. Так, современные системы доставки, включающие наночастицы и гидрогели, значительно повышают точность и продолжительность воздействия. Однако определяющим фактором успеха терапии остается биологическая активность самих цитокинов и факторов роста. Понимание механизмов их действия открывает путь к принципиально новым методам лечения, что может позволить персонализировать терапию с учетом индивидуальных особенностей пациента, повысить эффективность иммуномодуляции при минимальных побочных эффектах, а также создаст возможность формировать заданное микроокружение тканей для оптимизации процессов регенерации, усиления противоинфекционной защиты и активации противоопухолевого иммунного ответа.

Биологический потенциал цитокинов определяет перспективы современной иммунотерапии и задает вектор развития медицины. Целенаправленная модуляция иммунных реакций с помощью цитокинов и их комбинаций открывает возможности для лечения хронических воспалительных заболеваний, онкологических патологий и иммунодефицитных состояний. Дальнейшее изучение сигнальных путей и регуляторных сетей, в которых участвуют цитокины, позволит создавать более безопасные и эффективные терапевтические стратегии, способные кардинально улучшить прогноз для пациентов с трудноизлечимыми, хроническими ранами.

Список источников

1. Быкова Н.И. и др. Индексная оценка клинической эффективности иммуномодулирующей и остеотропной терапии хронического генерализованного пародонтита различной степени тяжести: проспективное когортное исследование // Кубанский научный медицинский вестник. 2023. Т. 30, № 3. С. 34–43. DOI: 10.25207/1608-6228-2023-30-3-34-43. EDN: FBNFWW
2. Нестерова И.В., Халтурина Е.О. Эффективность дифференцированной таргетной интерфероной иммуномодулирующей терапии, ориентированной на патологические иммунофенотипы, у пациентов с атипичными хроническими активными герпесвирусными инфекциями // Медицинский вестник Юга России. 2024. Т. 15, № 1. С. 165–175. DOI: 10.21886/2219-8075-2024-15-1-165-175. EDN: XLATOE
3. Федоров А.А. и др. Поляризация макрофагов: механизмы, маркеры и факторы индукции // Сибирский онкологический журнал. 2022. Т. 21, № 4. С. 124–136. DOI: 10.21294/1814-4861-2022-21-4-124-136. EDN: LYBKUG
4. Aitcheson S.M et al. Skin wound healing: normal macrophage function and macrophage dysfunction in diabetic wounds // *Molecules*. 2021. Vol. 26, № 16. Art. 4917. DOI: 10.3390/molecules26164917.
5. Aktay-Cetin Ö. et al. Lung tumor immunity: redirecting macrophages through infection-induced inflammation // *Trends in Immunology*. 2025. Vol. 46, № 6. P. 471–484. DOI: 10.1016/j.it.2025.04.004.
6. Barman P.K., Koh T.J. Macrophage dysregulation and impaired skin wound healing in diabetes // *Frontiers in cell and developmental biology*. 2020. Vol. 8. Art. 528. DOI: 10.3389/fcell.2020.00528.
7. Cao X. et al. IGF-1C hydrogel improves the therapeutic effects of MSCs on colitis in mice through PGE2-mediated M2 macrophage polarization // *Theranostics*. 2020. Vol. 10, № 17. P. 7697–7709. DOI: 10.7150/thno.45434.
8. Chen R. et al. Overexpression of CD86 enhances the ability of THP-1 macrophages to defend against *Talaromyces marneffei* // *Immunity, inflammation and disease*. 2022. Vol. 10, № 12. Art. e740. DOI: 10.1002/iid3.740.
9. Chen S. et al. CD40 induces PIR-A+ macrophages to promote chronic allograft rejection // *International Immunopharmacology*. 2025. Vol. 150. Art. 114274. DOI: 10.1016/j.intimp.2025.114274.
10. Chen Y. et al. Engineered IFN γ -loaded exosomes reprogram macrophage polarization and suppress tumor cell proliferation in vitro // *International Immunopharmacology*. 2025. Vol. 162. Art. 115170. DOI: 10.1016/j.intimp.2025.115170.
11. Delprat V. et al. Cyscling hypoxia promotes a pro-inflammatory phenotype in macrophages via JNK/p65 signaling pathway // *Scientific reports*. 2020. Vol. 10, № 1. Art. 882. DOI: 10.1038/s41598-020-57677-5.
12. Deng T. et al. Immunomodulatory effects of curcumin on macrophage polarization in rheumatoid arthritis // *Frontiers in Pharmacology*. 2024. Vol. 15. Art. 1369337. DOI: 10.3389/fphar.2024.1369337.
13. El Ayadi A., Jay J.W., Prasai A. Current approaches targeting the wound healing phases to attenuate fibrosis and scarring // *International journal of molecular sciences*. 2020. Vol. 21, № 3. Art. 1105. DOI: 10.3390/ijms21031105.
14. Feng N. et al. Fibroblast growth factor 10 alleviates LPS-induced acute lung injury by promoting recruited macrophage M2 polarization // *Inflammation*. 2025. Vol. 48, № 4. P. 1828–1838. DOI: 10.1007/s10753-024-02158-4.
15. Gao L. et al. Dual-inflammatory cytokines on TiO₂ nanotube-coated surfaces used for regulating macrophage polarization in bone implants // *Journal of Biomedical Materials Research Part A*. 2018. Vol. 106, № 7. P. 1878–1886. DOI: 10.1002/jbm.a.36391.
16. Gu H. et al. NLRP3 activation in tumor-associated macrophages enhances lung metastasis of pancreatic ductal adenocarcinoma // *Translational Lung Cancer Research*. 2022. Vol. 11, № 5. P. 858–868. DOI: 10.21037/tlcr-22-311.
17. He T. et al. Modulation of macrophage function by bioactive wound dressings with an emphasis on extracellular matrix-based scaffolds and nanofibrous composites // *Pharmaceutics*. 2023. Vol. 5, № 3. Art. 794. DOI: 10.3390/pharmaceutics15030794.
18. Ishida K. et al. Induction of unique macrophage subset by simultaneous stimulation with LPS and IL-4 // *Frontiers in immunology*. 2023. Vol. 14. Art. 1111729. DOI: 10.3389/fimmu.2023.1111729.

19. Jinno M. et al. Involvement of muscarinic M3 receptor in the development of M2 macrophages in allergic inflammation // *International Archives of Allergy and Immunology*. 2024. Vol. 185, № 8. P. 729–738. DOI: 10.1159/000538126.
20. Joorabloo A., Liu T. Recent advances in nanomedicines for regulation of macrophages in wound healing // *Journal of nanobiotechnology*. 2022. Vol. 20, № 1. Art. 407. DOI: 10.1186/s12951-022-01616-1.
21. Kathawala M.H. et al. Healing of chronic wounds: an update of recent developments and future possibilities // *Tissue engineering part B: Reviews*. 2019. Vol. 25, № 5. P. 429–444. DOI: 10.1089/ten.TEB.2019.0019.
22. Kim S.W. et al. Reprogramming of tumor-associated macrophages by metabolites generated from tumor microenvironment // *Animal Cells and Systems*. 2024. Vol. 28, № 1. P. 123–136. DOI: 10.1080/19768354.2024.2336249.
23. Kuan C.H. et al. Immunomodulatory hydrogel orchestrates pro-regenerative response of macrophages and angiogenesis for chronic wound healing // *Biomaterials*. 2025. Vol. 314. Art. 122848. DOI: 10.1016/j.biomaterials.2024.122848.
24. Kulakova K. et al. The contribution of macrophage plasticity to inflammatory arthritis and their potential as therapeutic targets // *Cells*. 2024. Vol. 13, № 18. Art. 1586. DOI: 10.3390/cells13181586.
25. Lee Z.T. et al. Dexamethasone-Induced MerTK+/high M2c Macrophages Exhibit a Preference for Down-regulated Gene Expression Profiles // *Journal of Genomics*. 2025. Vol. 13. Art. 24. DOI: 10.7150/jgen.108648.
26. Li S. et al. IL-25 improves diabetic wound healing through stimulating M2 macrophage polarization and fibroblast activation // *International immunopharmacology*. 2022. Vol. 106. Art. 108605. DOI: 10.1016/j.intimp.2022.108605.
27. Lou X. et al. IL-36 α inhibits melanoma by inducing pro-inflammatory polarization of macrophages // *Cancer Immunology, Immunotherapy*. 2023. Vol. 72, № 9. P. 3045–3061. DOI: 10.1007/s00262-023-03477-5.
28. Luchian I. et al. The role of matrix metalloproteinases (MMP-8, MMP-9, MMP-13) in periodontal and peri-implant pathological processes // *International journal of molecular sciences*. 2022. Vol. 23, № 3. Art. 1806. DOI: 10.3390/ijms23031806.
29. Luo M. et al. Macrophage polarization: an important role in inflammatory diseases // *Frontiers in immunology*. 2024. Vol. 15. Art. 1352946. DOI: 10.3389/fimmu.2024.1352946.
30. Mamilos A. et al. Macrophages: from simple phagocyte to an integrative regulatory cell for inflammation and tissue regeneration-a review of the literature // *Cells*. 2023. Vol. 12, № 2. Art. 276. DOI: 10.3390/cells12020276.
31. Mao J. et al. Advanced biomaterials for regulating polarization of macrophages in wound healing // *Advanced Functional Materials*. 2022. Vol. 32, № 12. Art. 2111003. DOI: 10.1002/adfm.202111003.
32. Nielsen M.C. et al. Macrophage activation markers, CD163 and CD206, in acute-on-chronic liver failure // *Cells*. 2020. Vol. 9, № 5. Art. 1175. DOI: 10.3390/cells9051175.
33. Oates T.C.L. et al. Characterizing the polarization continuum of macrophage subtypes M1, M2a and M2c // *BioRxiv*. 2022. Art. 95868. DOI: 10.1101/2022.06.13.495868.
34. Piipponen M., Li D., Landén N.X. The immune functions of keratinocytes in skin wound healing // *International journal of molecular sciences*. 2020. Vol. 21, № 22. Art. 8790. DOI: 10.3390/ijms21228790.
35. Raziyeve K. et al. Immunology of acute and chronic wound healing // *Biomolecules*. 2021. Vol. 11, № 5. Art. 700. DOI: 10.3390/biom11050700.
36. Rehak L. et al. The immune-centric revolution in the diabetic foot: monocytes and lymphocytes role in wound healing and tissue regeneration-a narrative review // *Journal of Clinical Medicine*. 2022. Vol. 11, № 3. Art. 889. DOI: 10.3390/jcm11030889.
37. Ross E.A., Devitt A., Johnson J.R. Macrophages: the good, the bad, and the gluttony // *Frontiers in immunology*. 2021. Vol. 12. Art. 708186. DOI: 10.3389/fimmu.2021.708186.
38. Scopelliti F. et al. Platelet lysate converts M (IFN γ + LPS) macrophages in CD206+ TGF- β + arginase+ M2-like macrophages that affect fibroblast activity and T lymphocyte migration // *Journal of Tissue Engineering and Regenerative Medicine*. 2021. Vol. 15, № 9. P. 788–797. DOI: 10.1002/term.3229.
39. Shahbazi M.A. et al. Targeted reinforcement of macrophage reprogramming toward M2 polarization by IL-4-loaded hyaluronic acid particles // *ACS Omega*. 2018. Vol. 3, № 12. P. 18444–18455. DOI: 10.1021/acsomega.8b03182.
40. Sharifiaghdam M. et al. Macrophages as a therapeutic target to promote diabetic wound healing // *Molecular Therapy*. 2022. Vol. 30, № 9. P. 2891–2908. DOI: 10.1016/j.ymthe.2022.07.016.
41. Shen D., Chen J. Cardiac macrophages promote polarization of macrophages toward M2 phenotype to improve myocardial remodeling via NGAL after myocardial infarction // *Cell Biochemistry and Biophysics*. 2025. Vol. 83. P. 3427–3436. DOI: 10.1007/s12013-025-01726-1.
42. Silveira M.J. et al. Immunostimulatory effects of IL-12 targeted pH-responsive nanoparticles in macrophage-enriched 3D immuno-spheroids in vitro model // *Drug Delivery and Translational Research*. 2025. Vol. 15. P. 4775–4794. DOI: 10.1007/s13346-025-01896-8.

