

ISSN 1816-9775 (Print)
ISSN 2541-8971 (Online)

ИЗВЕСТИЯ САРАТОВСКОГО УНИВЕРСИТЕТА

Новая серия



Серия: Химия. Биология. Экология

2021

Том 21

Выпуск 3



СОДЕРЖАНИЕ

Биологическому факультету

Саратовского государственного университета – 90 лет

244

Научный отдел

Химия

Устинова М. Н., Жунусов Н. С. Деструкция действующего вещества тетрациклина под действием УФ-облучения

246

Борисова С. В., Сорокин В. В. Синтез полизамещенных спиропирролидинов с использованием 2-ацетилфурана, 2-ацетилтиофена и 2-ацетилпиррола

254

Тумская А. В., Косырева И. В. Экспресс-определение цефалексина

260

Цыгулёва Э. И., Доронин С. Ю. Определение тимоло с предварительным мицеллярно-экстракционным концентрированием

267

Биология

Черных М. В., Ибрагим И. М. И., Гринёв В. С., Сигида Е. Н., Федоненко Ю. П., Коннова С. А. Оценка вторичной структуры поли-γ-глутаминовой кислоты, продуцируемой *Bacillus subtilis* EGP5QL12, методом спектроскопии кругового дихроизма

274

Миронова А. А., Сажнев А. С., Аникин В. В. Фаунистический комплекс мицетофильных жесткокрылых (Insecta: Coleoptera) ксилотрофного гриба *Fomes fomentarius* (Basidiomycetes) на территории Саратовской области

280

Багавова А. Р., Величко Н. С., Пылаев Т. Е., Федоненко Ю. П. Получение флуоресцентно меченного эндочитного штамма бактерий *Herbaspirillum lusitanum* P6-12 для их детекции *in vivo* и *in vitro*

286

Поверенный Н. М., Аникин В. В. Филогеография скорпиона *M. caucasicus* (Nordmann 1840) внутри ареала рода *Mesobuthus* (Vachon 1950) (Scorpiones: Buthidae)

292

Коврижников А. В., Пылаев Т. Е., Захаревич А. М., Коннова С. А., Купряшина М. А. Получение жизнеспособных клеток *Azospirillum brasilense* SR80, инкапсулированных в альгинатный гидрогель

298

Растегаева В. С., Плешакова Е. В. Использование игровых методов при обучении основам химической токсикологии в рамках экологического воспитания школьников

304

Родионова Е. Ю., Сажнев А. С., Кустов С. Ю., Миролюбов А. С. Особенности стрессовых сигналов водных жесткокрылых *Berosus frontifoveatus* Kuwert, 1888 и *Berosus spinosus* Steven, 1808 (Coleoptera: Hydrophilidae)

309

Экология

Экология

Вольников В. Р., Ульянов А. Ю., Салихов Р. Р., Дуракова О. С., Авдеева Н. Г., Самохвалова Ю. И., Волох О. А. Экологическая безопасность и перспективы развития малоотходных технологий в биотехнологическом производстве

317

Леонтьев И. С. Особенности культивирования бражника мёртвая голова *Acherontia atropos* (Linnaeus, 1758) на искусственных питательных средах

324

Богослов А. В., Кашин А. С., Шилова И. В., Пархоменко А. С., Гребенюк Л. В. Морфологическая изменчивость и состояние популяций *Delphinium pubiflorum* (Ranunculaceae) на территории Саратовской области

328

Денисов А. А., Пархоменко А. С., Шилова И. В., Гребенюк Л. В., Кашин А. С. Динамика демографической структуры и изменчивость некоторых морфологических параметров *Calophaca wolgarica* (Fabaceae) при реинтродукции в Саратовскую область

335

Кондратьева А. О., Пархоменко А. С., Кашин А. С. Пространственно-возрастная структура ценопопуляций *Globularia bisnagarica* L. (Plantaginaceae) в северо-восточной части ареала

342

Шушунов В. А., Шилова И. В., Пархоменко А. С., Кашин А. С. Эколого-ценотическая характеристика местообитаний *Colchicum laetum* (Colchicaceae) в Волгоградской области

347

Университетская летопись

Дата

Юдакова О. И. 90 лет биологическому факультету Саратовского государственного университета имени Н. Г. Чернышевского

353

Журнал «Известия Саратовского университета. Новая серия. Серия «Химия. Биология. Экология» зарегистрирован в Федеральной службе по надзору в сфере связи, информационных технологий и массовых коммуникаций.

Запись о регистрации СМИ ПИ № ФС77-76649 от 26 августа 2019 г.

Журнал включен в Перечень рецензируемых научных изданий, в которых должны быть опубликованы основные научные результаты диссертаций на соискание ученой степени кандидата наук, на соискание ученой степени доктора наук (специальности: 02.00.02; 02.00.03; 02.00.04; 03.01.02; 03.02.01; 03.02.04; 03.02.05; 03.02.08 (биологические науки))

Подписной индекс издания 36013. Подписку на печатные издания можно оформить в Интернет-каталогах «Пресса России» (www.ppressa-rrf.ru), «Пресса по подписке» (www.akc.ru) и ГК «Урал-Пресс» (ural-press.ru). Журнал выходит 4 раза в год. Цена свободная. Электронная версия находится в открытом доступе (ichbe.sgu.ru)

Директор издательства

Бучко Ирина Юрьевна

Редактор

Митенева Елена Анатольевна

Художник

Соколов Дмитрий Валерьевич

Редактор-стилист

Кочкаева Инна Анатольевна

Верстка

Ковалева Наталья Владимировна

Технический редактор

Каргин Игорь Анатольевич

Корректор

Певная Татьяна Константиновна

Адрес учредителя, издателя

и издательства (редакции):

410012, Саратов, ул. Астраханская, 83

Тел.: (845-2) 51-45-49, 52-26-89

E-mail: izdat@sgu.ru

Подписано в печать 24.09.21.

Подписано в свет 30.09.21.

Формат 60×84 1/8.

Усл. печ. л. 14,42 (15,5).

Тираж 500 экз. Заказ 115-Т

Отпечатано в типографии

Саратовского университета.

Адрес типографии:

410012, Саратов, Б. Казачья, 112А

© Саратовский университет, 2021



ПРАВИЛА ДЛЯ АВТОРОВ

Журнал публикует научные статьи по аналитической химии, органической химии, физической химии, биофизике (биологические науки), ботанике, зоологии, экологии, (по отраслям) (биологические науки), энтомологии.

Объем публикуемой статьи не должен превышать 16 страниц в формате MS Word для Windows.

Статья должна быть оформлена строго в соответствии с требованиями журнала и тщательно отредактирована.

Для публикации статьи автору необходимо представить в редакцию следующие материалы и документы:

- текст статьи в электронном виде;
- два экземпляра подписанного Лицензионного договора на право использования научного произведения.

Структура подачи материала:

- на русском языке: индекс УДК, название статьи, имена, отчества и фамилии авторов, сведения об авторах (ученая степень, должность, место работы/учебы (структурное подразделение, организация, почтовый адрес), город, страна, e-mail), аннотация, ключевые слова, текст статьи, благодарности и источники финансирования работы (если есть), список литературы;

- на английском языке: название статьи, имена (полностью), отчества и фамилии авторов, сведения об авторах (ORCID, место работы/учебы (организация, почтовый адрес организации), e-mail); аннотация, ключевые слова, благодарности и источники финансирования работы (если есть).

Требования к аннотации и библиографическому списку:

- аннотация не должна содержать сложных формул, ссылок на список литературы, по содержанию повторять название статьи, быть насыщена общими словами, не излагающими сути исследования; оптимальный объем 150–200 слов;
- в списке литературы должны быть указаны только процитированные в статье работы; ссылки на неопубликованные работы не допускаются.

Образцы оформления различных источников приведены в правилах для авторов по адресу: <https://www.ichbe.sgu.ru/ru/ru/dlya-avtorov>.

Датой поступления статьи считается дата поступления ее окончательного варианта. Возвращенная на доработку статья должна быть прислана в редакцию не позднее чем через 3 месяца. Возвращение статьи на доработку не означает, что статья будет опубликована, после переработки она вновь будет рецензироваться. Материалы, отклоненные редколлегией, не возвращаются.

Адреса для переписки с редколлегией серии: ichbe-sgu@yandex.ru; 410012, г. Саратов, ул. Астраханская, 83, биологический факультет, ответственному секретарю журнала «Известия Саратовского университета. Новая серия. Серия Химия. Биология. Экология». Website: <https://ichbe.sgu.ru>

CONTENTS

To the 90th Anniversary of the Faculty of Biology of Saratov State University 244

Scientific Part

Chemistry

Ustinova M. N., Zhunusov N. S. Destruction of the active substance of tetracycline under the action of UV irradiation 246

Borisova S. V., Sorokin V. V. Synthesis of polysubstituted spiropyrrolidines using 2-acetylfuran, 2-acetylthiophene, and 2-acetylpyrrole 254

Tumskaia A. V., Kosyreva I. V. Express determination of cephalixin 260

Tsygulyova E. I., Doronin S. Yu. Determination of thymol with micellar extraction preconcentration 267

Biology

Chernykh M. V., Ibrahim I. M. I., Grinev V. S., Sigida E. N., Fedonenko Yu. P., Konnova S. A. Evaluation of the secondary structure of poly- γ -glutamic acid produced by *Bacillus subtilis* EGP5QL12 by circular dichroism spectroscopy method 274

Mironova A. A., Sazhnev A. S., Anikin V. V. Faunistic complex of mycetophilous beetles (Insecta: Coleoptera) of the xylotrophic fungus *Fomes fomentarius* (Basidiomyceta) in the territory of the Saratov region 280

Bagavova A. R., Velichko N. S., Pylayev T. E., Fedonenko Yu. P. Obtaining a fluorescently labeled endophytic strain of bacteria *Herbaspirillum lusitanum* P6-12 for their detection *in vivo* and *in vitro* 286

Poverennyi N. M., Anikin V. V. Phylogeography of the scorpion *M. caucasicus* (Nordmann 1840) within the range of the genus *Mesobuthus* (Vachon 1950) (Scorpiones: Buthidae) 292

Kovrizhnikov A. V., Pylaev T. E., Zaharevich A. M., Konnova S. A., Kupryashina M. A. Obtaining viable *Azospirillum brasilense* SR80 cells encapsulated in alginate hydrogel 298

Rastegaeva V. S., Pleshakova E. V. The use of games as a method in teaching the basics of chemical toxicology as part of the ecological education of schoolchildren 304

Rodionova E. Yu., Sazhnev A. S., Kustov S. Yu., Miroliubov A. A. Stress signals of water scavenger beetles *Berosus frontifoveatus* Kuwert, 1888 and *Berosus spinosus* Steven, 1808 (Coleoptera: Hydrophilidae) 309

Ecology

Volnikov V. R., Ul'yanov A. Yu., Salikhov R. R., Durakova O. S., Avdeeva N. G., Samokhvalova Yu. I., Volokh O. A. Ecological safety and prospects of development of low-waste technologies in the biotechnology industry 317

Leontiev I. S. Features of cultivation of the deadhead hawk moth *Acherontia atropos* (Linnaeus, 1758) on artificial nutrient media 324

Bogoslov A. V., Kashin A. S., Shilova I. V., Parkhomenko A. S., Grebenyuk L. V. Morphological variability and state of *Delphinium pubiflorum* (Ranunculaceae) populations in the Saratov region 328

Denisov A. A., Parkhomenko A. S., Shilova I. V., Grebenyuk L. V., Kashin A. S. Dynamics of the demographic structure and variability of some morphological parameters of *Calophaca wolgarica* (Fabaceae) during reintroduction to the Saratov region 335

Kondratieva A. O., Parkhomenko A. S., Kashin A. S. Spatial-ontogenetic structure of *Globularia bisnagarica* L. (Plantaginaceae) cenopopulations 342

Shushunov V. A., Shilova I. V., Parkhomenko A. S., Kashin A. S. Ecological and cenotic characteristics of *Colchicum laetum* (Colchicaceae) habitats in the Volgograd region 347

University Chronicle

Date

Yudakova O. I. 90 years of the Biology Faculty of the Saratov State University 353



**РЕДАКЦИОННАЯ КОЛЛЕГИЯ ЖУРНАЛА
«ИЗВЕСТИЯ САРАТОВСКОГО УНИВЕРСИТЕТА. НОВАЯ СЕРИЯ.
СЕРИЯ: ХИМИЯ. БИОЛОГИЯ. ЭКОЛОГИЯ»**

Главный редактор

Шляхтин Геннадий Викторович, доктор биологических наук, профессор (Саратов, Россия)

Заместитель главного редактора

Федотова Ольга Васильевна, доктор химических наук, профессор (Саратов, Россия)

Ответственный секретарь

Глинская Елена Владимировна, кандидат биологических наук, доцент (Саратов, Россия)

Члены редакционной коллегии:

Аникин Василий Викторович, доктор биологических наук, профессор (Саратов, Россия)
Берберова Надежда Титовна, доктор химических наук, профессор (Астрахань, Россия)
Богатырев Владимир Александрович, доктор биологических наук, профессор (Саратов, Россия)
Гаркушин Иван Кириллович, доктор химических наук, профессор, заслуженный деятель науки РФ, действительный член РАЕН (Самара, Россия),
Горбунов Олег Григорьевич, доктор биологических наук, профессор (Москва, Россия)
Горячева Ирина Юрьевна, доктор химических наук, доцент (Саратов, Россия)
Дыкман Лев Абрамович, доктор биологических наук, профессор (Саратов, Россия)
Ерошенко Галина Александровна, доктор биологических наук, старший научный сотрудник (Саратов, Россия)
Захаров Владимир Михайлович, доктор биологических наук, профессор, член-корреспондент РАН (Москва, Россия)
Золотухин Вадим Викторович, доктор биологических наук, доцент (Ульяновск, Россия)
Кашин Александр Степанович, доктор биологических наук, профессор (Саратов, Россия)
Коннова Светлана Анатольевна, доктор биологических наук, профессор (Саратов, Россия)
Кулагин Алексей Юрьевич, доктор биологических наук, профессор, заслуженный деятель науки РФ и Республики Башкортостан (Уфа, Россия),
Кулиш Елена Ивановна, доктор химических наук, доцент (Уфа, Россия)
Максимов Георгий Владимирович, доктор биологических наук, профессор (Москва, Россия)
Никитина Валентина Евгеньевна, доктор биологических наук, профессор (Саратов, Россия)
Опарин Михаил Львович, доктор биологических наук, профессор (Саратов, Россия)
Позднякова Наталия Николаевна, доктор биологических наук (Саратов, Россия)
Ревин Виктор Васильевич, доктор биологических наук, профессор (Саранск, Россия)
Розенберг Геннадий Самуилович, доктор биологических наук, профессор, член-корреспондент РАН (Тольятти, Россия)
Шиповская Анна Борисовна, доктор химических наук, доцент (Саратов, Россия)
Штыков Сергей Николаевич, доктор химических наук, профессор, заслуженный деятель науки РФ, действительный член РАЕН (Саратов, Россия)
Щеголев Сергей Юрьевич, доктор химических наук, профессор (Саратов, Россия)
Юдакова Ольга Ивановна, доктор биологических наук, доцент (Саратов, Россия)

**EDITORIAL BOARD OF THE JOURNAL
«IZVESTIYA OF SARATOV UNIVERSITY.
CHEMISTRY. BIOLOGY. ECOLOGY»**

Editor-in-Chief – Gennady V. Shlyakhtin (Saratov, Russia)

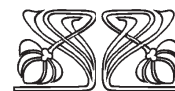
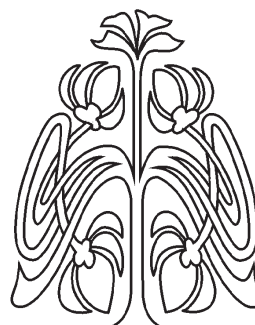
Deputy Editor-in-Chief – Olga V. Fedotova (Saratov, Russia)

Executive Secretary – Elena V. Glinskay (Saratov, Russia)

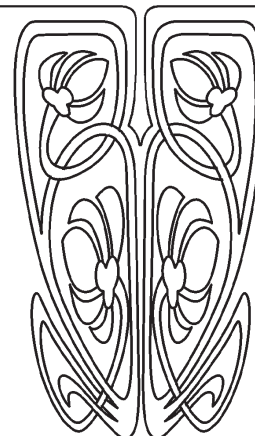
Members of the Editorial Board:

Vasilii V. Anikin (Saratov, Russia)
Nadezhda T. Berberova (Astrakhan, Russia)
Vladimir A. Bogatyrev (Saratov, Russia)
Ivan K. Garkushin (Samara, Russia)
Oleg G. Gorbunov (Moscow, Russia)
Irina Ju. Goryacheva (Saratov, Russia)
Lev A. Dykman (Saratov, Russia)
Galina A. Eroshenko (Saratov, Russia)
Vladimir M. Zacharov (Moscow, Russia)
Vadim V. Zolotuhin (Ulyanovsk, Russia)
Alexandr S. Kashin (Saratov, Russia)
Svetlana A. Konnova (Saratov, Russia)

Alexey Yu. Kulagin (Ufa, Russia)
Elena I. Kulish (Ufa, Russia)
Georgy V. Maksimov (Moscow, Russia)
Valentina E. Nikitina (Saratov, Russia)
Michail L. Oparin (Saratov, Russia)
Natalia N. Pozdnyakova (Saratov, Russia)
Viktor V. Revin (Saransk, Russia)
Gennady S. Rozenberg (Toliaty, Russia)
Anna B. Shipovskay (Saratov, Russia)
Sergey N. Shtykov (Saratov, Russia)
Sergey Ju. Shchyogolev (Saratov, Russia)
Olga I. Yudakova (Saratov, Russia)



**РЕДАКЦИОННАЯ
КОЛЛЕГИЯ**





БИОЛОГИЧЕСКОМУ ФАКУЛЬТЕТУ САРАТОВСКОГО ГОСУДАРСТВЕННОГО УНИВЕРСИТЕТА – 90 ЛЕТ

В 1931 году на основании правительственного постановления в Саратовском университете был открыт биологический факультет

В 1931 г. естественное отделение физико-математического факультета Саратовского университета было преобразовано в самостоятельный биологический факультет. Его открытию предшествовали два десятилетия становления в вузе биологического образования. Весомый вклад в него внесли академики Н. В. Вавилов, А. А. Рихтер, члены-корреспонденты АН СССР А. Я. Гордягин, Н. А. Максимов, профессора Б. И. Бируков, А. Р. Кизель и др.

Сначала в состав биологического факультета вошли 4 кафедры: ботаники, зоологии позвоночных, зоологии беспозвоночных, физиологии и анатомии растений. Затем одна за другой были открыты еще пять кафедр: микробиологии (1935), динамики развития организма (1936), физиологии животных (1937), генетики и дарвинизма (1939), ихтиологии и гидробиологии (1940). В 1944 г. кафедра динамики развития организма была объединена с кафедрой физиологии животных.

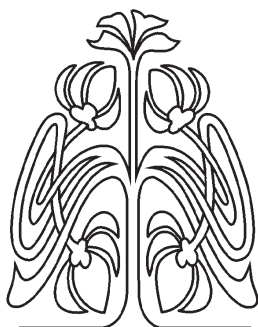
В 1967 г. при факультете открылась учебно-научная лаборатория биохимии и биофизики, преобразованная в 1976 г. в кафедру биохимии и биофизики. На основе кафедры в 1980 г. был создан Институт биохимии и физиологии растений и микроорганизмов АН СССР.

С 1971 по 1998 г. в составе факультета работала кафедра психологии, послужившая основой для создания в университете в 2000 г. факультета психологии.

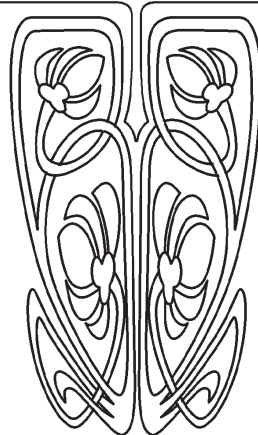
В настоящее время в составе биологического факультета 6 кафедр: биохимии и биофизики, ботаники и экологии, генетики, микробиологии и физиологии растений, морфологии и экологии животных, физиологии человека и животных. Структурными подразделениями факультета также являются крупнейший в Нижнем Поволжье Зоологический музей и Гербарий. В 2011 г. Зоологический музей вошел в реестр Зоологических коллекций мира, а в 2015 г. ЮНЕСКО присвоило Гербарии, включенному в Международный реестр гербариев, статус «Национального достояния России».

В 2004 г. структура факультета дополнилась оснащенными современным оборудованием учебно-научной лабораторией молекулярной биологии, в 2019 г. – лабораторией биотехнологии и репродуктивной биологии, в 2021 г. – Междисциплинарным центром «Критические технологии для медицины».

Сотрудники факультета проводят исследования клеточных, организменных и надорганизменных биологических систем, воздействия на них разнообразных природных и антропогенных факторов. Ведется работа по изучению и сохранению редких и исчезающих видов животных и растений, решаются частные и прикладные проблемы. Ежегодно организуются экспедиции по Нижнему Поволжью и другим регионам России. Научные исследования поддерживаются многочисленными российскими и зарубежными грантами. В 2019 г. сотрудниками кафедры физиологии человека и животных получен мегагрант для исследования лимфатических сосудов головного мозга и развития технологий управления восстановительными свойствами сна. За последние 30 лет более 50 выпускников стали докторами и около 200 – кандидатами наук.



С ЮБИЛЕЕМ!





TO THE 90th ANNIVERSARY OF THE FACULTY OF BIOLOGY OF SARATOV STATE UNIVERSITY

**In 1931, on the basis of a government decree, the Faculty of Biology
was opened at the Saratov State University**

The department of the Physics and Mathematics Faculty of Saratov State University was transformed into the Faculty of Biology in 1931. The formation of biological education in the university for 20 years preceded the opening of the Faculty of Biology. This period is associated with the names of famous scientists: academicians N. V. Vavilov, A. A. Richter, corresponding Members of the USSR Academy of Sciences A. Ya. Gordyagin, N. A. Maksimov, professors B. I. Birukov, A. P. Kizel etc.

At first, four departments were included in the Faculty of Biology: Botany, Vertebrate Zoology, Invertebrate Zoology and Plant Physiology and Anatomy. Then, one after the other, five departments were opened: Microbiology (1935), Dynamics of Organism Development (1936), Animal Physiology (1937), Genetics and Darwinism (1939) and Ichthyology and Hydrobiology (1940). The Department of the Dynamics of organism development was merged with the Department of Animal Physiology in 1944.

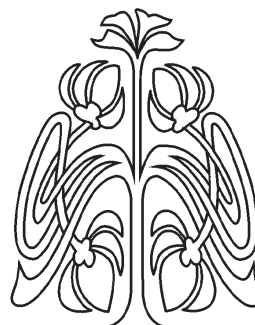
In 1967, the educational and scientific laboratory of biochemistry and biophysics was opened at the faculty. In 1976 it was transformed into the Department of Biochemistry and Biophysics. In 1980 the Institute of Biochemistry and Physiology of Plants and Microorganisms of the Academy of Sciences of the USSR was created out of the Department of Biochemistry and Biophysics.

The Department of Psychology was a part of the faculty from 1971 to 1998. The Faculty of Psychology was established as a stand alone Faculty in 2000.

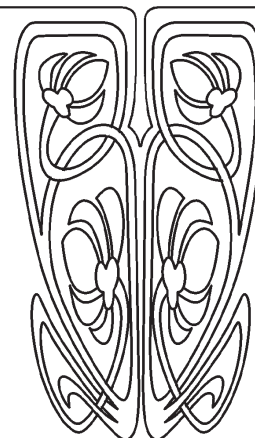
Currently, six departments are part of the Faculty of Biology: Biochemistry and Biophysics, Botany and Ecology, Genetics, Microbiology and Plant Physiology, Animal Morphology and Ecology, and Human and Animal Physiology. The Zoological Museum and the Herbarium are also structural divisions of the faculty. In 2011, the largest in the Lower Volga region the Zoological Museum was included in the register of Zoological collections of the world. In 2015, UNESCO assigned the status of "National Heritage of Russia" to the Herbarium.

In 2004, the structure of the faculty was supplemented by the educational and scientific laboratory of molecular biology, in 2019 by the laboratory of biotechnology and reproductive biology, in 2021 by the Interdisciplinary Centre for Critical Technologies for Medicine.

Faculty members study cellular, organismic and supraorganism biological systems and the impact of natural and anthropogenic factors on these systems. Research is carried out to study and preserve rare and endangered species of animals and plants. Many private and applied problems are being solved. Expeditions to the Lower Volga region and other regions of Russia are organized at the faculty annually. Scientific research was supported by numerous Russian and foreign grants. In 2019, the Department of Human and Animal Physiology received a mega grant to research the lymphatic vessels of the brain and develop technologies for managing the restorative properties of sleep. In the last 30 years alone, more than 50 graduates have received doctoral degrees and about 200 have received PhD degrees.

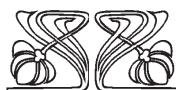
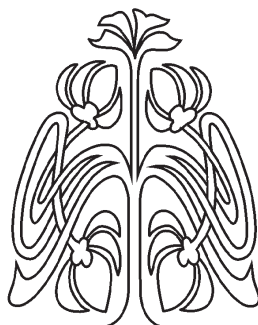


**HAPPY
ANNIVERSARY!**

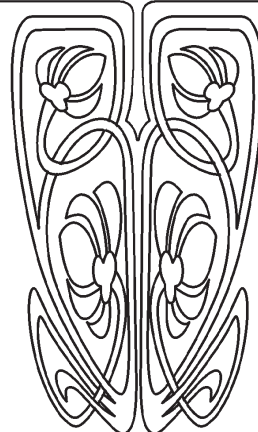




ХИМИЯ



НАУЧНЫЙ
ОТДЕЛ



Известия Саратовского университета. Новая серия. Серия: Химия. Биология. Экология. 2021. Т. 21, вып. 3. С. 246–253

Izvestiya of Saratov University. Chemistry. Biology. Ecology, 2021, vol. 21, iss. 3, pp. 246–253

<https://ichbe.sgu.ru>

<https://doi.org/10.18500/1816-9775-2021-21-3-246-253>

Научная статья

УДК 544.45/454:542.943-92

Деструкция действующего вещества тетрациклина под действием УФ-облучения

М. Н. Устинова , Н. С. Жунусов

Белгородский государственный национальный исследовательский университет, Россия, 308015, г. Белгород, ул. Победы, д. 85

Устинова Мария Николаевна, кандидат химических наук, доцент кафедры общей химии, ustinova@bsu.edu.ru, <https://orcid.org/0000-0001-5739-5339>

Жунусов Никита Сергеевич, студент 4-го курса специальности «Фармация», 1247336@bsu.edu.ru

Аннотация. Рост фармацевтической промышленности неизбежно ведет к увеличению концентрации органических загрязнителей в объектах окружающей среды. Проблема инактивации таких загрязнителей и очистки вод является крайне актуальной. Целью данной работы являлось использование комбинированных химических методов деструкции действующего вещества препарата тетрациклина как одного из наиболее часто используемых антибиотиков. В работе изучали деструкцию действующего вещества препарата под действием УФ-облучения, УФ-облучения в присутствии пероксида водорода, а также УФ-облучения в присутствии пероксида водорода и ионов железа(II). Выявлено, что действующее вещество тетрациклина подвергается фотодеструкции с достаточно высокой скоростью, степень деструкции достигает 75% в течение часа. Проведено сопоставление кинетических характеристик всех трех методов. Показано, что наиболее интенсивное окисление действующего вещества препарата может быть достигнуто комбинированным воздействием УФ-облучения и окислителя – пероксида водорода, через час степень деструкции достигает 85,5%. Однако деструкция препарата под действием УФ-облучения в присутствии пероксида водорода и ионов железа(II) в 2–4 раза увеличивает начальную скорость процесса, но снижает эффективность до 66,7%. Фотодеструкция является достаточно эффективным, однако не универсальным методом инактивации загрязнителей фармацевтического происхождения. В сочетании с окислительной деструкцией она может рассматриваться как перспективный метод инактивации негодных к применению препаратов, а также как способ локальной очистки сточных вод клиник и фармацевтических производств.

Ключевые слова: тетрациклин, фотолиз, деструкция, реактив Фентона

Для цитирования: Устинова М. Н., Жунусов Н. С. Деструкция действующего вещества тетрациклина под действием УФ-облучения // Известия Саратовского университета. Новая серия. Серия: Химия. Биология. Экология. 2021. Т. 21, вып. 3. С. 246–253. <https://doi.org/10.18500/1816-9775-2021-21-3-246-253>

Статья опубликована на условиях лицензии Creative Commons Attribution 4.0 International (CC-BY 4.0)



Article

Destruction of the active substance of tetracycline under the action of UV irradiation

M. N. Ustinova , N. S. Zhunusov

Federal State Autonomous Educational Institution of Higher Education, 85 Pobedy St., Belgorod 308015, Russia

Maria N. Ustinova, ustinova@bsu.edu.ru, <https://orcid.org/0000-0001-5739-5339>

Nikita S. Zhunusov, 1247336@bsu.edu.ru

Abstract. The growth of the pharmaceutical industry inevitably leads to an increase in the concentration of organic pollutants in environmental objects. The problem of inactivation of such pollutants and water treatment is extremely urgent. The aim of this work was to use combined chemical methods of destruction of tetracycline, as one of the most commonly used antibiotics. The destruction of the active substance of tetracycline under UV irradiation, UV irradiation in the presence of hydrogen peroxide, and UV irradiation in the presence of hydrogen peroxide and ferrous iron ions was studied. It has been found that the active substance of tetracycline undergoes photodestruction at a fairly high rate, the degree of destruction reaches 75% within an hour. The kinetic characteristics of all three methods have been compared. It has been shown that the most intense oxidation of the active substance of tetracycline can be achieved by combined exposure to UV radiation and an oxidizer-hydrogen peroxide, after an hour the degree of destruction reaches 85.5%. However, the destruction of the active substance of the drug under UV irradiation in the presence of hydrogen peroxide and iron ions increases the initial speed of the process by 2–4 times, but reduces the efficiency to 66.7%. Photodestruction is quite effective, but not a universal method of inactivation of pollutants of pharmaceutical origin. In combination with oxidative degradation, it can be considered as a promising method for inactivating unusable drugs, as well as a method for local wastewater treatment in clinics and pharmaceutical industries.

Keywords: tetracycline, photolysis, destruction, Fenton's reagent

For citation: Ustinova M. N., Zhunusov N. S. Destruction of the active substance of tetracycline under the action of UV irradiation. *Izvestiya of Saratov University. Chemistry. Biology. Ecology*, 2021, vol. 21, iss. 3, pp. 246–253. <https://doi.org/10.18500/1816-9775-2021-21-3-246-253>

This is an open access article distributed under the terms of Creative Commons Attribution 4.0 International License (CC-BY 4.0)

Введение

В настоящее время одним из наиболее острых экологических проблем является фармацевтическое загрязнение объектов окружающей среды [1–4]. С бурным развитием фармацевтической промышленности и повсеместным использованием ее продукции все больше органических поллютантов обнаруживаются в экосистеме [5–8]. Экологическая токсикология лекарственных средств изучает жизненный цикл лекарств в окружающей среде и воздействие их остатков на разнообразные живые организмы, является важной наукой в современном мире, однако развивается несопоставимо медленно с глобальными шагами фармацевтической промышленности.

Так, тетрациклины – антимикробные препараты первого поколения – являются востребованными средствами защиты людей и животных от инфекционных заболеваний. Тетрациклиновые антибиотики из организма выводятся в основном почками путем клубочковой фильтрации и с испражнениями: с мочой выделяется 10–25% антибиотика, с калом – 20–50% принятой дозы [9].

Накопление препаратов с высокой физиологической активностью в экосистеме неизбежно ведет к ее нарушению. В связи с этим вопрос разработки методов предотвращения попадания лекарственных препаратов в окружающую среду, а также и очистки вод от устойчивых фармацевтических загрязнителей является одним из наиболее актуальных [10–12].

Использование химических комбинированных окислительных методов (Advanced Oxidation Processes) для деструкции устойчивых органических структур, как правило, имеет высокую эффективность и низкую экономическую затратность [13, 14]. Ранее нами была изучена окислительная деструкция некоторых лекарственных препаратов реактивом Фентона (смесью пероксида водорода и ионов железа в степени окисления +2), а также фото-Фентона (УФ-облучение и реактива Фентона) [15–17].

Целью данной работы являлось изучение деструкции действующего вещества препарата тетрациклина под действием УФ-облучения в отсутствие и в присутствии окислительных систем.

Материалы и методы

В работе без дополнительной обработки использовали коммерческий лекарственный препарат (табл. 1), при этом изучали только изменение концентрации действующего вещества (рис. 1).

В состав фармацевтических препаратов входит ряд вспомогательных веществ, которые придают таблетированной массе необходимые технологические свойства, обеспечивающие точность дозирования, должную прочность и распадаемость таблеток. В качестве наполнителей используют органические и неорганические компоненты. По фармакологическим стандартам состав таблеток выполнен таким образом, чтобы полный ее распад и растворение действующего вещества проходили

Исследуемый препарат
Investigational drug

Название лекарственного препарата, производитель, форма выпуска / Name of the medicinal product, manufacturer, form of release	Состав лекарственного препарата / Composition of the medicinal product	Химическое название действующего вещества, брутто-формула / Chemical name of the active substance, gross formula	λ_{max} , нм / nm
Тетрациклин, «Биосинтез», таблетки / Tetracycline, "Biosynthesis", tablets	Активное вещество – тетрациклина гидрохлорид в пересчете на активное вещество – 100 мг / The active substance is tetracycline hydrochloride in terms of the active substance – 100 mg Вспомогательные вещества, мг: сахара – 7,1, кальция стеарат – 1,26, магния гидросиликат – 1,26, желатин – 0,54, крахмал картофельный – 15,84 / Excipients, mg: sucrose – 7.1, calcium stearate – 1.26, magnesium hydrosilicate – 1.26, gelatin – 0.54, potato starch – 15.84	[4S-(4альфа,4а альфа,5а альфа,6бета,12а альфа)]-4-(Диметиламино)-1,4,4а,5,5а,6,11,12а-октагидро-3,6,10,12,12а-пентагидрокси-6-метил-1,11-диоксо-2-нафтаценкарбоксамид / [4S-(4alpha, 4a alpha, 5a alpha, 6beta, 12a alpha)]-4-(dimethylamino)-1,4,4 a,5,5 a,6,11,12 a-octahydro-3,6,10,12,12 a-pentahydroxy-6-methyl-1,11-dioxo-2-naphthacencarboxamide $C_{22}H_{24}N_2O_8$	220, 265, 335, 365

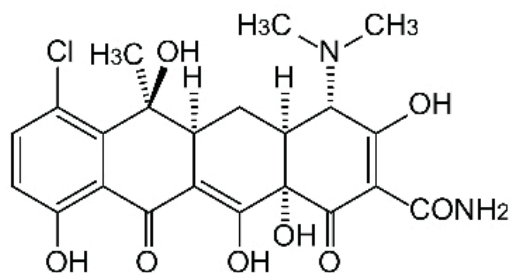


Рис. 1. Структурная формула тетрациклина гидрохлорида

Fig. 1. Structural formula of tetracycline hydrochloride

в течение 10 минут. Эксперимент, выполненный по методике, позволял количественно переводить действующее вещество таблеток в раствор и отфильтровывать твердые включения, если таковые имелись, в случае тетрациклина фильтрация не требовалась.

Преобразования, которые могут претерпевать вспомогательные вещества, в данной не рассматривались, поскольку фармацевтические препараты попадают в окружающую среду со вспомогательными веществами, то их присутствие и влияние на деструкцию основного действующего вещества исключать не целесообразно.

Нами ранее были выполнены работы по выявлению влияния растворимых вспомогательных веществ на окисляемость субстрата [18]. Было показано, что крахмал, сахар, тальк, стеарат кальция, входящие в состав таблеток, не влияют на окислительную деструкцию действующего веще-

ства. Однако в комплексных препаратах наличие в составе двух и более действующих веществ снижает эффективность процесса, что связано с протеканием параллельных реакций окисления в системе. Тетрациклин к таковым не относится.

В эксперименте изучали деструкцию действующего вещества препарата тетрациклина при температуре 20°C в подкисленных водных растворах.

Для приготовления раствора твердой формы фармацевтического препарата таблетку тетрациклина взвешивали, после чего тщательно растирали в агатовой ступке, количественно переносили в мерную колбу, доводили до метки 0,1 М раствором соляной кислоты и помещали в ультразвуковую ванну Skymen JP-009 до полного растворения (частота ультразвука 40 кГц, мощность ультразвука 60Вт) [19].

Растворы тетрациклина гидрохлорида нестабильны при pH = 8,85 и теряют эффективность на 50% в течение 12 часов. При pH в диапазоне 3–5 тетрациклина гидрохлорид устойчив до 6 дней. Измерение pH проводилось на pH-метре Mettler Toledo. Исходное значение pH является одним из определяющих параметров при оптимизации процессов в системе Фентона и фото-Фентона [20–21]. Значение pH контролировали во всех случаях.

Для приготовления пероксида водорода использовали «медицинский пероксид водорода» (~37,5%), точное значение концентрации которого определяли по плотности с помощью ареометра



и методом окислительно-восстановительного титрования перманганатом калия в кислой среде.

Источником ионов железа(II) в реактиве Фентона служила соль Мора.

За изменением концентрации действующего вещества препарата следили спектрофотометрическим методом по изменению интенсивности поглощения. Максимум поглощения определяли на спектрофотометре Specord Plus 210 в диапазоне волн от 190 до 450 нм с шагом 0,5 нм. В спектре поглощения препарата тетрациклина наблюдается несколько характерных полос с максимумами при 220, 265, 335 и 365 нм, что делает возможным определение по собственному поглощению. Высокая оптическая плотность пероксида водорода наблюдается до 240 нм, поэтому для наблюдения за снижением концентрации действующего вещества препарата тетрациклина был выбран максимум поглощения выше данной величины – 365 нм. Расчет концентрации делали относительно действующего вещества.

В фотолизную камеру Вольта ФК-12М, оснащенную ртутной лампой ДРТ-1000 мощностью 1000 Вт, с лучистым потоком 128 Вт, поток излучения которой лежит в области спектра 240–320 нм, помещали 25 мл водного раствора исследуемого образца в специальной кварцевой

пробирке и подвергали облучению в течение 5 минут. По истечении времени облучения раствору давали охладиться, отбирали пробу и регистрировали спектр поглощения. Отобранную пробу возвращали в раствор. Фотолиз проводили в течение 60–90 минут.

Чтобы исключить влияние комплексообразования в системе, регистрировали спектр раствора, содержащий действующее вещество препарата тетрациклина и соль Мора. Сравнение спектров показало, что в присутствии железа(II) не наблюдается ни образования новых максимумов, ни сдвига существующих полос поглощения.

Результаты и их обсуждение

В основе химического строения действующего вещества препарата тетрациклина лежит конденсированная четырехциклическая система с множеством заместителей различной природы. Представляло интерес выяснить, какова устойчивость молекулы тетрациклина к деструктивным воздействиям.

Из рис. 2 следует, что действующее вещество препарата тетрациклина подвергается фотодеструкции с достаточно высокой скоростью, степень деструкции достигает 75% в течение часа.

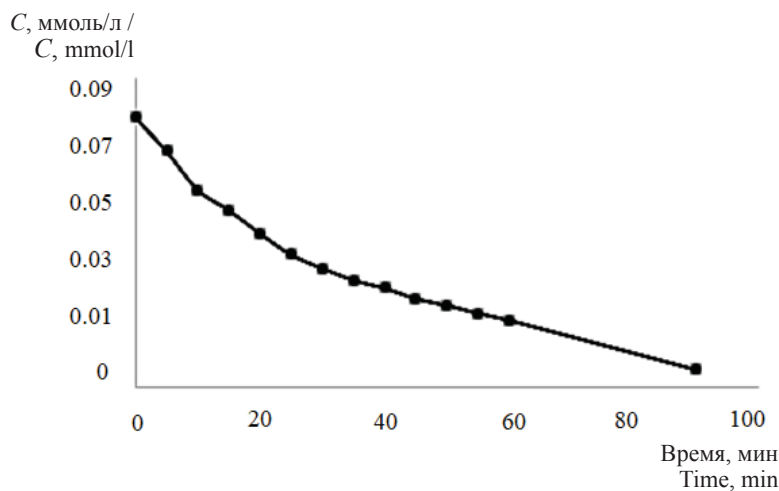


Рис. 2. Кинетическая кривая фотодеструкции действующего вещества тетрациклина

Fig. 2. Kinetic curve of photodestruction of the active substance tetracycline

Для сопоставления данных проводили аналогичный эксперимент с дополнительным окислителем в системе. В фотолизную камеру с действующим веществом препарата (концентрацией 0,0787 ммоль/л) вводили пероксид водорода в различных концентрациях. Полученные данные представлены на рис. 3.

Вопреки нашим ожиданиям, введение пероксида водорода в наименьшей концентрации в систему ингибировало процесс фотодеструкции, снизив начальную скорость процесса, степень деструкции в течение часа составила 66,3%. Введение в систему большего количества благоприятно повлияло на деструкцию и скорость процесса в

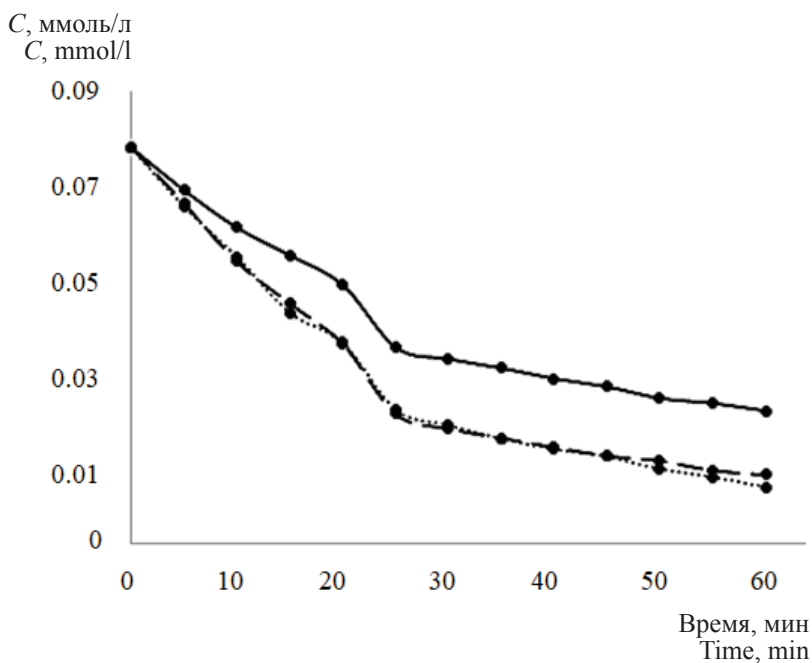


Рис. 3. Кинетические кривые фотодеструкции действующего вещества тетрациклина в присутствии пероксида водорода концентрацией, мкмоль/л: — 0,275; -- 0,550; ... 2,200
 Fig. 3. Kinetic curves of photodestruction of the active substance tetracycline in the presence of hydrogen peroxide concentration, mkmol/L: — 0,275; -- 0,550; ... 2,200

целом. Однако увеличение концентрации пероксида водорода до 0,550 мкмоль/л и 2,200 мкмоль/л оказалось сопоставимым (табл. 2)

Далее в систему тетрациклина гидрохлорида и пероксида водорода дополнительно вводили ионы железа(II). Для подбора наиболее эффек-

Таблица 2 / Table 2

Кинетические характеристики процесса окисления тетрациклина
Kinetic characteristics of the tetracycline oxidation process

Действующее вещество тетрациклина / The active substance of tetracycline	Субстрат с концентрацией 0.08 ммоль/л под действием УФ-облучения в течение времени (t) / Substrate with a concentration of 0.08 mmol/L under UV irradiation for a time (t)		Субстрат с концентрацией 0.08 ммоль/л под действием УФ-облучения и пероксида водорода с концентрацией (C) за час / Substrate with a concentration of 0.08 mmol/l under UV irradiation and hydrogen peroxide with a concentration of (C) per hour		
	t, мин / min		C, мкмоль/л / mkmol/L		
	60	90	0,275	0,550	2,200
Степень деструкции, % / Degree of destruction, %	75,0	93,6	66,3	82,5	85,5
Остаточная концентрация субстрата через время t, C _t , мкмоль/л / Residual substrate concentration after time t, C _t , mkmol/L	20	5,12	26,96	14	11,6
Начальная скорость процесса, мкмоль/л×мин / Initial process speed, mkmol/L×min	1,95		1,69	2,23	2,35



тивного соотношения окислительных реагентов выполнили варьирование концентраций соли железа(II). Кинетические кривые, полученные

для фотоокисления действующего вещества тетрациклина реактивом Фентона, представлены на рис. 4.

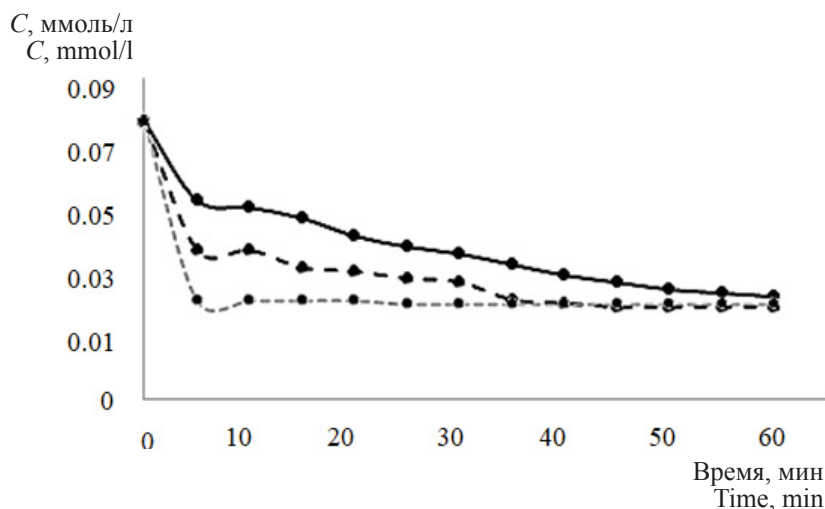


Рис. 4. Кинетические кривые фотодеструкции действующего вещества тетрациклина в присутствии пероксида водорода концентрацией 0,0022 ммоль/л и ионов железа(II) концентрацией, ммоль/л: — 0,0011; -- 0,00011; ••• 0,000011

Fig. 4. Kinetic curves of photodestruction of the active substance tetracycline in the presence of hydrogen peroxide with a concentration of 0.0022 mmol/l and iron(II) ions with a concentration of, mmol/L: — 0.0011; -- 0.00011; ••• 0.000011

Как видно из полученных данных, со снижением концентрации ионов железа(II) происходит увеличение начальной скорости процесса

деструкции, однако на эффективность процесса в целом влияет незначительно, степень деструкции достигает 60% (табл. 3).

Таблица 3 / Table 3

Кинетические характеристики процесса деструкции тетрациклина гидрохлорида
Kinetic characteristics of the tetracycline hydrochloride degradation process

Соотношение реагентов / Reagent ratio [T]:[H ₂ O ₂]:[Fe ²⁺]	Начальная скорость, мкмоль/л×мин / Initial process speed, mkmol/L×min	Степень деструкции за час, % / Degree of destruction per hour, %	Остаточная концентрация субстрата через время t (1 час), C _t , мкмоль/л / Residual substrate concentration after time t (1 hour), C _t , mkmol/L
70: 2: 1	4,4	62,8	29,76
70: 2: 0,1	7,2	66,7	26,64
70: 2: 0,01	10,0	65,4	27,68

Снижение эффективности процесса фотоокисления действующего вещества тетрациклина при введении в систему реактива, вероятно, связано с образованием свободных радикалов на начальном этапе в системе и их быстрым расходом, этим объясняется резкое увеличение начальных скоростей процесса, однако в дальнейшем их недостаток приводит к тому, что добавленные реагенты ингибируют процесс деструкции.

Стоит отметить, что действующее вещество препарата не подвергалось деструкции под действием реактива Фентона в данном диапазоне концентраций окислительной системы без УФ-

облучения. Только при значительном увеличении расхода окислительного агента: пероксида водорода в 16,6 тысяч раз, соли железа – в 250 раз, деструкция действующего вещества препарата достигла 68%.

При оптимальных соотношениях реагентов в системе образуется достаточное количество гидроксильных радикалов для полной деструкции тетрациклина гидрохлорида.

Заключение

Полученные результаты свидетельствуют, что действующее вещество препарата тетраци-



клина подвергается фотодеструкции. Наиболее интенсивное его окисление может быть достигнуто комбинированным воздействием УФ-облучения и окислителя – пероксида водорода, через час степень деструкции достигает 85,5%. Однако деструкция действующего вещества препарата под действием УФ-облучения в присутствии пероксида водорода и ионов железа(II) в 2–4 раза увеличивает начальную скорость процесса, но снижает эффективность процесса в целом. Деструкция действующего вещества тетрациклина без УФ-облучения под действием реактива Фентона требует значительного увеличения концентраций окислительных агентов.

Список литературы

1. *Баренбойм Г. М.* Загрязнение природных вод лекарствами. М. : Наука, 2015. 283 с.
2. *Водяницкий Ю. Н., Яковлев А. С.* Загрязнение почв и почвенно-грунтовых вод новыми органическими микрополлютантами // Почвоведение. 2016. № 5. С. 609–619.
3. *Козлова М. А.* Лекарственное загрязнение природных и сточных вод: методы очистки и результаты исследования // Экологический вестник Северного Кавказа. 2020. Т. 16, № 1. С. 77–80.
4. *Kujawa-Roeleveld K.* Pharmaceutical compounds in environment. Removal of pharmaceuticals from concentrated wastewater streams in source oriented sanitation? // Sustainable Water Management in the City of the Future. 2011. P. 1–69.
5. *Мотузова Г. В., Карпова Е. А.* Химическое загрязнение биосферы и его экологические последствия. М. : ИМУ, 2013. 303 с.
6. *Самойленко Н. Н., Ермакович И. А.* Загрязнение муниципальных вод фармацевтическими препаратами и их производными // Восточно-Европейский журнал передовых технологий. 2013. Т. 4, № 10 (64). С. 8–11.
7. *Daughton C. G.* Pharmaceuticals in the Environment // J. Am. Soc. Mass. Spectrom. 2001. Vol. 12, № 10. P. 1067–1076. [https://doi.org/10.1016/S1044-0305\(01\)00287-2](https://doi.org/10.1016/S1044-0305(01)00287-2)
8. *Richardson S. D., Ternes T. A.* Water Analysis: Emerging Contaminants and Current Issues // Anal. Chem. 2018. Vol. 90, № 1. P. 398–428. <https://doi.org/10.1021/acs.analchem.7b04577>
9. *Есупов С. Е.* Химическая энциклопедия : Тетрациклины : в 5 т. М. : Большая Российская энциклопедия, 1995. 639 с.
10. *Neamtu M., Bobu M., Kettrup A., Siminiceanu I.* Ozone photolysis of paracetamol in aqueous solution // J. Environ. Sci. Health. A. 2013. Vol. 48. P. 1264–1271.
11. *Moctezuma E., Leyva E., Aguilar C. A., Luna R. A., Montalvo C.* Photocatalytic degradation of paracetamol : Intermediates and total reaction mechanism // J. Hazard. Mater. 2012. Vol. 243. P. 130–138.
12. *Andreozzi R., Caprio V., Marotta R., Vogna D.* Paracetamol oxidation from aqueous solutions by means of ozonation and H₂O₂/UV system // Water Res. 2003. Vol. 37. P. 993–1004.
13. *Huber M. M., Canonica S., Park G. Y., Gunten U. V.* Oxidation of pharmaceuticals during ozonation and advanced oxidation processes // Environmental Science and Technology. 2003. Vol. 37, № 5. P. 1016.
14. *Wols B. A., Hofman-Caris C. H. M.* Review of photochemical reaction constants of organic micropollutants required for UV advanced oxidation processes in water // Water Res. 2012. Vol. 46. P. 2815–2827.
15. *Ustinova M. N., Lebedeva O. E.* Oxidative Inactivation of Drugs // Research Journal of Pharmaceutical, Biological and Chemical Sciences. 2014. № 5 (5). P. 1687–1690.
16. *Устинова М. Н., Лебедева О. Е.* Инактивация N-(4-гидроксифенил)ацетамида пероксидными окислительными системами // Научные ведомости БелГУ. 2014. Т. 27, № 10 (181). С. 117–120.
17. *Устинова М. Н., Лебедева О. Е., Курдюпова В. И.* Фотодеструктивные превращения бензойной кислоты и ее производных // Известия вузов. Прикладная химия и биотехнология. 2017. Т. 7, № 4. С. 16–23.
18. *Устинова М. Н.* Окислительная деструкция как способ инактивации экополлютантов фармацевтического происхождения : автореф. ... канд. хим. наук. Белгород : БелГУ, 2012. 20 с.
19. *Тыжигирова В. В.* Применение ультрафиолетовой, видимой и инфракрасной спектроскопии в анализе лекарственных средств : учебное пособие. Иркутск : ИГМУ, 2018. 72 с.
20. *Долгопоск Б. А., Тинякова Е. И.* Генерирование свободных радикалов и их реакции. М. : Наука, 1982. 254 с.
21. *Соложенко Е. Г., Соболева Н. М., Гончарук В. В.* Применение каталитической системы H₂O₂-Fe²⁺(Fe³⁺) при очистке воды от органических соединений // Химия и технология воды. 2004. Т. 26, № 3. С. 219–246.

References

1. *Barenbojm G. M. Zagryazneniye prirodnykh vod lekarstvami* [Pollution of Natural Waters by Medicines]. Moscow, Nauka Publ., 2015, 283 p. (in Russian).
2. *Vodyanickij Yu. N., Yakovlev A. S.* Contamination of soils and soil-ground waters with new organic micropollutants. *Eurasian Soil Science*, 2016, no. 5, pp. 609–619 (in Russian).
3. *Kozlova M. A.* Pharmaceutical pollution of natural and waste waters: Methods of method and research results. *The North Caucasus Ecological Herald*, 2020, vol. 16, no. 1, pp. 77–80 (in Russian).
4. *Kujawa-Roeleveld K.* Training material. Pharmaceutical compounds in environment. Removal of pharmaceuticals from concentrated wastewater streams in source oriented sanitation? *Sustainable Water Management in the City of the Future*, 2011. 69 p.
5. *Motuzova G. V., Karpova E. A. Khimicheskoye zagryazneniye biosfery i ego ekologicheskoye posledstviya* [Chemical pollution of the biosphere and its environmental consequences]. Moscow, IMU Publ., 2013. 303 p. (in Russian).



6. Samojlenko N. N., Ermakovich I. A. Contamination of municipal water pharmaceutical drugs and their derivatives. *Eastern-European Journal of Enterprise Technologies*, 2013, vol. 4, no. 10 (64), pp. 8–11 (in Russian).
7. Daughton C. G. Pharmaceuticals in the Environment. *J. Am. Soc. Mass. Spectrom*, 2001, vol. 12, no. 10, pp. 1067–1076. [https://doi.org/10.1016/S1044-0305\(01\)00287-2](https://doi.org/10.1016/S1044-0305(01)00287-2)
8. Richardson S. D., Ternes T. A. Water Analysis: Emerging Contaminants and Current Issues. *Anal. Chem.*, 2018, vol. 90, no. 1, pp. 398–428. <https://doi.org/10.1021/acs.analchem.7b04577>
9. Esipov S. E. *Khimicheskaya entsiklopediya: Tetratsikliny: v 5 t.* [Chemical Encyclopedia: Tetracyclines: in 5 vols.]. Moscow, Bol'shaya Rossiyskaya entsiklopediya Publ., 1995. 639 p. (in Russian).
10. Neamtu M., Bobu M., Kettrup A., Siminicéanu I. Ozone photolysis of paracetamol in aqueous solution. *J. Environ. Sci. Health. A*, 2013, vol. 48, pp. 1264–1271.
11. Moctezuma E., Leyva E., Aguilar C. A., Luna R. A., Montalvo C. Photocatalytic degradation of paracetamol: Intermediates and total reaction mechanism. *J. Hazard. Mater.*, 2012, vol. 243, pp. 130–138.
12. Andreozzi R., Caprio V., Marotta R., Vogna D. Paracetamol oxidation from aqueous solutions by means of ozonation and H₂O₂/UV system. *Water Res.*, 2003, vol. 37, pp. 993–1004.
13. Huber M. M., Canonica S., Park G. Y., Gunten U. V. Oxidation of pharmaceuticals during ozonation and advanced oxidation processes. *Environmental Science and Technology*, 2003, vol. 37, no. 5, pp. 1016.
14. Wols B. A., Hofman-Caris C. H. M. Review of photochemical reaction constants of organic micropollutants required for UV advanced oxidation processes in water. *Water Res.*, 2012, vol. 46, pp. 2815–2827.
15. Ustinova M. N., Lebedeva O. E. Oxidative Inactivation of Drugs. *Research Journal of Pharmaceutical, Biological and Chemical Sciences*, 2014, no. 5 (5), pp. 1687–1690.
16. Ustinova M. N., Lebedeva O. E. Inactivation of N-(4-hydroxyphenyl)acetamide peroxide oxidative systems. *Belgorod State University Scientific Bulletin*, 2014, vol. 27, no. 10 (181), pp. 117–120 (in Russian).
17. Ustinova M. N., Lebedeva O. E., Kurdupova V. I. Photodestructive transformations of benzoic acid and its derivatives. *Proceeding of Universities. Applied Chemistry and Biotechnology*, 2017, vol. 7, no. 4, pp. 16–23 (in Russian).
18. Ustinova M. N. *Okislitel'naya destruktziya kak sposob inaktivatsii ekopollyutantov farmatsevticheskogo proiskhozhdeniya* [Oxidative degradation as a method of inactivating of pharmaceutical pollutants]. Thesis Diss. Cand. Sci. (Chem.). Belgorod, 2012. 20 p. (in Russian).
19. Tyzhigirova V. V. *Primeneniye ul'trafiol'tovoy, vidimoy i infrakrasnoy spektroskopii v analize lekarstvennykh sredstv* [Application of ultraviolet, visible and infrared spectroscopy in the analysis of medicines]. Irkutsk, IGMU Publ., 2018. 72 p. (in Russian).
20. Dolgoplosk B. A., Tinyakova E. I. *Generirovaniye svobodnykh radikalov i ikh reaktsii* [Generation of Free Radicals and Their Reactions]. Moscow, Nauka Publ., 1982. 254 p. (in Russian).
21. Solozhenko E. G., Soboleva N. M., Goncharuk V. V. Application of the catalytic system H₂O₂-Fe²⁺(Fe³⁺) in water purification from organic compounds. *Journal of Water Chemistry and Technology*, 2004, vol. 26, no. 3, pp. 219–246 (in Russian).

Поступила в редакцию 27.01.21, после рецензирования 04.03.21, принята к публикации 10.03.21
 Received 27.01.21, revised 04.03.21, accepted 10.03.21



Известия Саратовского университета. Новая серия. Серия: Химия. Биология. Экология. 2021. Т. 21, вып. 3. С. 254–259

Izvestiya of Saratov University. Chemistry. Biology. Ecology, 2021, vol. 21, iss. 3, pp. 254–259

<https://ichbe.sgu.ru>

<https://doi.org/10.18500/1816-9775-2021-21-3-254-259>

Научная статья

УДК 547.814.5

Синтез полизамещенных спиропирролидинов с использованием 2-ацетилфурана, 2-ацетилтиофена и 2-ацетилпиррола



С. В. Борисова , В. В. Сорокин

Саратовский национальный исследовательский государственный университет имени Н. Г. Чернышевского, Россия, 410012, г. Саратов, ул. Астраханская, д. 83

Борисова Светлана Васильевна, аспирант кафедры органической и биоорганической химии Института химии, chuvainasv@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0001-8025-1296>

Сорокин Виталий Викторович, доктор химических наук, профессор, профессор кафедры органической и биоорганической химии Института химии, sorokiniv@gmail.com, <http://orcid.org/0000-0002-5861-3307>

Аннотация. Синтезированы новые замещенные спиропирролидины с помощью реакции 1,3-диполярного циклоприсоединения азометин-илидов, полученных конденсацией изатина и саркозина *in situ*, и 3-фенил-1-гетероарил-2-ен-1-онов, синтезированных с помощью реакции Кневенагеля с использованием 2-ацетилфурана, 2-ацетилпиррола, 2-ацетилтиофена и замещенных бензальдегидов. Эти соединения впервые используются в качестве диполярофилов. Показано, что взаимодействие происходит в мягких условиях, регио- и стереоселективно с образованием одного типа продуктов в результате синхронного процесса циклоприсоединения. Реакция проводилась смешиванием эквимольных количеств енона и изатина, а также небольшого избытка саркозина в среде изопропилового спирта при нагревании до 60–70°C. Среди енонов с различными гетероциклическими заместителями в качестве диполярофилов наиболее удобно использовать соединения, содержащие пиррольный фрагмент, так как при этом продукты получаются за небольшое количество времени с хорошими выходами. Использование енонов, полученных из 2-ацетилтиофена, приводит к увеличению времени проведения реакции, а из 2-ацетилфурана – к значительному осмолению реакционной смеси. Состав и строение конечных продуктов подтверждены данными элементного анализа, ЯМР ¹H, ¹³C, HMBC, NOESY спектроскопии. На основании полученных данных предложен механизм образования продуктов.

Ключевые слова: спирооксоиндолы, трёхкомпонентная реакция, 1,3-диполярное циклоприсоединение, азометин-илиды

Для цитирования: Борисова С. В., Сорокин В. В. Синтез полизамещенных спиропирролидинов с использованием 2-ацетилфурана, 2-ацетилтиофена и 2-ацетилпиррола // Известия Саратовского университета. Новая серия. Серия: Химия. Биология. Экология. 2021. Т. 21, вып. 3. С. 254–259. <https://doi.org/10.18500/1816-9775-2021-21-3-254-259>

Статья опубликована на условиях лицензии Creative Commons Attribution 4.0 International (CC-BY 4.0)

Article

Synthesis of polysubstituted spiropyrrolidines using 2-acetylfuran, 2-acetylthiophene, and 2-acetylpyrrole

S. V. Borisova , V. V. Sorokin

Saratov State University, 83 Astrakhanskaya St., Saratov 410012, Russia

Svetlana V. Borisova, chuvainasv@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0001-8025-1296>

Vitaly V. Sorokin, sorokiniv@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0002-5861-3307>

Abstract. A series of novel spirooxindoles have been synthesized through three-component 1,3-dipolar cycloaddition of azomethine ylides generated *in situ* by the decarboxylative condensation of isatin and sarcosine with the dipolarophile 3-phenyl-1-(heteroaryl-2-yl)prop-2-en-1-one, synthesized by the Knoevenagel reaction using 2-acetylfuran, 2-acetylpyrrole, 2-acetylthiophene and substituted benzaldehydes. These compounds are used for the first time as dipolarophiles. This method has the advantages of mild reaction conditions, high atom economy, excellent yields, and high regio- and stereo-selectivity. The reaction was carried out by mixing equimolar amounts of enone and isatin, as well as a slight excess of sarcosine in isopropyl alcohol when heated to 60–70°C. Among the enones with various heterocyclic substituents, it is most convenient to use compounds containing a pyrrole fragment as dipolarophiles, since the products are obtained in a short amount of time in good yields. The use of enones obtained from 2-acetylthiophene leads to an increase in the reaction time, and from 2-acetylfuran - to a significant resinification of the reaction mixture. The structures of the compounds obtained were proved using a combination of ¹H, ¹³C NMR spectroscopy data, as well as two-dimensional NMR experiments of heteronuclear correlation, HSQC and HMBC. Based on the data obtained, a mechanism for the formation of products has been proposed.

Keywords: spirooxindole, three-component reaction, 1,3-dipolar cycloaddition, azomethine ylide



For citation: Borisova S. V., Sorokin V. V. Synthesis of polysubstituted spiropyrrolidines using 2-acetylfuran, 2-acetylthiophene, and 2-acetylpyrrole. *Izvestiya of Saratov University. Chemistry. Biology. Ecology*, 2021, vol. 21, iss. 3, pp. 254–259. <https://doi.org/10.18500/1816-9775-2021-21-3-254-259>

This is an open access article distributed under the terms of Creative Commons Attribution 4.0 International License (CC-BY 4.0)

Введение

В настоящее время разработка простых методов синтеза новых производных пирролидинов, содержащих пятичленные гетероциклические заместители, является актуальной задачей органического синтеза. 1,3-диполярное циклоприсоединение азометин-илидов, генерируемых *in situ*, представляет собой эффективный подход конструирования таких систем.

Изатин, благодаря наличию карбонильной функциональной группы, может вступать в реакцию конденсации с саркозином, приводящую к получению азометин-илидов в мягких условиях. Обзор [1] содержит обширные сведения о высокой биологической и фармакологической активности продуктов реакции 1,3-диполярного циклоприсоединения с подобными диполями, также известны работы, обобщающие биологические исследования других сложнопостроенных производных изатина [2–5]. Всё это свидетельствует о перспективности использования азометин-илидов, генерируемых *in situ* путем конденсации изатина и саркозина, в реакциях 1,3-диполярного циклоприсоединения для синтеза новых биологически активных веществ.

Еноны являются удобными диполярофилами благодаря легкости их получения и активности в реакциях 1,3-диполярного циклоприсоединения. Некоторые из продуктов подобных синтезов проявляют цитотоксическую активность [6, 7]. Еноны, полученные из пятичленных ацетильных производных гетероциклов, проявляют более высокую активность по сравнению с халконами аналогичного строения благодаря наличию электроноизбыточного гетероциклического заместителя [8, 9]. Сохранение такого фрагмента в продуктах реакции 1,3-диполярного циклоприсоединения может отразиться на биологической активности: Ранее поведение подобных енонов в качестве диполярофилов в реакциях 1,3-диполярного циклоприсоединения не изучалось.

Таким образом, целью работы является синтез новых производных пирролидина с помощью реакции 1,3-диполярного циклоприсоединения азометин-илидов, полученных конденсацией изатина и саркозина *in situ*, и енонов – производных 2-ацетилфурана, 2-ацетилтиофена и 2-ацетилпиррола.

Материалы и методы

Элементный анализ проводился на CHNS-анализаторе Elementar Vario Micro cube (Elementar Analysensysteme GmbH, Германия). Спектры ЯМР ^1H (400 МГц) и ^{13}C (100 МГц) регистрировались на спектрометре Varian 400 (Varian, США) в CDCl_3 , внутренний стандарт – ТМС. Контроль за ходом реакции осуществляли методом ТСХ на пластинках Alugram® Sil G UV254 (Macherey-Nagel GmbH & Co. KG, Германия), элюент – гексан – этилацетат – хлороформ (3:2:1) для синтеза исходных халконов, (2:2:1) для синтеза продуктов.

3-(4-нитрофенил)-1-тиофен-2-ил-2-ен-1-он (1)

В плоскодонную колбу объемом 25 мл, снабженную дефлегматором, помещают 2-ацетилтиофена 0,50 г (4,5 ммоль), смешивают с 4- NO_2 -бензальдегидом 0,63 г (4,5 ммоль), добавляют 5 мл этанола и нагревают до 65°C при постоянном перемешивании. К полученному раствору добавляют по каплям 5% раствор гидроксида натрия до $\text{pH}=10$. Наблюдают полное растворение компонентов. Нагревание проводят до выпадения первых кристаллов **1**. Ход реакции отслеживают с помощью ТСХ до исчезновения пятен исходных реагентов. К полученному раствору добавляют 10 мл воды и нейтрализуют 10% раствором соляной кислоты. Выпавший осадок перекристаллизовывают из смеси этанол–вода. Выход 1,06 г (91%). Кристаллы коричневого цвета, $t_{\text{пл}}=132\text{--}133$. Лит. данные: $t_{\text{пл}}=130\text{--}131^\circ\text{C}$ [9].

Аналогично получают соединения **2**, **3a**, **b**

3-(4-хлорфенил)-1-фуран-2-ил-2-ен-1-он (2b)

Выход 0,89 г (85%), $t_{\text{пл}}=209\text{--}211^\circ\text{C}$. Кристаллы желтого цвета. Лит. данные: $t_{\text{пл}}=209\text{--}210^\circ\text{C}$ [9].

3-(2-хлорфенил)-1-пирролил-2-ен-1-он (3a)

Выход 0,86 г (83%), $t_{\text{пл}}=175\text{--}177^\circ\text{C}$. Кристаллы светло-желтого цвета, $t_{\text{пл}}=115\text{--}117^\circ\text{C}$. Лит. данные: $t_{\text{пл}}=113\text{--}114^\circ\text{C}$ [8].

3-(2,4-дихлорфенил)-1-пирролил-2-ен-1-он (3b)

Выход 1,07 г (90%), $t_{\text{пл}}=100\text{--}101^\circ\text{C}$. Кристаллы желтого цвета. Лит. данные: $t_{\text{пл}}=103\text{--}105^\circ\text{C}$. [8].

4'-(4-нитрофенил)-3'-тиофенил'-

спиро[индолин-3,2'-пирролидин]-2-он(4a)

В круглодонную колбу объемом 25 мл, снабженную дефлегматором, помещают 1-(тиофен-2-ил)-3-(4-нитрофенил)проп-2-ен-1-он **3** 0,3 г (3,1 ммоль) смешивают с изатином **4** 0,19 г (3,1 ммоль) и саркозином **5** 0,36 г (6,2 ммоль),



добавляют 5 мл изопропилового спирта, перемешивают при 65°C в течение 4 часов. Выпавший осадок отфильтровывают, промывают водой и перекристаллизовывают в этаноле.

Выход 0,88 г (63%), Т. пл. 185–186°C. ЯМР ^1H , δ , м.д.: 8.17 (d, $J = 8.3$ Гц, 2H), 7.70 (d, $J = 8.5$ Гц, 3H), 7.41 (d, $J = 4.9$ Гц, 1H), 7.34 (d, $J = 3.8$ Гц, 1H), 7.26 (s, 1H), 7.17 (d, $J = 7.4$ Гц, 1H), 7.07 (t, $J = 7.7$ Гц, 1H), 6.96 (t, $J = 7.5$ Гц, 1H), 6.84 (t, $J = 4.4$ Гц, 1H), 6.59 (d, $J = 7.7$ Гц, 1H), 4.62 (q, $J = 8.8$ Гц, 1H), 4.31 (d, $J = 9.1$ Гц, 1H), 3.67 (t, $J = 9.2$ Гц, 1H), 3.50 (t, $J = 8.1$ Гц, 1H), 2.23 (s, 3H).

ЯМР ^{13}C , δ , м.д.: δ 188.79, 179.48, 149.18, 146.99, 144.22, 140.22, 134.75, 131.43, 129.44, 129.16, 127.78, 126.93, 126.31, 123.94, 123.30, 109.29, 77.34, 77.02, 76.70, 73.84, 63.84, 59.91, 44.17, 34.93.

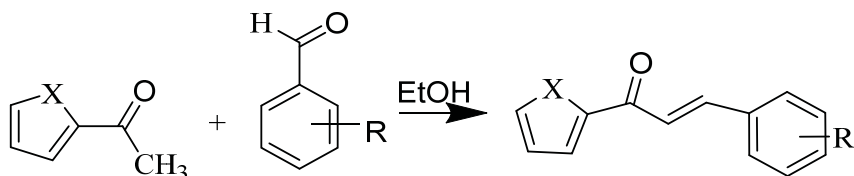
Найдено, %: С 63.04; Н 4.36; N 10.05; S 7.28. $\text{C}_{23}\text{H}_{19}\text{N}_3\text{O}_4\text{S}$. Вычислено, %: С 63.73; Н 4.42; N 9.69; S 7.40.

4'-(2-хлорфенил)-3'-фуран-2-ил-1'-спиро[индолин-3,2'-пирролидин]-2-он (4a)

Выход 0.76 г (60%), Т. пл. 191–192°C. ЯМР ^1H , δ , м.д.: ЯМР ^1H , δ , м.д.: 7.83 (d, $J = 7.8$ Гц, 1H), 7.34 (d, $J = 8.0$ Гц, 2H), 7.31 – 7.25 (m, 3H), 7.17 (t, $J = 7.2$ Гц, 2H), 7.14 – 7.11 (m, 1H), 7.07 (t, $J = 7.7$ Гц, 1H), 6.93 (t, $J = 7.6$ Гц, 1H), 6.86 (d, $J = 3.6$ Гц, 1H), 6.67 (d, $J = 7.7$ Гц, 1H), 6.22 (dd, $J = 3.6, 1.8$ Гц, 1H), 5.08 (q, $J = 8.5$ Гц, 1H), 4.48 (d, $J = 8.7$ Гц, 1H), 3.55 – 3.44 (m, 2H), 3.33 (qd, $J = 16.2, 7.1$ Гц, 1H), 2.20 (s, 3H).

ЯМР ^{13}C , δ , м.д.: 184.94, 180.00, 152.69, 146.48, 146.19, 140.61, 139.00, 134.56, 129.99, 129.57, 129.18, 129.00, 127.87, 127.26, 127.02, 126.87, 126.43, 122.99, 117.52, 116.89, 114.99, 114.95, 112.29, 109.17, 73.58, 61.56, 60.37, 42.59, 39.56, 34.84.

Найдено, %: С 67.74; Н 4.23; N 7.31. $\text{C}_{23}\text{H}_{19}\text{N}_3\text{O}_4\text{S}$. Вычислено, %: С 67.90; Н 4.71; N 6.89.



Синтезированные соединения были применены как диполярофилы. Реакция проводилась смешиванием эквимольных количеств енона и

4'-(2,4-дихлорфенил)-3'-пирролил-1'-спиро[индолин-3,2'-пирролидин]-2-он (5b)

Выход 0.83 г (61%), Т. пл. 218–220°C. ЯМР ^1H , δ , м.д.: 7.43 (d, $J = 8.4$ Гц, 2H), 7.38 (dd, $J = 5.0, 1.2$ Гц, 1H), 7.35 (dd, $J = 3.9, 1.1$ Гц, 1H), 7.26 (d, $J = 1.1$ Гц, 2H), 7.20 (d, $J = 7.4$ Гц, 1H), 7.08–7.00 (m, 1H), 6.96 (td, $J = 7.6, 1.2$ Гц, 1H), 6.89–6.80 (m, 3H), 6.54 (d, $J = 7.7$ Гц, 1H), 4.45 (td, $J = 9.5, 7.0$ Гц, 1H), 4.32 (d, $J = 9.4$ Гц, 1H), 3.76 (d, $J = 1.1$ Гц, 3H), 3.62 (t, $J = 9.4$ Гц, 1H), 3.42 (dd, $J = 8.9, 7.3$ Гц, 1H), 2.23 (s, 3H).

ЯМР ^{13}C , δ , м.д.: δ 189.49, 158.52, 144.84, 140.17, 134.12, 133.12, 131.20, 129.13, 129.07, 127.58, 127.10, 127.01, 123.12, 114.03, 110.00, 108.92, 77.30, 76.99, 76.67, 64.14, 60.44, 55.24, 43.87, 34.99.

Найдено, %: С 62.27; Н 4.43; N 9.91. $\text{C}_{23}\text{H}_{19}\text{N}_3\text{O}_4\text{S}$. Вычислено, %: С 62.74; Н 4.35; N 9.54.

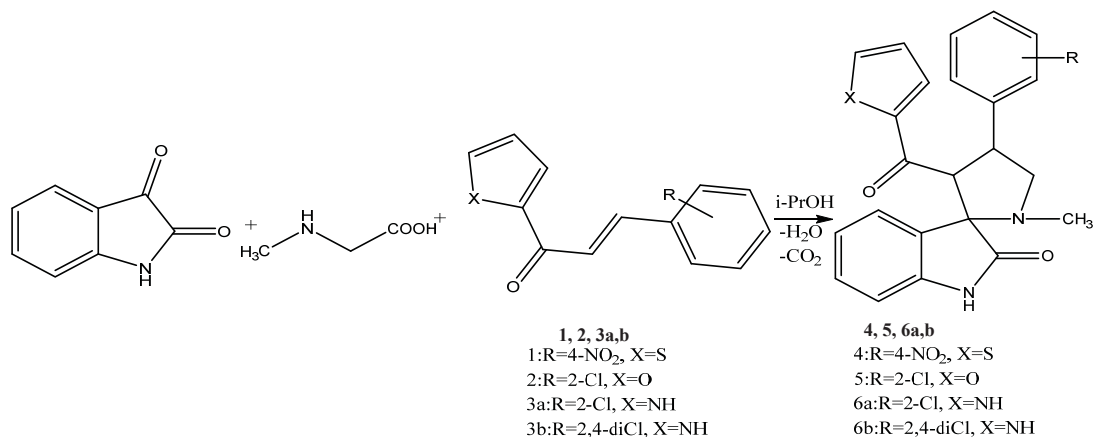
4'-(2-хлорфенил)-3'-пирролил-1'-спиро[индолин-3,2'-пирролидин]-2-он (4a)

Выход 0.78 г (62%), Т. пл. 246–248°C. ЯМР ^1H , δ , м.д.: 8.98 (с, 1H, NH), 7.79 (dd, $J = 7.7, 1.7$ Гц, 1H), 7.45 (s, 1H), 7.32 (dd, $J = 7.9, 1.3$ Гц, 1H), 7.17 – 7.09 (m, 2H), 7.09 – 7.03 (m, 1H), 6.98 – 6.90 (m, 2H), 6.78 (d, $J = 3.2$ Гц, 1H), 6.68 (d, $J = 3.9$ Гц, 1H), 6.62 (d, $J = 7.8$ Гц, 1H), 6.02 (q, $J = 2.8$ Гц, 1H), 5.06 (q, $J = 8.6$ Гц, 1H), 4.39 (d, $J = 9.2$ Гц, 1H), 3.55 (t, $J = 8.3$ Гц, 1H), 3.43 (t, $J = 8.9$ Гц, 1H). ЯМР ^{13}C , δ , м.д.: 185.39, 179.45, 149.61, 139.13, 129.50, 129.02, 128.76, 127.82, 127.32, 127.22, 125.04, 122.72, 116.08, 115.01, 110.54, 109.19, 77.32, 74.40, 61.10, 60.54, 40.32, 35.13. Найдено, %: С 67.47; Н 4.54; N 10.00. $\text{C}_{23}\text{H}_{19}\text{N}_3\text{O}_4\text{S}$. Вычислено, %: С 68.06; Н 4.97; N 10.35.

Результаты и их обсуждение

Исходные еноны были получены с помощью конденсации Кневенагеля с использованием 2-ацетилфурана, 2-ацетилпиррола и 2-ацетилтиофена и замещенных бензальдегидов с хорошими выходами (до 90%).

изатина, а также небольшого избытка саркозина в среде изопропилового спирта при нагревании до 60–70°C с получением продуктов **4**, **5**, **6a**, **b**.



На примере продукта **4** показано подтверждение структуры методами ЯМР ¹H, ¹³C, HMBC, NOESY спектроскопии.

В спектре ЯМР ¹H полученных соединений присутствуют ключевые сигналы пирролидинового цикла. Протону в третьем положении со-

ответствует дублет в области 4.31 м.д., протону в четвертом положении – квартет при 4.62 м.д., диастереотопные протоны в пятом положении резонируют двойным триплетом при 3.67 и 3.50 м.д. Протонам метильной группы соответствует синглет в области 2.23 м.д. (рис. 1).

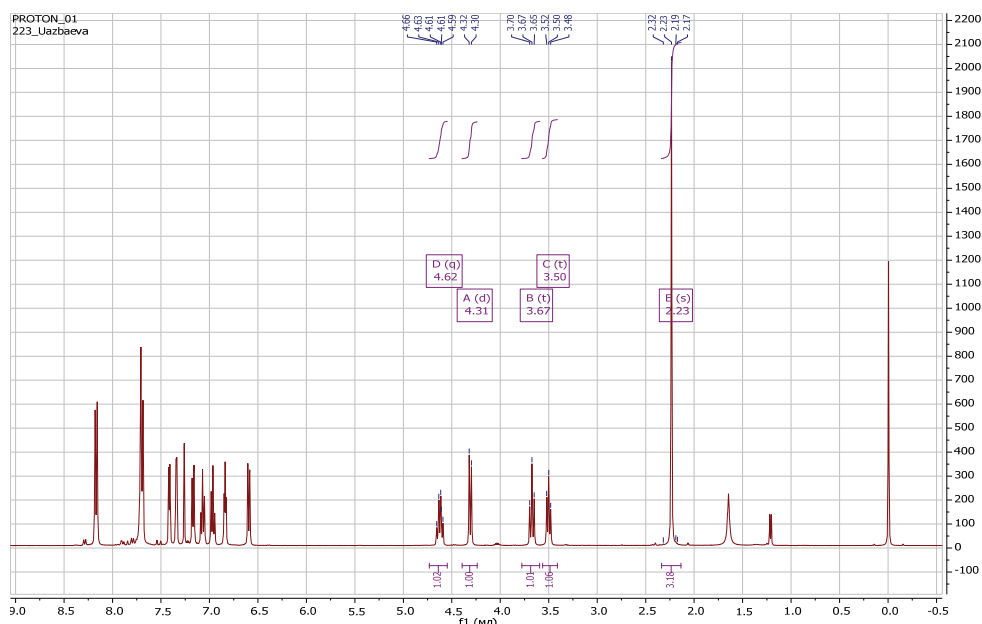


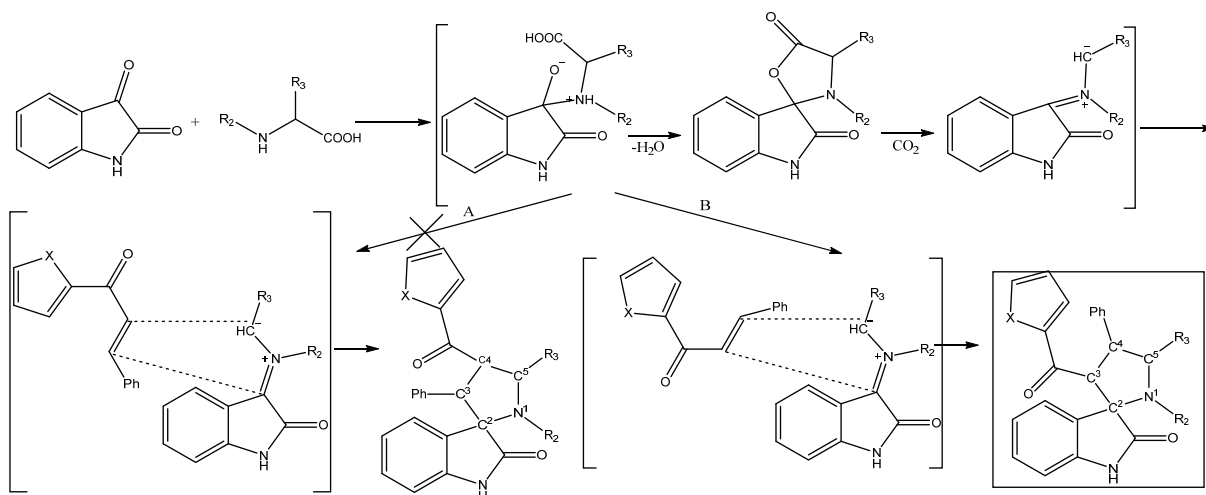
Рис. 1. ЯМР ¹H спектр 1'-метил-4'-(4-нитрофенил)-3'-(тиофен-2-ил)спиро[индолин-3,2'-пирролидин]-2-она (**9a**), CDCl₃

Fig. 1. NMR ¹H spectrum 1'-methyl-4'-(4-nitrophenyl)-3'-(thiophene-2-yl)spiro[indoline-3,2'-pyrrolidine]-2-one (**9a**), CDCl₃

В спектре ЯМР ¹³C наблюдаются сигналы спироциклического атома углерода пирролидинового кольца при 73.84 м.д., углеродов карбонильных групп: амидного при 179.49 м.д. и кетонного при 188.79 м.д. фрагментов. Углероду метильной группы соответствует синглет в области 34.77 м.

Как известно [10], образование саркози-

нового 1,3-диполя происходит через несколько последовательных процессов: нуклеофильная атака атомом азота саркозина карбонильного атома углерода изатина с последующими стадиями дегидратации и декарбосилирования. Затем азометин-илид присоединяется к двойной связи диполярофила с получением конечного продукта.



В ходе циклоприсоединения теоретически возможно образование двух региоизомеров по пути А и В, различающихся заместителями в 3 и 4 положениях пирролидинового кольца. Разрешить этот вопрос позволяет детальный разбор двумерных спектров НМВС. Корреляция протона

в третьем положении и карбамидного атома углерода (179,48/4,39), а также протона в четвертом положении и атома углерода бензольного кольца (4,62/129,16), протонов бензольного кольца и атома углерода C4(44,17/769) однозначно свидетельствует об образовании продукта по пути В (рис. 2).

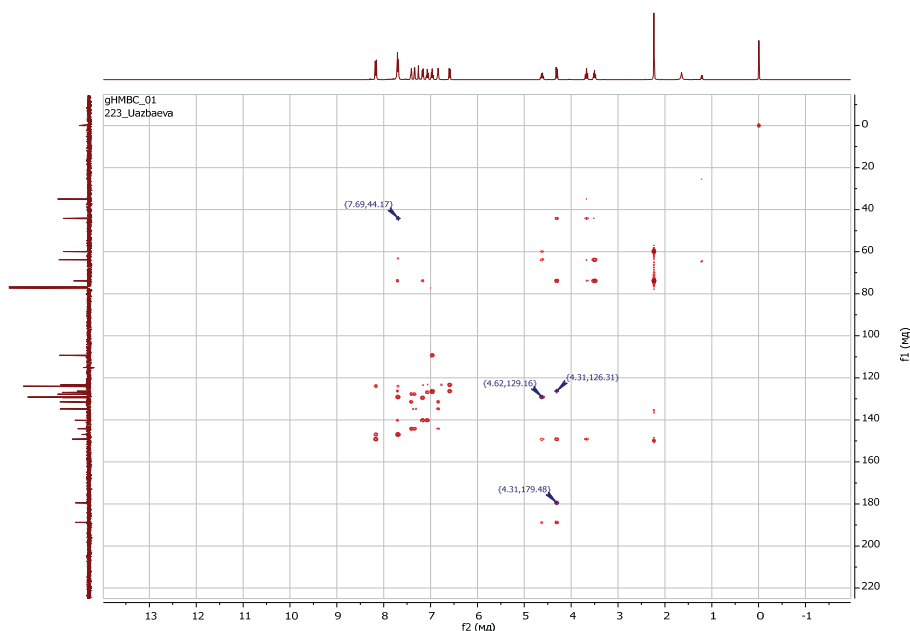


Рис. 2. НМВС спектр 1'-метил-4'-(4-нитрофенил)-3'-(тиофен-2-ил)спиро[индолин-3,2'-пирролидин]-2-она (4), CDCl₃

Fig. 2. HMBC spectrum 1'-methyl-4'-(4-nitrophenyl)-3'-(thiophene-2-yl)spiro[indoline-3,2'-pyrrolidin]-2-one (4), CDCl₃

Благодаря эксперименту NOESY 2D были изучены особенности стереохимического строения продуктов. Отсутствие корреляции между протонами при С-3 и С-4 пирролидинового цикла говорит об их трансoidalном расположении, соответствующем исходным 3-фенил-1-

гетероарилпропен-2-онов, что свидетельствует о синхронном механизме, в результате которого разрыв и образование новых связей происходит одновременно, без интермедиата, и относительное положение заместителей не изменяется.



Анализ полученных экспериментальных данных показывает, что в качестве диполярфилов среди енонов с различными гетероциклическими заместителями лучше всего зарекомендовали себя соединения **3 a,b**, содержащие пиррольный фрагмент, позволяющие получать конечные продукты за небольшое количество времени (3–4 часа). Использование енонов, полученных из 2-ацетилтиофена, приводит к увеличению времени проведения реакции, а из 2-ацетилфурана – к значительному осмолению реакционной смеси.

Таким образом, показана возможность получения спироциклических пирролидинов определенного региоизомерного и стереохимического состава с помощью реакции 1,3-диполярного циклоприсоединения нестабилизированных диполей на основе изатина и саркозина с 3-фенил-1-(гетероарил)пропен-2-онон.

Список литературы

1. Lashgari N., Ziarani G. M. Synthesis of heterocyclic compounds based on isatin through 1, 3-dipolar cycloaddition reactions // *Arkivoc.* 2012. Vol. 32. P. 277–320. <https://doi.org/10.1002/chin.201232253>
2. Chahal V. Isatin and its derivatives: A survey of recent syntheses, reactions, and applications // *Med. Chem. Commun.* 2019. Vol. 13. P. 1–19. <https://doi.org/10.1039/C8MD00585K>
3. Mayuri A. A Review on Synthesis of Spiro Heterocyclic Compounds From Isatin // *Synthetic Communications*, 2013, vol. 7, pp. 897–922. <https://doi.org/10.1080/00397911.2013.843196>
4. Moradi R. Recent applications of isatin in the synthesis of organic compounds // *Arkivoc.* 2017. Vol. 25. P. 148–201. <https://doi.org/10.3998/ark.5550190.p009.980>
5. Yu B., Yu D.-Q., Liu H.-M. Spirooxindoles: Promising scaffolds for anticancer agents // *Eur. J. Med. Chem.* 2015. Vol. 97. P. 637. <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2014.06.056>
6. Аниськов А. А., Клочкова И. Н., Щекина М. П., Андреев К. А., Тумский Р. С. Стереохимические аспекты реакции 1,3-диполярного циклоприсоединения в ряду сопряженных енонов // *Известия Саратовского университета. Новая серия. Серия: Химия. Биология. Экология.* 2016. Т. 16, вып. 1. С. 35–42. <https://doi.org/10.18500/1816-9775-2016-16-1-35-42>
7. Tumskiy R. S., Burygin G. L., Anis'kov A. A., Klochkova I. N. Synthesis of novel spirooxindole-pyrrolidines and evaluation of their cytotoxic activity // *Pharmacological Reports*. 2019. Vol. 71. P. 357–360. <https://doi.org/10.1016/j.pharep.2018.12.004>
8. Sharma P., Kumar S., Ali F.n, Anthal S. Synthesis and biologic activities of some novel heterocyclic chalcone derivatives // *Med. Chem. Res.* 2013. Vol. 22. P. 3969–3983. <https://doi.org/10.1007/s00044-012-0401-7>
9. Yang S., Kim Y., Jeong D., Kim J., Kim S. Pyrrole-Derivative of Chalcone, (E)-3-Phenyl-1-(2-Pyrrolyl)-2-Propenone, Inhibits Inflammatory Responses via Inhibition of Src, Syk, and TAK1 Kinase Activities // *Original Article Biomol. Ther.* 2016. Vol. 24, iss. 6. P. 595–603. <https://doi.org/10.4062/biomolther.2016.027>
10. Grigg R. The Decarboxylative Route to Azomethine Ylides. Mechanism of 1,3-Dipole Formation // *J. Chem. Soc. Commun.* 1987. Vol. 12. P. 49–51. <https://doi.org/10.1039/C39870000049>

Поступила в редакцию 10.02.21, после рецензирования 25.02.21, принята к публикации 02.03.21
Received 10.02.21, revised 25.02.21, accepted 02.03.21



Известия Саратовского университета. Новая серия. Серия: Химия. Биология. Экология. 2021. Т. 21, вып. 3. С. 260–266

Izvestiya of Saratov University. Chemistry. Biology. Ecology, 2021, vol. 21, iss. 3, pp. 260–266

<https://ichbe.sgu.ru>

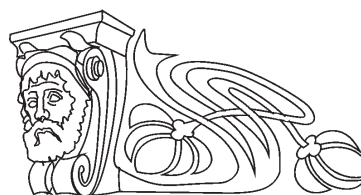
<https://doi.org/10.18500/1816-9775-2021-21-3-260-266>

Научная статья

УДК 543.068.8

Экспресс-определение цефалексина

А. В. Тумская , И. В. Косырева



Саратовский национальный исследовательский государственный университет имени Н. Г. Чернышевского, Россия, 410012, г. Саратов, ул. Астраханская, д. 83

Тумская Анастасия Вячеславовна, аспирант кафедры аналитической химии и химической экологии Института химии, marakaeva_anastasiya@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-1378-6861>

Косырева Ирина Владимировна, кандидат химических наук, доцент кафедры аналитической химии и химической экологии Института химии, i_kosyreva@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-7607-2292>

Аннотация. Получены тест-средства на основе иммобилизованного реактива Фелинга для определения цефалексина. Разработаны методики визуальной, а также цветометрической оценки концентрации антибиотика с применением камеры смартфона. Подобраны оптимальные условия проведения индикаторной реакции при варьировании времени и температуры нагревания. Для визуальной полуколичественной оценки содержания цефалексина получена цветовая шкала. Определены метрологические характеристики тест-методики: диапазон определяемых содержаний – 0.5–16 мг/мл, интервал ненадежности – 0.1–0.4 мг/мл, предел обнаружения – 0.4 мг/мл. Для цветометрической оценки концентрации цефалексина построена линейная зависимость интенсивности канала Blue от логарифма концентрации цефалексина ($y = -96x + 144$, $r^2 = 0.99$), а также получены линейные зависимости площади ($y = -36986x + 62458$, $r^2 = 0.96$) и периметра ($y = -270x + 786$, $r^2 = 0.93$) от логарифма концентрации цефалексина. Диапазон определяемых содержаний составил 0.1–16 мг/мл, нижняя граница – 0.1 мг/мл. Проверку правильности разработанных тест-методик осуществляли способом «введено-найдено» ($Sr \leq 0.13$).

Ключевые слова: экспресс-определение, тест-средства, индикаторные бумаги, цефалексин, цветометрия

Благодарности: Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ в рамках научного проекта № 20-33-90020.

Для цитирования: Тумская А. В., Косырева И. В. Экспресс-определение цефалексина // Известия Саратовского университета. Новая серия. Серия: Химия. Биология. Экология. 2021. Т. 21, вып. 3. С. 260–266. <https://doi.org/10.18500/1816-9775-2021-21-3-260-266>

Статья опубликована на условиях лицензии Creative Commons Attribution 4.0 International (CC-BY 4.0)

Article

Express determination of cephalexin

A. V. Tumskaja , I. V. Kosyreva

Saratov State University, 83 Astrakhanskaya St., Saratov 410012, Russia

Anastasiya V. Tumskaja, marakaeva_anastasiya@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-1378-6861>

Irina V. Kosyreva, i_kosyreva@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-7607-2292>

Abstract. Test means based on immobilized Fehling's reagent for the determination of cephalexin have been obtained. Methods for visual and colorimetric assessment of antibiotic concentration using a smartphone camera have been developed. The optimal conditions for the indicator reaction have been selected with varying heating time and temperature. For a visual semi-quantitative assessment of the content of cephalexin, a color scale has been obtained. The metrological characteristics of the test method have been determined: the range of the determined contents is 0.5–16 mg/ml, the unreliability interval is 0.1–0.4 mg/ml, and the detection limit is 0.4 mg / ml. For the colorimetric assessment of the concentration of cephalexin, a linear dependence of the intensity of the Blue channel on the logarithm of the concentration of cephalexin ($y = -96x + 144$, $r^2 = 0.99$) has been constructed, and linear dependences of the area ($y = -36986x + 62458$, $r^2 = 0.96$) and perimeter ($y = -270x + 786$, $r^2 = 0.93$) from the logarithm of the concentration of cephalexin have been obtained. The range of the determined contents was 0.1–16 mg/ml, the lower limit was 0.1 mg / ml. The verification of the correctness of the developed test methods was carried out by the «introduced-found» method ($Sr \leq 0.13$).