43. Singer M. et al. Modulation of tumor-associated macrophages to overcome immune suppression in the hepatocellular carcinoma microenvironment // *Cancers*. 2024. Vol. 17, № 1. Art. 66. DOI: 10.3390/cancers17010066.
44. Tian G. et al. Cell-free decellularized cartilage extracellular matrix scaffolds combined with interleukin 4 promote osteochondral repair through immunomodulatory macrophages: in vitro and in vivo preclinical study // *Acta biomaterialia*. 2021. Vol. 127. P. 131–145. DOI: 10.1016/j.actbio.2021.03.054.
45. Torregrossa M. et al. Modulation of macrophage functions by ECM-inspired wound dressings—a promising therapeutic approach for chronic wounds // *Biological chemistry*. 2021. Vol. 402, № 11. P. 1289–1307. DOI: 10.1515/hsz-2021-0145.
46. Tottoli E.M. Skin wound healing process and new emerging technologies for skin wound care and regeneration // *Pharmaceutics*. 2020. Vol. 12, № 8. Art. 735. DOI: 10.3390/pharmaceutics12080735.
47. Walvekar K.P. et al. Stable expression of human arginase 1 does not suppress inflammation or M1 macrophage polarization in THP-1 monocytes // *Next Research*. 2025. Vol. 2, № 3. Art. 100656. DOI: 10.1016/j.nexres.2025.100656.
48. Xiaoye Z.H.U. et al. Role of M1/M2 macrophages in pain modulation // *Journal of Central South University Medical Sciences*. 2024. Vol. 49, № 7. Art. 1155. DOI: 10.11817/j.issn.16727347.2024.240017.
49. Xin Y. et al. Emu-miR-10a-5p in *Echinococcus multilocularis*-derived-extracellular vesicles alleviates airway inflammation in mice with allergic asthma by inhibiting macrophage M2a polarization through LIF-mediated JAK1–STAT3 signaling // *Frontiers in Immunology*. 2025. Vol. 16. Art. 1577349. DOI: 10.3389/fimmu.2025.1577349.
50. Yu Y. et al. Macrophages play a key role in tissue repair and regeneration // *Peer J*. 2022. Vol. 10. Art. 14053. DOI: 10.7717/peerj.14053.
51. Zeng Q.L., Liu D.W. Mesenchymal stem cell-derived exosomes: An emerging therapeutic strategy for normal and chronic wound healing // *World journal of clinical cases*. 2021. Vol. 9, № 22. Art. 6218. DOI: 10.12998/wjcc.v9.i22.6218.
52. Zhang Q., Sioud M. Tumor-associated macrophage subsets: shaping polarization and targeting // *International journal of molecular sciences*. 2023. Vol. 24, № 8. Art. 7493. DOI: 10.3390/ijms24087493.
53. Zhang S. et al. Bufeijiedu Formula enhances CD40 activation and macrophage polarization to eliminate intracellular MRSA persists // *Frontiers in Immunology*. 2025. Vol. 16. Art. 1623182. DOI: 10.3389/fimmu.2025.1623182.

References

1. Bykova N.I. et al. [Index evaluation of clinical efficacy of immunomodulatory and osteotropic therapy for chronic generalized periodontitis of varying severity: a prospective cohort study]. *Kubanskij naučnyj medicinskij vestnik*. V. 30, No. 3 (2023): pp. 35-43. (In Russ.). DOI: 10.25207/1608-6228-2023-30-3-34-43. EDN: FBNFWW
2. Nesterova I.V., Khalturina E.O. [Efficacy of differentiated targeted interferon and immunomodulatory therapy focused on pathological immunophenotypes in patients with atypical chronic active herpesvirus infections]. *Medicinskij vestnik Juga Rossii*. V. 15, No. 1 (2024): pp. 165-175. (In Russ.). DOI: 10.21886/2219-8075-2024-15-1-165-175. EDN: XLATOE
3. Fedorov A.A. et al. [Polarization of macrophages: mechanisms, markers and factors of induction]. *Sibirskij onkologičeskij žurnal*. V. 21, No. 4 (2022): pp. 124-136. (In Russ.). DOI: 10.21294/1814-4861-2022-21-4-124-136. EDN: LYBKUG
4. Aitcheson S.M et al. Skin wound healing: normal macrophage function and macrophage dysfunction in diabetic wounds. *Molecules*. V. 26, No. 16 (2021). Art. 4917. DOI: 10.3390/molecules26164917.
5. Aktay-Cetin Ö. et al. Lung tumor immunity: redirecting macrophages through infection-induced inflammation. *Trends in Immunology*. V. 46, No. 6 (2025): pp. 471-484. DOI: 10.1016/j.it.2025.04.004.
6. Barman P.K., Koh T.J. Macrophage dysregulation and impaired skin wound healing in diabetes. *Frontiers in cell and developmental biology*. V. 8 (2020). Art. 528. DOI: 10.3389/fcell.2020.00528.
7. Cao X. et al. IGF-1C hydrogel improves the therapeutic effects of MSCs on colitis in mice through PGE2-mediated M2 macrophage polarization. *Theranostics*. V. 10, No. 17 (2020): pp. 7697-7709. DOI: 10.7150/thno.45434.
8. Chen R. et al. Overexpression of CD86 enhances the ability of THP-1 macrophages to defend against *Talaromyces marneffei*. *Immunity, inflammation and disease*. V. 10, No. 12 (2022). Art. e740. DOI: 10.1002/iid3.740.
9. Chen S. et al. CD40 induces PIR-A+ macrophages to promote chronic allograft rejection. *International Immunopharmacology*. V. 150 (2025). Art. 114274. DOI: 10.1016/j.intimp.2025.114274.

10. Chen Y. et al. Engineered IFN γ -loaded exosomes reprogram macrophage polarization and suppress tumor cell proliferation in vitro. *International Immunopharmacology*. V. 162 (2025). Art. 115170. DOI: 10.1016/j.intimp.2025.115170.
11. Delprat V. et al. Cyscling hypoxia promotes a pro-inflammatory phenotype in macrophages via JNK/p65 signaling pathway. *Scientific reports*. V. 10, No. 1 (2020). Art. 882. DOI: 10.1038/s41598-020-57677-5.
12. Deng T. et al. Immunomodulatory effects of curcumin on macrophage polarization in rheumatoid arthritis. *Frontiers in Pharmacology*. V. 15. (2024). Art. 1369337. DOI: 10.3389/fphar.2024.1369337.
13. El Ayadi A., Jay J.W., Prasai A. Current approaches targeting the wound healing phases to attenuate fibrosis and scarring. *International journal of molecular sciences*. V. 21, No. 3 (2020). Art. 1105. DOI: 10.3390/ijms21031105.
14. Feng N. et al. Fibroblast growth factor 10 alleviates LPS-induced acute lung injury by promoting recruited macrophage M2 polarization. *Inflammation*. V. 48, No. 4 (2025); P. 1828-1838. DOI: 10.1007/s10753-024-02158-4.
15. Gao L. et al. Dual-inflammatory cytokines on TiO₂ nanotube-coated surfaces used for regulating macrophage polarization in bone implants. *Journal of Biomedical Materials Research Part A*. V. 106, No. 7 (2018); pp. 1878-1886. DOI: 10.1002/jbm.a.36391.
16. Gu H. et al. NLRP3 activation in tumor-associated macrophages enhances lung metastasis of pancreatic ductal adenocarcinoma. *Translational Lung Cancer Research*. V. 11, No. 5 (2022); pp. 858-868. DOI: 10.21037/tlcr-22-311.
17. He T. et al. Modulation of macrophage function by bioactive wound dressings with an emphasis on extracellular matrix-based scaffolds and nanofibrous composites. *Pharmaceutics*. V. 5, No. 3 (2023). Art. 794. DOI: 10.3390/pharmaceutics15030794.
18. Ishida K. et al. Induction of unique macrophage subset by simultaneous stimulation with LPS and IL-4. *Frontiers in immunology*. V. 14 (2023). Art. 1111729. DOI: 10.3389/fimmu.2023.1111729.
19. Jinno M. et al. Involvement of muscarinic M3 receptor in the development of M2 macrophages in allergic inflammation. *International Archives of Allergy and Immunology*. V. 185, No. 8 (2024); pp. 729-738. DOI: 10.1159/000538126.
20. Joorabloo A., Liu T. Recent advances in nanomedicines for regulation of macrophages in wound healing. *Journal of nanobiotechnology*. V. 20, No. 1 (2022). Art. 407. DOI: 10.1186/s12951-022-01616-1.
21. Kathawala M.H. et al. Healing of chronic wounds: an update of recent developments and future possibilities. *Tissue engineering part B: Reviews*. V. 25, No. 5 (2019); pp. 429-444. DOI: 10.1089/ten.TEB.2019.0019.
22. Kim S.W. et al. Reprogramming of tumor-associated macrophages by metabolites generated from tumor microenvironment. *Animal Cells and Systems*. V. 28, No. 1 (2024); pp. 123-136. DOI: 10.1080/19768354.2024.2336249.
23. Kuan C.H. et al. Immunomodulatory hydrogel orchestrates pro-regenerative response of macrophages and angiogenesis for chronic wound healing. *Biomaterials*. V. 314 (2025). Art. 122848. DOI: 10.1016/j.biomaterials.2024.122848.
24. Kulakova K. et al. The contribution of macrophage plasticity to inflammatory arthritis and their potential as therapeutic targets. *Cells*. V. 13, No. 18 (2024). Art. 1586. DOI: 10.3390/cells13181586.
25. Lee Z.T. et al. Dexamethasone-Induced MerTK+/high M2c Macrophages Exhibit a Preference for Downregulated Gene Expression Profiles. *Journal of Genomics*. V. 13 (2025). Art. 24. DOI: 10.7150/jgen.108648.
26. Li S. et al. IL-25 improves diabetic wound healing through stimulating M2 macrophage polarization and fibroblast activation. *International immunopharmacology*. V. 106 (2022). Art. 108605. DOI: 10.1016/j.intimp.2022.108605.
27. Lou X. et al. IL-36 α inhibits melanoma by inducing pro-inflammatory polarization of macrophages. *Cancer Immunology, Immunotherapy*. V. 72, No. 9 (2023); pp. 3045-3061. DOI: 10.1007/s00262-023-03477-5.
28. Luchian I. et al. The role of matrix metalloproteinases (MMP-8, MMP-9, MMP-13) in periodontal and peri-implant pathological processes. *International journal of molecular sciences*. V. 23, No. 3 (2022). Art. 1806. DOI: 10.3390/ijms23031806.
29. Luo M. et al. Macrophage polarization: an important role in inflammatory diseases. *Frontiers in immunology*. Vol. (2024). Art. 1352946. DOI: 10.3389/fimmu.2024.1352946.
30. Mamilos A. et al. Macrophages: from simple phagocyte to an integrative regulatory cell for inflammation and tissue regeneration-a review of the literature. *Cells*. V. 12, No. 2 (2023). Art. 276. DOI: 10.3390/cells12020276.
31. Mao J. et al. Advanced biomaterials for regulating polarization of macrophages in wound healing. *Advanced Functional Materials*. V. 32, No. 12 (2022). Art. 2111003. DOI: 10.1002/adfm.202111003.
32. Nielsen M.C. et al. Macrophage activation markers, CD163 and CD206, in acute-on-chronic liver failure. *Cells*. V. 9, No. 5 (2020). Art. 1175. DOI: 10.3390/cells9051175.
33. Oates T.C.L. et al. Characterizing the polarization continuum of macrophage subtypes M1, M2a and M2c. *BioRxiv*. 2022. Art. 95868. DOI: 10.1101/2022.06.13.495868.