Keywords: express determination, test tools, indicator papers, cephalexin, colorimetry

Acknowledgements: The reported study was funded by RFBR, project number 20-33-90020.

For citation: Tumskaja A. V., Kosyreva I. V. Express determination of cephalexin. *Izvestiya of Saratov University. Chemistry. Biology. Ecology*, 2021, vol. 21, iss. 3, pp. 260–266. <https://doi.org/10.18500/1816-9775-2021-21-3-260-266>

This is an open access article distributed under the terms of Creative Commons Attribution 4.0 International License (CC-BY 4.0)



Введение

Цефалексин – полусинтетический антибиотик из группы цефалоспоринов, который активен в отношении грамположительных и некоторых грамотрицательных бактерий [1], входит в перечень жизненно необходимых и важнейших лекарственных препаратов медицинского назначения [2]. Цефалоспорины, подобно пенициллинам, ингибируют транспептидазу, участвующую в формировании структуры клеточной мембраны патогенных бактерий. В молекуле цефалоспоринов β -лактамное кольцо конденсировано с шестичленным тиазиновым циклом. Цефалексин применяют для лечения инфекций мочеполовой системы (пиелонефрит, цистит, уретрит, простатит и др.), инфекций верхних и нижних дыхательных путей (бронхит, острая пневмония и др.), инфекций кожи и мягких тканей (фурункулез, абсцесс, флегмона и др.) [3, 4].

При определении цефалексина применяют метод высокоэффективной жидкостой хроматографии [5–7], люминесцентный метод [8], иммуноанализ [9]. В качестве реагентов при

спектрофотометрическом определении цефалексина в лекарственных препаратах предложен реактив Фолина–Чокальтеу (ДОС 10–160 мкг/мл) [10], тринатриевая соль 1-гидрокси-3,6,8-пиренетрисульфоновой кислоты (ДОС 0.3–1.8 мкг/мл) [11]. Amin и Shama предложен метод определения цефалексина, основанный на кислотном гидролизе антибиотика и последующем окислении ванадофосфорной кислотой (ДОС 0.4–45 мкг/л) [12]. Качественными для β -лактамов являются реакции с нингидрином, реактивами Марки и Фелинга [13].

Цефалексин является тридентатным лигандом и может связываться с ионом меди (II) через карбонильные группы и NH_2 -группы боковой цепи [14, 15]. Предполагаемая схема комплексообразования цефалексина с медью (II) представлена на рис. 1. Исследована реакция комплексообразования между различными цефалоспориновыми антибиотиками и ионами Cu (II), Cd (II), Zn (II) с применением циклической вольтамперометрии, определен состав комплекса Cu (II) : цефалексин – 1 : 1 [16].

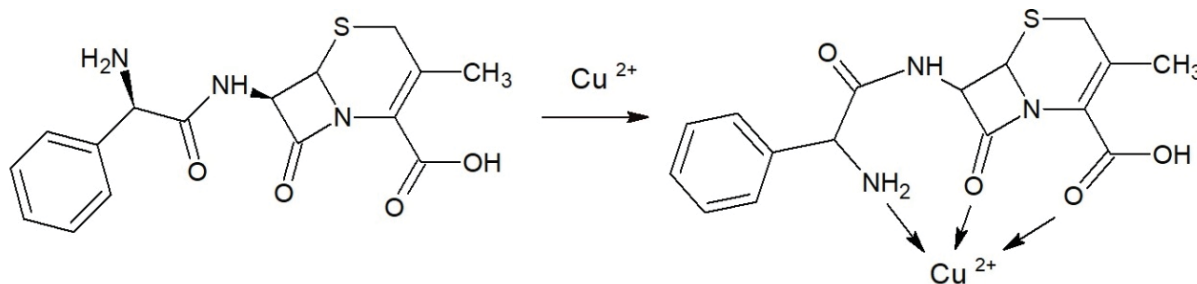


Рис. 1. Предполагаемая схема реакции комплексообразования цефалексина с Cu (II)
Fig. 1. Supposed scheme of the reaction of complexation of cephalexin with Cu (II)

Для испытания на подлинность цефалексина фармакопеи России, Республики Беларусь, Европейская и Британская рекомендуют методы ВЭЖХ и ИК-спектроскопии. Однако такие методы требуют использования дорогостоящего специализированного оборудования, токсичных растворителей. Следовательно, разработка простых, экспрессных и недорогих методов определения цефалексина в различных объектах является актуальной задачей современной аналитической химии. Для этих целей положительно себя зарекомендовали тест-методы анализа, позволяющие осуществлять экспресс-контроль на месте.

Целью настоящей работы является разработка экспресс-методик визуального и цветометрического определения цефалексина.

Материалы и методы

Цефалексин («Sigma Aldrich»); гидроксид натрия, сульфат меди (II), тартрат натрия-калия («Реахим»). Исходный раствор цефалексина с концентрацией 16 мг/мл готовили растворением навески антибиотика в 0.05 М NaOH. Рабочие растворы готовили в день проведения эксперимента путем разбавления исходного. Реактив Фелинга готовили по методике [17].

Фильтры обеззоленные «Синяя лента», ТУ 2642-001-13927158-2003, масса золы 1 фильтра 0,00104 г.

13-Мегапиксельная камера смартфона Redmi 6A. Бокс для фотографирования размером 22 × 23 × 24 см с двумя полосками светодиодного освещения (5V, 1A).

Шкаф сушильный SNOL 58/350 (Литва).



Получение индикаторных бумаг: для получения индикаторных бумаг фильтр размером 5×5 см погружали на 5 мин в свежеприготовленный раствор реактива Фелинга, высушивали при 25°C. Бумага равномерно окрашивалась в голубой цвет.

Цветометрическая обработка: аналитический сигнал регистрировали камерой смартфона Redmi 6A, для этого тест-средство помещали в бокс и фотографировали. Полученные изображения обрабатывали с помощью программы Adobe Photoshop®. Для этого часть изображения усредняли с помощью фильтра «Average» и определяли интенсивность цветовых параметров моделей RGB. Строили зависимости интенсивностей цветовых каналов от концентрации цефалексина.

Результаты и их обсуждение

Визуально-колориметрическое определение цефалексина

Для визуальной полуколичественной оценки применяли цветовую шкалу, для получения которой на индикаторную бумагу наносили анализируемый раствор антибиотика в диапазоне концентраций от 0.5 до 16 мг/мл.

Определяли основные метрологические характеристики тест-методики – интервал нена-

дежности, диапазон определяемых содержаний, предел визуального обнаружения. Рассчитывали интервал ненадежности тест-реакции, т.е. диапазон концентраций цефалексина, в котором имелись положительные и отрицательные результаты наблюдений изменения окраски индикаторной бумаги по сравнению с контрольным образцом (0 мг/мл). Для этого готовили 3 тест-шкалы с концентрациями цефалексина от 0.1 до 0.5 мг/мл с шагом ΔC = 0.05 мг/мл. Визуальную оценку давали 15 наблюдателей (n = 45). Определяли вероятность обнаружения цефалексина по формуле [18]:

$$P(c_i) = \frac{n_i}{N_i},$$

где P(c_i) – вероятность обнаружения цефалексина, n_i – число положительных ответов наблюдателей, N_i – общее число ответов.

Для проверки гипотезы о законе распределения результатов исследования строили графики зависимостей функций нормального, логнормального, экспоненциального распределений и распределения экстремального значения первого рода (Вейбулла) от концентрации (логарифма концентрации) и определяли коэффициенты корреляции полученных уравнений прямых (табл. 1).

Таблица 1 / Table 1

Функции распределения, испытанные при аппроксимации зависимости P(c) от C
Distribution functions tested when approximating the dependence of P(c) on C

Функция распределения / Distribution function	Уравнение / The equation	Коэффициент корреляции / Correlation coefficient
Нормальное / Normal	y = 4.3x – 0.73	0.95
Логнормальное / Lognormal	y = 1.1x + 1.88	0.88
Экспоненциальное / Exponential	y = 1.4x – 0.05	0.99
Экстремального значения первого рода (Вейбулла) / Extreme value of the first kind (Weibull)	y = 5.4x + 0.99	0.99

На рис. 2 представлена зависимость частоты обнаружения цефалексина от его концентрации в интервале ненадежности. Значения концентраций при P(c) = 5% (0.1 мг/мл) и 99% (0.4 мг/мл) определены как нижняя и верхняя границы интервала ненадежности. Предел обнаружения определяли как правую границу интервала ненадежности при P(c) = 0.99, которая составила 0.4 мг/мл.

Эмпирические распределения частот обнаружения цефалексина с использованием индикаторных бумаг наиболее близки к функции экспоненциального распределения (r² = 0.99) и функции распределения Вейбулла (r² = 0.99), что подтверждает правильность выбранного

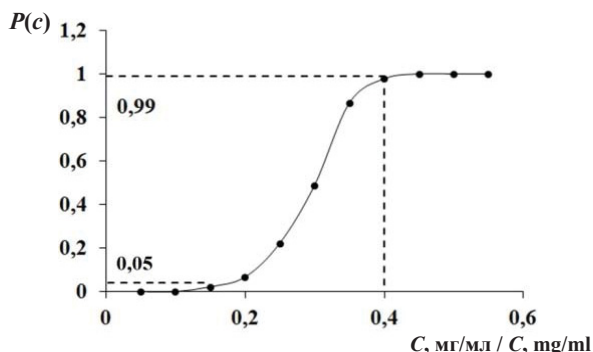


Рис. 2. Зависимость вероятности обнаружения цефалексина (P(c)) от его концентрации (мг/мл) в интервале ненадежности

Fig. 2. Dependence of the probability of detecting cephalosporin (P(c)) on its concentration (mg/ml) in the unreliability interval



интервала ненадежности при определении метрологических характеристик разработанной тест-методики.

Диапазон определяемых содержаний (ДОС) при визуально-колориметрическом определении цефалексина составил 0.5–16 мг/мл, интервал ненадежности – 0.1–0.4 мг/мл, а предел обнаружения – 0.4 мг/мл.

Цветометрическое определение

Цветометрически проводили оценку влияния температуры нагревания и времени реакции на окраску тест-средств цефалексином (4 мг/мл) по сравнению с контрольным образцом (0 мг/мл). Для этого тест-средства при ~25°C либо при нагревании в сушильном шкафу (80±2°C) фотографировали через 1, 5, 10 и 15 мин. Полученные изображения тест-средств обрабатывали в программе Adobe Photoshop CS5®, определяя интенсивность цветового канала Blue. На рис. 3 представлен график зависимости изменения интенсивности канала Blue (ΔB) от температуры и времени нагревания тест-средств. Максимальная разница интенсивности канала Blue (~90) наблюдается через ~1 мин нагревания при 80±2°C и далее не изменяется. При 25°C ΔB возрастает с ~55 (1 мин) до ~90 (10 мин). Поэтому дальнейшие исследования проводили либо через 1 мин нагревания тест-средств (80±2°C), либо через 10 мин при 25°C.

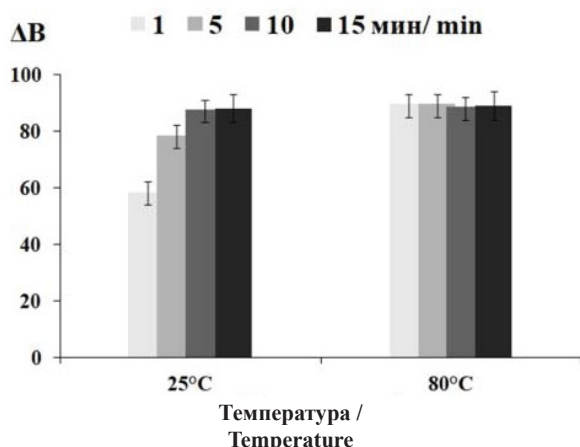


Рис. 3. Изменение интенсивности канала Blue (ΔB) индикаторных бумаг при определении цефалексина (4 мг/мл) при 25 и 80 °C от времени реакции, мин
Fig. 3. Change in the intensity of the Blue channel (ΔB) of indicator papers with cephalixin (4 mg/ml) at 25 and 80 °C of reaction time, min

Изображения тест-средств обрабатывали с применением программы Adobe Photoshop CS5®. Определяли интенсивность цветовых каналов R, G, B и строили зависимости интенсивностей (I)

цветовых каналов от концентрации (рис. 4, а) и логарифма концентрации цефалексина (рис. 4, б). Линейный характер наблюдается в случае зависимостей интенсивностей цветовых каналов Green и Blue от логарифма концентрации антибиотика. Наилучшая по чувствительности (tgα) и коэффициенту регрессии получена зависимость для канала Blue ($y = -96x + 144, r^2 = 0.99$).

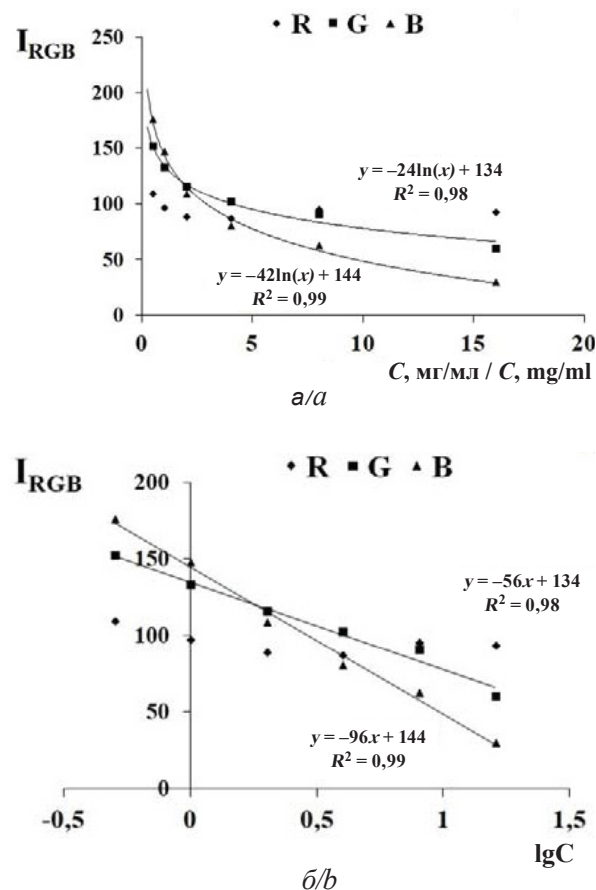


Рис. 4. Зависимости интенсивностей цветовых каналов Red, Green, Blue (I_{RGB}) от концентрации (а), логарифма концентрации (б) цефалексина
Fig. 4. Dependences of the intensities of the color channels Red, Green, Blue (IRGB) on the concentration (a), the logarithm of the concentration (b) of cephalixin

По полученным цветовым шкалам построены профили лепестковых диаграмм в координатах цветовых параметров моделей RGB (Red, Green, Blue), HSV (Hue, Saturation, Value) и CMYK (Сяан, Magenta, Yellow, Key) (рис. 5, а). Рассчитывали площадь (S) и периметр (P) полученных профилей лепестковых диаграмм в MS Excel по формулам:

$$P = \sqrt{a^2 + b^2 - 2ab \cdot \cos(ab)},$$

$$S = a + b \cdot \sin(ab),$$



где a, b – стороны треугольника; $\cos(ab)$ – косинус угла между сторонами a, b ; $\sin(ab)$ – синус угла между сторонами a, b .

Далее строили соответствующие зависимости S или P от логарифма концентрации цефалексина (рис. 5, б, в).

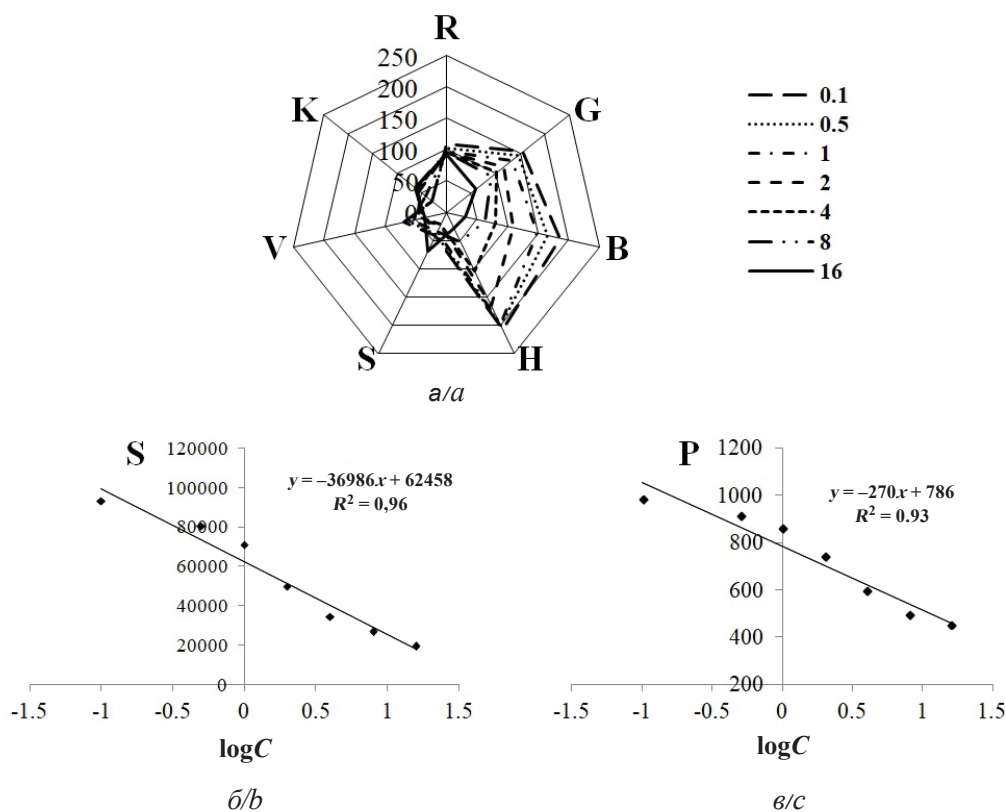


Рис. 5. Профили лепестковых диаграмм в координатах цветовых каналов R, G, B, H, S, V, K для концентраций цефалексина от 0.1 до 16 мг/мл (а), зависимости площади (б) и периметра (в) от $\log C$
 Fig. 5. Radar profiles in coordinates of color channels R, G, B, H, S, V, K for cephalixin concentrations from 0.1 to 16 mg / ml (a), dependence of area (b) and perimeter (c) on $\log C$

Получены линейные зависимости площади ($y = -36986x + 62458, r^2 = 0.96$) и периметра ($y = -270x + 786, r^2 = 0.93$) от логарифма концентрации цефалексина. Данные зависимости можно применять для оценки содержания цефалексина. ДОО разработанной цветометрической методики составил 0.1–16 мг/мл, НГОС – 0.1 мг/мл.

Проверку правильности разработанных тест-методик осуществляли способом «введено–най-

дено» (табл. 2). Как видно из табл. 2, значения относительного стандартного отклонения (RSD) для разработанных тест-методик находятся в диапазоне от 9 до 13%.

Таким образом, разработанные тест-методики могут быть применены для визуального (ДОО – 0.5–16 мг/мл, НГОС – 0.5 мг/мл, интервал ненадежности – 0.1–0.4 мг/мл, предел обнаружения – 0.4 мг/мл) и цветометрического

Таблица 2 / Table 2

Результаты проверки правильности способом «введено–найдено» ($n = 3, P = 0.95$)
 Validation results by the input–found method ($n = 3, P = 0.95$)

Введено, мг/мл / Added, mg/ml	Found, mg/ml					
	Канал Blue / Blue channel	RSD, %	Площадь лепестковых диаграмм / Area of radar charts	RSD, %	Периметр лепестковых диаграмм / Perimeter of radar charts	RSD, %
12	12±1	9	13±2	13	11±1	11
6	7±1	9	8±2	10	8±2	12



(по зависимости интенсивности канала Blue ($y = -96x + 144$, $r^2 = 0.99$), площади ($y = -36986x + 62458$, $r^2 = 0.96$) и периметра ($y = -270x + 786$, $r^2 = 0.93$), ДОС – 0.1–16 мг/мл, НГОС – 0.1 мг/мл) определения цефалексина.

Список литературы

1. Sahn D. F., Thornsberry C., Jones R. N. β -Lactam antibiotics: The first- and second-generation cephalosporins // *Antimicrob. Newsl.* 1985. Vol. 2, № 4. P. 25–28.
2. Распоряжение Правительства РФ от 23 октября 2017 г. № 2323-р «Об утверждении перечня жизненно необходимых и важнейших лекарственных препаратов на 2018 г.». URL: government.ru/docs/29758
3. Wick W. E. Cephalixin, a new orally absorbed cephalosporin antibiotic // *Applied Microbiology.* 1967. Vol. 15, № 4. P. 765–769.
4. Solberg C. O., Schreiner A., Digranes A. Cephalixin therapy of lower respiratory tract, soft tissue and bone infections // *Scand. J. Infect. Dis.* 1972. Vol. 4, № 3. P. 241–243.
5. Oliveira R. V., De Pietro A. C., Cass Q. B. Quantification of cephalixin as residue levels in bovine milk by high-performance liquid chromatography with on-line sample cleanup // *Talanta.* 2007. Vol. 71, № 3. P. 1233–1238.
6. Coran S. A., Bambagiotti-Alberti M., Giannellini V., Baldi A., Picchioni G., Paoli F. Development of a densitometric method for the determination of cephalixin as an alternative to the standard HPLC procedure // *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis.* 1998. Vol. 18, № 1-2. P. 271–274.
7. Wu S. G., Lai E. P. C., Mayer P. M. Molecularly imprinted solid phase extraction–pulsed elution–mass spectrometry for determination of cephalixin and α -aminocephalosporin antibiotics in human serum // *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis.* 2004. Vol. 36, № 3. P. 483–490.
8. Chen S., Li Y., Wu S., Jiang X., Yang H., Su X., Yang Y. A phosphorescent probe for cephalixin consisting of mesoporous thioglycolic acid-modified Mn:ZnS quantum dots coated with a molecularly imprinted polymer // *Microchim. Acta.* 2020. Vol. 187, № 1. P. 40.
9. Chen L., Wang Z., Ferreri M., Su J., Han B. Cephalixin residue detection in milk and beef by ELISA and colloidal gold based one-step strip assay // *J. Agric. Food. Chem.* 2009. Vol. 57, № 11. P. 4674–4679.
10. Patel S. A., Patel N. M., Patel M. M. Spectrophotometric methods for the estimation of Cephalixin in tablet dosage forms // *Indian Journal of Pharmaceutical Sciences.* 2006. Vol. 68. P. 278–280.
11. Elbashir A. A., Ahmed S. M. A., Suliman F. E. O. A novel spectrophotometric for the determination of cephalosporins using 8-hydroxy-1, 3, 6-pyrenetrisulfonic acid trisodium salt (HPTS) as a chromogenic reagent // *American Academic & Scholarly Research Journal.* 2012. Vol. 4, № 4. P. 1–13.
12. Amin A., Shama S. Vanadophosphoric Acid as a Modified Reagent for the Spectrophotometric Determination

- of Certain Cephalosporins and their Dosage Forms // *Monatshefte für Chemie.* 2000. Bd. 131. S. 313–319.
13. Арзамасцев А. П. Фармацевтическая химия. М.: ГЭОТАР-МЕД, 2004. 640 с.
 14. Moratal J. M., Borrás J., Donaire A., Martínez M. J. Coordinating properties of the cephalixin antibiotic. A potentiometric study of the complexes formation between cephalixin and Co (II), Ni (II) and Cu (II) metal ions // *Inorg. Chim. Acta.* 1989. Vol. 162, № 1. P. 113–119.
 15. Anaconda J. R., Rodriguez I. Synthesis and antibacterial activity of cephalixin metal complexes // *J. Coord. Chem.* 2004. Vol. 57, № 15. P. 1263–1269.
 16. El-Maali N. A. Voltammetric analysis of Cu (II), Cd (II) and Zn (II) complexes and their cyclic voltammetry with several cephalosporin antibiotics // *Bioelectrochemistry.* 2005. Vol. 65. № 2. P. 95–104.
 17. Feigl F. *Spot Tests in Organic Analysis.* New York: Elsevier Publishing Company, 1960. 675 p.
 18. Холин Ю. В., Никитина Н. А., Пантелеймонов А. В., Реуштык Е. А., Бугаевский А. А., Логинова Л. П. Метрولوجические характеристики методик обнаружения с бинарным откликом. Харьков: Тимченко, 2008. 128 с.

References

1. Sahn D. F., Thornsberry C., Jones R. N. β -Lactam antibiotics: The first- and second-generation cephalosporins. *Antimicrob. Newsl.*, 1985, vol. 2, no. 4, pp. 25–28.
2. *Ob utverzhdenii perechnya zhiznennno neobhodimyh i vazhnejshih lekarstvennyh preparatov na 2018 g.: Rasporiazhenie Pravitel'stva RF ot 23 oktyabrya 2017 g. № 2323-r.* [Order of the Government of the Russian Federation October 23, 2017 No. 2323-p “On approval of the list of vital and essential medicines for 2018”]. Available at: government.ru/docs/29758
3. Wick W. E. Cephalixin, a new orally absorbed cephalosporin antibiotic. *Applied Microbiology*, 1967, vol. 15, no. 4, pp. 765–769.
4. Solberg C. O., Schreiner A., Digranes A. Cephalixin therapy of lower respiratory tract, soft tissue and bone infections. *Scand. J. Infect. Dis.*, 1972, vol. 4, no. 3, pp. 241–243.
5. Oliveira R. V., De Pietro A. C., Cass Q. B. Quantification of cephalixin as residue levels in bovine milk by high-performance liquid chromatography with on-line sample cleanup. *Talanta*, 2007, vol. 71, no. 3, pp. 1233–1238.
6. Coran S. A., Bambagiotti-Alberti M., Giannellini V., Baldi A., Picchioni G., Paoli F. Development of a densitometric method for the determination of cephalixin as an alternative to the standard HPLC procedure. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 1998, vol. 18, no. 1-2, pp. 271–274.
7. Wu S. G., Lai E. P. C., Mayer P. M. Molecularly imprinted solid phase extraction–pulsed elution–mass spectrometry for determination of cephalixin and α -aminocephalosporin antibiotics in human serum. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 2004, vol. 36, no. 3, pp. 483–490.



8. Chen S., Li Y., Wu S., Jiang X., Yang H., Su X., Yang Y. A phosphorescent probe for cephalexin consisting of mesoporous thioglycolic acid-modified Mn:ZnS quantum dots coated with a molecularly imprinted polymer. *Microchim. Acta*, 2020, vol. 187, no. 1, pp. 40.
9. Chen L., Wang Z., Ferreri M., Su J., Han B. Cephalexin residue detection in milk and beef by ELISA and colloidal gold based one-step strip assay. *J. Agric. Food. Chem.*, 2009, vol. 57, no. 11, pp. 4674–4679.
10. Patel S. A., Patel N. M., Patel M. M. Spectrophotometric methods for the estimation of Cephalexin in tablet dosage forms. *Indian Journal of Pharmaceutical Sciences*, 2006, vol. 68, pp. 278–280.
11. Elbashir A. A., Ahmed S. M. A., Suliman F. E. O. A novel spectrophotometric for the determination of cephalosporins using 8-hydroxy-1, 3, 6-pyrenetrisulfonic acid trisodium salt (HPTS) as a chromogenic reagent. *American Academic & Scholarly Research Journal*, 2012, vol. 4, no. 4, pp. 1–13.
12. Amin A., Shama S. Vanadophosphoric Acid as a Modified Reagent for the Spectrophotometric Determination of Certain Cephalosporins and their Dosage Forms. *Monatshefte für Chemie*, 2000, Bd. 131, S. 313–319.
13. Arzamastsev A. P. *Farmatsevticheskaya khimiya* [Pharmaceutical Chemistry]. Moscow, GEOTAR-MED Publ., 2004. 640 p. (in Russian).
14. Moratal J. M., Borrás J., Donaire A., Martínez M. J. Coordinating properties of the cephalexine antibiotic. A potentiometric study of the complexes formation between cephalexine and Co (II), Ni (II) and Cu (II) metal ions. *Inorg. Chim. Acta*, 1989, vol. 162, no. 1, pp. 113–119.
15. Anaconda J. R., Rodriguez I. Synthesis and antibacterial activity of cephalexin metal complexes. *J. Coord. Chem.*, 2004, vol. 57, no. 15, pp. 1263–1269.
16. El-Maali N. A. Voltammetric analysis of Cu (II), Cd (II) and Zn (II) complexes and their cyclic voltammetry with several cephalosporin antibiotics. *Bioelectrochemistry*, 2005, vol. 65, no. 2, pp. 95–104.
17. Feigl F. *Spot Tests in Organic Analysis*. New York, Elsevier Publishing Company, 1960. 675 p.
18. Kholin Yu. V., Nikitina N. A., Panteleimonov A. V., Reshetnyak E. A., Bugaevsky A. A., Loginova L. P. *Metrológicheskíye kharakterístiki metodík obnaruzheniya s binarnym otklikom* [Metrological Characteristics of Detection Methods with a Binary Response]. Kharkov, Timchenko Publ., 2008. 128 p. (in Russian).

Поступила в редакцию 02.04.21, после рецензирования 27.04.21, принята к публикации 30.04.21
Received 02.04.21, revised 27.04.21, accepted 30.04.21



Научная статья
УДК 543.05 : 547.3

Определение тимоло с предварительным мицеллярно-экстракционным концентрированием



Э. И. Цыгулёва , С. Ю. Доронин

Саратовский национальный исследовательский государственный университет имени Н. Г. Чернышевского, Россия, 410012, г. Саратов, ул. Астраханская, д. 83

Цыгулёва Эльмира Иршатовна, аспирант кафедры аналитической химии и химической экологии Института химии, musja2525@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0003-4407-520X>

Доронин Сергей Юрьевич, доктор химических наук, профессор кафедры аналитической химии и химической экологии Института химии, doroninsu@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-1115-1360>

Аннотация. Для эффективного концентрирования азосоединений – продуктов взаимодействия 4-нитрофенилдиазония с тимолом предложена система: 4-нитроанилин (4-НА) – NO_2^- – Тритон X-100 – NaOH – этанол. Установлены оптимальные условия для формирования мицеллярно-насыщенных фаз исследуемой системы: $3 \cdot 10^{-4}$ М 4-НА – $3 \cdot 10^{-4}$ М NO_2^- – 5%-ный Тритон X-100 – 2,8 М NaOH – 10 об. % $\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$. Проведено спектрофотометрическое исследование вышеуказанной системы, построена линейная зависимость в координатах A ($\lambda_{\text{max}} = 552$ нм) – c (тимоло), которая описывается уравнением вида $A = f(c)$, $A = 26291c + 0,02$; $R^2 = 0,997$. Диапазон определяемых содержаний тимоло составил ($2 \cdot 10^{-6}$ – $4 \cdot 10^{-5}$) М. Разработана методика цветометрического определения тимоло в водных средах (канал цветности G). Интенсивность канала цветности G (I_G) линейно зависит от p (тимоло) в соответствии с уравнением $I_G = 54,2pc - 267$, $R^2 = 0,99$; нижняя граница определяемых содержаний (НГОС) тимоло составила $1 \cdot 10^{-6}$ М, что в 2 раза меньше, чем в варианте спектрофотометрического его определения. Построены профили лепестковых диаграмм в цветовых координатах модели RGB CMYK, получены зависимости их площади и периметра от концентрации тимоло (P : $y = 278x - 10,13$; $R^2 = 0,97$; S : $y = 20182x - 87649$, $R^2 = 0,99$).

Ключевые слова: тимоло, концентрирование, поверхностно-активные вещества, мицеллярная экстракция в «точке помутнения», цветометрия, лепестковые диаграммы, 4-нитроанилин

Для цитирования: Цыгулёва Э. И., Доронин С. Ю. Определение тимоло с предварительным мицеллярно-экстракционным концентрированием // Известия Саратовского университета. Новая серия. Серия: Химия. Биология. Экология. 2021. Т. 21, вып. 3. С. 267–273. <https://doi.org/10.18500/1816-9775-2021-21-3-267-273>

Статья опубликована на условиях лицензии Creative Commons Attribution 4.0 International (CC-BY 4.0)

Article

Determination of thymol with micellar extraction preconcentration

E. I. Tsygulyova , S. Yu. Doronin

Saratov State University, 83 Astrakhanskaya St., Saratov 410012, Russia

Elmira I. Tsygulyova, musja2525@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0003-4407-520X>

Sergei Yu. Doronin, doroninsu@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-1115-1360>

Abstract. For the efficient preconcentration of azo compounds – products of the interaction of 4-nitrophenyldiazonium with thymol, a system 4-nitroaniline (4-NA) – NO_2^- – Triton X-100 – NaOH – ethanol has been proposed. The optimal conditions for the formation of micellar-saturated phases of the system under study have been established: $3 \cdot 10^{-4}$ M 4-NA – $3 \cdot 10^{-4}$ M NO_2^- – 5% Triton X-100 – 2.8 M NaOH – 10 vol. % $\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$. A spectrophotometric study of the above system has been carried out. A linear dependence was built in the coordinates A (at $\lambda_{\text{max}} = 552$ nm) vs c (thymol), which is described by an equation of the form $A = f(c)$, $A = 26291c + 0.02$; $R^2 = 0.997$. The range of the determined contents of thymol is ($2 \cdot 10^{-6}$ – $4 \cdot 10^{-5}$) mol/l. A technique for the colorimetric determination of thymol in aqueous media (color channel G) has been developed. The intensity of the channel G chromaticity (I_G) is linearly dependent on p (thymol) in accordance with the equation $I_G = 54.2pc - 267$, $R^2 = 0$; the lower limit of the determined contents of thymol is $1 \cdot 10^{-6}$ mol/l, which is two times less than in the variant of its spectrophotometric determination. The profiles of petal diagrams in the color coordinates of the RGB CMYK model have been constructed; the dependences of their area (S) and perimeter (P) on the thymol concentration have been obtained (P : $y = 278x - 10.13$; $R^2 = 0.97$; S : $y = 20182x - 87649$, $R^2 = 0.99$).

Keywords: thymol, preconcentration, surfactants, micellar cloud point extraction, colorimetry, petal diagrams, 4-nitroaniline

For citation: Tsygulyova E. I., Doronin S. Yu. Determination of thymol with micellar extraction preconcentration. *Izvestiya of Saratov University. Chemistry. Biology. Ecology*, 2021, vol. 21, iss. 3, pp. 267–273. <https://doi.org/10.18500/1816-9775-2021-21-3-267-273>

This is an open access article distributed under the terms of Creative Commons Attribution 4.0 International License (CC-BY 4.0)



Введение

Известно, что фенолы применяют в медицине для лечения кожных заболеваний (себорея, зуд, экзема, грибковые заболевания) и заболеваний аноректальной области наружно в виде водных, спиртовых растворов и мазей. Тимол, в свою очередь, является биологически активным веществом, который обладает противомикробным, антиоксидантным, противовоспалительным и обезболивающим свойствами. Он входит в состав различных косметических средств, а также продуктов питания [1].

Определение тимола в указанных объектах является актуальной аналитической задачей, поскольку действие содержащих его косметических средств и безопасность продуктов питания напрямую зависит от концентрации тимола.

Для определения тимола применяют следующие методы анализа: хроматографию, а именно высокоэффективную жидкостную и тонкослойную хроматографию, хромато-масс-спектрометрию и газовую хроматографию [2]; спектрофотометрию [3]; электрохимические (кулонометрические и амперометрические) методы [4–6]. Однако данные методы являются длительными и требуют, как правило, сложной пробоподготовки, для которой необходимы большие количества объекта, например, растительного материала.

Актуальна также разработка простых и экспрессных, с одной стороны, и чувствительных, с другой, методик определения тимола в фарм-препаратах, а также поиск новых подходов для улучшения метрологических характеристик аналитических реакций, например, посредством проведения экстракции на основе «точки помутнения» («cloud point extraction», СР-экстракция) с использованием комбинированных систем на основе поверхностно-активных веществ (ПАВ), чему и посвящена настоящая работа.

Материалы и методы

Аппаратура. Весы аналитические общего типа WP-11 второго класса точности с наибольшим пределом взвешивания 100 г по ГОСТ 24104-88Е. Сушильный шкаф СНОЛ (Т= 0 – 300 °С). Цифровой фотоаппарат «Samsung A8+». Двухлучевой сканирующий спектрофотометр Shimadzu UV-1800. Программа обработки цифровых данных Adobe Photoshop CS6.

Реагенты. Неионный ПАВ – Triton X-100 ($C_{14}H_{22}O(C_2H_4O)_n$, где $n = 9–10$), массовая доля основного вещества не менее 99,9%, кислота

соляная, ГОСТ 3118-77, ч.д.а, гидроксид натрия (NaOH, ч.д.а., ГОСТ 9285-78), нитрит натрия ($NaNO_2$), ГОСТ 4197-74, х.ч., 4-нитроанилин, 4-НА ($C_6H_6N_2O_2$), ГОСТ 5274-75, ч., тимол ($C_6H_3CH_3(OH)(C_3H_7)$), ч.д.а.

Методика получения мицеллярных фаз НПАВ. Для получения мицеллярных фаз на основе неионного ПАВ (Тритон X-100) в пробирки общим объемом 10 мл вносили 0,15 мл $1 \cdot 10^{-2}$ М спиртового раствора 4-НА, 0,15 мл $1 \cdot 10^{-2}$ М $NaNO_2$ и 0,5 мл HCl, тщательно перемешивали. Через 5 мин в эти же пробирки с приготовленным диазотированным 4-НА вносили тимол в интервале концентраций от $2 \cdot 10^{-6}$ до $4 \cdot 10^{-5}$ М; 1,25 мл 20%-ного Тритона X-100; 0,35 мл этанола; 1,4 мл 10 М NaOH, содержащее пробирик тщательно перемешивали.

Цветометрическая обработка и построение лепестковых диаграмм. Для цветометрического определения тимола необходимую часть цветного изображения окрашенных фаз ПАВ усредняли, применяя графический редактор Adobe Photoshop CS6, до одного пикселя с помощью фильтра «пикселизация». После усреднения цвета определяли яркость цветовых параметров R, G, B. По полученным параметрам строили градуировочные зависимости в координатах яркость цветового канала – рс(тимола).

Для количественного цветометрического определения тимола цифровые изображения представляли в виде лепестковых диаграмм (ЛД). Последние состояли из шести осей, каждая из которых соответствовала значениям интенсивностей (F_i) цветовых координат в модели RGB СМУК. ЛД строили в оболочке электронных таблиц Microsoft Excel [7].

Для оценки содержания тимола рассчитывали геометрические параметры площади (S) и периметра (P) лепестковых диаграмм, по формулам:

$$P = \sum \sqrt{a^2 + b^2 - 2ab \times \cos(ab)}, \quad (1)$$

$$S = \sum (\frac{1}{2} a + b \times \sin(ab)), \quad (2)$$

где a, b – стороны треугольника; $\cos(ab)$ – \cos угла между сторонами a, b . $\sin(ab)$ – \sin угла между сторонами a, b .

Результаты и их обсуждение

Для проведения СР-экстракции в качестве экстрагентов применяют разбавленные водные растворы нелетучих, малорастворимых ПАВ [8, 9], которые являются хорошей альтернативой классическим экстрагентам. Методология СР-концентрирования основана на разделении гомогенных растворов, как правило, неионных



ПАВ на две фазы: мицеллярную фазу, обогащенную ПАВ, и водную фазу, содержащую ПАВ с концентрацией до ККМ. Такое разделение происходит при воздействии различных

факторов: нагревание, изменение pH, добавление различных высаливателей [8–10].

Схематически процесс фазового разделения представлен на рис. 1.

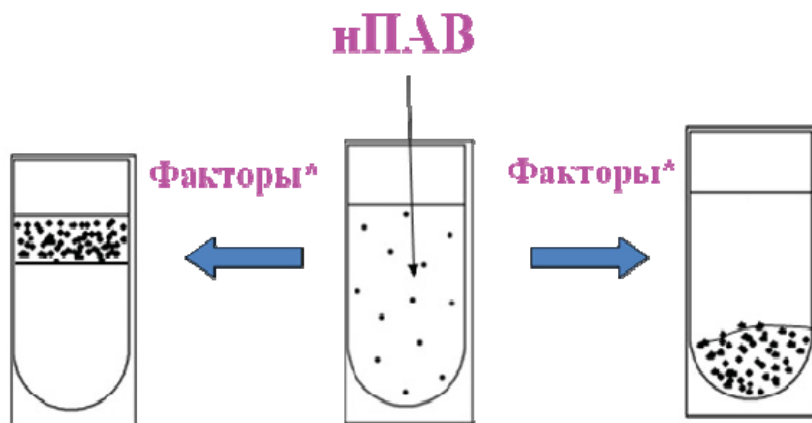
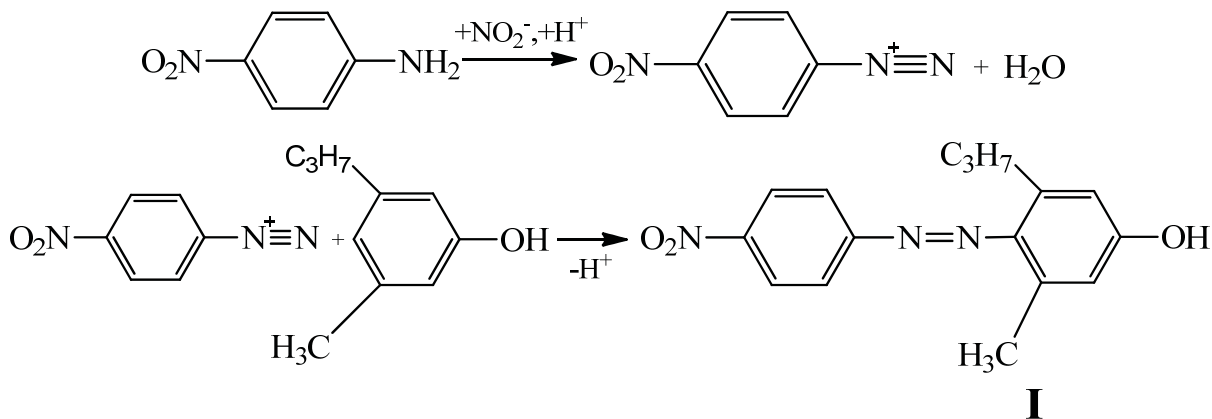


Рис. 1. Схема формирования мицеллярной фазы, насыщенной ПАВ и концентрирования в ней аналитов в водных растворах [9]

Fig. 1. Scheme of the formation of the micellar phase saturated with surfactants and the preconcentration of analytes in it in aqueous solutions [9]

Нами реализована вышеописанная методология СР-экстракции для концентрирования азосоединения, образованного тимолом по реакции его взаимодействия с 4-нитрофенилдиазонием в водно-спиртовой среде в присутствии мицелл неионного ПАВ (Тритона X-100) при pH > 10. Этой

реакцией неокрашенный тимол (4-нитроанилин выбран как наиболее реакционноспособный ариламин, образующий устойчивую соль хлорид 4-нитрофенилдиазония) после азосочетания переводили в окрашенную аналитическую форму азосоединения **I** (схема):



Для разработки спектрофотометрического метода определения тимоло и последующей регистрации электронных спектров поглощения формы **I** мицеллярную фазу, обогащенную ПАВ, отбирали и разбавляли приблизительно в 5 раз (рис. 2). При этом эффект концентрирования тимоло, вследствие разбавления фазы, заведомо снижался.

Распределение реактантов и аналитической формы **I** в водно-мицеллярной системе контролировали спектрофотометрически в спектральном диапазоне 200–800 нм, $l = 1$ см, без дополнитель-

ного нагревания при комнатной температуре. Полученные спектры поглощения представлены на рис. 3.

Спектры поглощения этой системы имеют один максимум при 550 нм (рис. 3, а), интенсивность которого возрастает при увеличении концентрации тимоло. Концентрацию последней определяли по градуировочному графику, представленному на рис. 3, б. Исходя из рис. 3, б установлен диапазон определяемых содержаний тимоло, который составил $2 \cdot 10^{-6} - 4 \cdot 10^{-5}$ М.

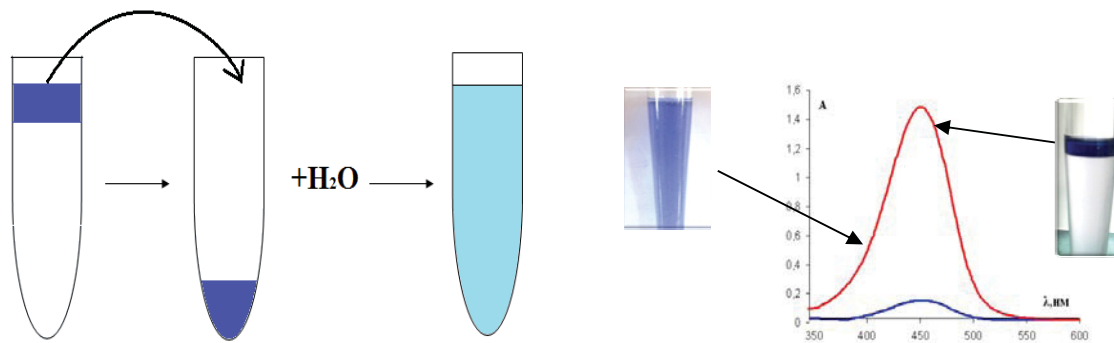


Рис. 2. Схема разбавления мицеллярно-насыщенной фазы ПАВ при спектрофотометрическом определении тимола

Fig. 2. Scheme of dilution of the micellar-saturated phase of surfactants within the spectrophotometric determination of thymol

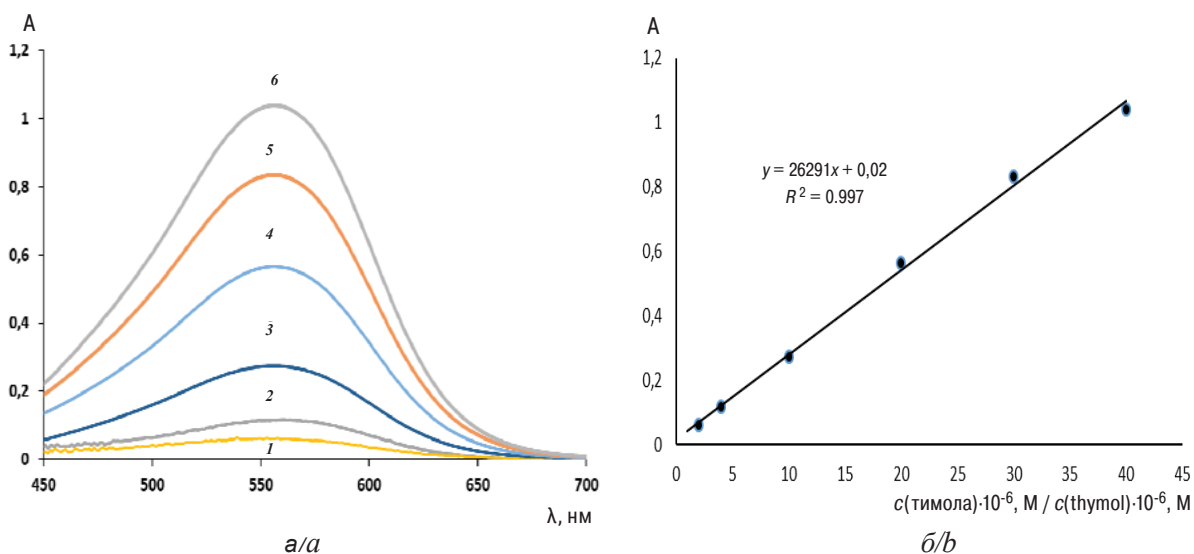


Рис. 3. Спектры поглощения системы тимол – 4-НА – NO_2^- – Тритон X-100 – NaOH – этанол (относительно контрольного раствора). $c(4\text{-НА}) = 3 \cdot 10^{-4}$ M; $c(\text{NaOH}) = 2,8$ M; $\omega(\text{Тритон X-100}) = 5\%$; $\varphi(\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}) = 10\%$. $c_{\text{тимола}} = 1 - 4 \cdot 10^{-5}$; $2 - 3 \cdot 10^{-5}$; $3 - 2 \cdot 10^{-5}$; $4 - 1 \cdot 10^{-5}$; $5 - 4 \cdot 10^{-6}$; $6 - 2 \cdot 10^{-6}$ M (а); б – зависимость A – c(тимола)

Fig. 3. Absorption spectra of the system thymol – 4-NA – NO_2^- – Triton X-100 – NaOH – ethanol (in relation to the reference solution). $c(4\text{-NA}) = 3 \cdot 10^{-4}$ mol/l; $c(\text{NaOH}) = 2.8$ mol/l; $\omega(\text{Triton X-100}) = 5\%$; $\varphi(\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}) = 10\%$; $c(\text{thymol}) = 1 - 4 \cdot 10^{-5}$; $2 - 3 \cdot 10^{-5}$; $3 - 2 \cdot 10^{-5}$; $4 - 1 \cdot 10^{-5}$; $5 - 4 \cdot 10^{-6}$; $6 - 2 \cdot 10^{-6}$ mol/l (a); б – dependence of A vs c(thymol)

Оценку правильности результатов спектрофотометрического определения тимола с предва-

рительным СР-концентрированием осуществляли методом «введено–найдено» (табл. 1).

Таблица 1 / Table 1

Результаты спектрофотометрического определения тимола в модельном растворе ($n = 3, P = 0,95$)
Results of spectrophotometric determination of thymol in a model solution ($n = 3, P = 0,95$)

№	Введено (M) / Introduced (M)	Найдено (M) / Found (M)	$\bar{X} \pm \Delta X$ (M)	$S_r, \%$
1	$2,50 \cdot 10^{-6}$	$2,47 \cdot 10^{-6}$	$(2,48 \pm 0,06) \cdot 10^{-6}$	1
2		$2,47 \cdot 10^{-6}$		
3		$2,51 \cdot 10^{-6}$		
1	$2,00 \cdot 10^{-5}$	$2,07 \cdot 10^{-5}$	$(2,07 \pm 0,01) \cdot 10^{-5}$	2
2		$2,06 \cdot 10^{-5}$		
3		$2,06 \cdot 10^{-5}$		
1	$2,50 \cdot 10^{-5}$	$2,59 \cdot 10^{-5}$	$(2,60 \pm 0,03) \cdot 10^{-5}$	4
2		$2,60 \cdot 10^{-5}$		
3		$2,61 \cdot 10^{-5}$		



Предложенный спектрофотометрический способ позволяет определять тимол в диапазоне концентраций от $2 \cdot 10^{-6}$ до $4 \cdot 10^{-5}$ М, при этом погрешность спектрофотометрического его определения не превышала 4%.

Как указано выше, при СФМ определении тимола с предварительным мицеллярно-экстракционным концентрированием требуется стадия разбавления фазы, насыщенной ПАВ, что приводит к снижению эффективности СР-концентрирования. Поэтому нами предложен цветометрический способ регистрации аналитического сигнала в исследуемой системе (интенсивность параметров

цветности), при котором не требуется разбавления мицеллярной фазы. При этом за счет эффекта концентрирования тимола появляется возможность снижения предела его обнаружения. Так, на рис. 4 представлена зависимость интенсивности канала G (оптимальный параметр) от логарифма концентрации тимола. Уравнение регрессии имеет вид $y = 54,2x - 267$, коэффициент корреляции R^2 графической зависимости составил 0,994. Диапазон определяемых содержаний тимола составил $1 \cdot 10^{-6} - 6 \cdot 10^{-6}$ М, при этом НГОС тимола в 2 раза меньше, чем в варианте спектрофотометрического его определения.

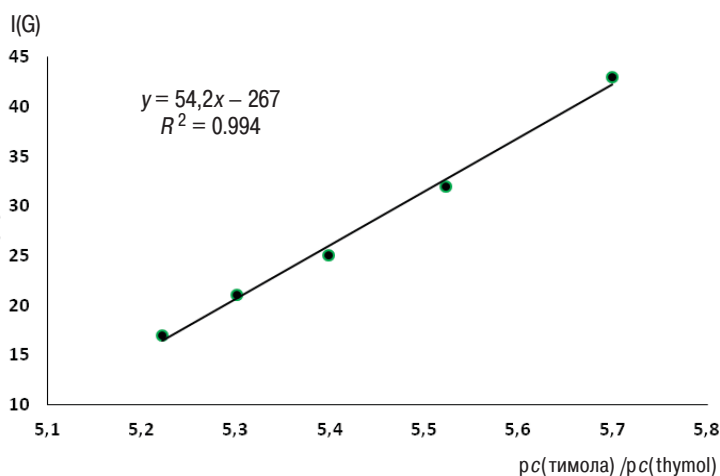


Рис. 4. Зависимость яркости канала G от логарифма концентрации тимола в системе тимол– 4-НА – NO_2^- – Тритон X-100 – NaOH – этанол
Fig. 4. Dependence of the brightness of the G channel on the logarithm of the thymol concentration in the thymol – 4-NA – NO_2^- – Triton X-100 – NaOH – ethanol system

Оценку правильности результатов определения тимола с предварительным СР-концентрированием осуществляли методом «введено–найдено» по цветометрическому параметру G (табл. 2).

Для улучшения прецизионности результатов цветометрического определения тимола дополни-

тельно строили профили лепестковых диаграмм (ЛД) в цветовых координатах RGB СМΥК (рис. 5). Из рис. 5 видно, что профиль ЛД сохраняет свою форму при увеличении концентрации тимола, при этом возрастает его площадь и периметр.

На рис. 6 представлены зависимости площади (S) и периметра (P) лепестковых диа-

Таблица 2 / Table 2

Результаты цветометрического определения тимола в модельном растворе ($n = 3$, $P = 0,95$)
Results of colorimetric determination of thymol in a model solution ($n = 3$, $P = 0,95$)

№	Введено (М) / Introduced (M)	Найдено (М) / Found (M)	$\bar{X} \pm \Delta X$ (M)	S_r , %
1	$5,00 \cdot 10^{-6}$	$4,46 \cdot 10^{-6}$	$(4,7 \pm 0,8) \cdot 10^{-6}$	6,6
2		$4,65 \cdot 10^{-6}$		
3		$5,07 \cdot 10^{-6}$		
1	$3,00 \cdot 10^{-6}$	$2,92 \cdot 10^{-6}$	$(3,1 \pm 0,3) \cdot 10^{-6}$	4,5
2		$3,18 \cdot 10^{-6}$		
3		$3,04 \cdot 10^{-6}$		
1	$2,00 \cdot 10^{-6}$	$1,91 \cdot 10^{-6}$	$(2,0 \pm 0,2) \cdot 10^{-6}$	4,2
2		$1,99 \cdot 10^{-6}$		
3		$2,08 \cdot 10^{-6}$		

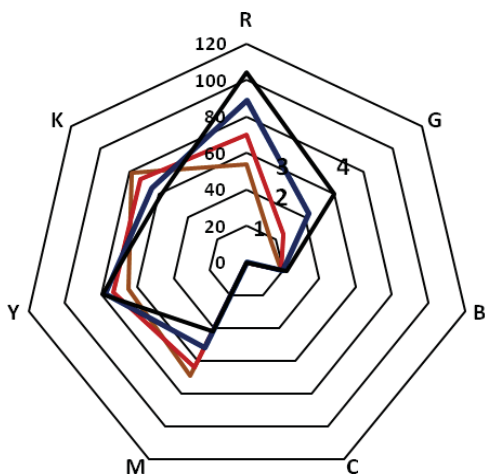


Рис. 5. Профили лепестковых диаграмм системы тимол – 4-НА – NO₂⁻ – Тритон X-100 – NaOH – этанол. $c(\text{тимол}) = 1 - 6 \cdot 10^{-6}$; 2 – $4 \cdot 10^{-6}$; 3 – $3 \cdot 10^{-6}$; 4 – $1 \cdot 10^{-6}$ М

Fig. 5. Profiles of the petal diagrams of the thymol – 4-NA – NO₂⁻ – Triton X-100 – NaOH – ethanol system. $c(\text{thymol}) = 1 - 6 \cdot 10^{-6}$; 2 – $4 \cdot 10^{-6}$; 3 – $3 \cdot 10^{-6}$; 4 – $1 \cdot 10^{-6}$ М

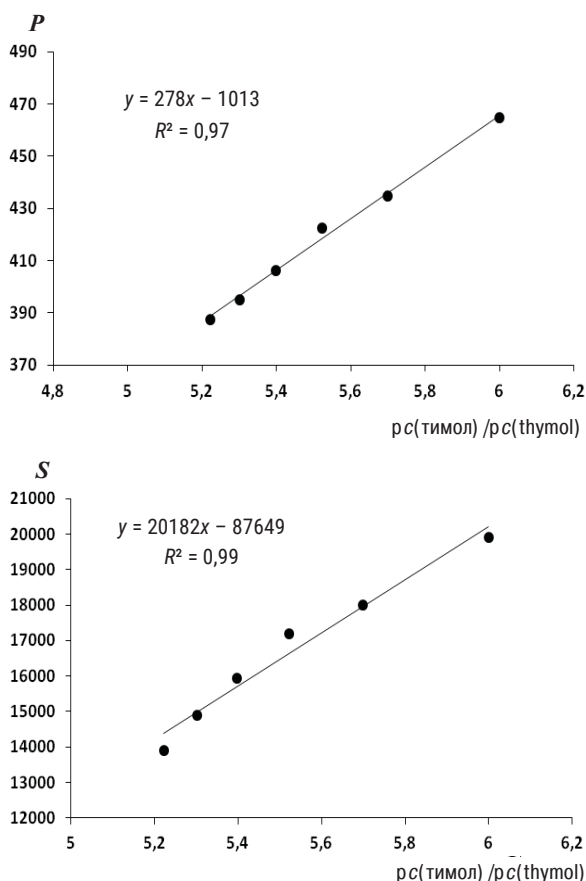


Рис. 6. Зависимости площади (S) и периметра (P) лепестковых диаграмм от $pc(\text{тимол})$

Fig. 6. Dependence of the area (S) and perimeter (P) of the petal diagrams on the $pc(\text{thymol})$

грамм от логарифма концентрации тимола. Линейность градуировочных зависимостей S и P от $-\lg c(\text{тимол})$ также наблюдалась в пределах $1 \cdot 10^{-6}$ – $6 \cdot 10^{-6}$ М, уравнения регрессии и величины достоверностей аппроксимации, представленные на рис. 6, имеют вид: периметр (P) $y = 225x - 634$; $R^2 = 0,99$; площадь (S) $y = 18972x - 73663$; $R^2 = 0,97$. Следует отметить, что определение тимола по зависимостям S (P) от $pc(\text{аналита})$, в отличие от прямого цветометрического определения по уравнению $I_G = 54,2pc - 267$, приводило к снижению погрешности его определения от 7% до (3–4)%.

Таким образом, реализация методологии СР-концентрирования азосоединения I (продукт реакции тимола с 4-нитрофенилдиазонием) мицеллярными фазами неионных ПАВ дает перспективы разработки методик цветометрического определения тимола в различных объектах, которые существенно сокращают время проведения анализа, при этом метрологические характеристики таких методик не уступают аналогичным спектрофотометрическим вариантам.

Выводы

1. Для эффективного концентрирования азосоединения – продукта взаимодействия 4-нитрофенилдиазония с тимолом предложена система: 4-НА – NO₂⁻ – Тритон X-100 – NaOH – этанол. Установлены оптимальные условия для мицеллярно-экстракционного концентрирования тимола: 4-НА ($3 \cdot 10^{-4}$ М) – NO₂⁻ ($3 \cdot 10^{-4}$ М) – Тритон X-100 (5 масс. %) – NaOH (2,8 М) – C₂H₅OH (10 об. %).

2. Проведено спектрофотометрическое исследование вышеуказанной системы ($\lambda_{\text{макс}} = 552$ нм, $y = 26291x + 0,02$, $R^2 = 0,997$. ДОС = $2 \cdot 10^{-6}$ – $4 \cdot 10^{-5}$ М).

3. Разработана методика цветометрического определения тимола (канал цветности G): $y = 54,2x - 267$, $R^2 = 0,99$; НГОС = $1 \cdot 10^{-6}$ М.

4. Построены профили лепестковых диаграмм для цветометрического определения тимола, получены зависимости площади и периметра от его концентрации (периметр – $y = 278x - 10,13$, $R^2 = 0,97$; площадь – $y = 20182x - 87649$, $R^2 = 0,99$).

Список литературы

1. Зиятдинова Г. К., Ромашикина С. А., Зиганшина Э. Р., Будников Г. К. Вольтамперометрическое определение тимола на электроде, модифицированном соиммобилизованными карбоксилированными многостенными углеродными нанотрубками и поверхностно-активными веществами // Журнал аналитической химии. 2018. Т. 73, №1. С. 52–59. <https://doi.org/10.7868/S0044450218010073>



2. Сулейманов Т. А., Балаева Э. З. Разработка ВЭЖХ методики количественного определения тимола в сиропе «КАЛИНОЛ ПЛЮС» // *International Scientific Review*. 2016. № 4 (14). С. 215–217.
3. Степанюк С. Н., Никитина Н. В., Никитина А. С., Боровский Б. В. Разработка методики количественного определения тимола в эфирном масле монарды дудчатой и стоматологических пленках // Молодые ученые и фармацевтика XXI века : сб. науч. тр. Четвертой науч.-практ. конф. с междунар. участием (Москва, 16 декабря 2016 г.). М. : Всероссийский научно-исследовательский институт лекарственных и ароматических растений, 2016. С. 320–322.
4. Mika J., Barek J., Zima J., Dejmko H. New flow-through coulometric detector with renewable working electrode material for flow injection analysis and HPLC // *Electrochim. Acta*. 2015. Vol. 154. P. 397–403. <https://doi.org/10.1016/j.electacta.2014.12.091>
5. Cantalapiedra A., Gismara M. J., Sevilla M. T., Procopio J. R. Sensitive and selective determination of phenolic compounds from aromatic plants using an electrochemical detection coupled with HPLC method // *Phytochem. Anal.* 2014. Vol. 25, № 3. P. 247–254. <https://doi.org/10.1002/pca.2500>
6. Zima J., Cienciala M., Barek J., Moreira J. C. Determination of thymol using HPLC-ED with glassy carbon paste electrode // *Chem. Anal.* 2007. Vol. 52, № 6. P. 1049–1057.
7. Хорхордина Е. А., Чан Хай Данг. Методы экстракции фенольных экотоксикантов и их определения в материалах и объектах окружающей среды (обзор) // Науч. вестн. Воронеж. гос. архитектур.-строит. ун-та. 2014. Т. 8, № 1. С. 93–105.
8. Жестовская Е. С., Доронин С. Ю. Мицеллярная экстракция в «точке помутнения» как способ концентрирования фенолов // *Бутлеровские сообщения*. 2016. Т. 45, № 2. С. 66–81. <https://doi.org/jbc-01/16-45-2-66>
9. Чернова Р. К., Доронин С. Ю. Определение органических аналитов в растворах ПАВ : ионные и мицеллярные эффекты. Саратов : Изд-во Саратов. ун-та, 2017. 200 с.
10. Доронин С. Ю., Жестовская Е. С., Цыгулёва Э. И. Мицеллярно-экстракционное концентрирование и цветометрическое определение некоторых фенолов // *Журнал аналитической химии*. 2020. Т. 75, № 6. С. 502–509. <https://doi.org/10.31857/S0044450220060079>
- Multiwalled Carbon Nanotubes and Surfactants. *J. Anal. Chem.*, 2018, vol. 73, no. 1, pp. 52–59 (in Russian). <https://doi.org/10.7868/S0044450218010073>
2. Suleymanov T., Balayeva E. Development of HPLC methods for the quantitative determination of thymol in syrup «KALINOL PLUS». *International Scientific Review*, 2016, vol. 14, no. 4, pp. 215–217 (in Russian).
3. Stepanyuk S. N., Nikitina N. V., Nikitina A. S., Borovskiy B. V. Development of a method for the quantitative determination of thymol in the essential oil of monarda fumous and dental films. *Young scientists and pharmacy of the XXI century: Collection of scientific papers the fourth scientific and practical conference with international participation*, (Moscow, December 16, 2016). Moscow, Federal State Budgetary Scientific Institution “All-Russian Research Institute of Medicinal and Aromatic Plants”, 2016, pp. 320–322 (in Russian).
4. Mika J., Barek J., Zima J., Dejmko H. New flow-through coulometric detector with renewable working electrode material for flow injection analysis and HPLC. *Electrochim. Acta*, 2015, vol. 154, pp. 397–403. <https://doi.org/10.1016/j.electacta.2014.12.091>
5. Cantalapiedra A., Gismara M. J., Sevilla M. T., Procopio J. R. Sensitive and selective determination of phenolic compounds from aromatic plants using an electrochemical detection coupled with HPLC method. *Phytochem. Anal.*, 2014, vol. 25, no. 3, pp. 247–254. <https://doi.org/10.1002/pca.2500>
6. Zima J., Cienciala M., Barek J., Moreira J. C. Determination of thymol using HPLC-ED with glassy carbon paste electrode. *Chemia Analityczna*, 2007, vol. 52, no. 6, pp. 1049–1057.
7. Khorokhordina E. A., Tran Hai Dang. Extraction methods of phenolic ecotoxicants and their determination in materials and environmental objects. *Scientific Bulletin of the Voronezh State University of Architecture and Civil Engineering*, 2014, vol. 8, no. 1, pp. 93–105 (in Russian).
8. Zhestovskaya E. S., Doronin S. Yu. «Cloud point» micellar extraction as a mode for phenols concentration. *J. Butlerov Communications*, 2016, vol. 45, no. 2, pp. 66–81 (in Russian). <https://doi.org/jbc-01/16-45-2-66>
9. Chernova R. K., Doronin S. Yu. *Opredelenie organicheskikh analitov v rastvorakh PAV: ionnye i mitselyarnye efekty* [Determination of Organic Analytes in Surfactant Solutions: Ionic and Micellar Effects]. Saratov, Izd-vo Sarat. un-ta, 2017. 200 p. (in Russian).
10. Doronin S. Yu., Zhestovskaya E. S., Tsyguleva E. I. Micellar Extraction Preconcentration and Colorimetric Determination of Some Phenols. *J. Anal. Chem.*, 2020, vol. 75, no. 6, pp. 502–509 (in Russian). <https://doi.org/10.31857/S0044450220060079>

References

1. Ziyatdinova G. K., Romashkina S. A., Ziganshina E. R., Budnikov H. C. Voltammetric Determinations of Thymol on an Electrode Modified by Coimmobilized Carboxylated

Поступила в редакцию 13.04.21, после рецензирования 11.05.21, принята к публикации 14.05.21
Received 13.04.21, revised 11.05.21, accepted 14.05.21



БИОЛОГИЯ

Известия Саратовского университета. Новая серия. Серия: Химия. Биология. Экология. 2021. Т. 21, вып. 3. С. 274–279

Izvestiya of Saratov University. Chemistry. Biology. Ecology, 2021, vol. 21, iss. 3, pp. 274–279

<https://ichbe.sgu.ru>

<https://doi.org/10.18500/1816-9775-2021-21-3-274-279>

Научная статья
УДК 577.359

Оценка вторичной структуры поли- γ -глутаминовой кислоты, продуцируемой *Bacillus subtilis* EGP5QL12, методом спектроскопии кругового дихроизма

М. В. Черных¹✉, И. М. И. Ибрахим², В. С. Гринёв^{1,3},
Е. Н. Сигида³, Ю. П. Федоненко^{1,3}, С. А. Коннова^{1,3}

¹Саратовский национальный исследовательский государственный университет имени Н. Г. Чернышевского, Россия, 410012, г. Саратов, ул. Астраханская, д. 83

²Фаюмский университет, сельскохозяйственный факультет, Фаюм, Арабская республика Египет, P0Box: 63514 (Египет)

³Институт биохимии и физиологии растений и микроорганизмов РАН, Россия, 410049, г. Саратов, пр. Энтузиастов, д. 13

Черных Марина Владимировна, студент биологического факультета, marinac814@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0003-2701-8430>

Ибрахим Ибрахим Мохамед Ибрахим, ассистент кафедры микробиологии, imb00@fayoum.edu.eg, <https://orcid.org/0000-0002-5374-3508>

Гринёв Вячеслав Сергеевич, кандидат химических наук, доцент кафедры органической и биоорганической химии Института химии; старший научный сотрудник лаборатории биохимии, grinev@ibppm.ru, <https://orcid.org/0000-0002-0627-6804>

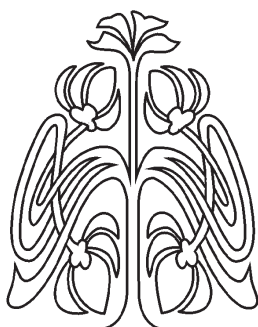
Сигида Елена Николаевна, кандидат биологических наук, старший научный сотрудник лаборатории биохимии, sigida_e@ibppm.ru, <https://orcid.org/0000-0002-9223-4589>

Федоненко Юлия Петровна, кандидат биологических наук, заведующий лабораторией биохимии, Саратов, fedonenko_yu@ibppm.ru, <https://orcid.org/0000-0003-0255-8190>

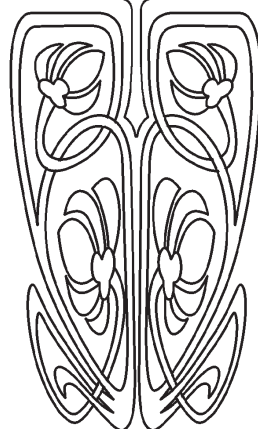
Коннова Светлана Анатольевна, доктор биологических наук, профессор, заведующий кафедрой биохимии и биофизики; ведущий научный сотрудник лаборатории биохимии, Konnovasa@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0002-9607-8173>

Аннотация. Из культуральной жидкости *Bacillus subtilis* EGP5QL12 выделен экстраклеточный полимер с выходом 5,6 г/л. На основании данных тонкослойной хроматографии, колориметрических исследований и данных ИК-фурье-спектроскопии установлено, что данный полимер является поли- γ -глутаминовой кислотой (ПГК). ПГК широко используется в медицине, косметологии и пищевой промышленности благодаря способности связывать воду и катионы металлов. Для оценки и прогнозирования биотехнологического потенциала выделенного полимера проведён анализ характерных спектральных признаков, позволяющих установить его вторичную структуру. ПГК, по данным спектроскопии кругового дихроизма, при варьировании pH формирует преимущественно β -структуры при невысокой доле нерегулярных структур и α -спиралей, что наделяет ее высоким потенциалом для создания гидрогелей и композиционных материалов.

Ключевые слова: *Bacillus subtilis*, поли- γ -глутаминовая кислота, вторичная структура, круговой дихроизм



НАУЧНЫЙ
ОТДЕЛ





Для цитирования: Черных М. В., Ибрагим И. М. И., Гринёв В. С., Сигида Е. Н., Федоненко Ю. П., Коннова С. А. Оценка вторичной структуры поли-γ-глутаминовой кислоты, продуцируемой *Bacillus subtilis* EGP5QL12, методом спектроскопии кругового дихроизма // Известия Саратовского университета. Новая серия. Серия: Химия. Биология. Экология. 2021. Т. 21, вып. 3. С. 274–279. <https://doi.org/10.18500/1816-9775-2021-21-3-274-279>

Статья опубликована на условиях лицензии Creative Commons Attribution 4.0 International (CC-BY 4.0)

Article

Evaluation of the secondary structure of poly-γ-glutamic acid produced by *Bacillus subtilis* EGP5QL12 by circular dichroism spectroscopy method

M. V. Chernykh¹ ✉, I. M. I. Ibrahim², V. S. Grinev^{1,3}, E. N. Sigida³, Yu. P. Fedonenko^{1,3}, S. A. Konnova^{1,3}

¹Saratov State University, 83 Astrakhanskaya St., Saratov 410012, Russia

²Fayoum University, Egypt, Fayoum, POBox: 63514 (Egypt)

³Institute of Biochemistry and Physiology of Plants and Microorganisms, 13 Entuziastov Pr., Saratov 410049, Russia

Marina V. Chernykh, marinac814@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0003-2701-8430>

Ibrahim M. I. Ibrahim, ibrahim.egypt2016@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0002-5374-3508>

Vyacheslav S. Grinev, grinev@ibppm.ru, <https://orcid.org/0000-0002-0627-6804>

Elena N. Sigida, si_elena@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-9223-4589>

Yulia P. Fedonenko, fedonenko_yu@ibppm.ru, <https://orcid.org/0000-0003-0255-8190>

Svetlana A. Konnova, konnovasa@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0002-9607-8173>

Abstract. An extracellular polymer was isolated from the culture liquid of *Bacillus subtilis* EGP5QL12 with the yield of 5,6 g/L. On the basis of the data of thin layer chromatography, colorimetric analyses and FTIR spectroscopy, it was established that the polymer is poly-γ-glutamic acid (PGA). PGA is widely used in medicine, cosmetology and the food industry due to its ability to bind water and metal ions. To assess the biotechnological potential of the isolated polymer and predict the possibilities of its application in various fields of the national economy, it is necessary to analyze the characteristic spectral features that make it possible to establish its secondary structure. The isolated PGA preparation was analyzed by circular dichroism spectroscopy at various pH values. According to the results of this study, it was found that the polymer forms predominantly β-structures with a low proportion of irregular structures and α-helices, which gives it a high potential for creating hydrogels and composite materials.

Keywords: *Bacillus subtilis*, poly-γ-glutamic acid, secondary structure, circular dichroism

For citation: Chernykh M. V., Ibrahim I. M. I., Grinev V. S., Sigida E. N., Fedonenko Yu. P., Konnova S. A. Оценка вторичной структуры поли-γ-глутаминовой кислоты, продуцируемой *Bacillus subtilis* EGP5QL12, методом спектроскопии кругового дихроизма. *Izvestiya of Saratov University. Chemistry. Biology. Ecology*, 2021, vol. 21, iss. 3, pp. 274–279. <https://doi.org/10.18500/1816-9775-2021-21-3-274-279>

This is an open access article distributed under the terms of Creative Commons Attribution 4.0 International License (CC-BY 4.0)

Введение

Сохранение ресурсного потенциала нашей планеты и обеспечение экологической безопасности являются важнейшими проблемами современности. Один из инструментов для решения данных проблем – использование биоразлагаемых нетоксичных функциональных соединений. Перспективным источником таких соединений являются галофильные бактерии – активные продуценты полисахаридов и других биополимеров, обладающих рядом специфических характеристик, перспективных для развития многих отраслей биотехнологии. Микробные биополимеры находят широкое применение в пищевой, фармацевтической и других отраслях благодаря своей уникальной структуре и физико-химическим свойствам [1]. Одним из соединений, синтезируемых бактериями и применяющихся в различных областях промышленности, является поли-γ-

глутаминовая кислота (ПГК). Этот нетоксичный биоразлагаемый полимер, способный связывать воду и катионы металлов, широко используется для доставки лекарственных средств против рака и диабета, в качестве увлажняющего агента в кремах, а также биоремедиации загрязненных акваторий и территорий [2]. Использование биополимера в тех или иных целях зависит от его физико-химических свойств, обусловленных его первичной и вторичной структурами. Цель данной работы – оценка вторичной структуры ПГК, продуцируемой галофильным штаммом *Bacillus subtilis* EGP5QL12, выделенным из образцов соли озера Карун (Египет) [3], методом спектроскопии кругового дихроизма (КД).

Материалы и методы

Для получения экстраклеточного полимера бактерии исследуемого штамма культивировали на богатой питательной среде S-G (500 мл) [4]



при 30 °С в течение 72 ч в колбах Эрленмейера (1 л) на орбитальном шейкере, культуральную жидкость отделяли центрифугированием при 4000 об/мин в течение 30 мин с использованием Allegra X-30R (Beckman Coulter, США) и диализовали 48 ч против дистиллированной воды (предел исключения диализных мембран 14 кДа). Диализат концентрировали на роторном испарителе Laborota 4000 (Heidolph, Германия) при пониженном давлении до объема 100 мл и подвергали дробному осаждению 96% этанолом в объемном соотношении 1:2 в течение 16 ч при –18 °С. ПГК осаждали центрифугированием при 4000 об/мин в течение 30 мин, перерастворяли в минимальном объеме воды и диализовали против дистиллированной воды для освобождения от остаточного количества этанола. Затем раствор ПГК концентрировали и лиофилизировали с использованием Benchtop 2K (VirTis, США). Выход ПГК составил 4,5 г/л.

Анализ состава ПГК методом тонкослойной хроматографии проводили после кислотного гидролиза препарата (4 М CF₃COOH, 2 ч) на пластинах Sorbfil с алюминиевой подложкой в системе растворителей н-бутанол : вода : уксусная кислота в объёмных отношениях 4:1:1. Для проявления аминокислоты использовали 0,5% раствор нингидрина в ацетоне.

Анализ содержания углеводов и белков проводили колориметрическими методами [5, 6] по реакции соответственно с фенолом и серной кислотой и с реактивом Брэдфорда на спектрофотометре Specord 40 (Analytik Jena, Германия).

ИК-спектры образца экстраклеточного полимера регистрировали на ИК-фурье-спектрометре Nicolet 6700 (Thermo Scientific, США), снабжённом устройством поглощения паров воды и углекислого газа, в диапазоне волновых чисел 400–4000 см⁻¹ со спектральным разрешением 4 см⁻¹. Тонко измельчённый образец смешивали с навеской KBr (FTIR grade, Sigma Aldrich, США) и прессовали в таблетку. Спектры регистрировали в режиме пропускания, образцом сравнения служил воздух.

Вторичную структуру ПГК оценивали методом спектроскопии кругового дихроизма на спектрометре Chirascan (Applied Photophysics, Великобритания), снабжённом системой постоянной продувки азотом особой чистоты (99,996%, объёмная доля кислорода не более 0,001%) и температурным контроллером кюветного отделения Temperature control (Quantum Northwest, США) с точностью поддержания температуры 0,1 °С. Для регистрации спектров

использовалась свободная от внутренних напряжений стекла и предназначенная для поляризационных измерений кварцевая кювета 101-QS P (Hellma Analytics, США) с длиной оптического пути 10 мм. Образец растворяли в 0,1 М NaF при pH: 2.5, 4.2, 5.3, которые получали добавлением H₃PO₄ и Na₂HPO₄. Спектры КД регистрировали в диапазоне длин волн 190–260 нм. Средняя молярная эллиптичность остатка рассчитывалась по формуле

$$[\theta] = [\theta]_{obs} \cdot \frac{MRW}{10lc},$$

где $[\theta]_{obs}$ – наблюдаемая эллиптичность, °; MRW – средний вес остатка; l – длина пути кюветы, см; c – молярная концентрация ПГК, г/л.

Деконволюцию спектров КД производили с использованием поставляемого со спектрометром Chirascan программного обеспечения CDNN 2.1 (Германия) [7].

По величинам доли каждого типа укладки ПГК сделан вывод о возможности использования исследуемого полимера в биотехнологии.

Результаты и их обсуждение

Из культуральной жидкости бактерий *B. subtilis* EGP5QL12 с выходом 5,6 г/л был выделен экстраклеточный полимер. В выделенном препарате колориметрическим методом установлена доля углеводов – 16%, а белков не обнаружено. Полимер подвергали кислотному гидролизу, который освобождали от кислоты упариванием на роторном испарителе. Методом ТСХ обнаружено наличие в гидролизате только одной фракции, выявляемой нингидрином, которая по фактору удерживания $R_f(0,3)$ соответствовала стандарту – глутаминовой кислоте.

Анализ ИК-спектров полимера выявил характеристичные для глутаминовой кислоты полосы поглощения (табл. 1). Так, в спектрах наблюдалось присутствие уширенной полосы

Таблица 1 / Table 1

Полосы поглощения в ИК-спектре ПГК и их отнесение
Absorption bands in the FTIR spectrum of PGA and their assignment

Отнесение полос / Bands assignment	Волновое число, см ⁻¹ / Wavenumber, cm ⁻¹
Валентные колебания / Stretching vibrations	
O-H / N-H	3415
C=O Амид I / Amide I	1636
COO ⁻ (антисимм. / antisymm.)	1618
COO ⁻ (симм. / symm.)	1410

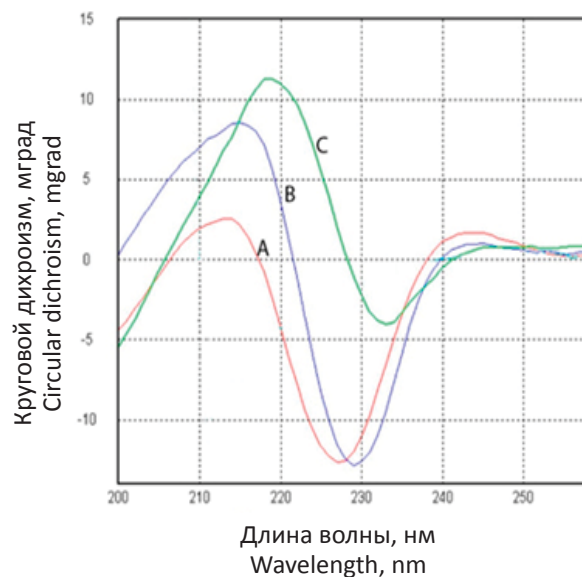


с максимумом поглощения при 3415 см^{-1} , относящейся к валентным колебаниям связанных водородными связями гидроксильных групп (О-Н), которые маскируют валентные колебания N-H групп, обычно наблюдаемых в этой области спектра. В области, характерной для полос колебаний карбонильных групп, присутствовали две разрешённые полосы с максимумами при 1636 и 1618 см^{-1} , первая из которых соответствовала полосе валентных колебаний C=O «Амид I», характерной для полипептидов и белков с преобладанием β -складчатых структур [8]. Вторая полоса отнесена к антисимметричным колебаниям диссоциированных карбоксильных групп, что подтверждается наличием полосы поглощения симметричных валентных колебаний 1410 см^{-1} . При этом в спектре отсутствует полоса поглощения, характерная для недиссоциированных карбоксильных групп, вблизи $1725\text{--}1700\text{ см}^{-1}$. Указанное отнесение подтверждалось присутствием полос поглощения деформационных колебаний соответствующих групп атомов и согласовывалось с литературными данными [9].

Таким образом, на основании данных ТСХ и ИК-фурье-спектроскопии полимер идентифицирован как поли- γ -глутаминовая кислота.

Наличие у ПГК оптически активного центра позволяет использовать спектроскопию КД для анализа изменений во вторичной структуре её полимера, аналогично полипептидам и белкам. Основным хромофором, используемым при регистрации спектров КД, является группа атомов, образующих амидную связь (-C(=O)-N(-H)-), дающая две полосы поглощения, соответствующих $\pi \rightarrow \pi^*$ и более длинноволновым $n \rightarrow \pi^*$ переходам. Спектры КД выделенного препарата, записанные при различных значениях pH, представлены на рисунке.

В диапазоне $220\text{--}240\text{ нм}$ в спектрах КД наблюдался отрицательный эффект Коттона, обусловленный $n \rightarrow \pi^*$ переходами атомов, образующих амидную связь. По характеру изменений профиля спектров можно судить о перестройке вторичной структуры в ответ на уменьшение кислотности среды [10]. С увеличением pH наблюдался батохромный сдвиг полосы поглощения $n \rightarrow \pi^*$, обусловленной вышеназванным хромофором, причём наиболее значимые трансформации вторичной структуры ПГК происходили при изменении pH от 4.2 до 5.3, что также свидетельствовало об увеличении доли различных β -структур при одновременном уменьшении доли α -спиралей.



Спектры КД ПГК при pH раствора 2.5 (A); pH 4.2 (B); pH 5.3 (C) (цвет online)
Circular dichroism spectra of the PGA solutions at pH 2.5 (A); pH 4.2 (B); pH 5.3 (C) (color online)

Для выявления вклада отдельных компонентов вторичной структуры в результирующий аналитический сигнал в спектрах КД было проведено математическое разложение (деконволюция) спектральных полос на отдельные составляющие. Результаты деконволюции спектров КД представлены в табл. 2.

Сравнивая полученные результаты с литературными данными, можно отметить, что ПГК штамма *B. subtilis* EG5QL12, выделенная в данных условиях культивирования, существенно отличается от ПГК других продуцентов, в частности от наиболее часто используемого в биотехнологии [7, 11]. β -Антипараллельные слои преобладают у полученного нами полимера, в отличие от *Bacillus licheniformis* ATCC 9945A, что наделяет полимер способностью к образованию гидрогелей. Такого потенциала у иных продуцентов нет из-за преобладания нерегулярных структур и большой доли α -спиралей. Также стоит отметить большую долю β -петель – структур, отрицательно заряженные диссоциированные карбоксильные группы которых направлены наружу, – что позволяет в большей степени связывать воду и катионы металлов. Таким образом, анализ компонентов вторичной структуры ПГК при различных pH методом спектроскопии КД показывает преобладание β -организации полимерной цепи.



Таблица 2 / Table 2

Динамика изменения вторичных структур при изменении pH
Dynamic of secondary structures changes at different pH values

Вторичная структура / Secondary structure	Доля вторичной структуры при разных значениях pH, % Percentage of secondary structure at different pH, %					
	pH 2,5		pH 4,2		pH 5,3	
	B.s.	B.l.	B.s.	B.l.	B.s.	B.l.
β-антипараллельные слои / β-antiparallel sheets	47,5	10-12	46,3	11-13	48,0	13-15
Нерегулярная структура / Unregular structure	27,5	35-38	28,5	37-40	27,5	42-44
β-петли / β-turn	15,1	17-19	15,5	17-19	15,5	17-19
α-спираль / α-helix	6,2	20-25	6,1	17-19	5,5	10-15
β-параллельные слои / β-parallel sheets	3,7	12-15	3,6	13-15	3,5	16

Примечание: B. s. – *Bacillus subtilis* EGP5QL12; B.l. – *Bacillus licheniformis* ATCC 9945A (данные литературы).
Note. B. s. – *Bacillus subtilis* EGP5QL12; B.l. – *Bacillus licheniformis* ATCC 9945A (reference data).

Заключение

С применением КД-спектроскопии проведена оценка вторичной структуры полиглутаминовой кислоты, продуцируемой в культуральную среду штаммом *B. subtilis* EGP5QL12. Преобладающий вклад в формирование вторичной структуры данного биополимера вносят β-антипараллельные слои и β-петли, что отличает исследуемый препарат от других, исследованных в данном аспекте другими авторами. Выявленные особенности вторичной структуры ПГК обуславливают склонность данного полимера к формированию гидрогелей и способность к связыванию катионов металлов, что открывает перспективы его использования в медицине и косметологии.

Список литературы

- Liu C., Kingsley Baffoe D., Zhan Y., Zhang M., Li Y., Zhang G. Halophile, an essential platform for bioproduction // *J. Microbiol. Methods*. 2019. Vol. 166. A. 105704.
- Dahiya D., Chettri R., Nigam P. S. Biosynthesis of polyglutamic acid (γ-PGA), a biodegradable and economical polyamide biopolymer for industrial applications // *Microbial and Natural Macromolecules* / eds. Das S., Ranjan Dash H. London : Academic Press, 2020. P. 681–988.
- Ибрагим И. М., Коннова С. А., Сигида Е. Н., Федоненко Ю. П., Сафронова В. И., Елбанна К. А. Галофильные и галотолерантные микроорганизмы – продуценты экзополисахаридов, выделенные из соленых озер Карун (Египет) и Эльтон (Россия) // *Известия Саратовского университета. Новая серия. Серия: Химия. Биология. Экология*. 2018. Т. 18, вып. 3. С. 345–353. <https://doi.org/10.18500/1816-9775-2018-18-3-345-353>

- Sehgal S. N., Gibbons N. E. Effect of some metal ions on the growth of *Halobacterium cutirubrum* // *Can. J. Microbiol.* 1960. Vol. 6, iss. 2. P. 165–169.
- Dubois M., Gilles K. A., Hamilton J. K., Rebers P. A., Smith F. Colorimetric method for determination of sugars and related substances // *Anal. Chem.* 1956. Vol. 28. P. 350–356.
- Скоупс Р. Методы очистки белков. М. : Мир, 1985. 358 с.
- Wang L. L. Conformations and molecular interactions of poly-γ-glutamic acid as a soluble microbial product in aqueous solutions // *Sci. Rep.* 2017. Vol. 7, iss. 1. P. 1–11.
- Nevskaya N. A., Chirgadze Y. N. Infrared spectra and resonance interactions of amide-I and II vibration of alpha-helix // *Biopolymers*. 1976. Vol. 15, iss. 4. P. 637–648.
- Ho G. H. γ-Polyglutamic acid produced by *Bacillus subtilis* (Natto): Structural characteristics, chemical properties and biological functionalities // *J. Chin. Chem. Soc.* 2006. Vol. 53, iss. 6. P. 1363–1384.
- Brahms S., Brahms J. Determination of protein secondary structure in solution by vacuum ultraviolet circular dichroism // *J. Mol. Biol.* 1980. Vol. 138, № 2. P. 149–178.
- Wang L. Complexation and conformation of lead ion with poly-γ-glutamic acid in soluble state // *PLoS One*. 2019. Vol. 14, iss. 9. A. e0218742.

References

- Liu C., Kingsley Baffoe D., Zhan Y., Zhang M., Li Y., Zhang G. Halophile, an essential platform for bioproduction. *J. Microbiol. Methods*, 2019, vol. 166, A. 105704.
- Dahiya D., Chettri R., Nigam P. S. Biosynthesis of polyglutamic acid (γ-PGA), a biodegradable and economical polyamide biopolymer for industrial applications. In: Das S., Ranjan Dash H., eds. *Microbial and Natural Macromolecules*. London, Academic Press, 2020, pp. 681–988.



3. Ibrahim I. M., Konnova S. A., Sigida E. N., Fedonenko Yu. P., Safronova V. I., Elbanna K. A. Exopolysaccharide-Producing Halophilic and Halotolerant Microorganisms Isolated from the Saline Lakes Qarun (Egypt) and Elton (Russia). *Izvestiya of Saratov University. Chemistry. Biology. Ecology*, 2018, vol. 18, iss. 3, pp. 345–353 (in Russian). <https://doi.org/10.18500/1816-9775-2018-18-3-345-353>
4. Sehgal S. N., Gibbons N. E. Effect of some metal ions on the growth of *Halobacterium cutirubrum*. *Can. J. Microbiol.*, 1960, vol. 6, iss. 2, pp. 165–169.
5. Dubois M., Gilles K. A., Hamilton J. K., Rebers P. A., Smith F. Colorimetric method for determination of sugars and related substances. *Anal. Chem.*, 1956, vol. 28, pp. 350–356.
6. Scopes R. K. *Protein Purification: Principles and Practice*. New York, Springer, 1982. 358 p.
7. Wang L. L. Conformations and molecular interactions of poly- γ -glutamic acid as a soluble microbial product in aqueous solutions. *Sci. Rep.*, 2017, vol. 7, iss. 1, pp. 1–11.
8. Nevskaya N. A., Chirgadze Y. N. Infrared spectra and resonance interactions of amide-I and II vibration of alpha-helix. *Biopolymers*, 1976, vol. 15, iss. 4, pp. 637–648.
9. Ho G. H. γ -Polyglutamic acid produced by *Bacillus subtilis* (Natto): Structural characteristics, chemical properties and biological functionalities. *J. Chin. Chem. Soc.*, 2006, vol. 53, iss. 6, pp. 1363–1384.
10. Brahms S., Brahms J. Determination of protein secondary structure in solution by vacuum ultraviolet circular dichroism. *J. Mol. Biol.*, 1980, vol. 138, no. 2, pp. 149–178.
11. Wang L. Complexation and conformation of lead ion with poly- γ -glutamic acid in soluble state. *PLoS One*, 2019, vol. 14, iss. 9, A. e0218742.

Поступила в редакцию 03.05.21, после рецензирования 11.05.21, принята к публикации 14.05.21
Received 03.05.21, revised 11.05.21, accepted 14.05.21



Известия Саратовского университета. Новая серия. Серия: Химия. Биология. Экология. 2021. Т. 21, вып. 3. С. 280–285

Izvestiya of Saratov University. Chemistry. Biology. Ecology, 2021, vol. 21, iss. 3, pp. 280–285

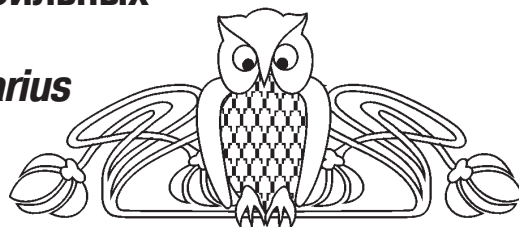
<https://ichbe.sgu.ru>

<https://doi.org/10.18500/1816-9775-2021-21-3-280-285>

Научная статья

УДК 595.76:574.38

Фаунистический комплекс мицетофильных жесткокрылых (Insecta: Coleoptera) ксилотрофного гриба *Fomes fomentarius* (Basidiomycetes) на территории Саратовской области



А. А. Миронова¹ ✉, А. С. Сажнев², В. В. Аникин¹

¹Саратовский национальный исследовательский государственный университет имени Н. Г. Чернышевского, Россия, 410012, г. Саратов, ул. Астраханская, д. 83

²Институт биологии внутренних вод им. И. Д. Папанина РАН, Россия, 152742, Ярославская область, п. Борок

Миронова Анастасия Алексеевна, студент биологического факультета, maa9898@mail.ru

Сажнев Алексей Сергеевич, кандидат биологических наук, старший научный сотрудник лаборатории экологии водных беспозвоночных, sazh@list.ru, <https://orcid.org/0000-0002-0907-5194>

Аникин Василий Викторович, доктор биологических наук, профессор кафедры морфологии и экологии животных, anikinvasiliiv@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0001-8575-5418>

Аннотация. В настоящей работе дана характеристика фауны жесткокрылых – обитателей плодовых тел и мицелиального слоя трутовика настоящего *Fomes fomentarius* L.: Fr., рассмотрены некоторые аспекты экологии мицетофильных жуков. Степень заселенности жесткокрылыми плодовых тел *Fomes fomentarius* в пяти районах Саратовской области составила 63%. На растущих и/или спороносящих плодовых телах отмечено два вида жуков из семейства Staphylinidae (*Gyrophaena jolyi* Wendeler, 1924 и *Scaphisoma boreale* Lundblad, 1952). Комплекс основных деструкторов приурочен к отмирающим плодовым телам (20 видов). Преобладающей группой (61%) являются *Diaperis boleti* (Linnaeus, 1758) (Tenebrionidae) и Erotylidae. На трофическом уровне среди жесткокрылых преобладают (95%) облигатные мицетофаги и мицетосапрофаги. Наиболее сходны по составу (одиночное присоединение по Жаккару) мицетофильные сообщества селитебных районов Саратова и Энгельса ($Kf = 0.7$), крайне низкое сходство отмечено между сообществами Саратова и Базарно-Карабулакского района ($Kf = 0.1$).

Ключевые слова: жуки, биоразнообразие, базидиомицеты, трутовик настоящий

Благодарности: Авторы выражают благодарность доценту кафедры ботаники Саратовского государственного университета О. В. Костецкому за проверку определения базидиомицетов.