34. Piipponen M., Li D., Landén N.X. The immune functions of keratinocytes in skin wound healing. *International journal of molecular sciences*. V. 21, No. 22 (2020). Art. 8790. DOI: 10.3390/ijms21228790.
35. Raziyeve K. et al. Immunology of acute and chronic wound healing. *Biomolecules*. V. 11, No. 5 (2021). Art. 700. DOI: 10.3390/biom11050700.
36. Rehak L. et al. The immune-centric revolution in the diabetic foot: monocytes and lymphocytes role in wound healing and tissue regeneration-a narrative review. *Journal of Clinical Medicine*. V. 11, No. 3 (2022). Art. 889. DOI: 10.3390/jcm11030889.
37. Ross E.A., Devitt A., Johnson J.R. Macrophages: the good, the bad, and the gluttony. *Frontiers in immunology*. V. 12 (2021). Art. 708186. DOI: 10.3389/fimmu.2021.708186.
38. Scopelliti F. et al. Platelet lysate converts M (IFN γ + LPS) macrophages in CD206+ TGF- β + arginase+ M2-like macrophages that affect fibroblast activity and T lymphocyte migration. *Journal of Tissue Engineering and Regenerative Medicine*. V. 15, No 9 (2021): pp. 788-797. DOI: 10.1002/term.3229.
39. Shahbazi M.A. et al. Targeted reinforcement of macrophage reprogramming toward M2 polarization by IL-4-loaded hyaluronic acid particles. *ACS Omega*. V. 3, No. 12 (2018): pp. 18444-18455. DOI: 10.1021/acsomega.8b03182.
40. Sharifiaghdam M. et al. Macrophages as a therapeutic target to promote diabetic wound healing. *Molecular Therapy*. V. 30, No. 9 (2022): pp. 2891-2908. DOI: 10.1016/j.ymthe.2022.07.016.
41. Shen D., Chen J. Cardiac macrophages promote polarization of macrophages toward M2 phenotype to improve myocardial remodeling via NGAL after myocardial infarction. *Cell Biochemistry and Biophysics*. V. 83 (2025): pp. 3427-3436. DOI: 10.1007/s12013-025-01726-1.
42. Silveira M.J. et al. Immunostimulatory effects of IL-12 targeted pH-responsive nanoparticles in macrophage-enriched 3D immuno-spheroids in vitro model. *Drug Delivery and Translational Research*. V. 15 (2025): pp. 4775-4794. DOI: 10.1007/s13346-025-01896-8.
43. Singer M. et al. Modulation of tumor-associated macrophages to overcome immune suppression in the hepatocellular carcinoma microenvironment. *Cancers*. V. 17, No. 1 (2024). Art. 66. DOI: 10.3390/cancers17010066.
44. Tian G. et al. Cell-free decellularized cartilage extracellular matrix scaffolds combined with interleukin 4 promote osteochondral repair through immunomodulatory macrophages: in vitro and in vivo preclinical study. *Acta biomaterialia*. V. 127 (2021): pp. 131-145. DOI: 10.1016/j.actbio.2021.03.054.
45. Torregrossa M. et al. Modulation of macrophage functions by ECM-inspired wound dressings—a promising therapeutic approach for chronic wounds. *Biological chemistry*. V. 402, No. 11 (2021): pp. 1289-1307. DOI: 10.1515/hsz-2021-0145.
46. Tottoli E.M. Skin wound healing process and new emerging technologies for skin wound care and regeneration. *Pharmaceutics*. V. 12, No. 8 (2020). Art. 735. DOI: 10.3390/pharmaceutics12080735.
47. Walvekar K.P. et al. Stable expression of human arginase 1 does not suppress inflammation or M1 macrophage polarization in THP-1 monocytes. *Next Research*. V. 2, No. 3 (2025). Art. 100656. DOI: 10.1016/j.nexres.2025.100656.
48. Xiaoye Z.H.U. et al. Role of M1/M2 macrophages in pain modulation. *Journal of Central South University Medical Sciences*. V. 49, No. 7 (2024). Art. 1155. DOI: 10.11817/j.issn.16727347.2024.240017.
49. Xin Y. et al. Emu-miR-10a-5p in Echinococcus multilocularis-derived-extracellular vesicles alleviates airway inflammation in mice with allergic asthma by inhibiting macrophage M2a polarization through LIF-mediated JAK1–STAT3 signaling. *Frontiers in Immunology*. V. 16 (2025). Art. 1577349. DOI: 10.3389/fimmu.2025.1577349.
50. Yu Y. et al. Macrophages play a key role in tissue repair and regeneration. *PeerJ*. V. 10 (2022). Art. 14053. DOI: 10.7717/peerj.14053.
51. Zeng Q.L., Liu D.W. Mesenchymal stem cell-derived exosomes: An emerging therapeutic strategy for normal and chronic wound healing. *World journal of clinical cases*. V. 9, No. 22 (2021). Art. 6218. DOI: 10.12998/wjcc.v9.i22.6218.
52. Zhang Q., Sioud M. Tumor-associated macrophage subsets: shaping polarization and targeting. *International journal of molecular sciences*. V. 24, No. 8 (2023). Art. 7493. DOI: 10.3390/ijms24087493.
53. Zhang S. et al. Bufei Jiedu Formula enhances CD40 activation and macrophage polarization to eliminate intracellular MRSA persisters. *Frontiers in Immunology*. V. 16 (2025). Art. 1623182. DOI: 10.3389/fimmu.2025.1623182.

Статья поступила в редакцию 21.04.2026; одобрена после рецензирования 11.05.2026; принята к публикации 01.06.2026.

The article was submitted 21.04.2026; approved after reviewing 11.05.2026; accepted for publication 01.06.2026.

Информация об авторах

Н. В. Колесникова – nvk24071954@mail.ru, д-р биол. наук, профессор, профессор кафедры клинической иммунологии, аллергологии и лабораторной диагностики;

Г. П. Чупрынин – chupryningp@ksma.ru, аспирант кафедры клинической иммунологии, аллергологии и лабораторной диагностики, младший научный сотрудник научно технологического центра биомедицины;

К. И. Мелконян – melkonyanKI@ksma.ru, канд. мед. наук, доцент, заведующий центральной научно-исследовательской лаборатории.

Information about the authors

N. V. Kolesnikova – nvk24071954@mail.ru, Doctor of Biological Sciences, Professor, Professor at the Department of Clinical Immunology, Allergology and Laboratory Diagnostics;

G. P. Chuprynin – chupryningp@ksma.ru- PhD student Department of Clinical Immunology, Allergology and Laboratory Diagnostics, Junior Researcher at the Scientific and Technological Center for Biomedicine;

K. I. Melkonian – melkonyanKI@ksma.ru, Candidate of Medical Sciences, Associate Professor, Head of the Central Research Laboratory.

Вклад авторов:

Колесникова Н. В. – научное руководство; концепция исследования; развитие методологии; итоговые выводы.

Чупрынин Г. П. – написание исходного текста, подготовка иллюстративного материала.

Мелконян К. И. – подбор и анализ литературных источников; доработка текста; итоговые выводы.

Contribution of the authors:

Kolesnikova N. V. – research supervision; research concept; methodology development; final conclusions.

Chuprynin G. P. – drafting the original manuscript; preparation of illustrative materials.

Melkonian K. I. – literature search and analysis; manuscript revision; final conclusions.

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

The authors declare no conflicts of interests.