Для цитирования: Миронова А. А., Сажнев А. С., Аникин В. В. Фаунистический комплекс мицетофильных жесткокрылых (Insecta: Coleoptera) ксилотрофного гриба *Fomes fomentarius* (Basidiomycetes) на территории Саратовской области // Известия Саратовского университета. Новая серия. Серия: Химия. Биология. Экология. 2021. Т. 21, вып. 3. С. 280–285. <https://doi.org/10.18500/1816-9775-2021-21-3-280-285>

Статья опубликована на условиях лицензии Creative Commons Attribution 4.0 International (CC-BY 4.0)

Article

Faunistic complex of mycetophilous beetles (Insecta: Coleoptera) of the xylophilous fungus *Fomes fomentarius* (Basidiomycetes) in the territory of the Saratov region

А. А. Mironova¹ ✉, А. С. Sazhnev², V. V. Anikin²

¹Saratov State University, 83 Astrakhanskaya St., Saratov 410012, Russia

²Papanin Institute for Biology of Inland Waters, Russian Academy of Sciences, Borok (Yaroslavl Province) 152742, Russia

Anastasia A. Mironova, maa9898@mail.ru

Alexey S. Sazhnev, sazh@list.ru, <https://orcid.org/0000-0002-0907-5194>

Visilii V. Anikin, anikinvasiliiv@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0001-8575-5418>

Abstract. This article describes the characteristics of the beetle fauna – inhabitants of fruiting bodies and the mycelial layer of the true tinder fungus *Fomes fomentarius* L.: Fr. and are considers some important aspects of the ecology of mycetophilous beetles. Coleopteran population of fruiting bodies of the fungus in five districts of the Saratov region is 63%. Two species from the family Staphylinidae (*Gyrophaena jolyi*



Wendeler, 1924 and *Scaphisoma boreale* Lundblad, 1952) have been recorded on growing and / or spore bearing fruiting bodies. The complex of the main distructors is confined to dying fruiting bodies (20 species). The predominant group (61%) is *Diaperis boleti* (Linnaeus, 1758) (Tenebrionidae) and Erotylidae. At the trophic level, obligate mycetophages and mycetosaprophages prevail among coleopterans (95%). The most similar are the mycetophilous communities of the residential areas of Saratov and Engels (Kf = 0.7), extremely low similarity was noted for Saratov and Bazarno-Karabulak district (Kf = 0.1).

Keywords: beetles, biodiversity, basidiomycetes, tinder fungus

Acknowledgements: The authors are grateful to associate professor of the Department of Botany of Saratov State University Oleg V. Kostetsky for checking the definition of basidiomycetes.

For citation: Mironova A. A., Sazhnev A. S., Anikin V. V. Faunistic complex of mycetophilous beetles (Insecta: Coleoptera) of the xylotrophic fungus *Fomes fomentarius* (Basidiomyceta) in the territory of the Saratov region. *Izvestiya of Saratov University. Chemistry. Biology. Ecology*, 2021, vol. 21, iss. 3, pp. 280–285. <https://doi.org/10.18500/1816-9775-2021-21-3-280-285>

This is an open access article distributed under the terms of Creative Commons Attribution 4.0 International License (CC-BY 4.0)

Введение

Данная работа продолжает исследования, посвященные фауне и экологии комплексов мицетофильных жесткокрылых, связанных с наиболее распространенными ксилотрофными базидиомицетами Саратовской области [1]. Ксилотрофные грибы являются ключевой группой для многих видов жуков [2], жесткокрылые же в свою очередь способствуют расселению и утилизации плодовых тел ксилотрофных грибов, например, в их деструкции участвуют такие сапромицетофаги, как *Diaperis boleti* (Linnaeus, 1758), *Eledona agricola* (Herbst, 1783), *Mycetophagus quadripustulatus* (Linnaeus, 1760) и др. Мицетофаги трофически и топически тесно связаны с базидиомицетами, которые имеют высокую чувствительность к антропогенному воздействию на леса, и поэтому могут расцениваться в качестве индикаторов состояния биоразнообразия лесных биоценозов [3–5]. Региональное изучение мицетофильных сообществ позволяет пополнить имеющиеся сведения о полноте биоразнообразия отряда жесткокрылых на конкретной территории и установить общие закономерности формирования энтомокомплексов.

В работе представлены сведения о составе колеоптерокомплекса гриба *Fomes fomentarius* L.: Fr. (трутовик настоящий). Исследования проводили на протяжении нескольких лет (2017–2020) на территории Саратовской области. Вид *Fomes fomentarius* является эврибионтом, встречается повсеместно, не обладает субстратной избирательностью [2, 6, 7], был встречен во всех исследуемых районах области. Трутовик настоящий имеет многолетнее плодовое тело с деревянисто-пробковой структурой и трубчатым гименофором. Плодовое тело гриба в зависимости от своей консистенции и возраста может быть заселено разными видами жесткокрылых неоднородно и с разной численностью, что во многом характерно и для плодовых тел *Fomes fomentarius* [2, 8, 9]. Это является важным фактором при изучении фауны и консортивных связей мицетофильных жесткокрылых с базидиальными грибами.

Материалы и методы

Материалы (личинки и имаго жесткокрылых) собирались с поверхности и из толщи плодовых тел *Fomes fomentarius*. Исследовано 136 базидиом грибов, найденных в период с 25.05.2017 по 26.08.2020 г. в пяти районах Саратовской области: Базарно-Карабулакском, Воскресенском, Саратовском, Хвалынском и Энгельском (рис. 1).

Во время маршрутных учетов проводили измерения степени заселенности грибов жуками, выраженную в соотношении числа заселенных плодовых тел к общему их числу во взятой выборке. Жуков первично собирали с поверхности плодовых тел, затем плодовые тела срезали и помещали в индивидуальные zip-пакеты, этикетировали для дальнейшей транспортировки в лабораторию. Затем плодовые тела разламывали и флотировали для сбора жесткокрылых из толщи гименофора. Имаго и личинок фиксировали в 70% водном растворе этилового спирта.

Результаты и их обсуждение

Для изучения наиболее полного состава мицетофильного сообщества жесткокрылых плодовых тел *Fomes fomentarius* сборы жуков проводились из базидиом, находящихся на разных стадиях развития (рис. 2).

Такой подход позволил регистрировать изменения в составе группировок мицетобионтов в процессе роста и отмирания плодовых тел. По данным литературы, живые растущие плодовые тела *Fomes fomentarius* крайне редко заселяются жесткокрылыми [2, 3, 10, 11], что также подтвердилось в условиях Саратовской области (табл. 1).

По данным Л. Беника, с грибом *Fomes fomentarius* связано около сотни видов жесткокрылых [12]. На территории Саратовской области на 86 заселенных жесткокрылыми экземплярах плодовых тел был найден 21 вид жуков из

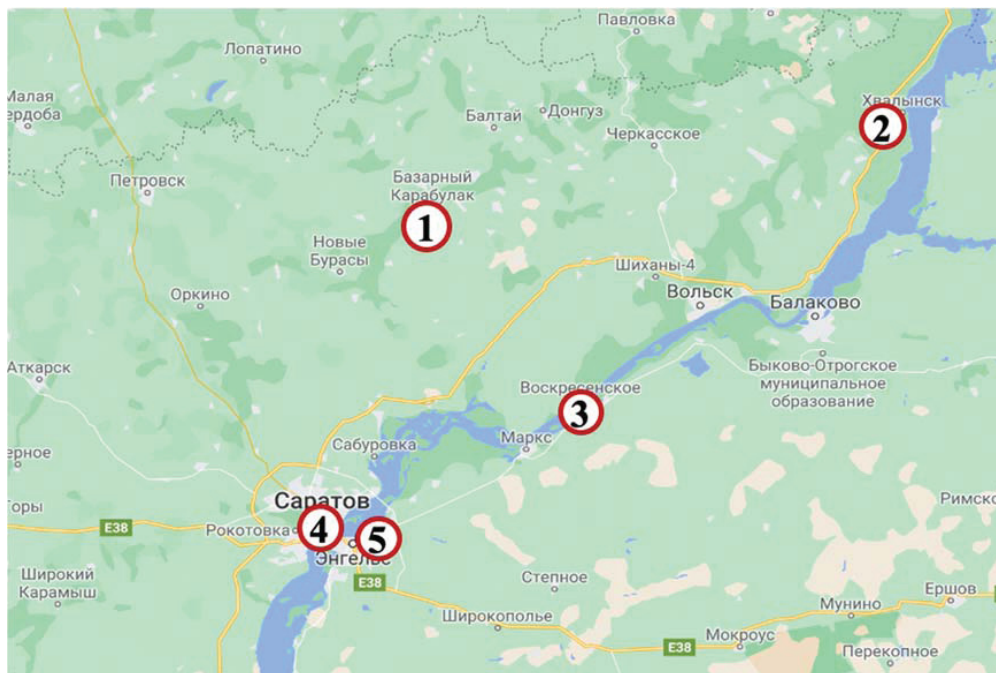


Рис. 1. Районы сбора плодовых тел *Fomes fomentarius* и жесткокрылых: 1 – Базарно-Карабулакский р-н (с. Лесная Неёловка); 2 – Хвалынский р-н (Национальный парк «Хвалынский», учебная база СГУ); 3 – Воскресенский р-н (с. Чардым); 4 – г. Саратов; 5 – г. Энгельс. Карта – <https://www.google.ru/maps/>

Fig. 1. Samples point for collecting fruit bodies of *Fomes fomentarius* and beetles: 1 – Bazarno-Karabulaksky distr. (Lesnaya Neyolovka vill.), 2 – Khvalynsky distr. (Khvalynsky National Park; SSU educational base), 3 – Voskresensky distr. (Chardym vill.); 4 – Saratov; 5 – Engels. Map – <https://www.google.ru/maps/>



Рис. 2. Плодовое тело *Fomes fomentarius* на разных стадиях зрелости: а – спороносящее плодовое тело, б – отмирающее плодовое тело (фото А. А. Мироновой)

Fig. 2. Fruit body of *Fomes fomentarius* at different stages of maturity: а – spore bearing fruit body, б – dying fruit body (photo by A. A. Mironova)

10 семейств (см. табл. 1). Основу видового разнообразия мицетофильного сообщества составили семейства: Tenebrionidae (5 видов), Staphylinidae (4 вида), Ciidae (4 вида) и Erotylidae (2 вида).

Другие семейства представлены единичными видами. По количеству экземпляров доминируют семейства Tenebrionidae, Mucetophagidae, Erotylidae, Staphylinidae.



Таблица 1 / Table 1

Колеоптерокомплекс гриба *Fomes fomentarius* на разных стадиях развития плодового тела
Coleopterocomplex of the fungus *Fomes fomentarius* at different stages of development of the fruiting body

Семейство Family	Вид Species	Стадия развития плодового тела Development stage of the fruiting body	
		Растущее Growing	Отмирающее Dying
Bothriideridae	<i>Bothriideres contractus</i> (Geoffroy, 1785)	–	+
Ciidae	<i>Cis rugulosus</i> Mellie, 1848	–	+
	<i>Octotemnus glabriculus</i> (Gyllenhal, 1827)	–	+
	<i>Ropalodontus strandi</i> Lohse, 1969	–	+
	<i>Sulcaxis nitidus</i> (Fabricius, 1792)	–	+
Corylophidae	<i>Arthrolips obscura</i> (Sahlberg, 1833)	–	+
Erotilidae	<i>Dacne pontica</i> (Bedel, 1868)	–	+
	<i>Dacne bipustulata</i> (Thunberg, 1781)	–	+
Latridiidae	<i>Enicmus testaceus</i> (Stephens, 1830)	–	+
Leiodidae	<i>Anisotoma humeralis</i> (Fabricius, 1792)	–	+
Melandryidae	<i>Orchesia micans</i> (Panzer, 1793)	–	+
Mycetophagidae	<i>Mycetophagus quadripustulatus</i> (Linnaeus, 1760)	–	+
Staphylinidae	<i>Gyrophaena joyi</i> Wendeler, 1924	+	–
	<i>Scaphisoma boleti</i> (Panzer, 1793)	–	+
	<i>Scaphisoma boreale</i> Lundblad, 1952	+	+
	<i>Sepedophilus bipustulatus</i> (Gravenhorst, 1802)	–	+
Tenebrionidae	<i>Bolitophagus reticulatus</i> (Linnaeus, 1767)	–	+
	<i>Diaperis boleti</i> (Linnaeus, 1758)	–	+
	<i>Eledona agricola</i> (Herbst, 1783)	–	+
	<i>Neomidia haemorrhoidalis</i> (Fabricius, 1787)	–	+
	<i>Prionychus melanarius</i> (Germar, 1813)	–	+
Всего видов		2	20

Из табл. 1 видно, что для растущих и/или спороносящих плодовых тел отмечено всего два вида из семейства Staphylinidae (*Gyrophaena joyi* Wendeler, 1924 и *Scaphisoma boreale* Lundblad, 1952). Вид *Scaphisoma boreale* доминирует в сборах (86%) и в большом количестве заселяет спороносящие плодовые тела, что связано с бионимией жука. Данный вид обычно развивается на гименофоре базидиальных грибов, монофаг – питается спорами и трубочками гимения, способен переносить на покровах тела споры грибов, способствуя их расселению [2, 11, 13, 14]. *Scaphisoma boreale* также был встречен единично на отмирающем плодном теле гриба, что, скорее всего, является случайной находкой. *Gyrophaena joyi* также развивается в гимении растущих плодовых тел и не встречался на отмирающих плодовых телах *Fomes*

fomentarius [4, 6, 9]. За счет своей твердой деревянистой структуры молодые растущие *Fomes fomentarius* редко заселяются жуками, однако такое плодовое тело может активно использоваться жуками в качестве укрытия и места яйцекладки, а также на преимагинальных стадиях развития [2].

Комплекс основных деструкторов приурочен к отмирающим плодовым телам. Преобладающей группой (42%) становятся чернотелки *Diaperis boleti* (Tenebrionidae), как основные разрушители плодовых тел *Fomes fomentarius*, а также грибовики *Dacne bipustulata* (Thunberg, 1781) и *D. pontica* (Bedel, 1868) (Erotylidae). Как сопутствующий вид по количеству экз. проявляет себя грибобед *Mycetophagus quadripustulatus* (Mycetophagidae) – его личинки развиваются в мякоти грибов с момента отмирания базидиом [8]. В малых количествах



(4%) в сообществе присутствуют жуки семейства Ciidae (однако же представленные 4 видами).

На трофическом уровне среди жесткокрылых преобладают (95%) облигатные мицетофаги и мицетосапрофаги: *Cis rugulosus* Mellie, 1848, *Octotemnus glabriculus* (Gyllenhal, 1827), *Ropalodontus strandi* Lohse, 1969, *Sulcacis nitidus* (Fabricius, 1792) (Ciidae), *Arthrolips obscura* (Sahlberg, 1833) (Corylophidae), *Enicmus testaceus* (Stephens, 1830) (Latridiidae), *Orchesia micans* (Panzer, 1793) (Melandryidae), *Mycetophagus quadripustulatus* (Mycetophagidae), *Gyrophana joi*, *Scaphisoma boleti* (Panzer, 1793), *S. boreale* Lundblad, 1952, *Sepedophilus bipustulatus* (Gravenhorst, 1802) (Staphylinidae), *Bolitophagus reticulatus* (Linnaeus, 1767), *Diaperis boleti*, *Eledona agricola*, *Neomidia*

haemorrhoidalis (Fabricius, 1787), *Prionychus melanarius* (Germar, 1813) (Tenebrionidae).

К факультативным мицетофагам относится *Bothrideres contractus* (Geoffroy, 1785) (Bothrideridae), развивающийся под корой и в древесине в ходах ксилобионтных жесткокрылых [4].

Коллептокомплексы плодовых тел *Fomes fomentarius* разных районов Саратовской области отличаются, что отражено в табл. 2. Определение сходства (по Жаккару, одиночное присоединение) мицетофильных сообществ жесткокрылых разных районов области показало, что наиболее схожи из них сообщества селитебных районов Саратова и Энгельса (Kf = 0.7), крайне низкое сходство отмечено для Саратова и Базарно-Карабулакского района (Kf = 0.1) (табл. 2).

Таблица 2 / Table 2

Коэффициент сходства (по Жаккару) сообществ мицетофильных жесткокрылых плодовых тел

***Fomes fomentarius* разных районов Саратовской области**

Coefficient of similarity (to Jaccard) of mycetophilous beetles' communities of fruit bodies of *Fomes fomentarius* in different districts of the Saratov region

Районы исследования Study areas	Саратов Saratov	Энгельс Engels	Хвалынский р-н Khvalynsky distri.	Воскресенский р-н Voskresensky distr.	Базарно-Карабулакский р-н Bazarno-Karabulaksky distr.
Саратов	–	0.7	0.2	0.3	0.1
Энгельс	0.7	–	0.4	0.3	0.2
Хвалынский р-н	0.2	0.4	–	0.6	0.5
Воскресенский р-н	0.3	0.3	0.6	–	0.3
Базарно-Карабулакский р-н	0.1	0.2	0.5	0.3	–

Достаточно высокое сходство мицетофильных сообществ жесткокрылых Саратова и Энгельса объясняется большим количеством старовозрастных, разрушенных и валежных деревьев с активным произрастанием на них трутовика настоящего, а также географической близостью исследуемых локаций. *Fomes fomentarius* один из доминирующих видов ксилотрофных базидиомицетов, встречающихся на территории селитебных ландшафтов городской среды. В Хвалынском, Воскресенском и Базарно-Карабулакском районах гриб конкурирует с другими видами базидиальных грибов, такими как *Fomitopsis pinicola* (Sw. Karst), *Phellinus igniarius* (L.) Quel. и его относительная численность значительно ниже.

Выводы

С плодовыми телами настоящего трутовика *Fomes fomentarius* района исследований связан 21 вид жуков из 10 семейств. Все они не специфичны к обитанию на плодовых телах данного вида и заселяют самые разнообразные ксилотрофные

базидиальные грибы. На растущих или спороносящих плодовых телах трутовика отмечено всего два вида жесткокрылых из семейства Staphylinidae (*Gyrophana joi* и *Scaphisoma boreale*), на отмирающих плодовых телах зарегистрировано 20 видов жуков из разных семейств: Bothrideridae, Ciidae, Corylophidae, Latridiidae, Mycetophagidae, Staphylinidae и Tenebrionidae. На трофическом уровне преобладают облигатные мицето- и мицетосапрофаги (20 видов), факультативные мицетофаги представлены единственным видом *Bothrideres contractus* (Bothrideridae).

Наибольшее сходство коллептокомплексов выявлено для селитебных районов Саратова и Энгельса (Kf = 0.7) и высокой численностью трутовика настоящего, а также географической близостью районов исследования. Крайне низкое сходство отмечено для Саратова и Базарно-Карабулакского района (Kf = 0.1), где *Fomes fomentarius* конкурирует с другими видами базидиомицетов и имеет относительно меньшую численность.



Список литературы

1. Миронова А. А. Энтомокомплекс жесткокрылых (Insecta, Coleoptera) плодового тела ксилотрофного гриба *Cerioporus squamosus* (Basidiomycetes) // Энтомол. и паразитол. исслед. в Поволжье. 2020. Вып. 17. С. 109–113.
2. Красуцкий Б. В. Мицетофильные жесткокрылые Урала и Зауралья Т. 2. Система «Грибы–насекомые». Челябинск : Урал. отд-ние Рус. энтомол. о-ва, 2005. 213 с.
3. Власов Д. В., Никитский Н. Б. Фауна трутовиковых жуков (Coleoptera, Tenebrionoidea, Ciidae) Ярославской области // Бюллетень Московского общества испытателей природы. 2015. Т. 120, вып. 3. С. 34–39.
4. Никитский Н. Б. Жуки-грибоеды (Coleoptera, Mucetophagidae) фауны России и сопредельных стран. М. : Изд-во МГУ, 1993. 184 с.
5. Цинкевич В. А. Жесткокрылые (Coleoptera) – обитатели плодовых тел базидиальных грибов (Basidiomycetes) запада лесной зоны Русской равнины (Беларусь) // Бюллетень Московского общества испытателей природы. 2004. Т. 109, вып. 4. С. 17–25.
6. Компанцев А. В. Комплексы жесткокрылых, связанных с основными древоразрушающими грибами в лесах Костромской области. М. : Наука, 1984. 191 с.
7. Яковлев Е. Б. Данные по экологии наиболее массовых разрушителей плодовых тел грибов в Карелии // Проблемы комплексного использования древесины и охраны природы : тез. докл. конф. молодых ученых. 21–24 ноября 1981 г. Петрозаводск : Карел. филиал АН СССР, 1982. С. 82–84.
8. Шигель Д. С. Жесткокрылые – обитатели трутовых грибов Европейской части России : автореф. дис. ... канд. биол. М., 2003. 21 с.
9. Халидов А. Б. Насекомые – разрушители грибов. Л. : Сазань, 1984. 151 с.
10. Кривошеина Н. П. Формы взаимосвязей насекомых-ксилобионтов и ксилотрофных грибов // Экология. 1991. Т. 18, № 4. С. 37–47.
11. Scheerpeltz O., Hoofler K. *Kafer and Pilze*. Wien : Jungnd and Volk, 1948. 351 p.
12. Benick L. Pilzkafer und Kaferpilz. Okologische und statistische Untersuchungen // *Acta Zool. Fenn.* 1952. Vol. 70. 250 S.
13. Muller R. Bemerkenswerte Kaferarten and Bodenpilzen Entom // *Entomology Zeitschr.* Berlin : Deutsche Entomologische Gesellschaft, 1973. S. 265–274.
14. Crowson R. A. An Ecological Triangle: Beetles, Fungi and Trees // *The Biology of the Coleoptera*. L. : Academic Press, 1981. P. 559–583.

References

1. Mironova A. A. Entomocomplex of beetles (Insecta, Coleoptera) of the fruiting body of the xylophilic fungus *Cerioporus squamosus* (Basidiomycetes). *Entomological and Parasitological Investigations in the Volga Region*, 2020, iss. 17, pp. 109–113 (in Russian).
2. Krasutsky B. V. *Mitsetofil'nyye zhestkokrylyye Urala i Zaural'ya T. 2. Sistema «Griby – nasekomye»* [Mycetophilous Coleoptera of the Urals and Trans-Urals. Vol. 2 The “Mushrooms – Insects” System]. Chelyabinsk, Ural. otd-niye Rus. entomol. o-va, 2005. 113 p. (in Russian).
3. Vlasov D. V., Nikitsky N. B. Fauna of tinder beetles (Coleoptera, Tenebrionoidea, Ciidae) of the Yaroslavl region. *Bulletin of the Moscow Society of Naturalists*, 2015, vol. 120, iss. 3, pp. 34–39 (in Russian).
4. Nikitsky N. B. *Zhuki-griboyedy (Coleoptera, Mucetophagidae) fauny Rossii i sopredel'nykh stran* [Mushroom-eating Beetles (Coleoptera, Mucetophagidae) of the Fauna of Russia and Neighboring Countries]. Moscow, Izd-vo MGU, 1993. 184 p. (in Russian).
5. Tsinkevich V. A. Coleoptera – inhabitants of fruit bodies of basidiomycetes in the western forest zone of the Russian Plain (Belarus). *Bulletin of the Moscow Society of Naturalists*, 2004, vol. 109, iss. 4, pp. 17–25 (in Russian).
6. Kompantsev A. V. *Kompleksy zhestkokrylykh, svyazannykh s osnovnymi drevorazrushayushchimi gribami v lesakh Kostromskoy oblasti* [Complexes of Coleoptera Associated with the Main Wood-destroying Fungi in the Forests of the Kostroma Region]. Moscow, Nauka Publ., 1984. 191 p. (in Russian).
7. Yakovlev E. B. Data on the ecology of the most massive destroyers of fruiting bodies of mushrooms in Karelia. In: *Problems of the Complex Use of Wood and Environmental Protection: Abstracts of the conf. of young scientists (November 21–24, 1981)*. Petrozavodsk, Karel. filial AN SSSR, 1982, pp. 82–84 (in Russian).
8. Shchigel D. S. *Coleoptera – inhabitants of tinder fungi of the European part of Russia*. Thesis Dis. Cand. Sci. (Biol.). Moscow, 2003. 21 p. (in Russian).
9. Khalidov A. B. *Nasekomye – razrushiteli gribov* [Insects – Destroyers of Fungi]. Leningrad, Sazan Publ., 1984. 151 p. (in Russian).
10. Krivosheina N. P. Forms of interrelations between insects-xylobionts and xylophilic fungi. *Journal of Ecology*, 1991, vol. 18, no. 4, pp. 37–47 (in Russian).
11. Scheerpeltz O., Hoofler K. *Kafer and Pilze*. Wien, Jungnd and Volk, 1948. 351 p.
12. Benick L. Pilzkafer und Kaferpilz. Okologische und statistische Untersuchungen. *Acta Zool. Fenn.*, 1952, vol. 70. 250 p.
13. Muller R. Bemerkenswerte Kaferarten and Bodenpilzen Entom. In: *Entomology Zeitschr.* Berlin, Deutsche Entomologische Gesellschaft, 1973, S. 265–274.
14. Crowson R. A. An Ecological Triangle: Beetles, Fungi and Trees. *The Biology of the Coleoptera*. London, Academic Press, 1981, pp. 559–583.

Поступила в редакцию 05.05.21, после рецензирования 08.05.21, принята к публикации 11.05.21
 Received 05.05.21, revised 08.05.21, accepted 11.05.21



Известия Саратовского университета. Новая серия. Серия: Химия. Биология. Экология. 2021. Т. 21, вып. 3. С. 286–291

Izvestiya of Saratov University. Chemistry. Biology. Ecology, 2021, vol. 21, iss. 3, pp. 286–291

<https://ichbe.sgu.ru>

<https://doi.org/10.18500/1816-9775-2021-21-3-286-291>

Научная статья

УДК 579.64

Получение флуоресцентно меченного эндофитного штамма бактерий *Herbaspirillum lusitanum* P6-12 для их детекции *in vivo* и *in vitro*



А. Р. Багавова^{1,2} ✉, Н. С. Величко², Т. Е. Пылаев^{2,3,4}, Ю. П. Федоненко^{1,2}

¹Саратовский национальный исследовательский государственный университет имени Н. Г. Чернышевского, Россия, 410012, г. Саратов, ул. Астраханская, д. 83

²Институт биохимии и физиологии растений и микроорганизмов РАН, Россия, 410049, г. Саратов, просп. Энтузиастов, д. 13

³Саратовский государственный медицинский университет имени В. И. Разумовского, Россия, 410012, г. Саратов, ул. Большая Казачья, д. 112

⁴Федеральный аграрный научный центр Юго-Востока, Россия, 410010, г. Саратов, ул. Тулайкова, д. 7

Багавова Арапат Рустамовна, магистрант кафедры биофизики и биохимии, 99bagavova@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0001-6606-7038>

Величко Наталья Сергеевна, кандидат биологических наук, научный сотрудник, velichko_n@ibppm.ru, <https://orcid.org/0000-0001-9734-3947>

Пылаев Тимофей Евгеньевич, кандидат биологических наук, научный сотрудник, <https://orcid.org/0000-0002-2701-3333>

Федоненко Юлия Петровна, кандидат биологических наук, доцент кафедры биофизики и биохимии, ведущий научный сотрудник, fedonenko@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0003-0255-8190>

Аннотация. Методом электропорации получен штамм *Herbaspirillum lusitanum* P6-12, содержащий векторную плазмиду pJN105TurboGFP, которая кодирует синтез зеленого флуоресцирующего белка GFP, и имеющий устойчивость к антибиотику гентамицину. Сконструированный штамм *H. lusitanum* P6-12 по своим культурально-морфологическим и биохимическим свойствам не отличался от исходного типового природного штамма *H. lusitanum* P6-12. На плотных питательных средах рекомбинантный штамм формировал колонии желто-зеленого цвета, флуоресцирующие при УФ-облучении. При инокуляции полученной культурой растительных объектов наблюдали зеленое свечение маркированных клеток *H. lusitanum* P6-12, активно колонизирующих внутренние ткани растения-хозяина. Созданный штамм можно использовать в качестве модельного для изучения закономерностей и особенностей поведения организмов в интегрированных системах, в том числе для отслеживания бактериальных клеток в ходе взаимодействия с растениями, оценки их выживаемости, конкурентоспособности и т.д.

Ключевые слова: *Herbaspirillum lusitanum* P6-12, эндофитные бактерии, GFP, *Phaseolus vulgaris*

Для цитирования: Багавова А. Р., Величко Н. С., Пылаев Т. Е., Федоненко Ю. П. Получение флуоресцентно меченного эндофитного штамма бактерий *Herbaspirillum lusitanum* P6-12 для их детекции *in vivo* и *in vitro* // Известия Саратовского университета. Новая серия. Серия: Химия. Биология. Экология. 2021. Т. 21, вып. 3. С. 286–291. <https://doi.org/10.18500/1816-9775-2021-21-3-286-291>

Статья опубликована на условиях лицензии Creative Commons Attribution 4.0 International (CC-BY 4.0)

Article

Obtaining a fluorescently labeled endophytic strain of bacteria *Herbaspirillum lusitanum* P6-12 for their detection *in vivo* and *in vitro*

A. R. Bagavova^{1,2} ✉, N. S. Velichko², T. E. Pylayev^{2,3,4}, Yu. P. Fedonenko^{1,2}

¹Saratov State University, 83 Astrakhanskaya St., Saratov 410012, Russia

²Institute of Biochemistry and Physiology of Plants and Microorganisms, Russian Academy of Sciences, 13 Prospekt Entuziastov, Saratov 410049, Russia

³Saratov State Medical University named after V. I. Razumovsky, 112 Bolshaya Kazachya St., Saratov 410012, Russia

⁴Federal Agricultural Scientific Center of the South-East, 7 Tulaykova St., Saratov 410010, Russia

Bagavova Arapat Rustamovna, 99bagavova@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0001-6606-7038>

Natal'ya S. Velichko, velichko_n@ibppm.ru, <https://orcid.org/0000-0001-9734-3947>

Timofey E. Pylayev, <https://orcid.org/0000-0002-2701-3333>

Yuliya P Fedonenko, fedonenko@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0003-0255-8190>



Abstract. The *Herbaspirillum lusitanum* P6-12 strain containing the vector plasmid pJN105TurboGFP, which encodes the synthesis of the green fluorescent protein GFP, and which has resistance to the antibiotic gentamicin, was obtained by electroporation. The constructed strain of *H. lusitanum* P6-12 in cultural, morphological and biochemical properties did not differ from the original typical natural strain of *H. lusitanum* P6-12. On solid growth media, the recombinant strain formed yellow-green colonies, fluorescent under UV irradiation. Upon inoculation with the resulting culture of plant objects, a green glow of the marked *H. lusitanum* P6-12 cells, actively colonizing the internal tissues of the host plant, was observed. The created strain can be used as a model strain for studying the patterns and characteristics of the behaviour of organisms in integrated systems, including for tracking bacterial cells during interaction with plants, assessing their survival, competitiveness, etc.

Keywords: *Herbaspirillum lusitanum* P6-12, endophytic bacteria, GFP, *Phaseolus vulgaris*

For citation: Bagavova A. R., Velichko N. S., Pylayev T. E., Fedonenko Yu. P. Obtaining a fluorescently labeled endophytic strain of bacteria *Herbaspirillum lusitanum* P6-12 for their detection *in vivo* and *in vitro*. *Izvestiya of Saratov University. Chemistry. Biology. Ecology*, 2021, vol. 21, iss. 3, pp. 286–291. <https://doi.org/10.18500/1816-9775-2021-21-3-286-291>

This is an open access article distributed under the terms of Creative Commons Attribution 4.0 International License (CC-BY 4.0)

Введение

В условиях нарастающего антропогенного загрязнения экосистем и истощения энергетических ресурсов планеты особую актуальность приобретает поиск экологически безопасных и энергосберегающих подходов для развития устойчивого земледелия и обеспечения населения качественными продуктами питания. Особую значимость для решения этого комплекса проблем имеют исследования процессов становления специфичных симбиотических отношений. Интерес представляют как эпифитные и ризосферные, так и эндофитные микроорганизмы, населяющие внутренние ткани растений и определяющие их устойчивость к патогенам и абиотическим стрессам. В искусственных интегрированных системах, где большую роль играют прикрепление к биотическим поверхностям и их колонизация, необходима визуализация взаимодействия бактерий с корнями. В связи с этим возникает ряд методических проблем, решение которых открывает новые возможности для изучения фундаментальных основ взаимоотношений внутриклеточного симбионта с макропартнером. К числу подобных задач можно отнести необходимость флуоресцентного маркирования штаммов посредством клонирования соответствующих генов, обеспечивающих витальную экспрессию флуорофоров, что позволит исследовать *in vivo* и *in vitro* закономерности и особенности процессов системной колонизации.

Генетический потенциал универсальных бактерий рода *Herbaspirillum* позволяет использовать их не только в составе биопрепаратов, повышающих рост и урожайность, но и в качестве модельного объекта для изучения механизмов мутуалистических взаимоотношений высших организмов с эндосимбионтами. Интересным для исследования представляется выделенный из клубеньков фасоли обыкновенной (*Phaseolus vulgaris*) типовой штамм *Herbaspirillum lusitanum* P6-12 [1]. При исследовании его генома было

показано отсутствие азотфиксирующих (*nif*) и генов клубенькообразования (*nod*), необходимых для формирования ризобияльного симбиоза [2], однако показано присутствие систем секреции I и II типов, выводящих наружу белки, помогающие адаптироваться к окружающей среде патогенным микроорганизмам [3]. На основании этого было высказано предположение, что данный вид является условно-патогенной бактерией, способной колонизировать не только клубеньки, но и другие ткани растений.

Таким образом, для определения динамики распространения клеток *H. lusitanum* P6-12 в различных органах инфицированных растений и особенностей их локализации *in planta* необходима визуализация взаимодействия микроорганизма с корнями и побегами растений. Ввиду этого целью данной работы являлось получение флуоресцентно меченого штамма *H. lusitanum* P6-12, характеристика процесса колонизации фасоли обыкновенной (*Phaseolus vulgaris*) полученным производным.

Материалы и методы

В работе использовали типовой штамм *Herbaspirillum lusitanum* P6-12 (IBPPM515), предоставленный Коллекцией ризосферных микроорганизмов ИБФРМ РАН (<http://collection.ibppm.ru>), с целью оценки его влияния на рост фасоли обыкновенной (*Phaseolus vulgaris*) и прижизненного маркирования флуоресцентным белком GFP.

Культуру выращивали на жидкой синтетической питательной среде с витаминами [4] при 30 °С в течение 24 ч, что соответствовало окончанию экспоненциальной фазы роста. В качестве селективного антибиотика при трансформации использовали гентамицин (50 мг/мл).

В экспериментах по клонированию применяли плазмидный вектор для экспрессии флуоресцентных белков pJN105TurboGFP, регулируемый конститутивным промотором фага T5, любезно



предоставленный А. Х. Баймиевым, ФГБНУ «Институт биохимии и генетики Уфимского научного центра РАН».

Клетки трансформировали векторной конструкцией с использованием электропорации на приборе MicroPulser («BioRad»), предустановленной программы и протокола для трансформации агробактерий (12,5 кВ/см, 25 мкФ и 200 Ом) в 0,1 см электропорационной кювете.

Перед проведением процедуры электропорации готовили электрокомпетентные клетки. Отбирали 100 мкл ночной культуры, переносили в колбу, содержащую 100 мл среды, и инкубировали при 30 °С при постоянном перемешивании до $A_{600} \sim 0,1$. Полученную культуру клеток разделяли на две части по 50 мл и центрифугировали при 7000 g в течение 7 мин при 4 °С. Осадок дважды промывали холодной milli-Q водой и ресуспендировали в 50 мл 10%-ного водного раствора глицерина. Суспензию клеток 100 мкл помещали в эппендорфы (1,5 мл) и хранили при –80 °С.

Меченые бактерии наблюдали на инвертированном флуоресцентном микроскопе Leica DMI3000B, оборудованном камерой Leica 420D CCD (Leica Microsystems, Германия). Для детекции GFP использовали набор светофильтров № 10 (полоса возбуждения BP 450-490, испускания BP 515-565). Препараты корней для флуоресцентной микроскопии готовили следующим образом: стерильными ножницами срезали главный корень фасоли, помещали его между двумя пенопластовыми планшетами и с помощью лезвия делали продольные срезы. Предварительно так же стерильными ножницами срезали боковые корни. Образцы помещали на предметные стекла, добавляли раствор 50 %-ного глицерина в фосфатном буфере (ФБ; 10 mM NaH_2PO_4 , 10 mM Na_2HPO_4 , 130 mM NaCl, pH 7,2) и накрывали покровным стеклом.

Фасоль сорта «Ballada 29», любезно предоставленную ФГБНУ «Федеральный научный центр риса» (Краснодар), промывали водой с детергентом и подвергали поверхностной стерилизации. Семена выдерживали 30 мин в 70 %-ном этиловом спирте, промывали стерильной дистиллированной водой, после этого помещали на 5 мин в 2 %-ный гипохлорит натрия, а затем семикратно промывали стерильной дистиллированной водой. Контроль стерильности осуществляли, выдерживая зерна на плотной агаризованной среде 48 ч при 25 °С [5].

Проросшие семена фасоли, в зависимости от целей эксперимента, инокулировали трансформированной и не трансформированной культурой

H. lusitanum P6-12. Фасоль инкубировали в бактериальной суспензии, доведенной до $A_{600} \sim 0,1$, в течение 30 мин и для дальнейшего роста помещали в высокие биологические пробирки, заполненные стеклянными шариками и 10 мл жидкой среды для растений. Для меченного флуоресцентным белком GFP штамма *H. lusitanum* P6-12 в среду для растений был добавлен гентамицин (50 мг/мл). Пробирочные растения фасоли выращивали при следующем режиме: фотопериод 16 ч, температура воздуха 24 °С / 19 °С (день / ночь).

Определения динамики титра клеток *H. lusitanum* P6-12 в инфицированных растениях фасоли обыкновенной проводили через 1, 3, 4, 5, 6 и 7 суток после инокуляции. Корни и стебли анализируемых растений подвергали поверхностной стерилизации 2 %-ным раствором гипохлорита натрия (2 мин), 70 %-ным раствором этанола (2 мин) с последующей пятикратной промывкой стерильной дистиллированной водой. Материал асептически растирали в ступке. Разведения гомогенатов в 1 мл PBS высевали на твердую селективную среду для бактерий. Количество колониеобразующих единиц (КОЕ) учитывали через 2 сут с применением чашечного метода Коха [6].

Для оценки влияния культуры *H. lusitanum* P6-12 на рост *P. vulgaris* осуществляли инокуляцию трехсуточных проростков фасоли как описано выше и помещали их в торфяные горшочки с вермикулитом. Для контрольных образцов бактериальный раствор был проавтоклавирован. Растения выращивали при следующем режиме: фотопериод 16 ч, температура воздуха 24 °С / 19 °С (день / ночь) и полив трижды в неделю модифицированным раствором Хогланда (2M KNO_3 , 2M $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$, Fe(III)-ЭДТА, 2M $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, H_3BO_3 , $\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$, $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$, $\text{H}_2\text{MoO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$, $\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, 1M KH_2PO_4 , pH 6). Спустя 40 дней после инокуляции растения осторожно извлекали из горшочков, промывали корни водопроводной водой для удаления частиц вермикулита и определяли сырую биомассу растений.

Результаты и их обсуждение

С помощью трансформации был получен штамм *H. lusitanum* P6-12 + pJN105TurboGFP, меченный флуоресцентным белком GFP. Флуоресцентное свечение штамма *H. lusitanum* P6-12 было проанализировано флуоресцентной микроскопией клеточных суспензий, приготовленных из бактериальных культур, выращенных на чашках Петри с твердой питательной средой (рис. 1).

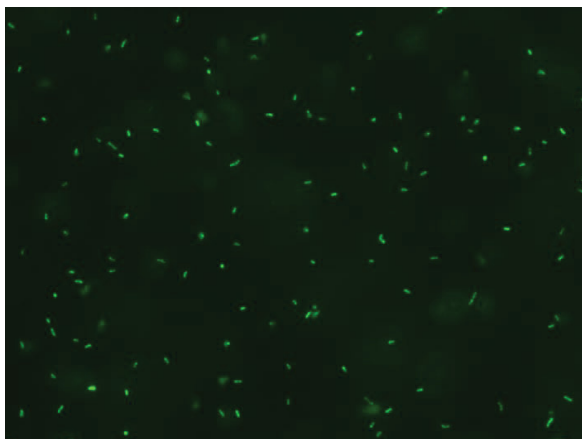


Рис. 1. Изображение GFP-маркированных клеток *H. lusitanum* P6-12+pJN105TurboGFP

Fig. 1. Image of GFP-labeled cells of *H. lusitanum* P6-12+pJN105TurboGFP

GFP-маркированные производные *H. lusitanum* P6-12 были использованы для визуализации взаимодействия исследуемого штамма с корнями растений фасоли обыкновенной.

Флуоресцентная микроскопия корней фасоли, инокулированной GFP-меченым штаммом, позволила подтвердить эндофитную природу бактерий *H. lusitanum* P6-12. В случае длительных экспериментов (40 суток после инокуляции) было зафиксировано наличие бактерий во внутренних тканях корня.

Эндофитная природа *H. lusitanum* P6-12 была показана посредством высева бактерий с поверхностно стерилизованных частей *P. vulgaris* [1]. Однако это не является убедительным доказательством способности микроорганизма проникать

внутри тканей макропартнера. Механизмы эндофитной колонизации практически не изучены. Для других видов гербаспирилл показано, что первоначально происходит прикрепление бактерий к поверхности корня и затем, через механические повреждения ризодермы, микроорганизмы проникают во внутренние ткани растения [7]. Нами впервые проведено флуоресцентное маркирование штамма для визуальной идентификации взаимодействия растения из семейства *Fabaceae* с бактериями *Herbaspirillum* spp. В перспективе комбинированное использование трансформации штаммов (методом электропорации) и флуоресцентной микроскопии может стать инструментом для детального изучения механизма эндофитной колонизации тканей растений.

При определении динамики титра клеток *H. lusitanum* P6-12 в корнях и стеблях фасоли обыкновенной было показано, что исследуемый бактериальный штамм достаточно агрессивно заселяет корни *P. vulgaris*. Концентрация клеток достигает максимального значения к 7-м суткам исследования и после этого содержание бактерий во внутренних органах растения не меняется. Количество бактерий, полученных из поверхностно стерилизованных корней, увеличилось с 4,75 lg КОЕ/г сырой биомассы в 1-е сут. после инокуляции до 6,99 lg КОЕ/г сырой биомассы на 7-е сут. после инокуляции. Отмечена способность бактерий *H. lusitanum* P6-12 быстро колонизировать стебель *P. vulgaris*. Количество бактериальных клеток увеличилось с 3,92 lg КОЕ/г сырой биомассы с начала его развития до 6,23 lg КОЕ/г сырой биомассы на 7-е сут. исследования (рис. 2).

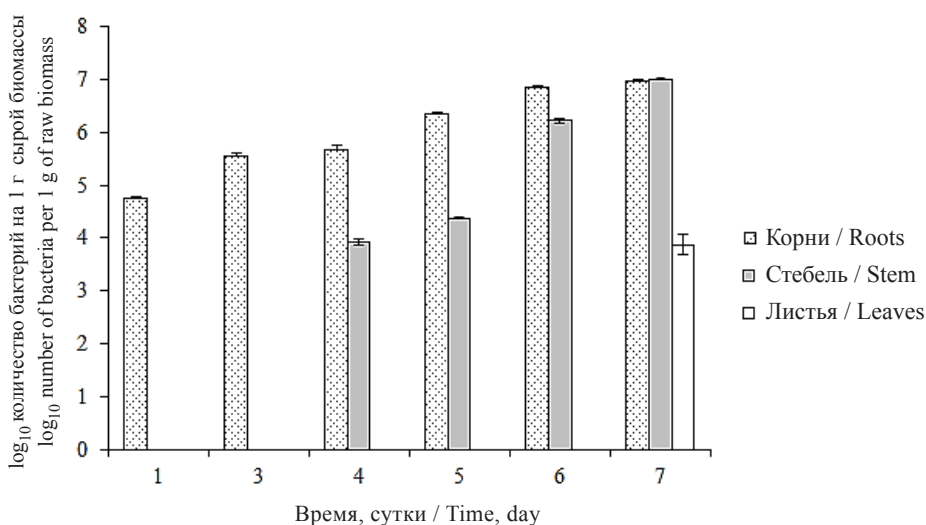


Рис. 2. Эндофитная колонизация *Phaseolus vulgaris* штаммом *H. lusitanum* P6-12

Fig. 2. Endophytic colonization of *Phaseolus vulgaris* by *H. lusitanum* P6-12



Отмечено положительное влияние штамма *H. lusitanum* P6-12 на рост фасоли обыкновенной: сырая биомасса инокулированных растений значительно превышает биомассу контрольных образцов (рис. 3).

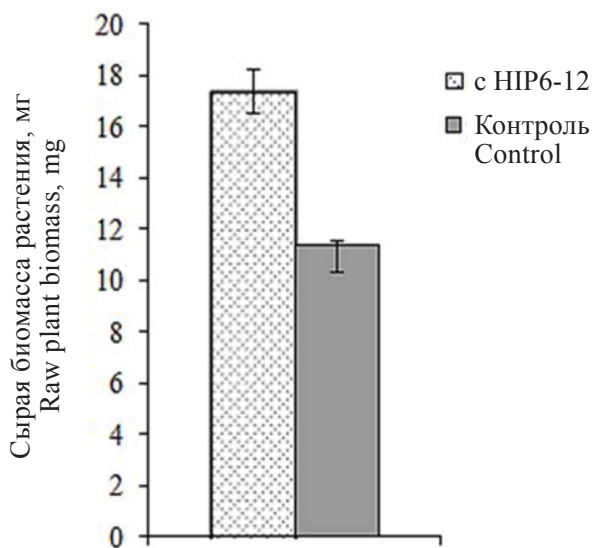


Рис. 3. Сухая биомасса фасоли обыкновенной (*P. vulgaris*), инокулированной *H. lusitanum* P6-12, в сравнении с контролем. Растения инокулировали 10^9 клеток на проросток в течение 30 минут и инкубировали в течение 40 дней при 24 °С в течение 16 часов днем и при 19 °С в течение 8 часов в ночное время. Общее время роста растений составило 40 дней

Fig. 3. Dry biomass of common bean (*P. vulgaris*) inoculated with *H. lusitanum* P6-12 in comparison with control. Plants were inoculated 10^9 cells per seedling for 30 minutes and incubated for 40 days at 24 °C for 16 hours during the day and at 19 °C for 8 hours at night. The total plant growth time was 40 days

Таким образом, с применением генно-инженерной конструкции с зеленым флуоресцентным белком GFP, методом электропорации был получен штамм *H. lusitanum* P6-12 + pJN105TurboGFP. Показана возможность применения указанного штамма для визуализации взаимодействия бактерий с макропартнером при помощи флуоресцентной микроскопии.

Список литературы

1. Valverde A., Velazquez E., Gutierrez C., Cervantes E., Ventosa A., Igual J. M. *Herbaspirillum lusitanum* sp. nov., a novel nitrogen-fixing bacterium associated with root nodules of *Phaseolus vulgaris* // Intern. J. Syst. Evol. Microbiol. 2003. Vol. 53, № 6. P. 1979–1983. <https://doi.org/10.1099/ijs.0.02677-0>

2. Weiss V. A., Faoro H., Tadra-Sfeir M. Z., Raittz R. T., Souza E. M. de, Monteiro R. A., Cardoso R. L., Wassem R., Chubatsu L. S., Huergo L. F., Muller-Santos M., Steffens M. B., Rigo L. U., Pedrosa F. de O., Cruz L. M. Draft genome sequence of *Herbaspirillum lusitanum* P6-12, an endophyte isolated from root nodules of *Phaseolus vulgaris* // J. Bacteriol. 2012. Vol. 194, № 15. P. 4136–4137. <https://doi.org/10.1128/JB.00657-12>
3. Green E. R., Mecsas J. Bacterial secretion systems: an overview // Microbiology Spectrum. 2016. Vol. 4, № 1. <https://doi.org/10.1128/microbiolspec.VMBF-0012-2015>
4. Смолькина О. Н., Шишонкова Н. С., Юрасов Н. А., Игнатов В. В. Капсульные и экстраклеточные полисахариды diaзотрофных ризобактерий *Herbaspirillum seropedicae* Z78 // Микробиология. 2012. Т. 80, № 3. С. 345–352.
5. Schmidt M. A., Souza E. M., Baura V., Wassem R., Yates M. G., Pedrosa F. O., Monteiro R. A. Evidence for the endophytic colonization of *Phaseolus vulgaris* (common bean) roots by the diazotroph *Herbaspirillum seropedicae* // Braz. J. Med. Biol. Res. 2011. Vol. 44, № 3. P. 182–185. <https://doi.org/10.1590/s0100-879x2011007500004>
6. Лавренчук Л. С., Ермошин А. А. Микробиология: практикум. Екатеринбург: Изд-во Урал. ун-та, 2019. 107 с.
7. Monteiro R. A., Balsanelli E., Wassem R., Marin A., Brusamarello-Santos L. C. C., Schmidt A., Tadra-Sfeir M. Z., Pankiewicz V., Cruz L. M., Chubatsu L. S., Pedrosa F. O., Souza E. M. *Herbaspirillum*-plant interactions: microscopical, histological and molecular aspects // Plant Soil. 2012. Vol. 356. P. 175–196. <https://doi.org/10.1007/s11104-012-1125-7>

References

1. Valverde A., Velazquez E., Gutierrez C., Cervantes E., Ventosa A., Igual J. M. *Herbaspirillum lusitanum* sp. nov., a novel nitrogen-fixing bacterium associated with root nodules of *Phaseolus vulgaris*. Intern. J. Syst. Evol. Microbiol., 2003, vol. 53, no. 6, pp. 1979–1983. <https://doi.org/10.1099/ijs.0.02677-0>
2. Weiss V. A., Faoro H., Tadra-Sfeir M. Z., Raittz R. T., Souza E. M. de, Monteiro R. A., Cardoso R. L., Wassem R., Chubatsu L. S., Huergo L. F., Muller-Santos M., Steffens M. B., Rigo L. U., Pedrosa F. de O., Cruz L. M. Draft genome sequence of *Herbaspirillum lusitanum* P6-12, an endophyte isolated from root nodules of *Phaseolus vulgaris*. J. Bacteriol., 2012, vol. 194, no. 15, pp. 4136–4137. <https://doi.org/10.1128/JB.00657-12>
3. Green E. R., Mecsas J. Bacterial secretion systems: an overview. Microbiology Spectrum, 2016, vol. 4, no. 1. <https://doi.org/10.1128/microbiolspec.VMBF-0012-2015>
4. Smol'kina O. N., Shishonkova N. S., Yurasov N. A., Ignatov V. V. Capsular and extracellular polysaccharides of diazotrophic rhizobacteria *Herbaspirillum seropedicae* Z78. Microbiology, 2012, vol. 81, no. 3, pp. 345–352 (in Russian).



5. Schmidt M. A., Souza E. M., Baura V., Wassem R., Yates M. G., Pedrosa F. O., Monteiro R. A. Evidence for the endophytic colonization of *Phaseolus vulgaris* (common bean) roots by the diazotroph *Herbaspirillum seropedicae*. *Braz. J. Med. Biol. Res.*, 2011, vol. 44, no. 3, pp. 182–185. <https://doi.org/10.1590/s0100-879x2011007500004>
6. Lavrenchuk L. S., Ermoshin A. A. *Mikrobiologiya: praktikum* [Microbiology: Practical Work]. Ekaterinburg, Izd-vo Ural. un-ta, 2019. 107 p. (in Russian).
7. Monteiro R. A., Balsanelli E., Wassem R., Marin A., Brusamarello-Santos L. C. C., Schmidt A., Tadra-Sfeir M. Z., Pankievicz V., Cruz L. M., Chubatsu L. S., Pedrosa F. O., Souza E. M. *Herbaspirillum*-Plant Interactions: Microscopical, Histological and Molecular Aspects. *Plant Soil.*, 2012, vol. 356, pp. 175–196. <https://doi.org/10.1007/s11104-012-1125-7>

Поступила в редакцию 05.05.21, после рецензирования 10.05.21, принята к публикации 11.05.21
Received 05.05.21, revised 10.05.21, accepted 11.05.21



Известия Саратовского университета. Новая серия. Серия: Химия. Биология. Экология. 2021. Т. 21, вып. 3. С. 292–297

Izvestiya of Saratov University. Chemistry. Biology. Ecology, 2021, vol. 21, iss. 3, pp. 292–297

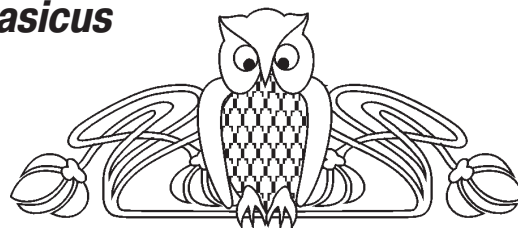
<https://ichbe.sgu.ru>

<https://doi.org/10.18500/1816-9775-2021-21-3-292-297>

Научная статья

УДК 595.462

Филогеография скорпиона *M. caucasicus* (Nordmann 1840) внутри ареала рода *Mesobuthus* (Vachon 1950) (Scorpiones: Buthidae)



Н. М. Поверенный , В. В. Аникин

Саратовский национальный исследовательский государственный университет имени Н. Г. Чернышевского, Россия, 410012, г. Саратов, ул. Астраханская, д. 83

Поверенный Никита Максимович, аспирант кафедры морфологии и экологии животных, nikitapov64@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0001-9958-9342>

Аникин Василий Викторович, доктор биологических наук, профессор кафедры морфологии и экологии животных, anikinvasiliiv@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0001-8575-5418>

Аннотация. В настоящее время установлены новые места обитания скорпионов рода *Mesobuthus* на территории республик Армения и Дагестан. Целью исследования было определение филогенетического положения скорпионов, обитающих на территориях республики Армения и республики Дагестан. Данное исследование вносит вклад в развитие представлений о зоогеографическом распространении фауны скорпионов на территории Палеарктики. В ходе исследований были установлены филогенетические связи вида *Mesobuthus caucasicus* с территории республики Дагестан и Армении с другими таксонами рода *Mesobuthus* из Нижнего Поволжья и Южного Казахстана. Данная работа является продолжением исследований авторов по изучению филогении, морфологических особенностей и распространения скорпионов рода *Mesobuthus* в Прикаспийском, Северо-Туранском и Скифском регионах. Впервые в комплексный анализ введены сиквенсы ДНК по гену COI видов *M. caucasicus* и *M. eupeus* с территории республики Дагестан (Россия) и республики Армения. Построена дендрограмма на основе расшифрованных нуклеотидных последовательностей представителей популяций Саратовской, Волгоградской, Астраханской областей, республики Дагестан, республики Армения и Южного Казахстана. Установлено, что представители *M. caucasicus* из Дагестана входят в среднеазиатский комплекс видов рода *Mesobuthus*, в частности близки к видам *M. fuscus*, *M. intermedius*, *M. kreuzbergi*. Что касается скорпионов из популяций Саратовской, Волгоградской и Астраханской областей, то на данный момент исследований они формируют отдельный кластер, что подтверждает их обособленность от видов *M. caucasicus* и *M. eupeus*.

Ключевые слова: скорпион, *Mesobuthus caucasicus*, филогеография, Дагестан, Армения

Для цитирования: Поверенный Н. М., Аникин В. В. Филогеография скорпиона *M. caucasicus* (Nordmann 1840) внутри ареала рода *Mesobuthus* (Vachon 1950) (Scorpiones: Buthidae) // Известия Саратовского университета. Новая серия. Серия: Химия. Биология. Экология. 2021. Т. 21, вып. 3. С. 292–297. <https://doi.org/10.18500/1816-9775-2021-21-3-292-297>

Статья опубликована на условиях лицензии Creative Commons Attribution 4.0 International (CC-BY 4.0)

Article

Phylogeography of the scorpion *M. caucasicus* (Nordmann 1840) within the range of the genus *Mesobuthus* (Vachon 1950) (Scorpiones: Buthidae)

N. M. Poverennyi , V. V. Anikin

Saratov State University, 83 Astrakhanskaya St., Saratov 410012, Russia

Nikita M. Poverennyi, nikitapov64@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0001-9958-9342>

Vasilii V. Anikin, anikinvasiliiv@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0001-8575-5418>

Abstract. Currently, new habitats of scorpions of the genus *Mesobuthus* have been established on the territory of the republics of Armenia and Dagestan. The aim of the study was to determine the phylogenetic position of scorpions inhabiting the territories of the Republic of Armenia and the Republic of Dagestan. This study contributes to the development of ideas about the zoogeographic distribution of the scorpion fauna in the Palaearctic. In the course of the research, phylogenetic relationships of the species *Mesobuthus caucasicus* from the territory of the Republic of Dagestan and Armenia with other taxa of the genus *Mesobuthus* from the Lower Volga region and southern Kazakhstan were established. This work is a continuation of the authors' research on the study of phylogeny, morphological features and distribution of scorpions



of the genus *Mesobuthus* in the Caspian, North Turan and Scythian regions. For the first time, DNA sequences for the COI gene of the species *M. caucasicus* and *M. eupeus* from the territory of the Republic of Dagestan (Russia) and the Republic of Armenia were introduced into the complex analysis. A dendrogram was constructed based on the decoded nucleotide sequences of representatives of the populations of the Saratov, Volgograd, Astrakhan regions, the Republic of Dagestan, the Republic of Armenia and South Kazakhstan. It was found that representatives of *M. caucasicus* from Dagestan are included in the Central Asian complex of species of the genus *Mesobuthus*, in particular, they are close to the species *M. fuscus*, *M. intermedius*, *M. kreuzbergi*. As for scorpions from the populations of the Saratov, Volgograd, and Astrakhan regions, at the moment of research they form a separate cluster, which confirms their isolation from the species *M. caucasicus* and *M. eupeus*.

Keywords: scorpion, *Mesobuthus caucasicus*, phylogeography, Dagestan, Armenia

For citation: Poverennyi N. M., Anikin V. V. Phylogeography of the scorpion *M. caucasicus* (Nordmann 1840) within the range of the genus *Mesobuthus* (Vachon 1950) (Scorpiones: Buthidae). *Izvestiya of Saratov University. Chemistry. Biology. Ecology*, 2021, vol. 21, iss. 3, pp. 000–000. <https://doi.org/10.18500/1816-9775-2021-21-3-292-297>

This is an open access article distributed under the terms of Creative Commons Attribution 4.0 International License (CC-BY 4.0)

Введение

В Палеарктике широко распространены два больших видовых комплекса скорпионов рода *Mesobuthus* – *M. eupeus* и *M. caucasicus*. Они ранее уже были отмечены на территории республик Армения и Дагестан [1]. Вид *M. eupeus* является типовым для рода *Mesobuthus* и широко распространённым видом в Палеарктике [2]. В свою очередь, видовой комплекс *M. caucasicus* имеет границы распространения от Кавказа до Китая. Учёными доказана обособленность отдельных популяций этих комплексов. Комплекс *M. caucasicus* был разбит на виды: *M. fuscus*, *M. intermedius*, *M. kreuzbergi*, *M. elenae*, *M. gorelovi* [3]. В данной работе мы добавили в анализ видовой комплекс *M. caucasicus* сведения по новым популяциям из республик Дагестан и Армения. В работе сравниваются нуклеотидные последовательности фрагмента гена COI исследованных популяций с последовательностями представителей, обитающих на территории Нижнего Поволжья, Южного Казахстана. Ранее популяции, обитающие на этих территориях, относились к виду *M. eupeus*. На сегодняшний день популяции, обитающие на территории Саратовской, Волгоградской и Астраханской областей (где вид включен в региональные Красные книги [4–6]), определены как самостоятельный вид [7]. Скорпионы, обитающие на территории Южного Казахстана, относятся к таксону *M. e. thersites*, обитающему на территории Восточного Казахстана [8].

Материалы и методы

Для проведения исследований были использованы сборы скорпионов коллег в 2019–2020 гг. с территории Дагестана: бархан Сарыкум (2) и заповедник Дагестанский (1) – сборщик К. Гребенников (г. Москва), окрестности р. Акуша (3) – сборщик Б. Ларшин (г. Москва), и с территории Армении: Нурабашенский район, г. Ереван (4) – сборщик Б. Ларшин (г. Москва) (рис. 1).

Для проведения молекулярно-генетического анализа была выделена ДНК из предоставленных образцов, затем амплифицирована и очищена, последовательно были расшифрованы методом секвенирования по Сэнгеру. Исследования проводилось на базе учебной лаборатории молекулярной биологии СГУ имени Н. Г. Чернышевского.

Для гена цитохром С-оксидазы первой субъединицы были использованы специфические праймеры: LCO1490 5'-ggg-caa-caa-atc-atc-ata-aag-ata-ttg-g-3' 28 нуклеотидов [9], CI-N-2191 5'-ccc-ggt-aaa-att-aaa-ata-taa-act-tc-3' 26 нуклеотидов [10]. ДНК была выделена из каудальных сегментов заднебрюшья скорпиона с помощью набора Qiagen dna microkit (США).

Выделенная ДНК была амплифицирована методом ПЦР с помощью набора encyclo pcr kit, производитель: Евроген (Россия). В реакцию были добавлены: encyclo buffer – 2,5 мкл, 0,5 мкл – dNTP, каждый праймер – 0,5 мкл, ДНК матрица – 2 мкл, H₂O – 18,5 мкл, encyclo полимеразы – 0,5 мкл. Амплификационный профиль: 1-й шаг – 96°C (1 мин); 2-й шаг – 96°C (40 с); 3-й шаг – 50°C (5 с); 4-й шаг – 60°C (4 мин); общее число циклов – 29. Методом электрофореза было оценено, что фрагменты выделенной ДНК в среднем составляют 7000–10000 пар нуклеотидов.

ПЦР была поставлена с помощью амплификатора «C1000 touch thermal cycler» производитель: Biorad (США). Секвенирование ПЦР-продуктов осуществлялось с помощью генетического анализатора «Applied Biosystems 3500», производитель: Thermo Fisher Scientific Inc (США).

Выравнивание сиквенсов и построение дендрограммы проводились с помощью программы MEGA X. В анализе в качестве статистического метода использовалась проверка максимальной вероятности, в качестве модели замещения использовалась модель Джукса – Кантора. Для оценки генетического расхождения использовался «Bootstrap» метод с использованием 2000 репликаций.

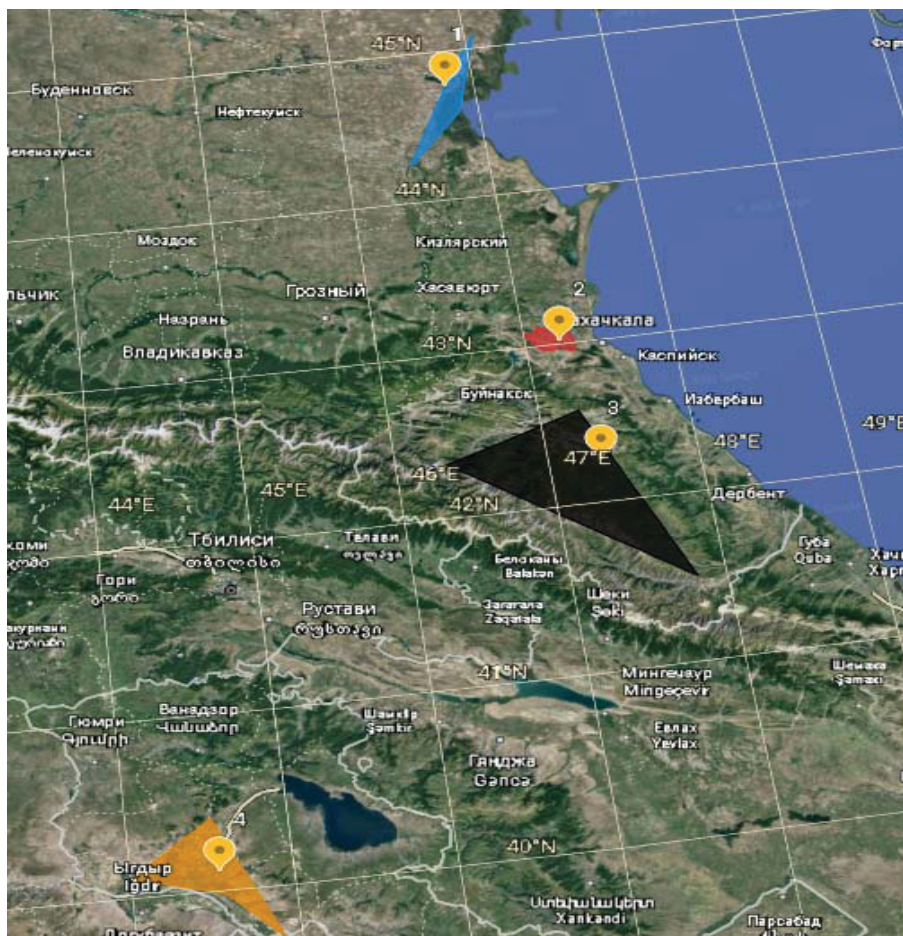


Рис. 1. Распространение двух видовых комплексов *M. caucasicus* и *M. euepeus* на территории Кавказа. Синим цветом отмечена зона распространения популяции из заповедника «Дагестанский»; красным – популяции бархана Сарыкум; чёрным – популяции с окрестности реки Акуша (*M. caucasicus*); жёлтым – кавказской популяции из Нурабашенского района, г. Ереван, республика Армения (*M. e. euepeus*). Карта – <https://earth.google.com> (цвет online)
Fig. 1. Distribution of two species complexes *M. caucasicus* and *M. euepeus* in the Caucasus. The zone of distribution of the population from the “Dagestansky” reserve is marked in blue; the zone of distribution of the barkhan Sarykum population is marked in red; the zone of distribution of the population from the vicinity of the Akusha River (*M. caucasicus*) is marked in black; the zone of distribution of the Caucasian population from the Nurabashen region, Yerevan, Republic of Armenia (*M. e. euepeus*) is marked in yellow. Map – <https://earth.google.com> (color online)

Помимо нуклеотидных последовательностей исследуемых образцов в анализ были введены известные нуклеотидные последовательности 10 таксонов, взятых из GenBank.

Результаты и их обсуждение

Проведённый нами анализ на основе сделанных сиквенсов образцов и данных Gen Bank показал наличие двух кластеров (рис. 2). Первый кластер состоит из трех субкластеров, где первый представлен сборной группой хоросано-туркменских популяций *M. e. thesities*, второй – из отдельной клады изолированной кавказской популяции *M. e. euepeus*, к ним «примыкает» и скорпион из Армении. Также в кластер входит клада южно-ка-

спийской популяции подвида *M. e. philippovitschi*. Третий субкластер сформирован двумя кладами. Первая клада представлена казахско-волжскими популяциями (собственные сиквенсы собранных скорпионов изученной территории Нижнего Поволжья [7, 11, 12]). Вторая клада – северо-казахскими популяциями *M. e. thesities*, к которым примыкает группа южно-казахской популяции из Южного Казахстана. Второй большой кластер сформирован комплексом *M. caucasicus*, который включает себя иранские, таджикские, узбекские, туркменские, афганские популяции, к нему примыкают и образцы скорпионов популяций *M. caucasicus*, собранные на территории республики Дагестан.

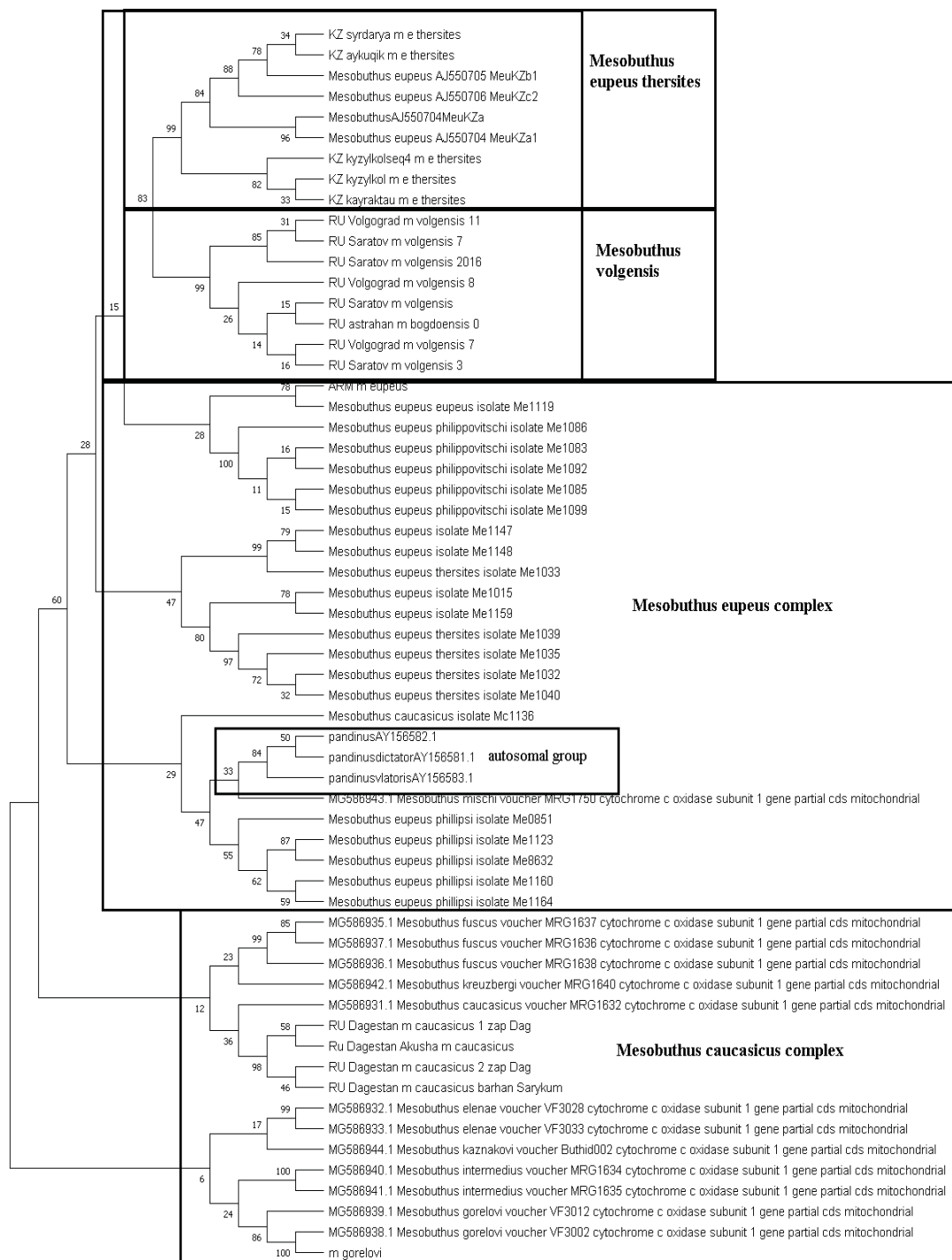


Рис. 2. Дендрограмма по гену COI, отражающая родственные связи представителей рода *Mesobuthus*
 Fig. 2. Dendrogram for the COI gene, reflecting the relationship of representatives of the genus *Mesobuthus*

Заключение

Скорпионы из представленных популяций Армении, несомненно, имеют отношение к изолированной группе *M. e. eupeus* и, как видно из дендрограммы (см. рис. 2), близки к азербайджанской популяции, которая, по данным

иностранных учёных, имеет близкую связь с турецкой популяцией [13], которая, в свою очередь, имеет широкий ареал, западный предел которого находится в 67.5 км от Эгейского моря [14]. Скорпионы из республики Дагестан, а именно исследуемые популяции бархана Сары-



кум, заповедника «Дагестанский» и популяции, обитающей близ реки Акуша, несомненно, относятся к комплексу *M. caucasicus*. Несмотря на небольшое расстояние между местами обитания дагестанской и армяно-азербайджанской популяций, скорпионы дагестанских популяций формируют «отдельную» кладу (см. рис. 2) и, соответственно, не имеют близких связей с популяцией, ареал которой простирается от Турции до Азербайджана, что неудивительно для гористой местности. Также этот факт определенно связан с низкими темпами распространения вида [15]. Следуя предположениям западных коллег, можно дополнить комплекс *M. caucasicus* еще одним отдельным видом из республики Дагестан. Данная работа является первым этапом изучения зоогеографического распространения комплекса *M. caucasicus* в северо-восточной части зоны его распространения в Палеарктике.

Список литературы

1. Fet V. A catalogue of scorpions (Chelicereta: Scorpiones) USSR // Rivista del Museo Civico di Scienze Naturali "Enrico Caffi" (Bergamo). 1989. Vol. 13. P. 73–171.
2. Kovarik F., Yagmur E. A., Fet V., Navidpour S. On Two Subspecies of *Mesobuthus eupeus* (C. L. Koch, 1839) in Turkey (Scorpiones: Buthidae) // Euscorpius. 2011. № 109. P. 11–13.
3. Fet V., Kovarik F., Gantenbein B., Kaiser R., Stewart A., Graham M. Revision of the *Mesobuthus caucasicus* Complex from Central Asia, with Descriptions of Six New Species (Scorpiones: Buthidae) // Euscorpius. 2018. № 255. P. 60–66.
4. Красная книга Астраханской области: Редкие и находящиеся под угрозой исчезновения объекты животного и растительного мира. 2-е изд. Астрахань: Астраханский университет, 2014. 413 с.
5. Красная книга Волгоградской области. Т. 1: Животные / под ред. В. П. Белика. 2-е изд., перераб. и доп. Волгоград; Воронеж: Издат-Принт, 2017. 216 с.
6. Аникин В. В., Поверенный Н. М. Скорпион пёстрый – *Mesobuthus eupeus* (C. L. Koch, 1839) // Красная книга Саратовской области: Грибы. Лишайники. Растения. Животные. Саратов: Папирус, 2021. С. 263.
7. Поверенный Н. М., Аникин В. В. Изучение филогенетических связей представителей рода *Mesobuthus* (Arachnida: Scorpiones) на основе молекулярного анализа ДНК // Известия Саратовского университета. Новая серия. Серия: Химия. Биология. Экология. 2017. Т. 17, вып. 3. С. 333–334. <https://doi.org/10.18500/1816-9775-2017-17-3-333-334>
8. Fomichev A. A. A new locality of *Mesobuthus eupeus thersites* (C. L. Koch, 1839) (Scorpiones: Buthidae) in East Kazakhstan // Euscorpius. 2011. № 136. P. 1–3.
9. Folmer Ole, Black M., Hoeh Wr., Lutz R., Vrijenhoek R. DNA primers for amplification of mitochondrial Cytochrome C oxidase subunit I from diverse metazoan invertebrates // Molecular Marine Biology and Biotechnology. 1994. Vol. 3, № 5. P. 294–299.
10. Raharimalala F. N., Ravaomanarivo L. H., Ravelonandro P., Rafaraso L. S., Zouache K., Tran-Van V. Biogeography of the two major arbovirus mosquito vectors, *Aedes aegypti* and *Aedes albopictus* (Diptera, Culicidae), in Madagascar // Parasit. Vectors. 2012. № 5 (56). P. 5–10.
11. Поверенный Н. М. Нахождение скорпиона *Mesobuthus eupeus* (C. L. Koch, 1839) (Scorpiones) в различных биотопах Богдинско-Баскунчакского заповедника // Энтомологические и паразитологические исследования в Поволжье. 2015. Вып. 12. С. 153–155.
12. Аникин В. В., Поверенный Н. М. Установление таксономического статуса скорпионов рода *Mesobuthus* (Arachnida: Scorpiones) с территории Нижнего Поволжья на основе данных сиквенса гена COI мтДНК // Энтомологические и паразитологические исследования в Поволжье. 2017. Вып. 14. С. 20–24.
13. Mirshamsi O., Sari A., Elahi E., Shidokht D. Phylogenetic relationships of *Mesobuthus eupeus* (C. L. Koch, 1839) inferred from COI sequences (Scorpiones: Buthidae) // Journal of Natural History. 2010. Vol. 44. P. 2854–2856.
14. Teruel R. First record of *Mesobuthus eupeus* (Koch, 1839) from western Turkey (Scorpiones: Buthidae) // Revista Ibérica de Aracnología. 2002. Vol. 5. P. 75–76.
15. Gantenbein B., Keightley P. D. Rates of molecular evolution in nuclear genes of east Mediterranean scorpions // Evolution. 2004. Vol. 58. P. 2486–2497.

References

1. Fet V. A catalogue of scorpions (Chelicereta: Scorpiones) USSR. *Rivista del Museo Civico di Scienze Naturali "Enrico Caffi" (Bergamo)*, 1989, vol. 13, pp. 73–171.
2. Kovarik F., Yagmur E. A., Fet V., Navidpour S. On Two Subspecies of *Mesobuthus eupeus* (C. L. Koch, 1839) in Turkey (Scorpiones: Buthidae). *Euscorpius*, 2011, no. 109, pp. 11–13.
3. Fet V., Kovarik F., Gantenbein B., Kaiser R., Stewart A., Graham M. Revision of the *Mesobuthus caucasicus* Complex from Central Asia, with Descriptions of Six New Species (Scorpiones: Buthidae). *Euscorpius*, 2018, no. 255, pp. 60–66.
4. *Krasnaya kniga Astrakhanskoy oblasti: Redkiye i nakhodyashchiesya pod ugrozoy ischeznoveniya ob'yekty zhivotnogo i rastitel'nogo mira. 2-e izd.* [Red Book of the Astrakhan Province: Rare and Endangered Objects of the Animal and Plant World. 2nd ed.]. Astrakhan, Astrakhanskiy Universitet Publ., 2014. 413 p. (in Russian).
5. *Krasnaya kniga Volgogradskoy oblasti. T. 1: Zhivotnyye, pod red. V. P. Belika. 2-e izd., pererab. i dop.* [Belik V. P., ed. Red Book of the Volgograd Province. Vol. 1: Animals. 2nd ed., reprint. and add.]. Volgograd, Voronezh, Izdat-Print Publ., 2017. 216 p. (in Russian).
6. Anikin V. V., Poverennyi N. M. Scorpion mottled – *Mesobuthus eupeus* (C. L. Koch, 1839). In: *Krasnaya kniga Saratovskoy oblasti: Griby. Lishayniki. Rasteniya*.



- Zhivotnyye* [Red Book of Saratov Province: Mushrooms. Lichens. Plants. Animals]. Saratov, Papyrus Publ., 2021, p. 263 (in Russian).
7. Poverennyi N. M., Anikin V. V. Study of phylogenetic relationships of representatives of the genus *Mesobuthus* (Arachnida: Scorpiones) based on molecular DNA analysis. *Izvestiya of Saratov University. Chemistry. Biology. Ecology*, 2017, vol. 17, no. 3, pp. 333–334 (in Russian). <https://doi.org/10.18500/1816-9775-2017-17-3-333-334>
 8. Fomichev A. A. A new locality of *Mesobuthus eupeus thersites* (C. L. Koch, 1839) (Scorpiones: Buthidae) in East Kazakhstan. *Euscorpius*, 2011, no. 136, pp. 1–3.
 9. Folmer Ole, Black M., Hoeh Wr., Lutz R., Vrijenhoek R. DNA primers for amplification of mitochondrial Cytochrome C oxidase subunit I from diverse metazoan invertebrates. *Molecular Marine Biology and Biotechnology*, 1994, vol. 3, no. 5, pp. 294–299.
 10. Raharimalala F. N., Ravaomanarivo L. H., Ravelonandro P., Rafaraso L. S., Zouache K., Tran-Van V. Biogeography of the two major arbovirus mosquito vectors, *Aedes aegypti* and *Aedes albopictus* (Diptera, Culicidae), in Madagascar. *Parasit. Vectors*, 2012, no. 5 (56), pp. 5–10.
 11. Poverennyi N. M. Finding the scorpion *Mesobuthus eupeus* (C. L. Koch, 1839) (Scorpiones) in various biotopes of the Bogdinsko-Baskunchak reserve. *Entomological and Parasitological Investigations in the Povolzh'e Region*, 2015, iss. 12, pp. 153–155 (in Russian).
 12. Anikin V. V., Poverennyi N. M. Establishing the taxonomy status of scorpions of the genus *Mesobuthus* (Arachnida: Scorpiones) from the territory of Lower Volga Region based on the dates of nucleotide sequences of *COI* gene (mtDNA). *Entomological and Parasitological Investigations in the Povolzh'e Region*, 2017, iss. 14, pp. 20–24 (in Russian).
 13. Mirshamsi O., Sari A., Elahi E., Shidokht D. Phylogenetic relationships of *Mesobuthus eupeus* (C.L. Koch, 1839) inferred from *COI* sequences (Scorpiones: Buthidae). *Journal of Natural History*, 2010, vol. 44, pp. 2854–2856.
 14. Teruel R. First record of *Mesobuthus eupeus* (Koch, 1839) from western Turkey (Scorpiones: Buthidae). *Revista Ibérica de Aracnología*, 2002, vol. 5, pp. 75–76.
 15. Gantenbein B., Keightley P. D. Rates of molecular evolution in nuclear genes of east Mediterranean scorpions. *Evolution*, 2004, vol. 58, no. 11, pp. 2486–2497.

Поступила в редакцию 07.05.21, после рецензирования 12.05.21, принята к публикации 14.05.21

Received 07.05.21, revised 12.05.21, accepted 14.05.21



Известия Саратовского университета. Новая серия. Серия: Химия. Биология. Экология. 2021. Т. 21, вып. 3. С. 298–303

Izvestiya of Saratov University. Chemistry. Biology. Ecology, 2021, vol. 21, iss. 3, pp. 298–303

<https://ichbe.sgu.ru>

<https://doi.org/10.18500/1816-9775-2021-21-3-298-303>

Научная статья

УДК 577.151

Получение жизнеспособных клеток *Azospirillum brasilense* SR80, инкапсулированных в альгинатный гидрогель



А. В. Коврижников¹✉, Т. Е. Пылаев², А. М. Захаревич¹,
С. А. Коннова^{1,2}, М. А. Купряшина²

¹Саратовский национальный исследовательский государственный университет имени Н. Г. Чернышевского, Россия, 410012, г. Саратов, ул. Астраханская, д. 83

²Институт биохимии и физиологии растений и микроорганизмов Российской академии наук, Россия, 410049, г. Саратов, пр. Энтузиастов, д. 13

Коврижников Александр Викторович, студент 3-го курса биологического факультета, alexander.kovrizhnikov@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0002-7752-6321>

Пылаев Тимофей Евгеньевич, кандидат биологических наук, научный сотрудник лаборатории нанобиотехнологии, pylaev_t@ibppm.ru, <https://orcid.org/0000-0002-2701-3333>

Захаревич Андрей Михайлович, кандидат физико-математических наук, заведующий лабораторией диагностики наноматериалов и структур ОНИ НС и БС, zaharevicham@yandex.ru

Коннова Светлана Анатольевна, доктор биологических наук, профессор, заведующий кафедрой биохимии; ведущий научный сотрудник лаборатории биохимии ИБФРМ РАН, konnovasa@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0002-9607-8173>

Купряшина Мария Александровна, кандидат биологических наук, заведующий лабораторией микробиологии, kupryashina_m@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-2136-5362>

Аннотация. В настоящее время агропромышленная отрасль испытывает высокую потребность в экологизации производства. Для решения данного вопроса значительная часть исследований направлена на получение препаратов с иммобилизованными бактериями, сохраняющими пролиферативную функцию и метаболическую активность. Почвенные ростостимулирующие бактерии рода *Azospirillum* не отличаются высокой конкурентоспособностью в ризосфере, а приемы иммобилизации могут способствовать интенсификации их физиологических возможностей. Целью настоящей работы было изучение иммобилизации азоспирилл в Са-альгинатные шарики. С использованием метода «мягкой» иммобилизации, основанном на физическом связывании, получены инкапсулированные в альгинатный гидрогель клетки *A. brasilense* SR80. Показано, что клетки сохраняют дыхательную активность и способность к росту во время иммобилизации, что подтверждает перспективность использования альгината в качестве матрицы для инкапсуляции азоспирилл.

Ключевые слова: *Azospirillum*, альгинат, иммобилизация, инкапсуляция, жизнеспособность

Для цитирования: Коврижников А. В., Пылаев Т. Е., Захаревич А. М., Коннова С. А., Купряшина М. А. Получение жизнеспособных клеток *Azospirillum brasilense* SR80, инкапсулированных в альгинатный гидрогель // Известия Саратовского университета. Новая серия. Серия: Химия. Биология. Экология. 2021. Т. 21, вып. 3. С. 298–303. <https://doi.org/10.18500/1816-9775-2021-21-3-298-303>

Статья опубликована на условиях лицензии Creative Commons Attribution 4.0 International (CC-BY 4.0)

Article

Obtaining viable *Azospirillum brasilense* SR80 cells encapsulated in alginate hydrogel

А. В. Коврижников¹✉, Т. Е. Пылаев², А. М. Захаревич¹, С. А. Коннова^{1,2}, М. А. Купряшина²

¹Saratov State University, 83 Astrakhanskaya St., Saratov 410012, Russia

²Institute of Biochemistry and Physiology of Plants and Microorganisms, Russian Academy of Sciences, 13 Prospekt Entuziastov, Saratov 410049, Russia

Aleksandr V. Kovrizhnikov, alexander.kovrizhnikov@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0002-7752-6321>

Timofey E. Pylaev, pylaev_t@ibppm.ru, <https://orcid.org/0000-0002-2701-3333>

Andrey M. Zaharevich, zaharevicham@yandex.ru

Svetlana A. Konnova, konnovasa@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0002-9607-8173>

Maria A. Kupryashina, kupryashina_m@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-2136-5362>



Abstract. Significant researches aimed at the greening of agro-industrial production are focused on obtaining immobilized bacterial preparations with preserved proliferative function and metabolic activity. Herein, we investigated the possibility of bacteria of the genus *Azospirillum* to be immobilized in Ca-alginate beads. *A. brasilense* SR80 cells, encapsulated in an alginate hydrogel, were obtained using the “soft” immobilization method based on physical binding. We demonstrated the retained respiratory activity and growth ability of the bacteria during immobilization, thus confirming the advantageous prospects of alginate templates for azospirilla encapsulation.

Keywords: *Azospirillum*, alginate, immobilization, encapsulation, viability

For citation: Kovrizhnikov A. V., Pylaev T. E., Zaharevich A. M., Konnova S. A., Kupryashina M. A. Obtaining viable *Azospirillum brasilense* SR80 cells encapsulated in alginate hydrogel. *Izvestiya of Saratov University. Chemistry. Biology. Ecology*, 2021, vol. 21, iss. 3, pp. 298–303. <https://doi.org/10.18500/1816-9775-2021-21-3-298-303>

This is an open access article distributed under the terms of Creative Commons Attribution 4.0 International License (CC-BY 4.0)

Введение

Постоянно растущее население земли, развивающиеся медицина, сельское хозяйство, химические и энергетические отрасли промышленности вкуче с индустриализацией обуславливают постоянный рост загрязнения окружающей среды. Одними из наиболее активных и опасных поллютантов являются синтетические красители [1]. От 2 до 50% от общего числа используемых на производствах красителей попадают в неизменном виде в сточные воды, что приводит к серьезному загрязнению поверхностных и грунтовых вод [2]. Для решения проблем очистки загрязненных сред и восстановления нарушенных экосистем все более активно используются биологические методы, которые могут быть рассмотрены как экономически обоснованная альтернатива химическим и физико-химическим методам [3]. Зачастую химические методы очистки предполагают применение агрессивных реагентов, в связи с этим приоритет отдается технологиям, основанным на использовании ферментативной активности микроорганизмов, позволяющим избежать вторичного загрязнения [4]. Биопрепараты с иммобилизованными микроорганизмами-деструкторами, а также их ферментами, осуществляют эффективную биodeградацию как неорганических веществ, так и многих органополютантов [5].

Показано, что почвенные ассоциативные diaзотрофы рода *Azospirillum* способны к деградации модельных препаратов лигнина и синтетических красителей [6, 7]. Однако из-за токсического влияния органополютантов на бактерии ими утрачивается способность к эффективной деградации высоких концентраций ароматических соединений. Приемы иммобилизации могут способствовать интенсификации физиологических возможностей азоспирилл. Известно, что в иммобилизованном состоянии у бактериальных клеток повышаются каталитическая активность и устойчивость к действию неблагоприятных факторов внешней среды [8].

В связи с вышеизложенным целью настоящей работы было изучение возможности и анализ эффективности иммобилизации клеток *A. brasilense* SR80 в альгинатный гидрогель.

Материалы и методы

В качестве объекта исследования был выбран штамм *A. brasilense* SR80 из коллекции ризосферных микроорганизмов ИБФРМ РАН.

Бактерии культивировали на жидкой малатно-солевой среде следующего состава (г/л): KH_2PO_4 – 0,1; K_2HPO_4 – 0,4; NaCl – 0,1; $\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ – 0,002; $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ – 0,2; $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ – 0,02; яблочная кислота – 5,0; NaOH – 1,7; NH_4Cl – 1,0; CaCl_2 – 0,02; pH – 6,8. Посевным материалом служила 12-часовая культура, выращенная на среде того же состава.

2-суточную бактериальную культуру осаждали центрифугированием. 1 г бактериальных клеток растворяли в 5 мл фосфатно-солевого буфера и смешивали с 50 мл стерильного раствора 5% альгината натрия. Затем суспензию перемешивали в течение 30 мин при комнатной температуре. Для формирования Ca-альгинатных шариков добавляли получившийся раствор к 0.2 М CaCl_2 по каплям с расстояния 20 см от поверхности раздела фаз через стерильный шприц. Полученные шарики дважды отмывали в свежем растворе 0.2 М CaCl_2 , и хранили при 4 °С.

Качественно жизнеспособность клеток азоспирилл, иммобилизованных в Ca-альгинатные шарики, подтверждали высевом полученных образцов на плотную малатно-солевую среду. Культивирование проводили при 28 °С в течение 5–7 дней. Дыхательную активность бактериальных клеток оценивали стандартным резазурин-тестом с незначительными модификациями [9].

Количественный учет клеток до и после контакта с альгинатным гелем осуществляли путем посева опытных образцов на твердую малатно-солевую среду, используя метод серийных разведений. Количество выросших колоний выражали общим числом колониеобразующих единиц (КОЕ) [10].

Степень инкапсуляции бактериальных клеток в гранулах вычисляли по формуле:

$$A (\%) = (m_1 / (m_2 + m_3)) \times 100 \%,$$

где A – степень инкапсуляции, %; m_1 – масса



альгинатных шариков после иммобилизации; m_2 – масса бактериальных клеток, использованных при иммобилизации, m_3 – масса альгината.

Исследования поверхностной морфологии носителя, иммобилизованных гранул гидрогеля, осуществляли методом сканирующей электронной микроскопии (СЭМ) на базе Научно-образовательного центра по направлению «Нанотехнологии» СГУ.

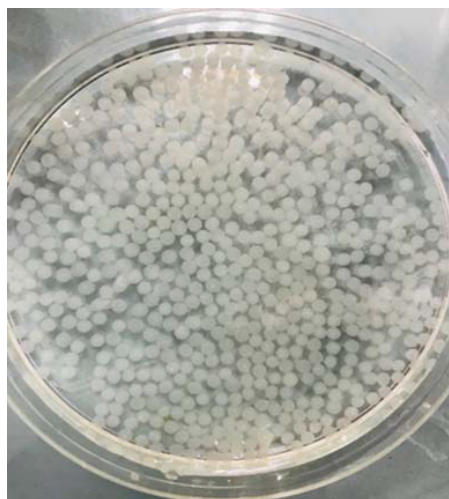
Все эксперименты проводились минимум в трех повторностях в трех независимых экспериментах. При оценке полученных результатов пользовались методом расчета стандартного отклонения среднего арифметического с использованием программы Microsoft Office Excel 2010; данные имеют соответствующие доверительные интервалы при уровне доверительной вероятности 0.95.

Результаты и их обсуждение

Иммобилизация клеток – это широко распространенный в природе феномен, играющий особую роль в сохранении максимального числа каталитических функций. Часто в качестве носителя для иммобилизации используются именно природные материалы, в этом случае функционирование клетки в иммобилизованном состоянии

происходит естественно [11]. Однако матрицы для иммобилизации могут быть различными – как органические, так и неорганические. Выбор носителя – один из важнейших моментов в ходе процесса подготовки к иммобилизации. Носитель должен быть не токсичен, не загрязнять окружающую среду и не разлагаться микроорганизмами, при этом выдерживать высокую нагрузку клеточной массы. Он должен обладать высокой механической, биологической и химической стабильностью, иметь длительный срок хранения и низкую себестоимость [12]. В данной работе нами была проанализирована возможность иммобилизации бактерий *A. brasilense* SR80 в альгинатный гидрогель. Альгинат – это наиболее часто используемая матрица для инкапсуляции ризосферных бактерий, поскольку отвечает всем озвученным выше требованиям.

С применением метода «мягкой» иммобилизации были получены Са-альгинатные шарики с включенными в их структуру бактериальными клетками. Диаметр альгинатных шариков варьировал в пределах 2–3 мм (рис. 1, а). Для получения шариков правильной формы особое значение имели концентрация альгината и расстояние от поверхности раздела фаз. При уменьшении данных параметров шарики имели форму капли.



а/а



б/б

Рис. 1. Внешний вид приготовленных Са-альгинатных шариков: а – в растворе 0.2 М CaCl_2 , б – после 4 суток культивирования на малатно-солевой среде

Fig. 1. The external view of as-prepared Ca-alginate beads: а – in a 0.2 M CaCl_2 solution, б – after 4 days of cultivation on a malate-salt medium

Анализ степени инкапсуляции бактериальных клеток в гранулах показал, что использование 5% альгината в качестве матрицы приводит к получению выхода иммобилизованных клеток более 80%.

При этом размер образовавшихся пор в структуре шариков не приводит к естественному «вымыванию» клеток из альгинатного геля, что подтверждается данными подсчета КОЕ элюата (таблица).



Характеристика Са-альгинатных шариков с иммобилизованными азоспириллами
Characterization of Ca-alginate beads with immobilized azospirillas

Средний размер, мм Average size, mm	Степень инкапсуляции, % The rate of incapsulation, %	КОЕ, кл./шарик CFU, cells per bead	КОЕ элюата, кл./мл CFU of eluate, cells/mL
2–4	82.19±1.7	$(3 \pm 0.4) \times 10^7$	210

Для выявления жизнеспособных клеток носители с иммобилизованными азоспириллами раскладывали на поверхность агаризованной малатно-солевой среды в чашках Петри. Через 4–6 суток культивирования регистрировали бактериальный рост (см. рис. 1, б). На поверхности шариков и рядом с ними на плотной питательной среде отмечали появление гладких выпуклых S-колоний кремово-белого цвета.

В качестве оценочного метода был применен общепринятый резазурин-тест [9]. Резазурин (входящий в состав коммерческого реагента Alamar Blue) восстанавливается ферментами живых бактериальных клеток с продукцией флуоресцирующего продукта – резорфина, выход которого коррелирует с дыхательной активностью. Данный тест изначально применялся для

работы с животными клетками, с относительно равномерным индексом метаболизма и сравнительно низкой скоростью пролиферации (1 деление в сутки). Поэтому перед использованием теста с бактериальными клетками были модифицированы условия его проведения в соответствии с особенностями объектов: время инкубации с клетками увеличено до 24 ч и (для получения выравненного сигнала) инкубационная среда заменена на фосфатно-солевой буфер (вместо малатно-солевой среды) для понижения пролиферативной активности бактерий.

Результаты измерения респираторной активности опытных образцов (иммобилизованных клеток), представленные на рис. 2, свидетельствуют о наличии жизнеспособных клеток в альгинатных шариках.