Научная статья

УДК 579.61:618.13:618.15-008.8:616-008.87:613.9

EDN: TDFZDQ

<http://dx.doi.org/10.17072/1994-9952-2026-2-225-236>



Оценка влияния индуцированного состояния иммуносупрессии на возможный исход экстракорпорального оплодотворения

Зулейха Рамилевна Хасаншина^{1, 2}, Наталья Викторовна Богачева²

¹ ООО «Ради меня», Киров, Россия

² Кировский государственный медицинский университет Минздрава России, Киров, Россия

Автор, ответственный за переписку: Зулейха Рамилевна Хасаншина, khasanshina.99@mail.ru

Аннотация. Экстракорпоральное оплодотворение (ЭКО) — один из методов вспомогательных репродуктивных технологий, используемый для лечения бесплодия. Успех ЭКО зависит от множества факторов, однако в последнее время все больше внимания уделяется роли иммунной системы. В клинической практике для модуляции иммунного ответа иногда применяются малые дозы глюкокортикоида дексаметазона, однако данные о его прямом влиянии на эмбрион и репродуктивный потенциал ограничены. Понимание возможных рисков применения дексаметазона в программах ЭКО требует проведения доклинических исследований, которые были выполнены с использованием модели лабораторных животных. Для создания биологической модели использовали крыс Wistar обоего пола. Индукции иммуносупрессии добивались путем внутрибрюшинного введения дексаметазона («Эллара», Россия) самкам крыс в течение 3 дней. Всем животным в контрольной и экспериментальной группах проводили гормональную стимуляцию препаратами «Фоллимаг» и «Гонадотропин хорионический». До и на 4 день после введения дексаметазона брали биологический материал из влагалища и кишечника животных. Полученные данные продемонстрировали, что на фоне состояния иммуносупрессии не было выявлено статистически значимых изменений количества большей части выделенных микроорганизмов. Иммунный статус крыс оценивали по уровню содержания в периферической крови относительного и абсолютного количества лимфоцитов, а также по фагоцитарному индексу нейтрофилов. В результате при введении животным обоснованной дозы дексаметазона отмечали снижение абсолютного количества Т-лимфоцитов за счет Т-лимфоцитов хелперов, а также фагоцитарного индекса. Анализ потенциального исхода ЭКО осуществляли по оценке овариального резерва и репродуктивной способности животных. Выявлено, что введение дексаметазона не оказывает существенного влияния на количественные характеристики ооцитов, но имеются существенные морфологические аномалии клеток. Оценка репродуктивного потенциала самок крыс с иммуносупрессией путем спаривания с самцами продемонстрировала снижение количества потомства в 1.5 раза по сравнению с контрольными животными. Полученные данные свидетельствуют о том, что низкие дозы дексаметазона могут оказывать прямое эмбриотоксическое действие, не связанное исключительно с иммуносупрессией, что проявляется в нарушении морфологии половых клеток и снижении репродуктивного потенциала. Результаты исследования подчеркивают необходимость мониторинга иммунологических показателей, контроля состояния микробиоты репродуктивного тракта, обоснованного применения глюкокортикоидов в клинических протоколах ЭКО а также необходимость проведения дальнейших доклинических исследований для оценки рисков эмбриотоксического действия препарата на ооциты.

Ключевые слова: бесплодие, дексаметазон, иммуносупрессия, микробиом, показатели клеточного иммунитета, овариальный резерв, репродуктивный потенциал, эмбриотоксическое действие

Для цитирования: Хасаншина З. Р., Богачева Н. В. Оценка влияния индуцированного состояния иммуносупрессии на возможный исход экстракорпорального оплодотворения // Вестник Пермского университета. Сер. Биология. 2026. Т. 17, вып. 2. С. 225–236. <http://dx.doi.org/10.17072/1994-9952-2026-2-225-236>.

Финансирование: работа выполнена в рамках гранта ФГБОУ ВО «Кировский ГМУ» Минздрава России № 7-2026-ГРАНТ.

Evaluating the effect of induced immunosuppression on possible IVF outcomes

Zuleikha R. Khasanshina^{1, 2}, Natalya V. Bogacheva²

¹ООО «Radi menyа», Kirov, Russia

² Kirov State Medical University, Kirov, Russia

Corresponding author: Zuleikha R. Khasanshina, khasanshina.99@mail.ru

Abstract. *In vitro* fertilization (IVF) is one of the assisted reproductive technologies (ARTs) used to treat infertility. One in six couples worldwide experiences infertility, which leads to an increased utilization of assisted reproductive technologies. While the success of IVF depends on numerous factors, increasing attention has recently been focused on the role of the immune system. On the one hand, a certain level of immunosuppression is required for successful implantation, on the other hand, excessive immunosuppression may increase susceptibility to infections and inflammation, as well as the proliferation of opportunistic pathogens, which adversely affect embryo implantation and pregnancy progression. In clinical practice, low doses of the glucocorticoid dexamethasone are sometimes used to modulate the immune response; however, data regarding its direct effect on the embryo and reproductive potential are limited. Understanding the potential risks of dexamethasone use in IVF programs requires preclinical studies. The aim of this work was to evaluate the effect of low-dose dexamethasone on the reproductive tract microbiota and oocyte morphological characteristics using a laboratory animal model, and to correlate these changes with the dynamics of immunological parameters to assess the safety of drug utilization in IVF programs. Wistar rats of both sexes were used to create the biological model. Immunosuppression was induced via intraperitoneal administration of dexamethasone (Ellara, Russia) to female rats for three consecutive days. All animals in both the control and experimental groups underwent hormonal stimulation with Follimag and human chorionic gonadotropin (hCG) concurrently with dexamethasone administration. Biological samples were collected from the vagina and gut of the animals before and on the fourth day after dexamethasone administration. The obtained data demonstrated that against the background of immunosuppression, no statistically significant changes were detected in the abundance of most isolated microorganisms (*Lactobacillus* spp., *Bifidobacterium* spp., *Enterococcus* spp., *Staphylococcus* spp., *Streptococcus* spp., *Morganella morganii*, *Escherichia coli*). The immune status of rats was assessed based on the relative and absolute lymphocyte counts in peripheral blood, as well as the phagocytic index of peripheral blood neutrophils. Consequently, the administration of a reasonable dose of dexamethasone to the animals resulted in a decrease in the absolute T-lymphocyte count, driven by a reduction in T-helper lymphocytes, as well as a decline in the phagocytic index. The potential outcome of *in vitro* fertilization in Wistar rats following dexamethasone administration was assessed based on ovarian reserve and reproductive capacity. The results showed that while administration of dexamethasone did not significantly affect oocyte quantitative characteristics, prominent morphological abnormalities were observed in these cells. Evaluation of the reproductive capacity of immunosuppressed female rats through mating with males demonstrated a 1.5-fold decrease in the number of offspring compared to animals without immunosuppression. The findings suggest that low-dose dexamethasone may exert a direct embryotoxic effect that is not mediated solely by immunosuppression, as manifested by impaired germ cell morphology and reduced reproductive capacity. The results of the study underscore the need for monitoring immunological parameters, controlling the reproductive tract microbiota, and substantiating the use of glucocorticoids in clinical IVF protocols, as well as the necessity for further preclinical studies to assess the risks of the drug's embryotoxic effect on oocytes.

Keywords: infertility, dexamethasone, immunosuppression, microbiome, indicators of cellular immunity, ovarian reserve, reproductive potential, reproductive capacity, embryotoxic effect

For citation: Khasanshina Z. R., Bogacheva N. V. [Evaluating the effect of induced immunosuppression on possible IVF outcomes]. *Bulletin of Perm University. Biology*. Vol. 17, iss. 2 (2026): pp. 225-236. (In Russ.). <http://dx.doi.org/10.17072/1994-9952-2026-2-225-236>.

Financing: this work was supported by a grant from Kirov State Medical University of the Ministry of Health of the Russian Federation, grant No. 7-2026-GRANT.

Введение

Экстракорпоральное оплодотворение (ЭКО) – широко распространенный метод лечения бесплодия. Успех ЭКО зависит от множества факторов, включая возраст женщины, качество эмбрионов и состояние эндометрия. В последнее время все больше внимания уделяется роли иммунной системы в имплантации и развитии беременности после ЭКО [Andreescu et al., 2023; Ma, Gao, Li, 2023].

Иммунный статус бесплодных женщин характеризуется вторичным Т-иммунодефицитом и значительной активацией как В-лимфоцитов, так и клеточных эффекторов врожденного иммунитета (перифе-

рических NK-клеток (CD16+) и нейтрофилов крови) [Амян и др., 2017; Михалева и др., 2022; Трунова, Гюльмамедова, 2024].

Для коррекции этих нарушений и подавления нежелательных иммунных реакций в клинической практике многих стран широко применяются малые дозы глюкокортикоидов. Так, использование дексаметазона при индукции овуляции в программах ЭКО направлено на усиление ответа яичников на экзогенные гонадотропины, что позволяет снизить частоту отмены циклов и улучшить исходы у пациенток с синдромом поликистозных яичников [Alizadeh et al., 2025]. Существуют данные о том, что назначение глюкокортикоидов в период переноса криоконсервированных эмбрионов может способствовать повышению частоты наступления беременности за счет создания благоприятного иммунного фона [Wang et al., 2021].

Однако, несмотря на активное клиническое применение, вопрос биологической безопасности таких схем остается открытым. Глюкокортикоидные гормоны обладают способностью проникать через биологические барьеры и на уровне транскрипции влиять на экспрессию генов не только в клетках иммунной системы, но и во многих других типах клеток, включая ооциты и клетки развивающегося эмбриона. Существует риск того, что даже низкие концентрации дексаметазона могут оказывать прямое эмбриотоксическое действие, провоцируя морфологические аномалии развития, которые в дальнейшем способны привести к врожденным дефектам плода.

Оценка влияния иммуносупрессии на исход ЭКО сложна и неоднозначна. С одной стороны, определенный уровень иммуносупрессии необходим для успешной имплантации, так как материнский организм должен проявить толерантность к полуаллогенному эмбриону, предотвращая его отторжение. С другой стороны, избыточная иммуносупрессия может увеличить восприимчивость к инфекциям и воспалению, которые негативно сказываются на имплантации и развитии беременности [Матвеева и др., 2023].

Иммунологические механизмы тесно связаны с состоянием микробиома верхнего и нижнего отделов репродуктивного тракта. Здоровый микробиом влагалища, матки и фолликулярной жидкости, с преобладанием лактобактерий, способствует успешной имплантации. Нарушение баланса микробиоты с ростом анаэробных условно-патогенных микроорганизмов увеличивает риск неудач ЭКО. Воспалительные процессы, вызванные микробной инвазией, в частности грамотрицательными бактериями, стимулируют Th1-иммунный ответ, который является маркером неудачных имплантаций и исходов беременности [Andreescu, 2023]. Влияние иммуносупрессивной терапии на стабильность микробиома в условиях стимуляции овуляции изучена недостаточно.

Таким образом, учитывая широкое использование малых доз дексаметазона в международной клинической практике в программах ЭКО, возникает острая необходимость в детальных доклинических исследованиях. Модели лабораторных животных дают возможность изучать различные биологические процессы, включая процессы иммунологического взаимодействия эмбриона и эндометрия, влияние иммунологических механизмов, защищающих плод от процессов отторжения, оценить схемы применения иммуномодулирующих препаратов на репродуктивный потенциал макроорганизма [Богачева и др., 2020].

Исходя из вышеизложенного, цель настоящей работы – изучение влияния иммуносупрессивной терапии на стабильность микробиома в условиях стимуляции овуляции. При этом было необходимо с использованием модели лабораторных животных оценить влияние низких доз дексаметазона на состояние микробиоты репродуктивного тракта и морфологические характеристики ооцитов, а также сопоставить эти изменения с динамикой иммунологических показателей для оценки безопасности применения препарата в программах ЭКО.

Материалы и методы исследования

В работе использовали крыс Wistar обоего пола в возрасте 3 месяцев массой 290 ± 20 г: 12 самок и 2 самца. Самок разделили на 2 группы по 6 в каждой: 1-я группа контрольная – препарат для формирования иммуносупрессии не вводили, 2-я – экспериментальная. Животные были получены из питомника ООО «СМК СТЕЗАР» (г. Владимир). Все эксперименты были проведены в соответствии с директивой 2010/63/EU Европейского парламента и Совета Европейского союза по охране животных, используемых в научных целях, «Правилами лабораторной практики в Российской Федерации», утвержденными приказом Министерства здравоохранения РФ № 708н от 23.08.2010 г. Проведение эксперимента одобрено локально-этическим комитетом ФГБОУ ВО Кировский ГМУ Минздрава России (протокол № 16/2022 от 24 октября 2022 г.).