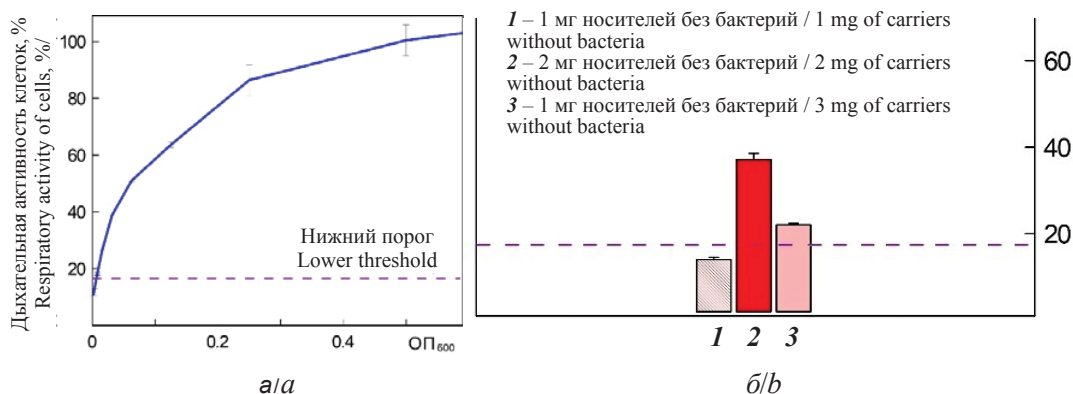


Рис. 2. Относительная дыхательная активность азоспирилл: а – суспензионные клетки (калибровочная кривая), б – иммобилизованные клетки. Нижний порог определен по базовой линии (сигнал/шум). За 100% принята дыхательная активность суспензии бактерий с ОП₆₀₀ = 0.5

Fig. 2. Relative respiratory activity of azospirillum: a – suspension cells (calibration curve), b – immobilized cells. The lower threshold corresponds to the signal-to-noise background. The respiratory activity of the bacterial suspension with OD₆₀₀ = 0.5 is set as 100%

Для наглядного подтверждения иммобилизации клеток на поверхности сорбента, анализа распределения клеток по его поверхности, а также для оценки морфофизиологического состояния иммобилизованных клеток применялась СЭМ. Как видно из СЭМ-изображений, Са-альгинатные шарики обладали сферической формой, имели компактную внешнюю структуру с относительно гладкой поверхностью без явных повреждений матрицы, диаметр гранул составлял около 1 мм

(после дегидратации). На поверхности иммобилизованных шариков визуализировались поры, отмечалось отсутствие бактериальных клеток (рис. 3, а).

Внутренняя структура Са-альгинатных шариков с иммобилизованными азоспириллами, а также контрольных, без включения бактерий представлены на рис. 3, б. На ЭМ-изображении отчетливо видны альвеолоподобные структуры, каналы и поры, подобная морфология увеличи-

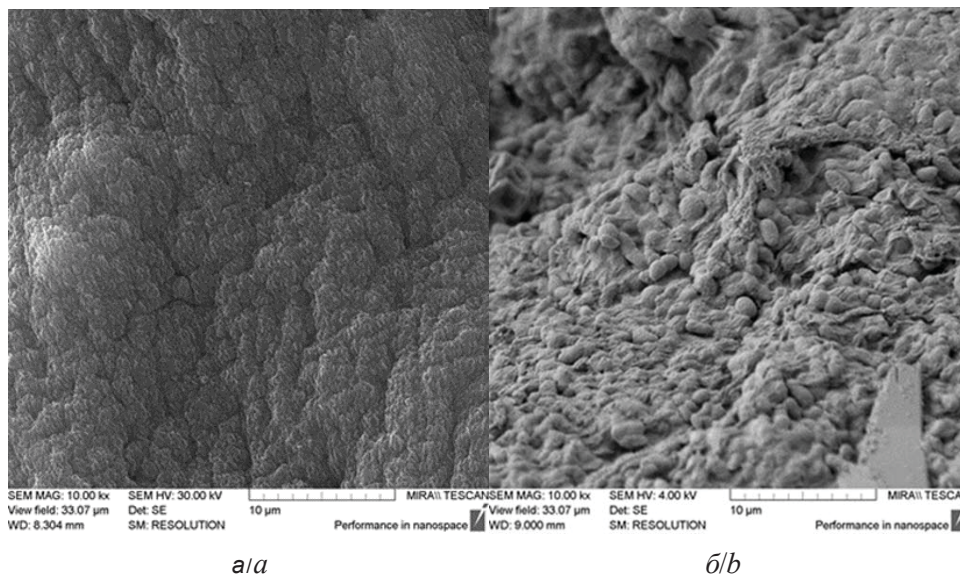


Рис. 3. СЭМ-изображения Са-альгинатных шариков: а – контроль, б – иммобилизованные клетками азоспирилл

Fig. 3. SEM images of Ca-alginate beads: a – control, b – with immobilized azospirillas

вает полезную площадь соприкосновения клеток с субстратом и оказывает положительное влияние на рост бактерий. В толще геля бактериальные клетки расположены однородно и имеют целостную структуру.

Таким образом, в ходе проведенного исследования были получены Са-альгинатные шарики с включенными в их структуру клетками *A. brasilense* SR80, с высоким выходом. В альвеолоподобной структуре полученных Са-альгинатных шариков детектированы бактериальные клетки, которые однородно расположены и имеют целостную структуру. С применением ряда методов было показано, что клетки *A. brasilense* SR80 сохраняют жизнеспособность в Са-альгинатном геле.

Список литературы

1. Lellis B., Fávares-Polonio C. Z., Pamphile J. A., Polonio J. C. Effects of textile dyes on health and the environment and bioremediation potential of living organisms // *Biotechnology Research and Innovation*. 2019. Vol. 3, № 2. P. 275–290. <https://doi.org/10.1016/j.biori.2019.09.001>
2. Hazrat A. Biodegradation of Synthetic Dyes – A Review // *Water, Air, & Soil Pollution*. 2010. Vol. 213, № 1. P. 251–273. <https://doi.org/10.1007/s11270-010-0382-4>
3. John R. P., Tyagi R. D., Brar S. K., Surampalli R. Y., Prevost D. Bioencapsulation of microbial cells for targeted agricultural delivery // *Crit. Rev. Biotechnol.* 2011. Vol. 31, №3. P. 211–226. <https://doi.org/10.3109/07388551.2010.513327>
4. Wang Q., Zhang S., Li Y., Klassen W. Potential approaches to improving biodegradation of hydrocarbons for bioremediation of crude oil pollution // *J. of Environmental Protection*. 2011. № 2. P. 47–55.

5. Boopathy R. Factors limiting bioremediation technologies // *Bioresour. Technol.* 2000. Vol. 74. P. 63–67.
6. Kupryashina M. A., Petrov S. V., Ponomareva E. G., Nikitina V. E. Ligninolytic activity of bacteria of the genera *Azospirillum* and *Niveispirillum* // *Microbiology*. 2015. Vol. 84, № 6. P. 791–795.
7. Kupryashina M. A., Ponomareva E. G., Nikitina V. E. Ability of bacteria of the genus *Azospirillum* to decolorize synthetic dyes // *Microbiology*. 2020. Vol. 89, № 4. P. 451–458.
8. Park J. K., Chang H. N. Microencapsulation of microbial cells // *Biotechnol. Adv.* 2000. Vol. 18, № 4. P. 303–319.
9. Rampersad S. N. Multiple applications of Alamar Blue as an indicator of metabolic function and cellular health in cell viability bioassays // *Sensors (Basel)*. 2012. Vol. 12, № 9. P. 12347–12360.
10. Максимова Ю. Г., Максимов А. Ю. Иммобилизованные клетки и ферменты в биотехнологии : учеб. пособие. Пермь : Перм. гос. нац. исслед. ун-т, 2018. 88 с.
11. Beshay U., El-Enshasy H., Ismail I. M. K., Moawad H., ABD-El-Ghany S. β -glucanase productivity improvement via cell immobilization of recombinant *Escherichia coli* cells in different matrices // *Pol. J. Microbiol.* 2011. Vol. 60, № 2. P. 133–138.
12. Vejan P., Khadiran T., Abdullah R., Ismail S., Dadrasnia A. Encapsulation of plant growth promoting Rhizobacteria prospects and potential in agricultural sector : A review // *J. Plant Nutr.* 2019. Vol. 42. P. 2600–2623.

References

1. Lellis B., Fávares-Polonio C. Z., Pamphile J. A., Polonio J. C. Effects of textile dyes on health and the environment and bioremediation potential of living organisms. *Bio-*



- technology Research and Innovation*, 2019, vol. 3, no. 2, pp. 275–290. <https://doi.org/10.1016/j.biori.2019.09.001>
2. Hazrat A. Biodegradation of Synthetic Dyes – A Review. *Water, Air, & Soil Pollution*, 2010, vol. 213, no. 1, pp. 251–273. <https://doi.org/10.1007/s11270-010-0382-4>
 3. John R. P., Tyagi R. D., Brar S. K., Surampalli R. Y., Prevost D. Bioencapsulation of microbial cells for targeted agricultural delivery. *Crit. Rev. Biotechnol.*, 2011, vol. 31, no. 3, pp. 211–226. <https://doi.org/10.3109/07388551.2010.513327>
 4. Wang Q., Zhang S., Li Y., Klassen W. Potential approaches to improving biodegradation of hydrocarbons for bioremediation of crude oil pollution. *Journal of Environmental Protection*, 2011, no. 2, pp. 47–55. <https://doi.org/10.4236/jep.2011.21005>
 5. Boopathy R. Factors limiting bioremediation technologies. *Bioresour. Technol.*, 2000, vol. 74, pp. 63–67. [https://doi.org/10.1016/S0960-8524\(99\)00144-3](https://doi.org/10.1016/S0960-8524(99)00144-3)
 6. Kupryashina M. A., Petrov S. V., Ponomareva E. G., Nikitina V. E. Ligninolytic activity of bacteria of the genera *Azospirillum* and *Niveispirillum*. *Microbiology*, 2015, vol. 84, no. 6, pp. 791–795. <https://doi.org/10.1134/S0026261715060041>
 7. Kupryashina M. A., Ponomareva E. G., Nikitina V. E. Ability of bacteria of the genus *Azospirillum* to decolorize synthetic dyes. *Microbiology*, 2020, vol. 89, no. 4, pp. 451–458. <https://doi.org/10.1134/S0026261720040074>
 8. Park J. K., Chang H. N. Microencapsulation of microbial cells. *Biotechnol. Adv.*, 2000, vol. 18, no. 4, pp. 303–319. [https://doi.org/10.1016/S0734-9750\(00\)00040-9](https://doi.org/10.1016/S0734-9750(00)00040-9)
 9. Rampersad S. N. Multiple applications of Alamar Blue as an indicator of metabolic function and cellular health in cell viability bioassays. *Sensors (Basel)*, 2012, vol. 12, no. 9, pp. 12347–12360. <https://doi.org/10.3390/s120912347>
 10. Maksimova Yu. G., Maksimov A. Yu. *Immobilizovannyye kletki i fermenty v biotekhnologii* [Immobilized Cells and Enzymes in Biotechnology]. Perm, Perm. Gos. nats. issled. un-t, 2018. 88 p. (in Russian).
 11. Beshay U., El-Enshasy H., Ismail I. M. K., Moawad H. ABD-El-Ghany S. β -glucanase productivity improvement via cell immobilization of recombinant *Escherichia coli* cells in different matrices. *Pol. J. Microbiol.*, 2011, vol. 60, no. 2, pp. 133–138.
 12. Vejan P., Khadiran T., Abdullah R., Ismail S., Dadrasnia A. Encapsulation of plant growth promoting *Rhizobacteria* prospects and potential in agricultural sector: A review. *J. Plant Nutr.*, 2019, vol. 42, pp. 2600–2623. <https://doi.org/10.1080/01904167.2019.1659330>

Поступила в редакцию 05.05.21, после рецензирования 11.05.21, принята к публикации 14.05.21
 Received 05.05.21, revised 11.05.21, accepted 14.05.21



Известия Саратовского университета. Новая серия. Серия: Химия. Биология. Экология. 2021. Т. 21, вып. 3. С. 304–308

Izvestiya of Saratov University. Chemistry. Biology. Ecology, 2021, vol. 21, iss. 3, pp. 304–308

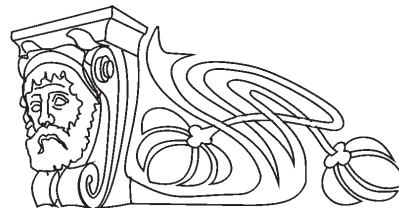
<https://ichbe.sgu.ru>

<https://doi.org/10.18500/1816-9775-2021-21-3-304-308>

Научная статья

УДК 371.39:615.9

Использование игровых методов при обучении основам химической токсикологии в рамках экологического воспитания школьников



В. С. Растегаева, Е. В. Плешакова ✉

Саратовский национальный исследовательский государственный университет имени Н. Г. Чернышевского, Россия, 410012, г. Саратов, ул. Астраханская, д. 83

Растегаева Виктория Сергеевна, студент биологического факультета, viktoriayes97@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0002-2463-7554>

Плешакова Екатерина Владимировна, доктор биологических наук, профессор кафедры биохимии и биофизики, plekat@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0003-3836-0258>

Аннотация. В современном техногенном мире актуальной является задача формирования у школьников экологического сознания, восприятия и мышления. Знания из области химической токсикологии необходимы учащимся всех возрастов для профилактики и сохранения здоровья и состояния окружающей среды. Учитывая, что токсикологические знания отличаются повышенным уровнем сложности, цель настоящей работы состояла в разработке и применении игровых методов при обучении основам химической токсикологии в рамках экологического воспитания школьников. Нами разработано и реализовано для учащихся средней школы обучающее занятие для школьников «Занимательная фитотоксикология», состоящее из нескольких этапов. На первом этапе при использовании в обучении объяснительно-иллюстративных методов школьники получили теоретические знания по фитотоксикологии; на втором этапе школьники закрепили полученные знания в игровой форме, решая сочиненные нами ситуационные задачи, отгадывая загадки и отвечая на занимательные вопросы; на третьем этапе среди школьников провели анкетирование для выявления степени заинтересованности учащихся в данной тематике и полноты усвоения материала. Анкетирование показало, что реализация данной игровой методики обучения позволила школьникам лучше усвоить сложный материал, повысила активность и интерес учащихся, а также способствовала формированию экологических знаний и экологической ответственности.

Ключевые слова: экологическое воспитание школьников, химическая токсикология, занимательная фитотоксикология, фитотоксины

Для цитирования: Растегаева В. С., Плешакова Е. В. Использование игровых методов при обучении основам химической токсикологии в рамках экологического воспитания школьников // Известия Саратовского университета. Новая серия. Серия: Химия. Биология. Экология. 2021. Т. 21, вып. 3. С. 304–308. <https://doi.org/10.18500/1816-9775-2021-21-3-304-308>

Статья опубликована на условиях лицензии Creative Commons Attribution 4.0 International (CC-BY 4.0)

Article

The use of games as a method in teaching the basics of chemical toxicology as part of the ecological education of schoolchildren

V. S. Rastegaeva, E. V. Pleshakova ✉

Saratov State University, 83 Astrakhanskaya St., Saratov 410012, Russia

Victoriya S. Rastegaeva, viktoriayes97@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0002-2463-7554>

Ekaterina V. Pleshakova, plekat@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0003-3836-0258>

Abstract. In today's modern technogenic world, forming an ecological consciousness, perception and thinking among schoolchildren is a vital task. Knowledge of chemical toxicology is essential for students of all ages to help protect and maintain a healthy environment. Given that toxicology is characterized by an increased level of complexity, the purpose of this work was to develop and apply gaming methods in teaching the basics of chemical toxicology as part of environmental education of schoolchildren. We developed and implemented a training lesson for schoolchildren called "Fascinating phytotoxicology" for secondary school students, which consists of several stages. At the first stage, when using explanatory and illustrative methods in teaching, students received theoretical knowledge of phytotoxicology; at the second stage, students enhanced their knowledge in a playful way by solving situational problems composed by us, guessing riddles and answering intriguing questions; at the third stage, a survey was conducted among schoolchildren to identify the students' level of interest in the topic



and how much of the material was assimilated. The survey showed that the implementation of this gaming teaching method allowed students to learn complex material better, increased the activity and interest of students, and also contributed to the formation of an ecological awareness and environmental responsibility.

Keywords: environmental education of schoolchildren, chemical toxicology, entertaining phytotoxicology, phytotoxins

For citation: Rastegaeva V. S., Pleshakova E. V. The use of games as a method in teaching the basics of chemical toxicology as part of the ecological education of schoolchildren. *Izvestiya of Saratov University. Chemistry. Biology. Ecology*, 2021, vol. 21, iss. 3, pp. 304–308. <https://doi.org/10.18500/1816-9775-2021-21-3-304-308>

This is an open access article distributed under the terms of Creative Commons Attribution 4.0 International License (CC-BY 4.0)

На сегодняшний день экологическое воспитание подрастающего поколения является насущной проблемой общества, у детей нередко отсутствует верное экологическое воспитание и мышление в области химической токсикологии [1, 2]. Школьники должны обладать базовыми химическими и биологическими знаниями о токсинах биологического происхождения, о различных промышленных ядах, в том числе наркотических и психотропных веществах, канцерогенных и мутагенных соединениях, в целях профилактики и сохранения здоровья и состояния окружающей среды [3, 4]. Именно поэтому в общеобразовательных и внешкольных учебных заведениях стоит уделять больше внимания формированию экологического сознания, пониманию окружающего мира и себя. Для этого учителю необходимо осуществлять экологическое воспитание учащихся посредством уроков, экспериментов, практических работ, занимательных опытов, изучения дополнительной литературы и проведения внеклассных мероприятий на различные темы, связанные с химическими проблемами экологии и токсикологии [5, 6].

Использование игровых методов обучения, являющихся наиболее эффективными активными методами, характеризующимися высокой мотивацией и эмоциональной насыщенностью процесса обучения, активизирует мышление учащихся, повышает их самостоятельность, формирует знания и умения [7, 8]. Подбор игровых методик в обучении зависит от возраста учащихся, их психологического и физического развития, индивидуальных возможностей и потребностей [9]. Учет данных критериев помогает педагогу подобрать действительно эффективные игры, которые помогут усилить педагогическое воздействие на учащихся и получить высокий результат обучения.

Цель настоящей работы состояла в разработке и применении игровых методов при обучении основам химической токсикологии в рамках экологического воспитания школьников. Нами было разработано обучающее занятие для школьников «Занимательная фитотоксикология». Фитотоксикология – это область токсикологии, изучающая ядовитые вещества растительного происхождения или отравления животных ядовитыми растениями

[10]. В настоящее время известно более 10000 ядовитых растений. Вещества, содержащиеся в них, представляют собой потенциальную опасность для организма человека и домашних животных. Изучение ядовитых растений является важным как с точки зрения профилактики и лечения отравлений, так и с точки зрения понимания эволюции живой природы в целом, поскольку ядовитость является одним из наиболее важных механизмов в борьбе за существование. Поэтому проведение занятия по теме «Фитотоксикология» может способствовать совершенствованию экологической культуры школьников, включающей взаимосвязанные компоненты: экологические знания, экологически ориентированное поведение и деятельность.

Разработанное нами обучающее занятие «Занимательная фитотоксикология» состояло из нескольких этапов. На первом этапе мы применили «представленческий» (информационный) подход в экологическом образовании [11], используя в обучении объяснительно-иллюстративную, репродуктивную группу методов, главным образом, показ и объяснение материала. Использование этих методов позволяет быстрее передать знания обучаемым, создать информированность.

С помощью демонстрации презентации и устного рассказа учителя в ходе первого этапа обучающего занятия школьники получают теоретические знания о предметах «токсикология» и «фитотоксикология», о понятиях «токсины» и «фитотоксины», о классификации фитотоксинов. Учитель подробно останавливается на описании важной группы фитотоксинов – алкалоидов, их биологической роли, свойствах, применении в медицине, перечисляет растения, в которых содержатся алкалоиды, выделяя особо опасные (ядовитые) растения и демонстрируя фотографии таких растений (например: белена, дурман, белладонна, аконит). Учитель также обращает внимание школьников на опасное для человека вещество соланин, который содержится в незрелых (зеленых) ягодах растений семейства Пасленовые (*Solanaceae*), и позеленевших клубнях картофеля, а также на алкалоид никотин, содержащийся в табаке и алкалоиды мака группы морфина, обладающие наркотическими свойствами.



Остановившись на этом материале, учитель рассказывает о вреде наркотиков и наркотической зависимости, о способах лечения и профилактики. Известно, что основная часть наркоманов – подростки, которые намного слабее психологически взрослых, и нередко не в состоянии отказаться попробовать наркотики [12]. Поэтому глубокие теоретические знания о наркотических веществах, в том числе природного происхождения, их токсическом воздействии на организм человека, безусловно, является одним из важных способов профилактической антинаркотической работы с учащимися, частью экологического воспитания.

Среди ядовитых растений семейства Зонтичные (*Umbelliferae*) учитель показывает на слайде вех ядовитый, содержащий яд цикутотоксин, и борщевик, содержащий токсин фуранокумарин, также учитель выделяет негативное влияние растений семейства Зонтичные на организм человека, сопровождая рассказ интересными историческими фактами, такими как, смерть Сократа от яда – цикуты. Среди растений, содержащих сердечные гликозиды, учитель подробно рассказывает о ландыше майском и волчьем лыке, приводит примеры медицинских препаратов на основе сердечных гликозидов.

В ходе первого этапа обучающего занятия школьники получают знания, которые смогут применить при оценке реальных ситуаций и проблем, возникающих в случае контактирования с фитотоксинами и вызванных ими отравлений. У школьников, освоивших данные токсикологические знания, формируется позиция субъекта деятельности с присущими ему личностными качествами – самостоятельностью, ответственностью, инициативностью. Эти качества и требуют от детей современная жизнь, общество, стремящееся к устойчивому развитию.

Учитывая, что токсикологические знания основываются на химической структуре соединений, связаны с представлениями о механизмах воздействия токсинов на молекулярном уровне, т.е. отличаются повышенным уровнем сложности, для лучшего усвоения материала и закрепления полученных знаний по фитотоксикологии мы применили игровой метод обучения.

На втором этапе обучающего занятия «Занимательная фитотоксикология» школьникам предлагается применить полученные знания в игровой форме. Учитель, в свою очередь, получает возможность оценить уровень знаний, приобретенных учащимися, и их применение. Школьникам предлагается несколько игровых заданий: 1) среди десятка изображений различных рас-

тений выбрать фото с ядовитыми растениями; 2) отгадать перечень загадок по теме «Занимательная фитотоксикология»; 3) решить ряд ситуационных задач по теме «Занимательная фитотоксикология». Ниже приведено несколько примеров сочиненных нами загадок о фитотоксинах:

1. Он горький и токсичен,
Он «лошадь убивает».
Но людям он привычен,
Они его вдыхают,
Все стрессы прогоняют.
(никотин)
2. В честь бога древнегреческого
Был алкалоид назван.
С его приемом человечество
Спит крепким сном и славным.
(морфин)
3. Чтобы пациент не плакал,
Этот алкалоид мака
В медицине применяют,
Он все спазмы устраняет
И от колик помогает.
(папаверин)
4. Не морфин, не героин,
Хотя из мака получают.
Полезен этот алкалоид,
Его от кашля применяют.
(кодеин)

Примеры ситуационных задач, разработанных нами по теме «Занимательная фитотоксикология»

1. Варя и Оля гостили у бабушки в деревне, как-то они радостные вернулись с прогулки домой. В руках у них был большой букет полевых и лесных цветов. Увидев этот букет, бабушка ахнула: «Выбросите сейчас же эти цветы из букета, они очень ядовитые». В букете были цветы: васильки, ромашки, иван-чай, аконит, зверобой и клевер. Какое растение надо убрать из букета? **(аконит)**

2. Ранней весной Дарья Степановна достала из погреба картофель. Погреб у хозяйки был влажный, и картофель был зеленоватого цвета, да, к тому же, проросший. Но Дарья Степановна сварила этот картофель «в мундире» и съела прямо с кожурой. Через некоторое время она почувствовала признаки отравления. Объясните, почему? Назовите яд, которым могла отравиться Дарья Степановна **(соланин)**

3. На дачу к Василию Денисовичу приехали дальние родственники из Москвы. Они восхищались цветами в саду, с удовольствием работали в огороде. Когда гости стали готовить обед, то Василий Денисович вдруг увидел на столе среди свежей зелени растение, напоминающее петрушку. Корневище его было уже очищено. «Очень вкусная петрушка, сладкая, как брюква, я попробовала» – сказала гостя. Василий Денисович сильно испугался: «Это же страшный яд, вызывает судороги и паралич!» Какое ядовитое растение сорвала гостя? **(вех ядовитый)**



Решая такого рода ситуационные задачи, школьники учатся применять полученные знания.

На третьем этапе обучающего занятия «Занимательная фитотоксикология» учителем проводится опрос среди школьников в виде анкетирования. Такой способ позволяет учителю выяснить степень заинтересованности учащихся в данной тематике и полноту усвоения данного материала.

Пример анкетирования по обучающему занятию «Занимательная фитотоксикология»

1. Понравилось ли Вам данное занятие?
 - да
 - нет
 - затрудняюсь ответить
2. Актуальна ли данная тема для Вас?
 - да
 - нет
3. Что полезного Вы для себя вынесли из данного занятия?
4. Какие полученные знания Вы сможете применить на практике?
5. Оцените Ваши впечатления от данного занятия от 1 до 10 (обведите цифру):
1 2 3 4 5 6 7 8 9 10
6. Хотели ли бы Вы изменить/добавить что-то новое в данное занятие?
7. Ваши пожелания организаторам данного занятия.

Анкетирование среди школьников 8-го класса МОУ «СОШ с. Вязовка имени Героя Советского Союза Е. А. Мясникова» Татищевского района, Саратовской области после проведения обучающего занятия «Занимательная фитотоксикология» выявило высокую активность, эффективность восприятия и усвоения данного материала.

Разработанное нами обучающее занятие может использоваться на уроках биологии, химии, экологии, ОБЖ, на дополнительных занятиях в биологических кружках и внеклассных мероприятиях. В ходе реализации данной игровой методики обучения в полной мере проявляется заинтересованность школьников и стремление к познавательной активности. Игра позволяет активизировать творческое мышление, вырабатывать навыки самостоятельного принятия решений, что чрезвычайно важно в процессе воспитания развитой личности.

Таким образом, использование игровых методов в процессе обучения основам химической токсикологии позволяет активизировать мышление школьников, сделать процесс изучения материала более наглядным, доступным и интересным, сформировать у школьников экологические знания и экологическую ответственность.

Список литературы

1. Ульянова Н. В. Экологическое сознание и экологическая культура // Вестник ТПГУ. Сер. Естественные и точные науки. 2007. Вып. 6 (69). С. 57–61.
2. Проблемы устойчивого развития в сфере дополнительного экологического образования : Программно-методические материалы к курсу «Экология Москвы и устойчивое развитие» / под ред. Г. А. Ягодина. М. : МИОО, 2009. 192 с.
3. Хабриев Р. У. Токсикологическая химия. Аналитическая токсикология. М. : ГЭОТАР-Медиа, 2010. 752 с.
4. Извекова Т. В., Гуцин А. А., Кобелева Н. А. Основы токсикологии : учебное пособие. СПб. : Лань, 2020. 152 с.
5. Кафарова О. К. Сущность современного экологического воспитания школьников // XXI век. Человек и окружающий мир. 2018. № 3. С. 36–49.
6. Карона Г. Н. Теоретические основы экологического образования школьников : учебник. Минск : НМО, 2005. 170 с.
7. Николаева С. Н. Теория и методика экологического образования детей : учеб. пособие для студ. высш. пед. учеб. заведений. М. : Академия, 2002. 336 с.
8. Филиппова С. В. Игровые технологии в дополнительном экологобиологическом образовании детей. М. : Экспресс, 2013. 88 с.
9. Стрекаловская М. М., Дарханова Т. М. Педагогические подходы в экологическом образовании детей дошкольного возраста // Педагогический журнал. 2016. № 2. С. 64–72.
10. Привалова Е. Г., Мирович В. И. Основы фитотоксикологии. Обзор растительных объектов. Элементы фитохимического анализа : учеб. пособие. Иркутск : ИГМУ, 2018. 102 с.
11. Дерябо С. Д., Ясвин В. А. Современные тенденции в развитии стратегий экологического образования // Экологический вестник. 2001. № 5-6. С. 24–29.
12. Блинова Л. Ф. Зависимость как иллюзия независимости или причины обращения ребенка к наркотикам. Казань : КНПО ВТИ, 2007. 72 с.

References

1. Ulyanova N. V. Environmental awareness and environmental culture. *TPGU Bulletin. Ser. Natural and Exact Sciences*, 2007, iss. 6 (69), pp. 57–61 (in Russian).
2. *Problemy ustojchivogo razvitiya v sfere dopolnitel'nogo ekologicheskogo obrazovaniya : Programmno-metodicheskie materialy k kursu «Ekologiya Moskvy i ustojchivoe razvitie»* [Yagodin G. A., ed. The Problems of Sustainable Development in the Field of Additional Environmental Education: Program and Methodological Materials for the Course “Moscow Ecology and Sustainable Development”]. Moscow, MIOO Publ., 2009. 192 p. (in Russian).
3. Khabriev R. U. *Toksikologicheskaya himiya. Analiticheskaya toksikologiya* [Toxicological Chemistry. Analytical Toxicology]. Moscow, GEOTAR-Media Publ., 2010. 752 p. (in Russian).



4. Izvekova T. V., Gushchin A. A., Kobeleva N. A. *Osnovy toksikologii : uchebnoe posobie* [Fundamentals of Toxicology: A Textbook]. Saint Petersburg, Lan' Publ., 2020. 152 p. (in Russian).
5. Kafarova O. K. The essence of modern ecological education of schoolchildren. XXI Century. *Man and the World Around Him*, 2018, no. 3, pp. 36–49 (in Russian).
6. Karopa G. N. *Teoreticheskie osnovy ekologicheskogo obrazovaniya shkol'nikov: uchebnyk* [Theoretical Foundations of Environmental Education of Schoolchildren: Textbook]. Minsk, NMO Publ., 2005. 170 p. (in Russian).
7. Nikolaeva S. N. *Teoriya i metodika ekologicheskogo obrazovaniya detej : uchebnoe. posobie dlya stud. vyssh. ped. ucheb. zavedenij* [Theory and Methodology of Ecological Education of Children: Textbook for Students of Higher Pedagogical Educational Institutions]. Moscow, Academiya Publ., 2002. 336 p. (in Russian).
8. Filippova S. V. *Igrovye tekhnologii v dopolnitel'nom ekologobiologicheskom obrazovanii detej* [Game Technologies in Additional Ecological and Biological Education of Children]. Moscow, Ecopress Publ., 2013. 88 p. (in Russian).
9. Strekalovskaya M. M., Darkhanova T. M. Pedagogical approaches in ecological education of preschool children. *Pedagogical Journal*, 2016, no. 2, pp. 64–72 (in Russian).
10. Privalova E. G., Mirovich V. I. *Osnovy fitotoksikologii. Obzor rastitel'nyh ob'ektov. Elementy fitohimicheskogo analiza: uchebnoe posobie* [Fundamentals of Phytotoxicology. Overview of Plant Objects. Elements of Phytochemical Analysis: Textbook]. Irkutsk, IGMU Publ., 2018. 102 p. (in Russian).
11. Deryabo S. D., Yasvin V. A. Modern trends in the development of environmental education strategies. *Ecological Bulletin*, 2001, no. 5-6, pp. 24–29 (in Russian).
12. Blinova L. F. *Zavisimost' kak illyuziya nezavisimosti ili prichiny obrashcheniya rebenka k narkotikam* [Dependence as an illusion of independence or the reasons for the child's treatment of drugs]. Kazan, KNPO VTI Publ., 2007. 72 p. (in Russian).

Поступила в редакцию 03.05.21, после рецензирования 11.05.21, принята к публикации 12.05.21
Received 03.05.21, revised 11.05.21, accepted 12.05.21



Известия Саратовского университета. Новая серия. Серия: Химия. Биология. Экология. 2021. Т. 21, вып. 3. С. 309–316

Izvestiya of Saratov University. Chemistry. Biology. Ecology, 2021, vol. 21, iss. 3, pp. 309–316

<https://ichbe.sgu.ru>

<https://doi.org/10.18500/1816-9775-2021-21-3-309-316>

Научная статья

УДК 595.76:591.582.2

Особенности стрессовых сигналов водных жесткокрылых *Berosus frontifoveatus* Kuwert, 1888 и *Berosus spinosus* Steven, 1808 (Coleoptera: Hydrophilidae)



Е. Ю. Родионова^{1✉}, А. С. Сажнев², С. Ю. Кустов¹, А. С. Миролюбов³

¹Кубанский государственный университет, Россия, 350040, г. Краснодар, ул. Ставропольская, д. 149

²Институт биологии внутренних вод им. И. Д. Папанина РАН, Россия, 152742, Ярославская область, п. Борок

³Зоологический институт РАН, Россия, 199034, г. Санкт-Петербург, Университетская наб., д. 1

Родионова Елена Юрьевна, аспирант, преподаватель кафедры зоологии, rigaey@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0001-5631-2204>

Сажнев Алексей Сергеевич, кандидат биологических наук, старший научный сотрудник лаборатории экологии водных беспозвоночных, sazh@list.ru, <https://orcid.org/0000-0002-0907-5194>

Кустов Семен Юрьевич, доктор биологических наук, профессор, заведующий кафедрой зоологии, kustov-semen@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0003-4448-4855>

Миролюбов Алексей Александрович, кандидат биологических наук, младший научный сотрудник лаборатории паразитических червей и протистов, Alexei.Miroljubov@zin.ru, <https://orcid.org/0000-0003-3537-2341>

Аннотация. Изучение акустических сигналов разных представителей насекомых, и в частности жесткокрылых, имеет давнюю историю. В русскоязычной литературе достаточно широко известны систематические, фаунистические и экологические работы по водным жукам, включая таковые по семейству Hydrophilidae, однако работы по биоакустике этой группы жесткокрылых достаточно редки. Целью нашего исследования было изучить стрессовые сигналы двух видов Hydrophilidae – *Berosus frontifoveatus* Kuwert, 1888 и *Berosus spinosus* Steven, 1808. Звуки имаго записывали с помощью измерительного конденсаторного микрофона Behringer ECM8000. Звуки самцов *B. spinosus* имеют максимальную частоту встречаемости в пределах 3729,31–4013,75 Гц, звуки *B. frontifoveatus* – 4895,42–5842,76 Гц. Звуки самок *B. spinosus* имеют максимальную частоту встречаемости в промежутке между 2585,98 и 2807,82 Гц. Звуки самок *B. frontifoveatus* имеют максимальную частоту доминантной частоты в промежутке 2745,21–3476,23 Гц.

Ключевые слова: водные жуки, стридуляция, биоакустика, Россия

Благодарности: Авторы выражают благодарность руководителю ЦКП «Таксон» А. С. Намятовой за помощь при работе с электронным микроскопом. Исследования выполнены на оборудовании ЦКП «Таксон» (ЗИН РАН, Санкт-Петербург). Исследование проведено в рамках научного проекта и при финансовой поддержке РФФИ (проект № 20-34-90022). Работа А. С. Сажнева выполнена в рамках государственного задания (НИОКТР 121051100109-1).

Для цитирования: Родионова Е. Ю., Сажнев А. С., Кустов С. Ю., Миролюбов А. С. Особенности стрессовых сигналов водных жесткокрылых *Berosus frontifoveatus* Kuwert, 1888 и *Berosus spinosus* Steven, 1808 (Coleoptera: Hydrophilidae) // Известия Саратовского университета. Новая серия. Серия: Химия. Биология. Экология. 2021. Т. 21, вып. 3. С. 309–316. <https://doi.org/10.18500/1816-9775-2021-21-3-309-316>

Статья опубликована на условиях лицензии Creative Commons Attribution 4.0 International (CC-BY 4.0)

Article

Stress signals of water scavenger beetles *Berosus frontifoveatus* Kuwert, 1888 and *Berosus spinosus* Steven, 1808 (Coleoptera: Hydrophilidae)

Е. Ю. Родионова^{1✉}, А. С. Сажнев², С. Ю. Кустов¹, А. А. Миролюбов³

¹Kuban State University, 149 Stavropolskaya St., Krasnodar 350040, Russia

²Papanin Institute for Biology of Inland Waters, Russian Academy of Sciences, Borok (Yaroslavl Province) 152742, Russia

³Zoological Institute, Russian Academy of Science, 1 Universitetskaya Embankment, St. Petersburg 199034, Russia

Elena Yu. Rodionova, rigaey@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0001-5631-2204>

Alexey S. Sazhnev, sazh@list.ru, <https://orcid.org/0000-0002-0907-5194>

Semen Yu. Kustov, kustov-semen@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0003-4448-4855>

Alexey A. Miroliubov, Alexei.Miroljubov@zin.ru, <https://orcid.org/0000-0003-3537-2341>



Abstract. The study of acoustic signals from various representatives of insects, and in particular coleopterans, has a long history. In the Russian-language literature, systematic, faunistic and ecological studies on aquatic beetles, including those on the family Hydrophilidae, are widely known; however, studies on the bioacoustics of the coleopteran group are quite rare. The aim of our study was to study stress signals of two species of Hydrophilidae – *Berosus frontifoveatus* Kuwert, 1888 and *Berosus spinosus* Steven, 1808. The sounds of adults were recorded using a Behringer ECM8000 measuring condenser microphone. The sounds of *B. spinosus* males have a maximum frequency of occurrence in the range of 3729.31–4013.75 Hz, sounds of *B. frontifoveatus* is 4895.42–5842.76 Hz. The sounds of *B. spinosus* females have a maximum frequency of occurrence between 2585.98 and 2807.82 Hz. The sounds of *B. frontifoveatus* females have a maximum performance of the dominant frequency in the range of 2745.21–3476.23 Hz.

Keywords: aquatic beetles, stridulation, bioacoustic, Russia

Acknowledgments: The authors are grateful to the head of the «Taxon», Research Resource Centre A. S. Namyatova for help in working with the electron microscope. The studies were performed on the equipment of the Taxon Research Resource Centre (Zoological Institute, Russian Academy of Sciences). The reported study was funded by RFBR (project No. 20-34-90022). The work of A. S. Sazhnev was carried out within the framework of State assignment (NIOKTR 121051100109-1).

For citation: Rodionova E. Yu., Sazhnev A. S., Kustov S. Yu., Miroliubov A. A. Stress signals of water scavenger beetles *Berosus frontifoveatus* Kuwert, 1888 and *Berosus spinosus* Steven, 1808 (Coleoptera: Hydrophilidae). *Izvestiya of Saratov University. Chemistry. Biology. Ecology*, 2021, vol. 21, iss. 3, pp. 309–316. <https://doi.org/10.18500/1816-9775-2021-21-3-309-316>

This is an open access article distributed under the terms of Creative Commons Attribution 4.0 International License (CC-BY 4.0)

Введение

Изучение акустических сигналов разных представителей насекомых, и в частности жесткокрылых, имеет давнюю историю. В русскоязычной литературе достаточно широко известны систематические, фаунистические и экологические работы по водным жукам, включая таковые по семейству Hydrophilidae, однако работы по биоакустике этой группы жесткокрылых достаточно редки.

Семейство Hydrophilidae на территории России насчитывает порядка 140 видов [1], из них для рода *Berosus* известно 9 видов. Стридуляция описана для следующих родов семейства Hydrophilidae, обитающих на территории нашей страны: *Ametor*, *Berosus*, *Enochrus*, *Hydrobius*, *Hydrophilus*, *Laccobius* и *Limnoxenus* [2–5]. Стридуляционный аппарат большинства Hydrophilidae состоит из двух контактирующих друг с другом частей: *pars stridens* (ряд тонких параллельных ребер или зубцов, образующих стридуляционное поле на внутренней стороне надкрылий) и *plectrum* (резко выступающий гребень или ряд ребристых выступов на первом или втором стерните брюшка) [5–7].

Понимание о расположении стридуляционных органов (*pars stridens* и *plectrum*) не однозначно, что приводит к путанице относительно терминологии. Ряд авторов описывают расположение *pars stridens* на стерните брюшка, в то время как *plectrum* располагается на внутренней поверхности надкрылий [2, 3, 5]. Другие авторы [8] понимают под *pars stridens* стридуляционное поле на внутренней стороне надкрылий, а расположение *plectrum* описывают на стернитах брюшка. Мы придерживаемся первой точки зрения [6] (рис. 1).

Акустические сигналы видов рода *Berosus* производится благодаря потиранию бороздчатой

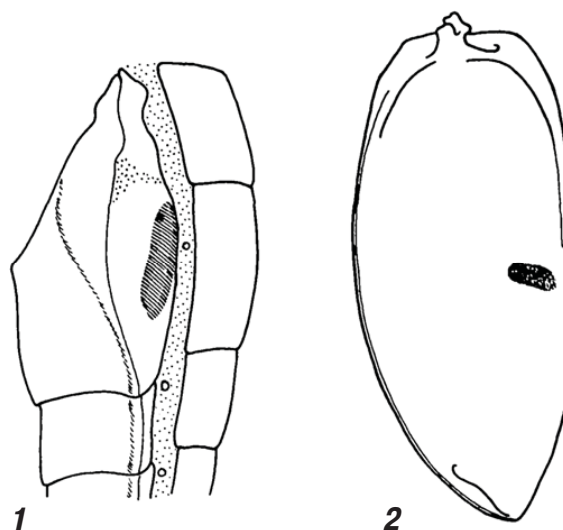


Рис. 1. Расположение стридуляционного аппарата *Berosus* sp.: 1 – *pars stridens*, ряд тонких параллельных ребер на первом стерните брюшка (laterosternite); 2 – *plectrum*, ряд ребристых выступов на внутренней стороне правого надкрылья (по Van Tassell [9])

Fig. 1. Location of the stridulation apparatus *Berosus* sp.: 1 – Side view of basal section of abdomen of *Berosus* sp., showing elliptical file on laterosternite; 2 – Underside of right elytron, showing rough-edged patch. When the elytra are in place, the rough spot lies directly over the file (by Van Tassell [9])

области на дорсальной поверхности первого брюшного сегмента (*plectrum*) о ряд мелких зубцов на внутренней стороне надкрылий (*pars stridens*, *elytral stridulatory area*) [9]. Основная функция этих звуков состоит в привлечении полового партнера, предупреждении о приближении хищника, они применяется как стрессовый сигнал на изменения среды, а также для коммуникации внутри популяции [10]. Для рода *Berosus*



отмечено, что имаго некоторых видов издают слышимые человеческому уху звуки, описанные как стрессовые [9]. Исследователями было отмечено, что звуки базовых сигналов различаются по продолжительности внутри одних и тех же таксонов, и даже между полами [11]. Например, сигналы ухаживания более короткие, нежели чем сигналы тревоги [9]. Целью нашего исследования было изучить стрессовые сигналы видов *Berosus frontifoveatus* Kuwert, 1888 и *Berosus spinosus* Steven, 1808.

Материалы и методы

Материал для исследования был собран на реке Кубань в районе Всероссийского научно-исследовательского института биологической защиты растений (45°02'356.5 "N; 38°52'22.1 "E) в период с июня по сентябрь 2020 г. Взрослые жуки были собраны общепринятыми энтомологическими методами сбора насекомых: сбор насекомых водным сачком, из сачка насекомые извлекались с помощью эксгаустера [12]. Самцов и самок хранили в пластиковых контейнерах с почвой и растениями, набранными на берегу реки Кубань и водой при температуре 24–26°C, влажности 65%, режиме света 16:8 ч (день:ночь) в камере постоянного климата (модель KBF720; Binder, Германия).

Звуки насекомых записывались с помощью измерительного конденсаторного микрофона (модель ECM8000; Behringer, Германия), микрофонно-линейного лампового предусилителя с лимитером, Германия) [13]. Так как данный микрофон не может быть помещён в воду, то была использована мембрана из полиэтилена (толщина 45 мкм), натянутая на срезанную конусообразную пробирку. Данные сохранялись в виде файлов .wav на ноутбуке (модель HP Pavilion g series, США). Для записи звука использовалась программа Sony Sound Forge Pro 10.0, для очистки звуков от фонового шума использовалась программа Adobe Audition CS 12.1. Все испытания проводились в лаборатории химической коммуникации и массового разведения насекомых при температуре 22–24° С. Стрессовые сигналы для самцов и самок *B. frontifoveatus* и *B. spinosus* моделировались в соответствии с процедурой, использованной для создания стрессовых сигналов для данного рода [9]. Каждого взрослого жука удерживали за голову в воде, и звуки записывались на расстоянии 1 см от конденсаторного микрофона Behringer. Сигналы стресса в эксперименте регистрировались у 25 имаго. Запись производилась в течение полутора минут, в трехкратной повторности. Итоговое количество измерений звуковых сигналов для самцов *B. spinosus* составило $n = 78$, самок

B. spinosus $n = 72$, самцов *B. frontifoveatus* $n = 74$, самок *B. frontifoveatus* $n = 69$. Процесс записи представлен на рис. 2. Для самцов и самок изучаемого вида анализировали диапазон издаваемых частот, который визуализировали графически. Немаловажными оказались параметры среднего значения временных характеристик (длительность сигнала, межимпульсный интервал и количество импульсов). Для средних значений (M) считали стандартное отклонение ($\pm SE$).



Рис. 2. Искусственное моделирование сигнала стресса для *B. spinosus* в емкости с водой (фото Е. Ю. Родионовой)
Fig. 2. Laboratory modeling of the stress signal for *B. spinosus* in a container with water (photo by E. Yu. Rodionova)

Для получения изображения звуковых структур препараты имаго *B. spinosus* готовили для сканирующей электронной микроскопии. Образцы устанавливали на алюминиевые столики и покрывали палладием (Ion coater IB-5, Eiko Engineering Co., Ltd., Япония) перед визуализацией с использованием сканирующего электронного микроскопа (Hitachi TM-1000, Hitachi, Япония) на базе Зоологического института РАН (Санкт-Петербург).

Результаты и их обсуждение

В ходе лабораторных экспериментов было записано более 480 звуковых сигналов для исследуемых видов. На рис. 3 отображены диапазоны частот для самцов и самок *B. spinosus* и *B. frontifoveatus*. В каждом из графиков проведен анализ на соответствие нормальному распределению, рассчитанному по формуле:

$$f(x) = \frac{1}{\sigma\sqrt{2\pi}} \exp\left(-\frac{(x-\mu)^2}{2\sigma^2}\right),$$

где μ – математическое ожидание (среднее значение), медиана и мода распределения, а параметр σ – среднее квадратическое отклонение, σ^2 – дисперсия распределения.