Для исключения мужского фактора фертильности проводили отбор самцов с одинаковым средним количеством сперматозоидов в эякуляте. Для получения эякулята использовали «Электростимулятор ректальный для получения эякулята у животных» [Богачева и др., 2024]. Подсчет среднего содержания сперматозоидов в 1 мл эякулята проводили при помощи цифрового микроскопа «Levenhuk D90L LCD» (Китай).

Оценку иммунного статуса крыс проводили по уровню содержания в периферической крови относительного и абсолютного количества лимфоцитов, а также по фагоцитарному индексу нейтрофилов периферической крови.

Для определения уровня относительного содержания лимфоцитов в периферической крови животных использовали проточный цитофлуориметр BD FACSCanto II (BD Biosciences, США), оборудованный двухлазерной оптической системой (488 нм и 633 нм). В работе применяли моноклональные антитела: CD3-FITC, CD45-APC-Fire (750), CD8-Alexa (647), CD45RA-PE (уникальная изоформа общего лейкоцитарного антигена – маркер В-лимфоцитов у крыс (аналог CD19)), CD4 PerCP-Cy5.5 (BioLegend, США). Абсолютное количество лейкоцитов (количество клеток в одном мкл крови – кл/мкл) определяли методом кондуктометрии с гидродинамическим фокусированием на гематологическом анализаторе ХТ-4000i (Sysmex Corporation, Япония) с использованием стандартного комплекта реагентов. Абсолютное количество популяций и субпопуляций лимфоцитов рассчитывали от известного, определенного на гематологическом анализаторе абсолютного количества лейкоцитов, используя относительные значения содержания соответствующих клеток (в %), определенные методом проточной цитофлуориметрии, принимая при этом лейкоциты за 100%. Кровь из сердца крыс, находящихся в состоянии эфирного наркоза, брали в пробирку с антикоагулянтом К2ЕДТА («МиниМед», Россия).

Для определения фагоцитарной активности нейтрофилов использовали частицы латекса размером 0.8 мкм («Sigma-Aldrich», США). Латекс предварительно разводили раствором Хенкса в 10 раз. Гепаринизированную кровь смешивали с готовым раствором латекса в соотношении 2:1. Инкубацию смеси проводили в течение 30 мин с трехкратным перемешиванием через каждые 10 мин. По окончании инкубации делали мазки, фиксировали их раствором Май-Грюнвальда, после чего окрашивали азу-эозином. Используя микроскоп («Микмед-2», Россия), определяли фагоцитарный индекс – процент клеток, участвующих в фагоцитозе.

Для создания состояния иммуносупрессии на самках крыс использовали дексаметазона натрия фосфат («Дексаметазон» в ампулах по 4 мг/мл, «Эллара», Российская Федерация; далее по тексту – дексаметазон). До начала эксперимента пересчитывали максимальную дозу дексаметазона с учетом видового метаболизма [Богачева и др., 2021]. Препарат без разведения вводили животным туберкулиновым шприцом внутривенно по 80 мкл, содержащих 320 мкг дексаметазона, в течение 3 дней.

Состав микрофлоры влагалища и кишечника определяли до и на 4 день после окончания введения дексаметазона. Биологический материал помещали в пробирки со средой Эймса (ФБУН «ГНЦ ПМБ», Россия) и немедленно доставляли на исследование в централизованную клиничко-диагностическую лабораторию КОГБУЗ «Кировская областная клиническая больница», г. Киров. Для выделения чистых культур использовали набор селективных и дифференциально-диагностических питательных сред: агар MRS, энтерококк-агар, манит-солевой агар, кровяной агар, среду Эндо (ФБУН «ГНЦ ПМБ», Россия). Микробиологическую идентификацию выделенных чистых культур проводили методом прямого белкового профилирования на масс-спектрометре Vitek MS (BioMerieux, Франция) с использованием матрицы СНСА и реактива Vitek MS V2. Анализ полученных масс-спектров осуществляли с помощью программного обеспечения Myla и базы данных Vitek MS Knowledge Base, содержащей эталонные профили клинически значимых микроорганизмов.

Для выделения ооцитов использовали гормональную стимуляцию: животным внутривенно вводили гонадотропин сыворотки жеребых кобыл (ГСЖК) («Фоллимаг», АО «Мосагроген», Россия) в дозе 30 МЕ на 100 г массы тела. Через 48 ч тем же животным внутривенно вводили хорионический гонадотропин человека («Гонадотропин хорионический», ФГУП «Московский эндокринный завод», Россия) в дозе 30 МЕ на 100 г массы тела. Расчет концентрации препаратов проводили в соответствии с инструкциями к препаратам, весом животных и уровнем видового метаболизма. Гормональную стимуляцию подвергали животных в обеих группах (контрольной и экспериментальной). В экспериментальной группе гормональную стимуляцию осуществляли одновременно с введением дексаметазона.

Статистический анализ полученных данных проводили с использованием программных пакетов MS Excel и Statsoft Statistica 10.0. Количественные показатели оценивали на предмет соответствия нормальному распределению с помощью критерия Колмогорова – Смирнова. Для показателей, имеющих нормальное распределение, использовали средние арифметические величины (М) и стандартные отклонения (SD), границ 95% доверительного интервала (95% ДИ). В случае отсутствия нормального распределения для количественных данных применяли медиану (Me), а также нижний и верхний квартили (Q1–Q3). Категориальные данные описывали с указанием абсолютных значений и процентных долей. Коэффициент корреляции Спирмена использовали при анализе корреляции между количеством лимфоцитов в крови крыс Wistar на фоне индуцированного состояния иммуносупрессии, и уровнем их репродуктивной способности, оцениваемом по количеству ооцитов и потомства.

Результаты и обсуждение

На первом этапе оценили влияние состояния индуцированной иммуносупрессии на состав микрофлоры влагалища и кишечника животных. Исследование проводили до и на четвертый день после введения дексаметазона.

Результаты оценки динамики содержания основных представителей микробиоты влагалища и кишечника у крыс до и после создания состояния иммуносупрессии представлены в табл. 1.

Таблица 1

Динамика содержания основных представителей микробиоты влагалища и кишечника до и после введения дексаметазона

[Dynamics of key vaginal and gut microbiota representatives before and after dexamethasone administration]

Представители микро- биоты	Среднее значение количества микроорганизмов (Ме (25–75%)), выделенных			
	из биологического материала влагалища крыс, lg КОЕ /тампон (n = 6)		из биологического материала кишечника (фекалий) крыс, lg КОЕ /г (n = 6)	
	до введения дексаметазона	после введения дексаметазона	до введения дексаметазона	после введения дексаметазона
<i>Lactobacillus</i> spp.	5.59 (5.23; 5.81)	4.70 (3.08; 4.92)	6.74 (6.64; 6.85)	6.24 (5.67; 6.53)
<i>Bifidobacterium</i> spp.	4.39 (4.00; 4.70)	3.87 (2.48; 4.08)	7.15 (6.89; 7.30)	6.39 (6.23; 6.63)
<i>Enterococcus</i> spp.	4.31 (3.83; 4.87)	3.70 (3.43; 3.74)	4.84 (3.96; 4.97)	4.19 (3.73; 4.85)
<i>Staphylococcus</i> spp.	4.39 (4.30; 4.72)	3.78 (2.77; 3.87)	2.48 (2.23; 2.72)	2.15 (1.99; 2.63)
<i>Streptococcus</i> spp.	3.95 (3.83; 4.15)	3.65 (3.36; 3.79)	Н	Н
<i>Morganella morganii</i>	4.65 (4.00; 4.79)	4.39 (3.81; 4.65)	Н	Н
<i>Escherichia coli</i>	4.81 (4.48; 4.86)	4.54 (3.94; 4.74)	7.54 (6.85; 7.70)	6.72 (6.48; 7.08)
<i>Escherichia coli</i> Lactosenegative	Н	Н	Н	Н
<i>Haemophilus</i> spp.	2.54 (2.43; 2.70)	2.30 (2.00; 2.60)	Н	Н
<i>Candida</i> spp.	Н	Н	Н	Н

Примечание: «Н» – микроорганизм не определялся.

Из данных, представленных в табл. 1, заметно, что на фоне состояния иммуносупрессии статистически значимых изменений среднего количества микроорганизмов не выявлено ($p > 0.05$). Количественные показатели как основных представителей микрофлоры влагалища и кишечника (*Lactobacillus* spp., *Bifidobacterium* spp., *Enterococcus* spp.), так и условно-патогенных микроорганизмов (*Staphylococcus* spp., *Streptococcus* spp., *Morganella morganii*, *Escherichia coli*) сохранялись на уровне сопоставимом с контрольными значениями.

По результатам оценки иммунной системы животных было установлено, что на фоне введения дексаметазона сформировалось состояние иммуносупрессии. На 4 сутки в крови всех животных происходило статистически значимое снижение абсолютного количества Т- и В-лимфоцитов ($p < 0.05$), преимущественно за счет Т-лимфоцитов. Произошло статистически значимое снижение обеих субпопуляций Т-лимфоцитов как Т-хелперов, так и Т-цитотоксических (рис. 2). У животных с состоянием иммуносупрессии снизилось относительное количество Т-лимфоцитов в 1.7 раз. При этом в динамике снижение Т-лимфоцитов хелперов произошло в 2.38 раз, Т-лимфоцитов цитотоксических – в 3.62 раза. Относительное количество В-лимфоцитов в динамике увеличилось в 2.18 раз.

На фоне созданного состояния иммуносупрессии проводили оценку репродуктивной способности крыс Wistar двумя способами: исследуя влияние состояния иммуносупрессии на овариальный резерв животных и их репродуктивный потенциал.

Всем самкам в контрольной и экспериментальной группах проводили гормональную стимуляцию препаратами «Фоллимаг» и «Гонадотропин хорионический» (ХГЧ). Препараты, согласно рассчитанным дозам, разводили стерильной водой для инъекций. Далее животных внутрибрюшинно вводили 90 МЕ препарата «Фоллимаг» и размещали в отдельные клетки со стандартными условиями пребывания, едой и водой. Через 48 ч после введения первого препарата внутрибрюшинно вводили 90 МЕ ХГЧ. По истечению 24 ч после введения препарата ХГЧ три самки были подвергнуты эвтаназии при помощи медицинского эфира для последующего извлечения яичников и маточных труб (рис. 2).

Сравнительная оценка количества ооцитов, выделенных у крыс в контрольной и экспериментальной (с состоянием иммуносупрессии) группах, представлена в табл. 2.

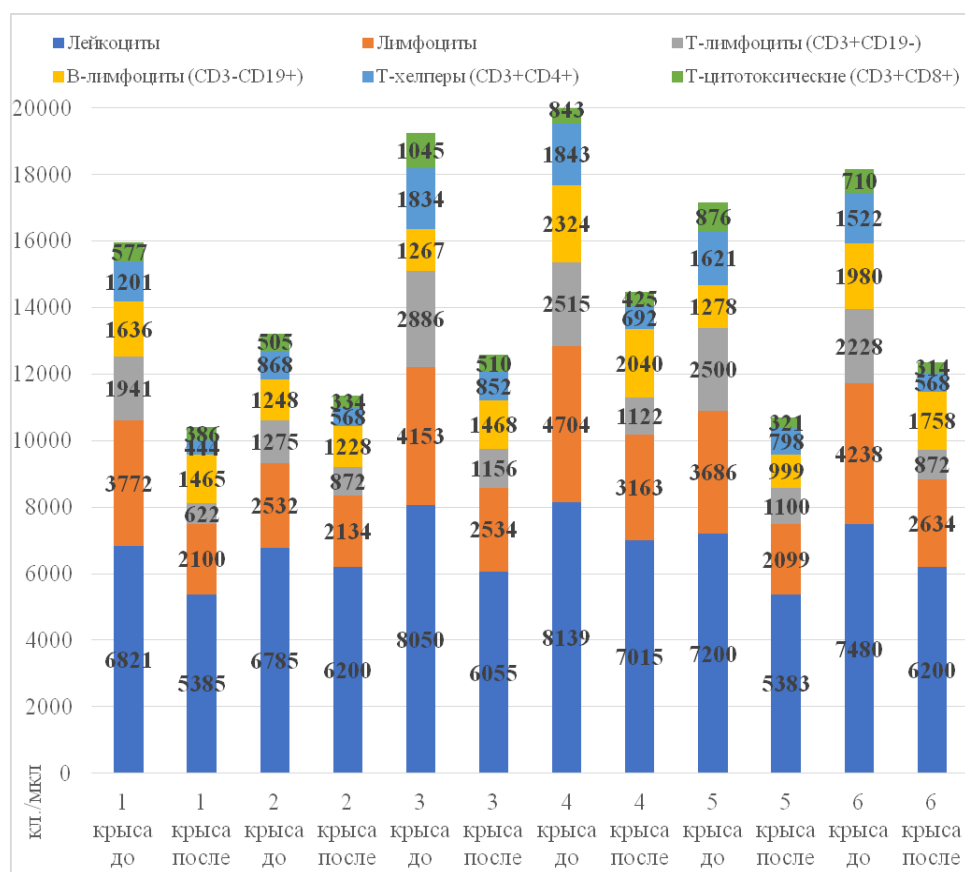


Рис. 1. Динамика абсолютного количества лейкоцитов на фоне введения дексаметазона при формировании иммуносупрессии в экспериментальной группе
[Dynamics of absolute leukocyte count during dexamethasone-induced administration during immunosuppression in the experimental group]



Рис. 2. Внешний вид извлеченных яичников и маточных труб крыс Wistar
[Gross appearance of ovaries and oviducts isolated from Wistar rats]

Таблица 2

Сравнительная оценка количества ооцитов, выделенных у крыс в контрольной и экспериментальной группах
[Comparative evaluation of the number of oocytes isolated from rats in the control and experimental groups]

Группа	Количество ооцит-кумулюсных комплексов	Среднее количество клеток
Контрольная (животные без иммуносупрессии), n = 3	27, 24, 21	24.0
Экспериментальная (животные с иммуносупрессией), n = 3	26, 23, 22	23.7

Исходя из полученных данных, следует, что среднее количество клеток, выделенных из яичников и маточных труб животных, в контрольной и экспериментальной (с состоянием иммуносупрессии) группах, не отличается ($p > 0.05$).

Кроме количественных показателей были оценены и качественные характеристики ооцитов (рис. 3).

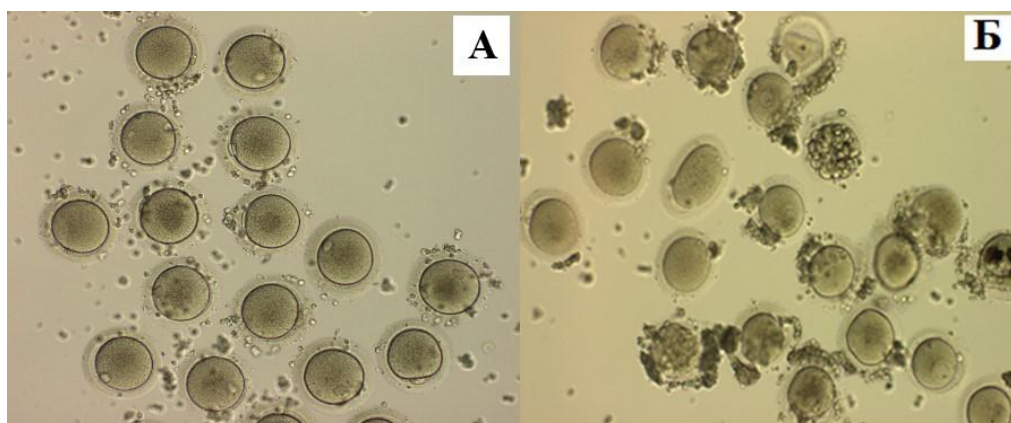


Рис. 3. Результаты оценки овариального резерва в контрольной (А) и экспериментальной (после введения дексаметазона) группах животных (Б)

[Ovarian reserve results in control (A) and experimental (dexamethasone-treated) groups of animals (B)]

В сравнении с контрольной группой ооциты, полученные у животных после введения дексаметазона, имели существенные аномалии строения, а именно дисморфизмы зоны пеллюцида, перивителлинового пространства, первого полярного тельца, а также аномалии формы и размера клеток.

Полученные результаты наглядно демонстрируют отрицательное влияние дексаметазона на процесс формирования ооцитов – оогенез, которое проявляется изменением качественных характеристик половых клеток.

Для оценки влияния состояния иммуносупрессии на репродуктивный потенциал использовали 6 самок крыс Wistar. Все самки крыс были спарены с половозрелыми самцами со средней концентрацией сперматозоидов 8.82 ± 0.2 млн клеток в 1 мл эякулята. После спаривания самок вплоть до родов содержали отдельно друг от друга в стандартных условиях при температуре 19–25°C и относительной влажности воздуха 30–70%. Далее после родов проводили оценку состояния потомства. Количественные показатели влияния индуцированного состояния иммуносупрессии на репродуктивную функцию представлены в табл. 3.

Таблица 3

Количественные показатели влияния индуцированного состояния иммуносупрессии на репродуктивную функцию

[Quantitative effects of induced immunosuppression on reproductive function]

Группа, n=3	Контрольная (особи без иммуносупрессии)	Экспериментальная (особи на фоне иммуносупрессии)
Количество потомства	15, 17, 20	9, 12, 14
Среднее количество потомства	17.3	11.6
Вес потомства при рождении, г	8.4, 7.2, 5.6	5.5; 5.3; 6.1
Средний вес потомства, г	7.06	5.60
Вес в динамике через месяц, г	50.0; 59.6; 48.2	60.2; 45.8; 54.1
Средний вес в динамике через месяц, г	52.6	53.6

Из данных, представленных в табл. 3, следует, что в экспериментальной группе количество потомства было в 1.5 раза меньше по сравнению с контрольной группой без состояния иммуносупрессии. При оценке веса установлены незначимые различия в контрольной и экспериментальной группах у потомства при рождении и в динамике – через месяц.

На сегодняшний день имеется ограниченное количество данных, посвященных изучению роли иммунологических механизмов в успехе имплантации при ЭКО и в течении беременности [Конкина и др., 2024].

В данной работе исследовали влияние искусственно индуцированной иммуносупрессии на овulatory и репродуктивный потенциал животных. Параллельно проанализировали динамику микробиоты влагалища и кишечника у крыс Wistar на фоне формируемого состояния иммуносупрессии как дополнительный фактор, определяющий исход ЭКО. На фоне введения дексаметазона статистически значимых изменений состояния микробиоты влагалища и кишечника животных не выявлено: медиана количества

Lactobacillus spp. и *Bifidobacterium* spp. уменьшилась лишь в 1.1–1.2 раза. Содержание выделенных условно-патогенных микроорганизмов (*Enterococcus* spp., *Staphylococcus* spp., *Streptococcus* spp., *Morganella morganii*, *Escherichia coli*, *Haemophilus* spp.) также оставалось стабильным. Динамика снижения количества основных представителей микробиоты с формированием комплексного дисбиоза в биотопах влагалища и кишечника на фоне состояния иммуносупрессии согласуется с данными, представленными в работе [Николаева и др., 2021].

Незначительные изменения в микробиоме сочетались со статистически значимыми изменениями в иммунном статусе животных (табл. 4).

Таблица 4

Динамика иммунологических показателей на фоне формирования индуцированного состояния иммуносупрессии

[Dynamics of immunological parameters during the development of induced immunosuppression]

Клетки крови (показатель)	Количество клеток, Ме (Q1–Q3) до введения (1) и после (2) введения дексаметазона			
	абсолютное, кл./мкл		относительное, %	
	1	2	1	2
Лейкоциты	7340 (6915.75–7907.50)	6127.50* (5552.50–6200.00)	100	100
Лимфоциты	3962.50 (3707.50–4216.75)	2334.00* (2113.75–2609.00)	65.9 (63.8; 78.5)	58.7 (54.6; 80.1)
В-лимфоциты	1457.00 (1269.75–1894.00)	1466.50 (1287.25–1685.50)	22.63 (21.1; 26.7)	49.37* (43.3; 50.4)
Т-лимфоциты	2364.00 (2012.75–2511.25)	986.00* (872.00–1116.50)	57.17 (51.2; 59.8)	32.12* (31.5; 36.7)
Т-хелперы	1571.50 (1281.25–1780.75)	630.00* (568.00–771.50)	53.1 (50.3; 56.1)	22.5* (19.4; 25.3)
Цитотоксические Т-лимфоциты	776.50 (610.25–867.75)	360.00* (324.25–415.25)	32.9 (31.2; 37.6)	49.4* (41.2; 53.8)
Индекс CD4/CD8	2.02	1.75	Н	Н
Фагоцитарный индекс (ФИ), %	Показатель, Ме (Q1–Q3)			
	До введения дексаметазона		После введения дексаметазона	
	70.50 (68.50–74.00)		62.50 (57.50–64.5)*	

Примечание: 1. Ме – медиана; 2. Q1–Q3 (25–75%) – интерквартильный размах; 3. «*» – различие с показателями контрольной группы статистически значимо ($p < 0.05$).

На 4-е сутки эксперимента наблюдали снижение абсолютного количества Т-лимфоцитов. При этом статистически значимое снижение абсолютного количества Т-лимфоцитов с 2364.00 (2012.75–2511.25) до 986.00 (872.00–1116.50) кл./мкл отразилось на соотношении Т- и В-лимфоцитов. Снижение уровня Т-клеточного звена иммунитета было наиболее выражено для Т-лимфоцитов хелперов, медиана для которых на фоне иммуносупрессии снизилась в 2.49 против 2.16 раз для Т-лимфоцитов цитотоксических. Относительное количество Т-лимфоцитов в динамике снижалось, В-лимфоцитов – повышалось, индекс CD4/CD8 и фагоцитарный индекс (ФИ) снизились в 1.15 и 1.13 раз соответственно. Полученные данные свидетельствуют о формировании состояния иммуносупрессии на фоне введения дексаметазона, что согласуется с результатами других исследований [Богачева и др., 2021].

Анализ влияния малых доз дексаметазона на исходы экстракорпорального оплодотворения проводили на крысах Wistar, оценивая репродуктивную способность и овариальный резерв животных. Результаты показали, что введение дексаметазона не оказало значительного влияния на количество получаемых ооцитов (23.7 в экспериментальной группе против 24.0 в контроле; уровень значимости $p = 0.7728$). Однако абсолютное количественное снижение Т- и В-лимфоцитов и относительное преобладание В-лимфоцитов сочеталось с развитием существенных морфологических аномалий ооцитов: нарушения структуры зоны пеллюцида и перивителлинового пространства, аномалии первого полярного тельца, изменение формы и размера ооцитов. Полученные данные согласуются с данными других исследований, посвященных влиянию состояния иммунной системы на нормальное течение беременности и ее исход, в том числе в условиях ЭКО [Есина, Логина, Аляутдина, 2013]. Даже если эти изменения встречались единично, они указывают на потенциальное эмбриотоксическое действие дексаметазона, связанное не только с иммуносупрессией, но и с прямым влиянием препарата на транскрипцию и экспрессию генов в клетках.

Иммунологические нарушения по результатам наших исследований привели и к снижению репродуктивной способности животных: у животных с иммуносупрессией среднее количество потомства составило 11.6 против 17.3 в контрольной группе (разница в 1.5 раза; уровень значимости $p = 0.0209$). При этом вес новорожденных и их развитие в течение первого месяца существенно не отличались между группа-

ми. Полученные результаты указывают на то, что даже низкие дозы дексаметазона могут негативно влиять на оогенез и репродуктивный потенциал, что согласуется с данными других работ [Галкина, Макаренко, Окладников, 2022; Andreescu et al., 2023; Ma, Gao, Li, 2023]. Обнаруженные морфологические аномалии ооцитов требуют особого внимания, т. к. могут объяснять часть случаев неудач имплантации при ЭКО в клинической практике [Leroy et al., 2015].

Представляет также интерес анализ статистической закономерности между динамикой изменения уровня лимфоцитов на фоне состояния иммуносупрессии, с одной стороны, и репродуктивной, а также овариальной способностью животных – с другой [Михалёва и др., 2022; Трунова, Гюльмамедова, 2024]. В табл. 5 представлена оценка согласованности между разницей лимфоцитов до и после введения дексаметазона, количеством потомства и ооцитов у животных в экспериментальной группе.

Таблица 5

Оценка статистической согласованности между разницей лимфоцитов до и после введения дексаметазона, количеством потомства и ооцитов у животных в экспериментальной группе
[Assessment of statistical consistency between lymphocyte differences before and after dexamethasone administration, litter size, and oocyte count in experimental group animals]

Абсолютное количество клеток, кл./мкл	Согласованность (ρ) между разницей лимфоцитов до и после введения дексаметазона с	
	количеством ооцитов	количеством потомства
Лейкоциты	0.348	0.377
Лимфоциты	0.319	0.377
В-лимфоциты	-0.029	-0.319
Т-лимфоциты	0.203	0.174
Т-хелперы	0.348	0.145
Цитотоксические Т-лимфоциты	-0.058	-0.261
Фагоцитарный индекс (ФИ)	0.326	0.356

Примечание: 1. ρ – ранговый коэффициент корреляции Спирмена; 2. Значения, выделенные жирным, имеют определенный уровень согласованности.

Данные, представленные в таблице 5, свидетельствуют о наличии незначимой прямой согласованности между уровнем лейкоцитов, ФИ, с одной стороны, и количеством ооцитов, потомства – с другой. Следует предполагать, что чем меньше количество лейкоцитов в крови, показателя ФИ, тем меньше будет образовываться ооцитов в яичнике и меньшее количество потомства будет получено у животных с состоянием иммуносупрессии. Участие врожденного иммунитета в благополучном течении беременности отражено в научных работах [Dai et al., 2023].

Незначимая прямая согласованность между лимфоцитами и уровнем ооцитов, потомства у животных сопровождается подобной закономерностью со стороны Т-лимфоцитов хелперов. Следует предполагать, что чем больше Т-лимфоцитов хелперов, тем большее количество ооцитов, и наоборот, чем меньше количество Т-лимфоцитов, тем меньше ооцитов формируется в яичнике. Данные сопоставимы с результатом других исследований об участии и роли Т-лимфоцитов в формировании иммунологической толерантности и репродуктивной способности организма. Однако на благоприятный исход имплантации и течение беременности влияет соотношение субпопуляций Т-лимфоцитов, а именно Th1/Th2. Существует гипотеза, что во время беременности преобладает иммунный ответ Т-хелперов 2 (Th2), в то время как иммунный ответ Т-хелперов 1 (Th1) связан с отторжением эмбриона [Andreescu, 2023].

Обратная незначимая согласованность наблюдается между уровнем В-лимфоцитов и количеством потомства. Следует предполагать, что повышенное количество В-лимфоцитов приводит к уменьшению количества потомства у животных, и наоборот, снижение уровня В-лимфоцитов способствует повышению репродуктивной способности.

Изучение роли В-лимфоцитов в качестве иммунологической причины репродуктивных потерь активно изучается в последние годы. Активацию В-лимфоцитов связывают с продукцией аутоантител к гормонам, имеющим важнейшее значение для нормального развития беременности: эстрадиола, прогестерона, хорионического гонадотропина. Нормальный уровень активированных В-лимфоцитов должен быть не более 10%. При повышении относительного количества В-лимфоцитов, которое наблюдали по результатам нашего исследования, а также при наличии выявленной корреляции между количеством клеток и потомства у животных, следует ожидать больший процент активированных В-лимфоцитов, что считается патологическим для нормального развития беременности. Среди активированных могут присутствовать В-reg (В-лимфоциты регуляторные), которые способны подавлять через ИЛ-10 функцию других иммунных клеток, включая дендритные клетки (ДК) и Т-лимфоциты. Изменение уровня общих В-лимфоцитов в нашем исследовании не исключает влияние на нарушение численности и функциональ-

ной активности клеток В-reg, которые, по данным последних лет, могут играть роль в развитии различных иммуноопосредованных патологий беременности, таких как повторные неудачи имплантации, привычное невынашивание беременности и преждевременные роды [Богданова, Артемьева, Болтовская, 2021]. Необходимо дополнительно изучить субпопуляционный состав В-лимфоцитов на процессы репродукции и ЭКО, в том числе при использовании лабораторных животных.

Заключение

Созданная лабораторная модель на крысах Wistar эффективно воспроизводит состояние иммуносупрессии. Статистически значимых изменений количества большей части выделенных микроорганизмов (*Lactobacillus* spp., *Bifidobacterium* spp., *Enterococcus* spp., *Staphylococcus* spp., *Streptococcus* spp., *Morganella morganii*, *Escherichia coli*) не выявлено. Репродуктивный потенциал животных в условиях иммуносупрессии снижается. Количество получаемых ооцитов не изменяется, однако их качество существенно ухудшается, что проявляется различными морфологическими дисморфизмами. Результаты подтверждают возможность прямого эмбриотоксического действия низких доз дексаметазона, что связано с его влиянием на транскрипцию и экспрессию генов не только в клетках иммунной системы, но и в клетках эмбриона. Полученные данные имеют важное значение для понимания причин неудач ЭКО у пациенток с иммунологическими нарушениями, а также подчеркивают необходимость обоснованного подхода к применению дексаметазона в клинической практике в программах ЭКО.

Список источников

1. Амян Т.С. и др. Особенности субпопуляционного состава лимфоцитов периферической крови с цитотоксической, киллерной и регуляторной функцией у женщин с повторными неудачами имплантации в программах вспомогательных репродуктивных технологий // Акушерство и Гинекология. 2017. Т. 12. С. 78–83. DOI: 10.18565/aig.2017.12.78-83. EDN: ZWTPKD
2. Богачева Н.В. и др. Электростимулятор ректальный для эякуляции у животных. Патент на полезную модель RU 230453 U1, 04.12.2024. Заявка № 2024119277 от 10.07.2024. URL: <https://patents.google.com/patent/RU2846746C1/ru>. EDN: VQWYOI
3. Богачева Н.В. и др. Основные проблемы экспериментальных исследований новых иммунобиологических препаратов на биологических моделях лабораторных животных // Вятский медицинский вестник. 2020. Т. 68, № 4. С. 74–81. DOI: 10.24411/2220-7880-2020-10135. EDN: ILDGWX
4. Богачева Н.В. и др. Способ расчета дозы дексаметазона для разработки биологической модели иммуносупрессии на мышах: Патент на изобретение RU 2748123 C1, 19.05.2021. Заявка № 2020126327 от 04.08.2020. URL: <https://patents.google.com/patent/RU2748123C1/ru>.
5. Богданова И.М., Артемьева К.А., Болтовская М.Н. Развитие и функция регуляторных В-клеток и их роль в поддержании беременности // Иммунология. 2021. Т. 42, № 4. С. 415–425. DOI: 10.33029/0206-4952-2021-42-4-415-425. EDN: ZNQDGI
6. Галкина Д.Е., Макаренко Т.А., Окладников Д.В. Иммунологические аспекты нормальной и патологически протекающей беременности // Вестник РАМН. 2022. Т. 77, № 1. С. 13–24. EDN: BHIJMU
7. Есина Е.В., Логина Н.Ю., Аляутдина О.С. Роль иммунных взаимодействий в развитии бесплодия: обзор литературы // РМЖ. Мать и дитя. 2013. Т. 21, № 2. С. 44–48. URL: https://www.rmj.ru/articles/ginekologiya/Roly_immunnyh_vzaimodeystviy_v_razvitiy_besplodiya_obzor_literatury/. EDN: PHTVES
8. Конкина А.В. и др. Иммунологическое тестирование при женском бесплодии: современный взгляд на проблему // Акушерство, гинекология и репродукция. 2024. Т. 18, № 4. С. 547–562. URL: https://www.gynecology.su/jour/article/view/2117/1237?locale=ru_RU. DOI: 10.17749/2313-7347/ob.gyn.rep.2024.532. EDN: WFRBBO
9. Матвеева Л.В. и др. Иммунологическое прогнозирование эффективности вспомогательных репродуктивных технологий // Вестник РУДН. Серия: Медицина. 2023. Т. 27, № 3. С. 342–353. URL: <https://cyberleninka.ru/article/n/immunologicheskoe-prognozirovanie-effektivnosti-vspomogatelnyh-reproduktivnyh-tehnologi>. DOI: 10.22363/2313-0245-2023-27-3-342-353. EDN: OLFHDI
10. Михалёва Л.М. и др. Повторные неудачи имплантации. Патогенез иммунологических нарушений в эндометрии // Доктор.Ру. 2022. Т. 21, № 1. С. 21–26. DOI: 10.31550/1727-2378-2022-21-1-21-26. EDN: SBQUVT
11. Николаева А.В. и др. Современные представления о взаимосвязи кишечной и вагинальной микробиоты // Акушерство и гинекология. 2021. № 9. С. 5–11. DOI: 10.18565/aig.2021.9.5-11. EDN: DMANXQ
12. Трунова О.А., Гюльмамедова И.Д. Иммуномодулирующая терапия у пациенток с привычной неэффективной имплантацией // Медицинский вестник Юга России. 2024. Т. 15, № 4. С. 79–89. DOI: 10.21886/2219-8075-2024-15-4-79-89. EDN: KOIAHV

13. Andreescu M. The impact of the use of immunosuppressive treatment after an embryo transfer in increasing the rate of live birth // *Frontiers in Medicine*. 2023. Vol. 10. P. 1–9. DOI: 10.3389/fmed.2023.1167876. EDN: GYXEBA
14. Andreescu M. et al. Recurrent abortion and the involvement of killer-cell immunoglobulin-like receptor (KIR) genes, activated T cells, NK abnormalities, and cytokine profiles // *J. Clin. Med*. 2023. Vol. 12, № 4. P. 1355–1369. DOI: 10.3390/jcm12041355. EDN: BCSQDW
15. Alizadeh F. et al. Evaluating dexamethasone as an adjuvant in the antagonist protocol in PCOS patients undergoing IVF/ICSI: a randomized controlled trial // *Reprod. Sci*. 2025. Vol. 32, № 10. P. 3343–3348. DOI: 10.1007/s43032-025-01895-7. EDN: GZPGLK
16. Dai M. et al. Roles of immune microenvironment in the female reproductive maintenance and regulation: novel insights into the crosstalk of immune cells // *Frontiers in Immunology*. 2023. Vol. 14. P. 1–17. DOI: 10.3389/fimmu.2023.1109122. EDN: LVQZII
17. Leroy C. et al. Immunosuppressive drugs and fertility // *Orphanet. J. Rare Dis*. 2015. Vol. 10. Art. 136. DOI: 10.1186/s13023-015-0332-8 EDN: EZLNHK
18. Ma J., Gao W., Li D. Recurrent implantation failure: A comprehensive summary from etiology to treatment // *Front Endocrinol. (Lausanne)*. 2023. Vol. 13. Art. 1061766. DOI: 10.3389/fendo.2022.1061766
19. Wang Z. et al. The frozen-thawed embryo transfer (FET) outcomes of the patients with repeated embryo implantation failure after intrauterine injection of dexamethasone sodium phosphate // *The Journal of Practical Medicine*. 2021. Vol. 37, № 8. P. 1064–1067. DOI: 10.3969/j.issn.1006

References

1. Amyan T.S., Krechetova L.V., Perminova S.G., Vtorushina V.V. [Features of the subpopulation composition of peripheral blood lymphocytes with cytotoxic, killer and regulatory functions in women with repeated implantation failures in assisted reproductive technology programs]. *Okuŝerstvo i Gynekologija*. V. 12 (2017): pp. 78-83. (In Russ.). DOI: 10.18565/aig2017.12.78-83.
2. Bogacheva N.V., Bogachev N.N., Dunaeva E.B., Khasanshina Z.R., Kozvonin V.A. [Rectal electrical stimulator for ejaculation in animals]. The patent is on the official website RU 230453 U1. 12/04/2024. Application No. 2024119277 dated 07/10/2024. (In Russ.). Available at: <https://patents.google.com/patent/RU2846746C1/ru>
3. Bogacheva N.V., Zaitseva I.V., Popova S.V., Korotaeva K.N. [Basic problems of experimental studies of new immunobiological preparations on biological models of laboratory animals]. *Vjatskij medicinskij vestnik*. V. 68, No. 4 (2020): pp. 74-81. (In Russ.). DOI 10.24411/2220-7880-2020-10135. EDN ILDGWX.
4. Bogacheva N.V., Popova S.V., Korotaeva K.N., Isaeva N.V. [Assistance in calculating the dose of radio-methasone for the development of a biotechnological model link to me]: Patent on the website RU 2748123 C1. 05/19/2021. Application No. 2020126327 dated 08/04/2020. (In Russ.). Available at: <https://patents.google.com/patent/RU2748123C1/ru>
5. Bogdanova I.M., Artemyeva K.A., Boltovskaya M.N. [The development and function of regulatory B cells and their role in maintaining pregnancy]. *Immunologija*. V. 42, No. 4 (2021): pp. 415-425. (In Russ.). DOI 10.33029/0206-4952-2021-42-4-415-425. EDN ZNQDGI
6. Galkina D.E., Makarenko T.A., Okladnikov D.V. [Immunological aspects of normal and pathologically occurring pregnancy]. *Vestnik RAMN*. V. 77, No. 1 (2022): pp. 13-24. (In Russ.). EDN: BHJEMU
7. Esina E.V., Logina N.Yu., Alyautdina O.S. [The role of immune interactions in the development of infertility: a review of the literature]. *RMZh. Mat' i ditya*. V. 21, No. 1 (2013): pp. 44-48. (In Russ.). EDN: PHTVES
8. Konkina A.V., Blikyan L.A., Aleynikova D.E. et al. [Immunological testing for female infertility: a modern view of the problem]. *Akuŝerstvo, ginekologija i reprodukcija*. V. 18, No. 4 (2024): pp. 547-562. (In Russ.) DOI: 10.17749/2313-7347/ob.gyn.rep.2024.532. EDN: WFRBBO
9. Matveeva L.V., Fominova G.V., Gromova E.V., Alyamkina E.A., Galynya A.S. [Immunological forecasting of the effectiveness of assisted reproductive technologies]. *Vestnik RUDN. Ser. Medicina*. V. 27, No. 3 (2023): pp. 342-353. (In Russ.).
10. Mikhaleva L.M., Orazov M.R., Silantieva E.S., Kamilova D.P., Midiber K.Yu., Orekhov R.E. [Repeated implantation failures. Pathogenesis of immunological disorders in the endometrium]. *Doktor.Ru*. V. 21, No. 1 (2022): pp. 21-26. (In Russ.) DOI: 10.31550/1727-2378-2022-21-1-21-26. EDN: SBQUVT
11. Nikolaeva A.V., Kozlova A.A., Baranov I.I., Priputnevich T.V. [Current understanding of the relationship between gut and vaginal microbiotas]. *Akuŝerstvo i ginekologija*. No. 9 (2021): pp. 5-11. (In Russ.). DOI 10.18565/aig.2021.9.5-II. EDN DMANXQ
12. Trunova O.A., Gulmamedova I.D. [Immunomodulatory therapy in patients with habitual ineffective implantation]. *Medicinskij vestnik Juga Rossii*. V. 15, No. 4 (2024): pp. 79-89. (In Russ.). DOI: 10.21886/2219-8075-2024-15-4-79-89. EDN: KOIAHV

13. Andreescu M. The impact of the use of immunosuppressive treatment after an embryo transfer in increasing the rate of live birth. *Frontiers in Medicine*. V. 10 (2023): pp. 1-9. DOI: 10.3389/fmed.2023.1167876. EDN: GYXEBA

14. Andreescu M., Frincu F., Plotogea M., Mehedințu C. Recurrent abortion and the involvement of killer-cell immunoglobulin-like receptor (KIR) genes, activated T cells, NK abnormalities, and cytokine profiles. *J. Clin. Med*. V. 12, No. 4 (2023): pp. 1355-1369. DOI: 10.3390/jcm12041355. EDN: BCSQDW

15. Alizadeh F., Amirian M., Khadem N., Afiat M., Mahmoudinia M., Khales S.A. et al. Evaluating dexamethasone as an adjuvant in the antagonist protocol in PCOS patients undergoing IVF/ICSI: a randomized controlled trial. *Reprod Sci*. V. 32, No. 10 (2025): pp. 3343-3348. DOI: 10.1007/s43032-025-01895-7. EDN: GZPGLK

16. Dai M., Xu Y., Gong G., Zhang Y. Roles of immune microenvironment in the female reproductive maintenance and regulation: novel insights into the crosstalk of immune cells. *Frontiers in Immunology*. V. 14 (2023): pp. 1-17. DOI: 10.3389/fimmu.2023.1109122. EDN: LVQZII

17. Leroy C., Rigot J.M., Leroy M., Decanter C., Le Mapihan K., Parent A.S. et al. Immunosuppressive drugs and fertility. *Orphanet. J. Rare Dis*. V. 10 (2015). Art. 136. DOI: 10.1186/s13023-015-0332-8. EDN: EZLNHK

18. Ma J., Gao W., Li D. Recurrent implantation failure: A comprehensive summary from etiology to treatment. *Front Endocrinol. (Lausanne)*. V. 13 (2023). Art. 1061766. DOI: 10.3389/fendo.2022.1061766.

19. Wang Z., Ren C., Ren W., Shi H. The frozen-thawed embryo transfer (FET) outcomes of the patients with repeated embryo implantation failure after intrauterine injection of dexamethasone sodium phosphate. *The Journal of Practical Medicine*. V. 37, No. 8 (2021): pp. 1064-1067. DOI: 10.3969/j.issn.1006

Статья поступила в редакцию 08.04.2026; одобрена после рецензирования 11.05.2026; принята к публикации 01.06.2026.

The article was submitted 08.04.2026; approved after reviewing 11.05.2026; accepted for publication 01.06.2026.

Информация об авторах

З. Р. Хасаншина – khasanshina.99@mail.ru. соискатель кафедры микробиологии и вирусологии;

Н. В. Богачева – bogacheva70@mail.ru. д-р мед. наук, профессор кафедры микробиологии и вирусологии.

Information about the authors

Z. R. Khasanshina – khasanshina.99@mail.ru. applicant of the Department of Microbiology and Virology;

N. V. Bogacheva – bogacheva70@mail.ru. doctor of medical sciences, Professor at the Department of Microbiology and Virology.

Вклад авторов:

Хасаншина З. Р. – написание исходного текста; доработка текста.

Богачева Н. В. – научное руководство; написание исходного текста; доработка текста.

Contribution of the authors:

Khasanshina Z. R. – writing the original draft; review & editing;

Bogacheva N. V. – supervision; writing the original draft; review & editing.

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

The authors declare no conflicts of interests.