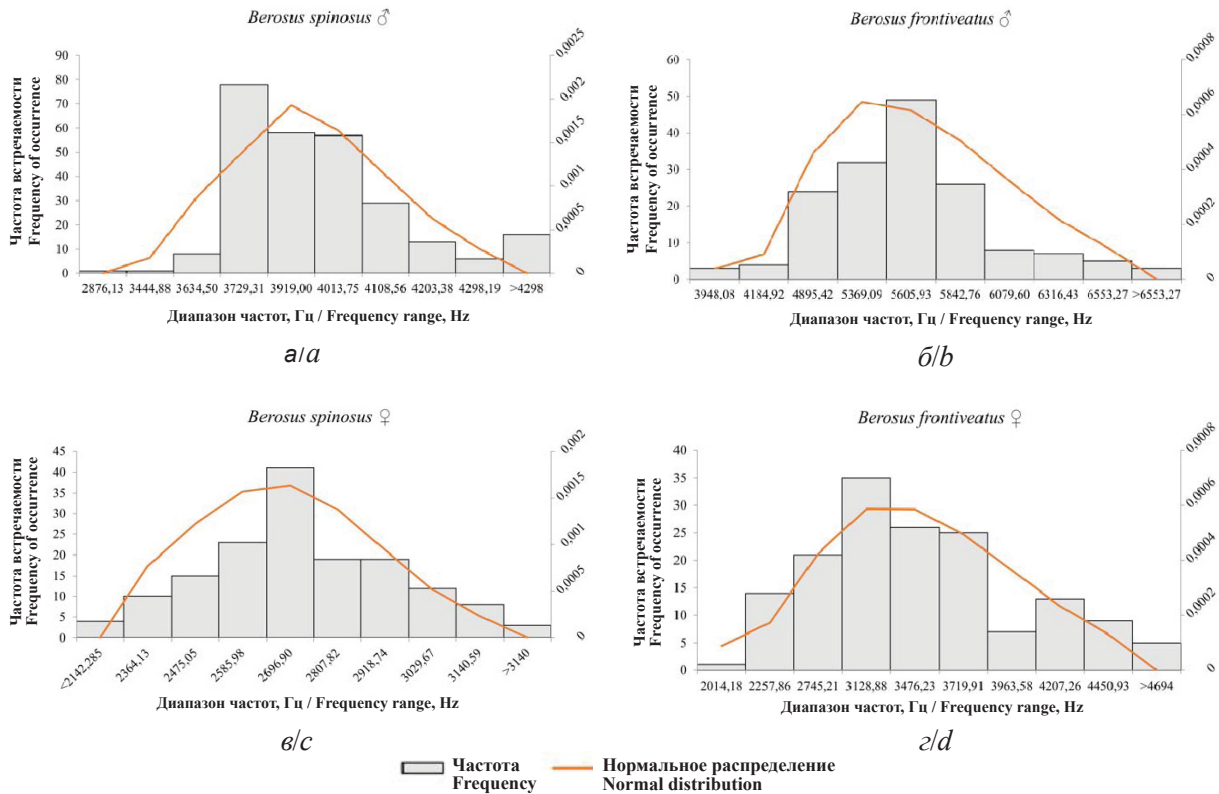


Рис. 3. Диапазоны частот (Гц) для звуков стресса самцов и самок *B. frontifoveatus* и *B. spinosus* (а – самец *B. spinosus*; б – самец *B. frontifoveatus*; в – самка *B. spinosus*; г – самка *B. frontifoveatus*)
Fig. 3. Frequency range (Hz) of stress sounds male and female *B. frontifoveatus* and *B. spinosus* (a – male *B. spinosus*; b – male *B. frontifoveatus*; c – female *B. spinosus*; d – female *B. frontifoveatus*)

Полученные графики показывают, что наши значения близки к нормальному распределению. Для стрессовых сигналов самцов *B. spinosus* и *B. frontifoveatus* диапазоны частот составили 2876,13–4298,19 Гц и 3948,08–6554,27 соответственно. Для звуков самок *B. spinosus* и *B. frontifoveatus* диапазон частот составил 2142,28–3140,00 и 2014,18–4694,00 Гц, соответственно. Из полученных данных можно сделать вывод о том, что самцы имеют более выраженную разницу в диапазонах издаваемых частот.

У самцов исследуемых видов наибольшая встречаемость доминантных частот сосредоточена в средних значениях графиков. Звуки *B. spinosus* имеют максимум встречаемости частот в пределах 3729,31–4013,75 Гц, в то время как для *B. frontifoveatus* эти показатели составляют 4895,42–5842,76 Гц. Разница в диапазоне частот лежит в пределах 1166,11–1829,01 Гц. Следует отметить, что максимальная частота встречаемости доминантных частот для видов не перекрывается.

Звуки самок, в свою очередь, имеют достаточно размазанную частоту встречаемости доминантных сигналов. Звук самки *B. spinosus*

имеет максимальную частоту встречаемости в промежутке между 2585,98 и 2807,82 Гц, при этом примерно одинаковую частоту встречаемости можно наблюдать в промежутках между 2364,13–2585,98 и 2807,82–3029,67 Гц. Звуки самок *B. frontifoveatus* имеет максимальную частоту встречаемости доминантной частоты в промежутке 2745,21–3476,23 Гц, одинаковая частота встречаемости наблюдается в промежутках между 2257,86–2745,32 и 3476,23–3962,58 Гц. Анализируя полученные данные, можно заключить, что верхняя граница доминантных частот звуков самок *B. spinosus* пересекается с нижней границей доминантной частоты звуков самок *B. frontifoveatus*.

Диапазон частот не всегда может дать полное понимание, как различаются звуки внутри рода, особенно если сравнивать достаточно большое количество видов [9]. Временные характеристики (длительность сигнала, межимпульсный сигнал и частота импульса) позволяют определить для каждого вида тот уникальный сигнал, который неповторим и является видоспецифичным. В таблице представлены характеристики для исследуемых видов.



Временные характеристики звуковых сигналов *B. spinosus* и *B. frontifoveatus*
The temporal characteristics of sound signals *B. spinosus* and *B. frontifoveatus*

Вид Species	Длительность, с Chirp Duration, sec		Межимпульсный интервал, с Interpulse interval, sec		Частота импульса, шт. Number of pulses	
	Диапазон Range	M±SE Average±SE	Диапазон Range	M ± SE Average ± SE	Диапазон Range	M ± SE Average ± SE
<i>Berosus spinosus</i> ♂	0,040–0,138	0,101±0,017	0,045–0,814	0,226±0,126	1–11	11,52 ± 4,46
<i>Berosus spinosus</i> ♀	0,058–0,197	0,138±0,021	0,186–1,463	0,44±0,233	1–57	7,7 ± 2,81
<i>Berosus frontiveatus</i> ♂	0,107–0,587	0,222±0,123	0,014–0,064	0,043±0,009	1–11	4,03 ± 0,48
<i>Berosus frontiveatus</i> ♀	0,035–0,083	0,05±0,01	0,087–0,383	0,164±0,06	1–30	9,43 ± 2,38

Частота импульсов звуков самцов *B. spinosus* в два раза больше, чем частота звуков самцов *B. frontifoveatus* (рис. 4). В среднем *B. spinosus* производит 11,52±4,46 импульсов за один сигнал, а *B. frontifoveatus* – 4,03±0,48 импульсов. Межимпульсный интервал для данных видов

существенно различается: у *B. spinosus* в среднем он составляет 0,226±0,126 с, а у *B. frontifoveatus* 0,043±0,009 с. Длительность сигналов при этом имеют обратную зависимость. Так, *B. spinosus* имеет длительность сигнала в два раза ниже, чем *B. frontifoveatus*.

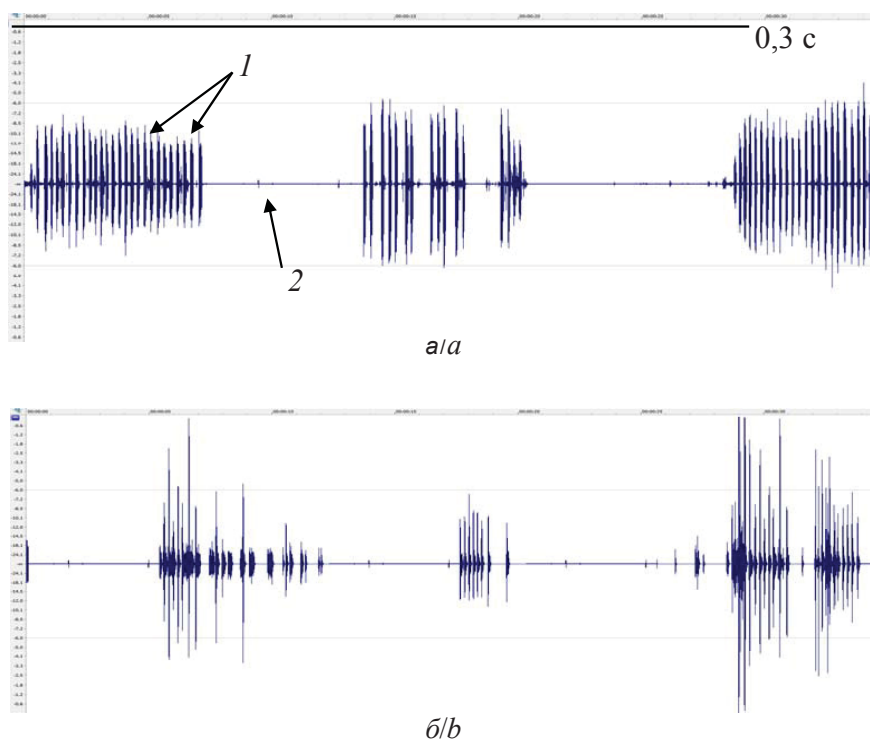


Рис. 4. Осциллограмма стрессовых сигналов звуков самцов (а – самец *B. spinosus*, б – самец *B. frontifoveatus*; 1 – частота импульса; 2 – межимпульсный интервал)
 Fig. 4. Oscillogram of stress signals of sounds of males (a – male *B. spinosus*, b – male *B. frontifoveatus*; 1 – pulse frequency; 2 – interpulse interval)

Характер звуков самок сильно отличается от звуков самцов. Их частота импульсов значительно превышает частоту импульсов самцов для аналогичных видов. Частота импульсов для звуковых сигналов самок примерно одинакова по средним значениям: *B. spinosus* 7,7±2,81 и *B. frontifoveatus*

9,43±2,38 (рис. 5). При этом максимальное число импульсов отмечено для самок *B. spinosus* – 57 ед. Самцы же имеют примерно одинаковое количество максимального числа импульсов за сигнал. Межимпульсный интервал и длительность сигнала почти в 2 раза выше у самок *B. spinosus*, чем у *B. frontifoveatus*.

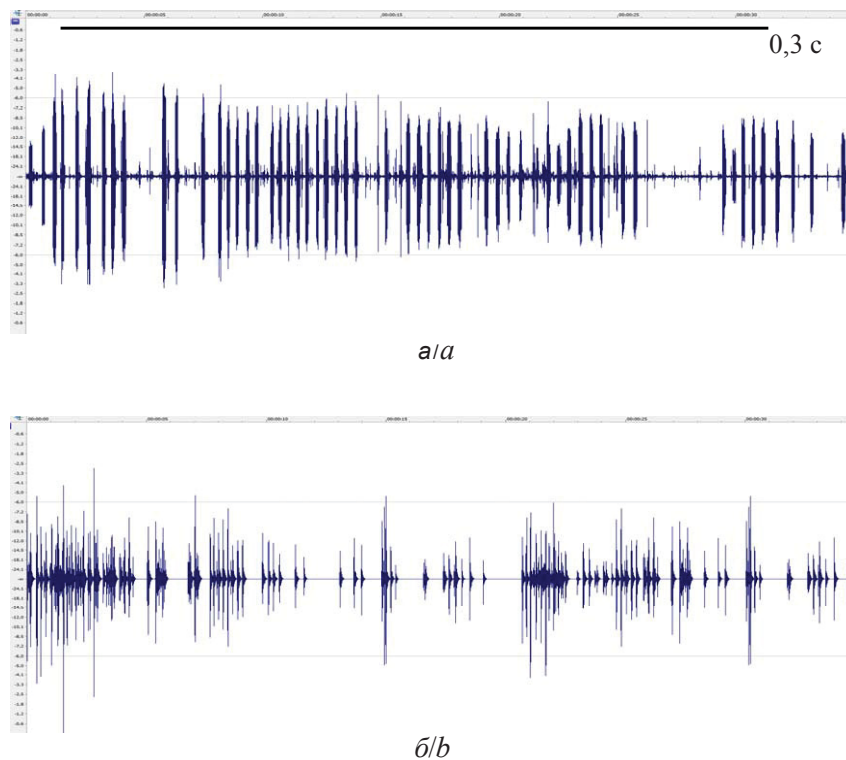


Рис. 5. Осциллограмма стрессовых сигналов звуков самок (а – самка *B. spinosus*, б – самка *B. frontifoveatus*)
Fig. 5. Oscillogram of stress signals of sounds of females (a – female *B. spinosus*, b – female *B. frontifoveatus*)

Сравнивая временные характеристики звуковых сигналов самцов и самок, можно предположить, что частота импульса влияет на продолжительность сигнала и межимпульсные интервалы. Чем выше частота импульса, тем больше межимпульсный интервал у звуковых сигналов самцов и самок, при этом длительность сигнала

имеет обратную пропорциональность у самцов. Возможно, это связано с тем, что самцы менее активны во время сигналов стресса. Самки же намного активнее сигнализируют, что привычные для них условия нарушены.

Морфологическая структура стридуляционных органов *B. spinosus* представлена на рис. 6.

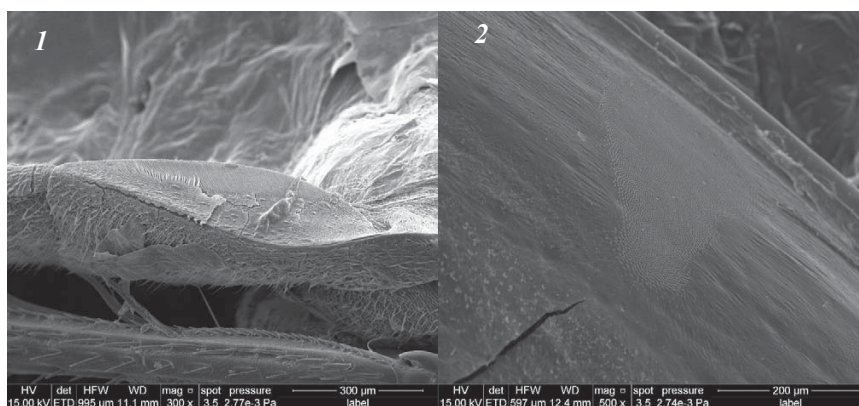


Рис. 6. Стридуляционные органы *B. spinosus*: 1 – pars stridens, ряд тонких параллельных ребер на первом стерните брюшка; 2 – plectrum, ребристые выступы на нижней стороне надкрылья (стридуляционное поле)
Fig. 6. Structure of stridulatory organs of *B. spinosus*: 1 – pars stridens; 2 – plectrum (elytral stridulatory area)



Ребристые выступы на внутренней стороне надкрылья имеют каплеобразную форму. Расположение зубцов может иметь систематическое значение и играть роль видоспецифичного признака, что, однако, требует детального исследования.

Заключение

Как видно из диапазонов доминантных частот, звуки самцов *B. spinosus* имеет более низкие частоты, при этом максимальный пик частот приходится на промежуток 3729,31–4013,75 Гц. Для самца *B. frontifoveatus* максимальный пик приходится на промежуток 4895,42–5842,76 Гц. Самки имеют более широкие границы доминантных частот. Звуки самок *B. spinosus* и *B. frontifoveatus* имеют пересекающиеся участки во встречаемости доминантных частот и максимальную частоту встречаемости в промежутке между 2745,21–2807,82 Гц.

Временные характеристики показывают, что самцы менее активны, чем самки. При этом звуки самцов *B. spinosus* имеет большее количество импульсов – 57 ед. за один смысловой сигнал, среднее значение импульсов также выше у звуковых сигналов самцов этого вида – $11,52 \pm 4,46$ ед. Межимпульсный интервал показывает, что длительность напрямую зависит от частоты импульсов. Чем выше частота, тем более высок промежуток между импульсами. Звуки самцов и самок *B. spinosus* имеют значения, значительно превышающие таковые у звуков самцов и самок *B. frontifoveatus*. Длительность сигнала для звуков самцов имеет обратную пропорциональность. Длительность звукового импульса *B. frontifoveatus* ($0,222 \pm 0,123$ с), в два раза дольше такового у *B. spinosus* ($0,101 \pm 0,017$ с). Звуки самок *B. spinosus* ($0,138 \pm 0,021$ с) имеют длительность импульса в два раза выше, чем звуки самок *B. frontifoveatus* ($0,05 \pm 0,01$ с).

Список литературы

1. Список видов семейства Hydrophilidae (Водолюбы) фауны России. URL: <https://www.zin.ru/animalia/coleoptera/rus/hydropru.htm> (дата обращения: 10.07.2020).
2. Short A. E. Z., Jeffrey C., Emmanuel F. A. Phylogeny, classification and evolution of the water scavenger beetle tribe Hydrobiusini inferred from morphology and molecules (Coleoptera: Hydrophilidae: Hydrophilinae) // Systematic Entomology. 2017. Vol. 42, iss. 4. P. 677–691.
3. Maillard Y.P., Seilier R. La pars stridens des Hydrophilidae (Ins. Coleopteres); etude au microscope electronique a halayage // Comptes Rendus de l'Academie des Sciences. Paris (D). 1970. Vol. 270. P. 2969–2972.
4. Allen A. A. Hydrophilus piceus at Deal; and a seldom noticed? habit of the larva // Entomologist's Mon. Mag. 1956. Vol. 92. P. 153.
5. Pirisinu Q., Spinelli G., Bicchierai M. C. Stridulatory apparatus in the Italian species of the genus Laccobius erichson (Coleoptera : Hydrophilidae) // International Journal of Insect Morphology and Embryology. 1988. Vol. 17, iss. 2. P. 95–101.
6. Dumortier B. Morphology of sound emission apparatus in Arthropoda // Acoustic Behavior of Animals. Amsterdam : Elsevier Publish, 1963. P. 277–345.
7. Жантеев П. Д. Биоакустика насекомых. М. : Издательство МГУ, 1981. 256 с.
8. Ryker L. C. The role of acoustical signals in the communicative behavior of the water scavenger beetles, *Tropisternus* (Coleoptera: Hydrophilidae). Thesis Diss. Dr. Sci. (Philos.). Oregon State University, 1976. P. 153.
9. Van Tassell E. R. An audiospectrographic study of stridulation as an isolating mechanism in the Genus *Berosus* (Coleoptera: Hydrophilidae) // Annals of the Entomological society of America. 1965. Vol. 58. P. 407–413.
10. Aiken R. B. Sound production by aquatic insects // Biological Reviews. 1985. Vol. 65. P. 163–211.
11. Heller K. G., Helversen D. von. Acoustic communication in phaneropterid bushcrickets : Species-specific delay of female stridulatory response and matching male sensory time window // Behavioral Ecology and Sociobiology. 1986. Vol. 18, iss. 3. P. 189–198.
12. Голуб В. Б., Цуриков М. Н., Прокин А. А. Коллекции насекомых : сбор, обработка и хранение материала. М. : Товарищество научных изданий КМК, 2012. 339 с.
13. Rodionova E. Yu., Sazhnev A. S. The use of a consider microphone for the study of stridulation of aquatic and semi-aquatic // 63rd International Scientific Conference for Students of Physics and Natural Sciences, Vilnius, Lithuania, 17–20 March, 2020. P. 547.
14. Ryker L. C. Acoustic behavior of *Tropisternus ellipticus*, *T. columbianus* and *T. lateralis* in western Oregon (Coleoptera: Hydrophilidae) // The Coleopterists Bulletin. 1976. Vol. 30. P. 147–156.

Reference

1. The list of species family Hydrophilidae (water scavenger beetles) Russian fauna. Available at: <https://www.zin.ru/animalia/coleoptera/rus/hydropru.htm> (accessed 10 July 2020) (in Russian).
2. Short A. E. Z., Jeffrey C., Emmanuel F. A. Phylogeny, classification and evolution of the water scavenger beetle tribe Hydrobiusini inferred from morphology and molecules (Coleoptera: Hydrophilidae: Hydrophilinae). *Systematic Entomology*, 2017, vol. 42, iss. 4, pp. 677–691.
3. Maillard Y. P., Seilier R. La pars stridens des Hydrophilidae (Ins. Coleopteres); etude au microscope electronique a halayage. *Comptes Rendus de l'Academie des Sciences. Paris (D)*, 1970, vol. 270, pp. 2969–2972.



4. Allen A. A. *Hydrophilus piceus* at Deal; and a seldom noticed? habit of the larva. *Entomologist's Mon. Mag.*, 1956, vol. 92, pp. 153.
5. Pirisinu Q., Spinelli G., Bicchierai M. C. Stridulatory apparatus in the Italian species of the genus *Laccobius erichson* (Coleoptera : Hydrophilidae). *International Journal of Insect Morphology and Embryology*, 1988, vol. 17, iss. 2, pp. 95–101.
6. Dumortier B. Morphology of sound emission apparatus in Arthropoda. In: *Acoustic Behavior of Animals*. Amsterdam, Elsevier Publ., 1963, pp. 277–345.
7. Zhantiev R. D. *Bioakustika nasekomykh* [Bioacoustics of Insects]. Moscow, Izd-vo MGU, 1981. 256 p. (in Russian).
8. Ryker L. C. *The role of acoustical signals in the communicative behavior of the water scavenger beetles, Tropisternus* (Coleoptera: Hydrophilidae). Thesis Diss. Dr. Sci. (Philos.). Oregon State University, 1976. 153 p.
9. Van Tassell E. R. An audiospectrographic study of stridulation as an isolating mechanism in the Genus *Berosus* (Coleoptera: Hydrophilidae). *Annals of the Entomological Society of America*, 1965, vol. 58, pp. 407–413.
10. Aiken R. B. Sound production by aquatic insects. *Biological Reviews*, 1985, vol. 65, pp. 163–211.
11. Heller K. G., Helversen D. von. Acoustic communication in phaneropterid bushcrickets: Species-specific delay of female stridulatory response and matching male sensory time window. *Behavioral Ecology and Sociobiology*, 1986, vol. 18, iss. 3, pp. 189–198.
12. Gilub V. B., Tsurikov M. N., Prokin A. A. *Kolleksii nasekomykh: sbor, obrabotka i khraneniye materiala* [Insect collections: Collection, processing and storage of material]. Moscow, Tovarischestvo nauchnykh izdaniy KMK Publ., 2012. 339 p. (in Russian).
13. Rodionova E. Yu., Sazhnev A. S. The use of a consider microphone for the study of stridulation of aquatic and semi-aquatic. *63rd International Scientific Conference for Students of Physics and Natural Sciences, Vilnius, Lithuania, 17–20 March, 2020*. Vilnius, 2020, pp. 547.
14. Ryker L. C. Acoustic behavior of *Tropisternus ellipticus*, *T. columbianus* and *T. lateralis* in western Oregon (Coleoptera: Hydrophilidae). *The Coleopterists Bulletin*, 1976, vol. 30, pp. 147–156.

Поступила в редакцию 05.05.21, после рецензирования 10.05.21, принята к публикации 12.05.21
Received 05.05.21, revised 10.05.21, accepted 12.05.21



ЭКОЛОГИЯ

Известия Саратовского университета. Новая серия. Серия: Химия. Биология. Экология. 2021. Т. 21, вып. 3. С. 317–323


Izvestiya of Saratov University. Chemistry. Biology. Ecology, 2021, vol. 21, iss. 3, pp. 317–323

<https://ichbe.sgu.ru>

<https://doi.org/10.18500/1816-9775-2021-21-3-317-323>

Научная статья
УДК 60:504.03

Экологическая безопасность и перспективы развития малоотходных технологий в биотехнологическом производстве

В. Р. Вольников , А. Ю. Ульянов, Р. Р. Салихов, О. С. Дуракова,
Н. Г. Авдеева, Ю. И. Самохвалова, О. А. Волох

Российский научно-исследовательский противочумный институт «Микроб» Роспотребнадзора, Россия, 410005, г. Саратов, ул. Университетская, д. 46

Вольников Владислав Романович, младший научный сотрудник лаборатории холерных вакцин, volnikovvr@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0003-0791-895X>

Ульянов Александр Юрьевич, научный сотрудник лаборатории холерных вакцин, lhv@microbe.ru, <https://orcid.org/0000-0001-6933-8278>

Салихов Руслан Римович, младший научный сотрудник лаборатории холерных вакцин, lhv@microbe.ru

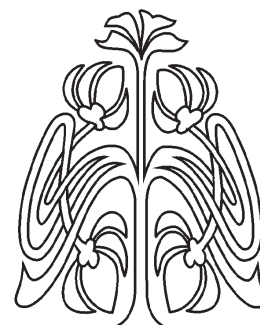
Дуракова Оксана Сергеевна, научный сотрудник лаборатории холерных вакцин, lhv@microbe.ru, <https://orcid.org/0000-0002-8823-3524>

Авдеева Наталья Георгиевна, научный сотрудник лаборатории холерных вакцин, lhv@microbe.ru

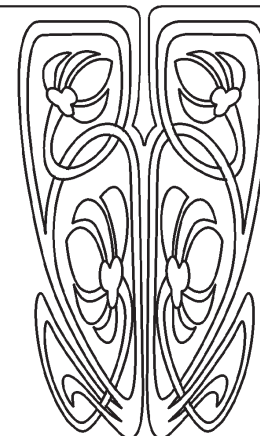
Самохвалова Юлия Игоревна, научный сотрудник лаборатории холерных вакцин, lhv@microbe.ru

Волох Оксана Александровна, заведующая отделом профилактических препаратов, lhv@microbe.ru, <https://orcid.org/0000-0002-3044-971X>

Аннотация. Загрязнение окружающей среды промышленными отходами сегодня является актуальной проблемой. Особое место в перечне загрязняющих веществ имеют отходы биотехнологических предприятий и производств, деятельность которых связана с выпуском различных лекарственных препаратов. РосНИПЧИ «Микроб» является единственным в Российской Федерации производителем уникальных иммунобиологических лекарственных препаратов – вакцины холерной химической бивалентной и иммуноглобулина антирабического из сыворотки крови лошади (АИГ). В настоящее время в институте в качестве основы для питательных сред активно используется фибрин – отход при производстве АИГ; разработана технология регенерации спиртовых отходов; из отходов производства специфических компонентов холерной вакцины получены биологически активные вещества. Цель работы состояла в оценке перспективности использования отхода производства специфических компонентов холерной вакцины (холероген-анатоксина – Х-АТ, и О-антиген – О-АГ) – формализированного детоксицированного безмикробного фильтрата (ФБФ), в качестве питательной среды для культивирования производственных штаммов микроорганизмов. Было показано, что наилучшими методами снижения концентрации формалина являются автоклавирование и химическая нейтрализация водным раствором аммиака. При малообъемном культивировании штаммов *Vibrio cholerae* 569В и *V.cholerae* М-41 на всех вариантах экспериментальных сред на основе ФБФ был отмечен рост биомассы. Продукция антигенов холерного вибриона на уровне, сопоставимом с выращиванием на контрольной питательной среде, была зарегистрирована в варианте среды на основе отхода



НАУЧНЫЙ
ОТДЕЛ





производства О-АГ. Использование ФБФ в качестве питательной среды в перспективе позволит сократить объем образующихся отходов и снизить нагрузку на очистные сооружения института, что повысит экологическую безопасность производства.

Ключевые слова: *Vibrio cholerae*, биотехнология, отходы производства, формалин, культивирование

Для цитирования: Вольников В. Р., Ульянов А. Ю., Салихов Р. Р., Дуракова О. С., Авдеева Н. Г., Самохвалова Ю. И., Волох О. А. Экологическая безопасность и перспективы развития малоотходных технологий в биотехнологическом производстве // Известия Саратовского университета. Новая серия. Серия: Химия. Биология. Экология. 2021. Т. 21, вып. 3. С. 317–323. <https://doi.org/10.18500/1816-9775-2021-21-3-317-323>

Статья опубликована на условиях лицензии Creative Commons Attribution 4.0 International (CC-BY 4.0)

Article

Ecological safety and prospects of development of low-waste technologies in the biotechnology industry

V. R. Volnikov ✉, A. Yu. Ul'yanov, R. R. Salikhov, O. S. Durakova,
N. G. Avdeeva, Yu. I. Samokhvalova, O. A. Volokh

Institute "Microbe" of Rospotrebnadzor, 46 Universitetskaya St., Saratov 410005, Russia

Vladislav R. Vol'nikov, volnikovvr@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0003-0791-895X>

Alexander Yu. Ul'yanov, lhv@microbe.ru, <https://orcid.org/0000-0001-6933-8278>

Ruslan R. Salikhov, lhv@microbe.ru

Oksana S. Durakova, lhv@microbe.ru, <https://orcid.org/0000-0002-8823-3524>

Natalia G. Avdeeva, lhv@microbe.ru

Yulia I. Samokhvalova, lhv@microbe.ru

Oksana A. Volokh, lhv@microbe.ru, <https://orcid.org/0000-0002-3044-971X>

Abstract. Environmental pollution with industrial waste is an urgent problem today. A special place in the list of pollutants belongs to waste from biotechnological enterprises and industries, whose activities are related to the production of various drugs. Russian Research Anti-Plague Institute «Microbe» is the only manufacturer of unique immunobiological drugs in the Russian Federation – bivalent chemical cholera vaccine and rabies immunoglobulin from horse blood serum (AIG). At present, the institute actively uses fibrin as a basis for nutrient media – a waste in the production of AIG; a technology for the regeneration of alcohol waste has been developed; biologically active substances were obtained from the production waste of specific components of the cholera vaccine. The aim of the work was to assess the prospects of using waste products from the production of specific components of cholera vaccine (cholero-gen-toxoid – X-AT, and O-antigen – O-AG) – formalized detoxified microbial-free filtrate (FMF), as a nutrient medium for the cultivation of industrial strains of microorganisms. It has been shown that the best methods for reducing formalin concentration are autoclaving and chemical neutralization with aqueous ammonia. During low-volume cultivation of *Vibrio cholerae* 569B and *V. cholerae* M-41 strains on all variants of experimental media based on PBP, an increase in biomass was noted. The production of *Vibrio cholerae* antigens at a level comparable to that of growing on a control nutrient medium was recorded in a medium variant based on O-AG production waste. The use of FMF as a nutrient medium in the future will reduce the volume of waste generated and reduce the load on the treatment facilities of the Institute, which will increase the environmental safety of production.

Keywords: *Vibrio cholerae*, biotechnology, industrial waste, formalin, cultivation

For citation: Volnikov V. R., Ul'yanov A. Yu., Salikhov R. R., Durakova O. S., Avdeeva N. G., Samokhvalova Yu. I., Volokh O. A. Ecological safety and prospects of development of low-waste technologies in the biotechnology industry. *Izvestiya of Saratov University. Chemistry. Biology. Ecology*, 2021, vol. 21, iss. 3, pp. 317–323. <https://doi.org/10.18500/1816-9775-2021-21-3-317-323>

This is an open access article distributed under the terms of Creative Commons Attribution 4.0 International License (CC-BY 4.0)

Введение

На базе научно-исследовательского противочумного института «Микроб» организовано производство уникальных иммунобиологических препаратов – вакцины холерной химической бивалентной и иммуноглобулина антирабического из сыворотки крови лошади (АИГ). Наряду с выпуском этих лекарственных средств ведутся активные научные исследования по направлению малоотходных технологий в иммунобиологическом производстве. В настоящее время в качестве основы для питательных сред активно используется фибрин – отход при производстве

АИГ [1, 2]; разработана технология регенерации спиртовых отходов [3]; из отходов производства специфических компонентов холерной вакцины получены биологически активные вещества [4].

Одним из этапов производства активных компонентов холерной химической вакцины является формоловая детоксикация безмикробного центрифугата после культивирования штаммов-продуцентов. Для этого используется формалин в концентрации 0,6%. Концентрация остаточного формалина в детоксицированном ФБФ составляет 0,5%. Дальнейшая его инаktivация снизит антимикробное воздействие формалина. Классиче-



ским методом дезактивации формалина является его нейтрализация водным раствором аммиака. Для нашего исследования интерес представляли бентониты – сорбенты глинистой природы, которые в ранних исследованиях показывали высокие сорбционные свойства и, теоретически, могли бы стать эффективным методом освобождения от остаточного формалина в ФБФ, что позволит использовать его в качестве компонента питательной среды [5, 6].

Цель работы состояла в оценке перспективности использования отхода производства специфических компонентов холерной вакцины (холероген-анатоксин и О-антиген) – формализованного детоксицированного безмикробного фильтрата, в качестве питательной среды для культивирования производственных штаммов микроорганизмов.

Материалы и методы

Объектом нашего исследования является отход производства специфических компонентов холерной вакцины (Х-АТ, О-АГ) – формализованный детоксицированный безмикробный фильтрат (ФБФ). Он был получен в процессе тангенциальной фильтрации безмикробного формализованного центрифугата после культивирования штаммов-продуцентов холерного токсина (ХТ) и О-АГ: *V. cholerae* 569В *V. cholerae* М-41.

Наличие формалина в фильтрате определяли качественной реакцией формальдегидов с фуксинсернистой кислотой. Количественное содержание регистрировали фотометрическим методом при длине волны 590 нм. Нейтрализацию формалина в среде осуществляли с применением физических (осаждение на сорбентах, стерилизация насыщенным водяным паром, стерилизующая фильтрация) и химических (нейтрализация формалина водным раствором аммиака) методов.

Экспериментальное малообъемное культивирование штаммов *V. cholerae* 569В и *V. cholerae* М-41 проводилось в колбах объемом 250 мл на термостатируемом шейкер-инкубаторе в течение 18 часов при температуре 37°C для *V. cholerae* М-41 и 30°C для *V. cholerae* 569В. Объем среды составлял 25 мл, рН 8,0. Питательные среды, из которых были получены фильтраты, готовили на ферментативном гидролизате казеина (ФГК): ОРК (основной раствор казеина лабораторного приготовления) и ФГК Тип I (HiMedia). Концентрация аминного азота в контрольных пробах составляла (0,10±0,05) %, в экспериментальных образцах – (0,095±0,01) %. Выращивание проводилось не только на цельных фильтратах, но так же и на

среде, представляющей собой смесь фильтрата и казеинового бульона в соотношении 1:1. Эффективность культивирования производственных штаммов на исследуемых средах оценивали, по урожайности биомассы и активности антигенов в реакции диффузионной преципитации с помощью специальных сывороток «О» и «АХС», реагирующих на О-антиген и холерный токсин соответственно [7].

Результаты и их обсуждение

1. Нейтрализация формалина с помощью различных методов

Первый этап нашей работы заключался в нейтрализации остаточного формалина в ФБФ. Это необходимо по причине того, что формальдегид оказывает ингибирующее воздействие на рост бактерий. Вследствие чего необходимо было максимально снизить концентрацию формалина. Для выполнения данной задачи нами было предложено несколько методов, первым из которых было осаждение на сорбентах – природных бентонитах двух различных немодифицированных фракций.

Установлено, что осаждение на данных сорбентах оказалось неэффективным (рис. 1).

Концентрация формалина во всех пробах, независимо от режима перемешивания, осталась практически на том же уровне. Предположительно, причина кроется в неподходящей структуре бентонитов – гранулированная форма не позволяет молекулам формалина задержаться на зернах сорбента, то есть путь к порам затруднен. В этой связи, возможно, более перспективным будет исследование адсорбционной способности модифицированных нанотрубками или глицерином вариантов адсорбентов, которые, по данным авторов [6], обладают достаточно высокой эффективностью в отношении многих химических соединений.

Следующий метод нейтрализации – автоклавирование и фильтрация. Было выявлено, что концентрация формалина при высокотемпературной обработке значительно снижается – примерно в 3 раза в фильтрате после выделения холерогена, и в 10 раз в фильтрате после выделения О-антигена (рис. 2). Такой результат связан с тем, что формальдегиды не выдерживают высокотемпературную обработку. При нагревании до 150°C формалин разлагается до метанола и углекислого газа (в нашем случае хватило нагрева до 121°C). Стерилизующая фильтрация ФБФ через глубинный фильтр с размером пор 0,22 мкм не привела к уменьшению содержания формалина, что свидетельствует о неэффективности данного метода.

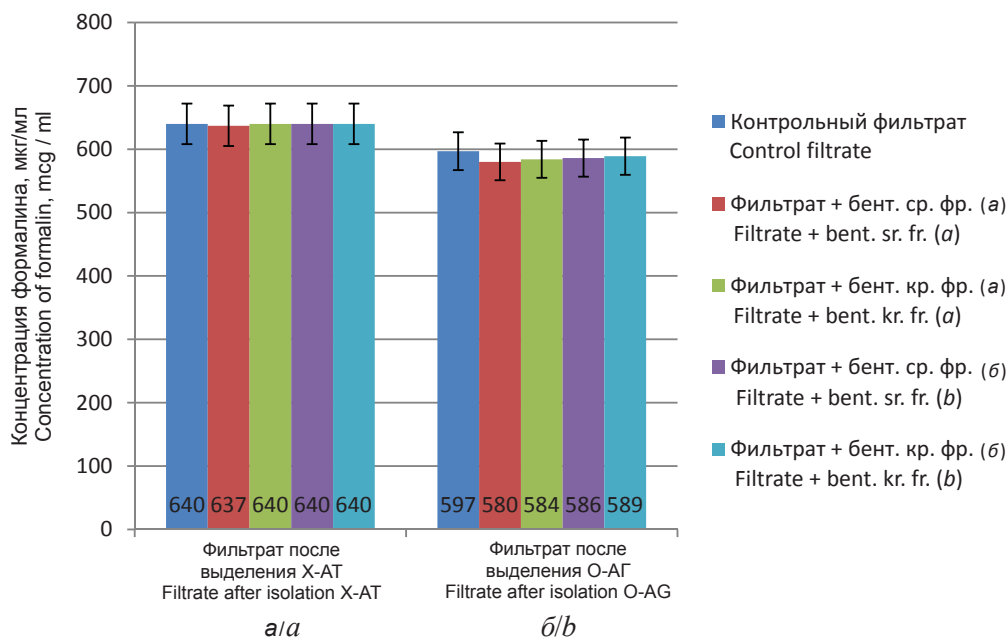


Рис. 1. Концентрация формалина в пробах после осаждения на сорбентах (а – в течение 1 часа; б – в течение 24 часов) (цвет online)

Fig. 1. Concentration of formalin in samples after sedimentation on sorbents (a – within 1 hour; b – within 24 hours) (color online)

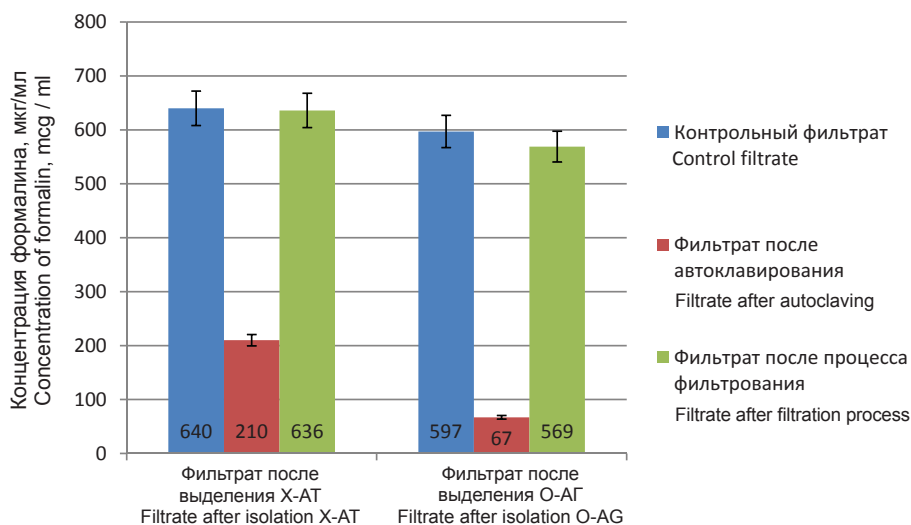


Рис. 2. Концентрация формалина в фильтратах после обработки в автоклаве (121°C) и при пропуске через фильтр ($\varnothing = 0,22 \mu\text{м}$) (цвет online)

Fig. 2. Concentration of formalin in filtrates after autoclaving (121 ° C) and passing through a filter ($\varnothing = 0.22 \mu\text{m}$) (color online)

Нейтрализация формалина аммиаком показала наибольшую эффективность (рис. 3). При добавлении 1% аммиака от общего объема фильтрата концентрация формалина значительно уменьшается: в ФБФ после выделения холерогена – почти в 3,5 раза, после выделения О-антигена – более 1,5 раз. Такое сильное снижение содержания формалина в фильтрате объясняется тем, что формальдегид, вступая во взаимодействие с аммиаком, образует гексаметиленetetрамин, или уротропин.

2. Экспериментальное культивирование

Проводилось культивирование штаммов *V. cholerae* 569В и *V. cholerae* М-41. В эксперименте были использованы среды на основе фильтратов после выделения специфических компонентов холерной вакцины – обедненные (доля фильтрата – 100%) и обогащенные (доля фильтрата и казеинового бульона 50 на 50%). Формалин инактивировали с помощью автоклавирования.

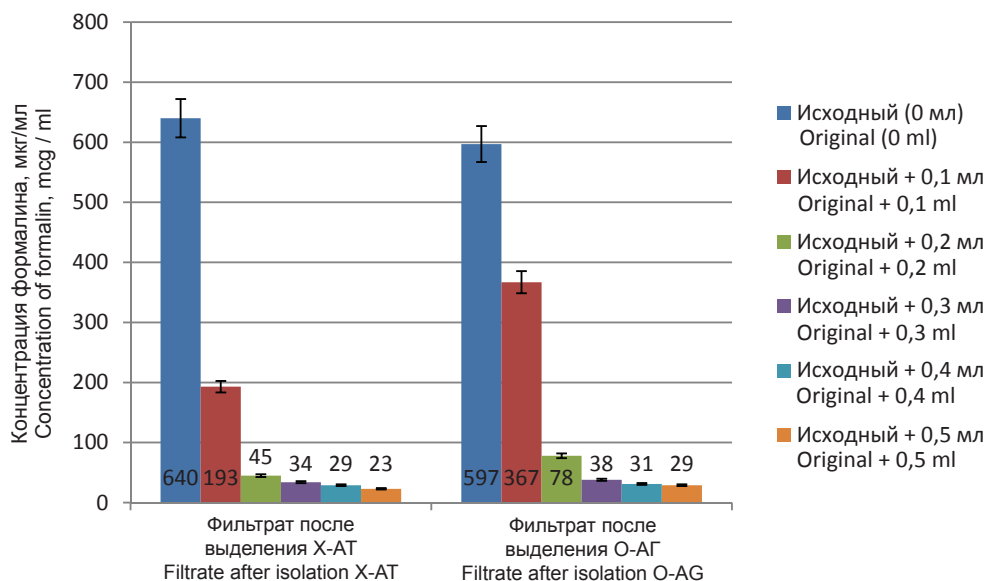


Рис. 3. Концентрация формалина в пробах после нейтрализации водным раствором аммиака (цвет online)

Fig. 3. Concentration of formalin in samples after neutralization with aqueous ammonia solution (color online)

Было выявлено, что на средах после выделения любого из антигенов, основой которого послужил раствор казеина лабораторного приготовления, рост бактерий регистрировался, но на довольно низком уровне. Это верно как для обедненных вариантов среды, так и смешанных с бульоном вариантов. Активность антигенов не была зарегистрирована ни в одном из образцов. Культивирование на средах после вы-

деления O-антигена, основой которого был ФГК Тип I (Himedia), показало лучшие результаты (таблица). Урожайность биомассы холерных вибрионов обоих штаммов была сопоставима с контрольными образцами, а активность специфических антигенов в реакции диффузионной преципитации была зарегистрирована до титра 1 на 4, что допускается нормативной документацией.

Результаты культивирования штаммов *V. cholerae* на фильтратах с основой из ФГК
Results of cultivation of *V. cholerae* strains on filtrates with a base of СЕН

№ фильтрата Filtrate No.	Показатель / Indicator		
	Концентрация, млрд. м.к./мл Concentration, bill. m.c. / ml	Активность O-АГ Activity O-AG	Активность X-АГ Activity X-AT
Штамм <i>V. cholerae</i> 569B / Strain <i>V. cholerae</i> 569B			
Фильтрат + бульон 1:1 / Filtrate + bouillon 1:1	43±5	+1/4	+ц
Контроль / Control	59±3	+1/8	+ц
Штамм <i>V. cholerae</i> M-41 / Strain <i>V. cholerae</i> M-41			
Фильтрат + бульон 1:1 / Filtrate + bouillon 1:1	53±5	+1/4	–
Контроль / Control	56±4	+1/4	–

морфология клеток холерного вибриона по сравнению с контрольными образцами не изменилась (рис. 4).

На фильтратах, инактивация формалина в которых производилась с помощью нейтрализации водным раствором аммиака, рост

биомассы был стабильно ниже контрольных образцов. Активность антигенов не была зарегистрирована ни в одном из образцов. Предположительно, это может быть связано с выбором неоптимального количества добавленного аммиака.

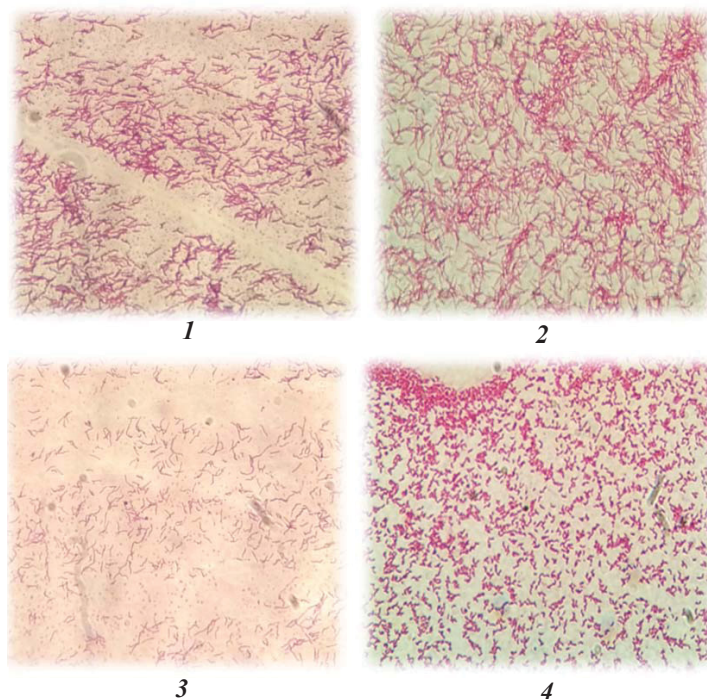


Рис. 4. Микроскопия клеток *Vibrio cholerae* на мазках по Граму: 1 – обогащенный фильтрат ФГК, штамм *V.cholerae* М-41; 2 – контрольный образец ФГК; 3 – обогащенный фильтрат ФГК, штамм *V.cholerae* 569В; 4 – контрольный образец ФГК

Fig. 4. Microscopy of *Vibrio cholerae* cells on Gram smears: 1 – enriched filtrate CEH, strain *V. cholerae* M-41; 2 – control sample of CEH; 3 – enriched filtrate CEH, strain *V. cholerae* 569В; 4 – control sample of CEH

Заключение

Таким образом, была экспериментально доказана возможность использования фильтрата – отхода производства холерной вакцины, в качестве питательной среды для культивирования производственных штаммов. Установлена высокая эффективность метода нейтрализации остаточного формалина в ФБФ автоклавированием и химической инактивацией водным раствором аммиака. Использование фильтрата в качестве питательной среды в перспективе позволит сократить объем образующихся отходов, снизить нагрузку на очистные сооружения института и обеспечить экологическую безопасность производства.

Дальнейшей перспективой данного исследования является подбор оптимальных условий химической нейтрализации формалина в ФБФ и оценка возможности их использования для культивирования других видов микроорганизмов.

Список литературы

1. Антонецкая М. В., Нижегородцев С. А., Еремин С. А., Аленикина Т. А., Шульгина И. В., Белоусов А. Д., Жулидов И. М., Никифоров А. К. Питательная среда

для глубинного культивирования холерного вибриона. Патент RU № 2425866 РФ, опубл. 10.08.11 г. Бюл. № 22.

2. Волох О. А., Антонецкая М. В., Авдеева Н. Г., Вахрушина Н. И., Никифоров А. К. Питательная среда для глубинного культивирования туляремиального микроба. Патент RU № 2518282, МПК С12N1/20. Бюлл. № 16. 2014.
3. Жулидов И. М. Разработка биотехнологических приемов малоотходных технологий в производстве гетерологичного антирабического иммуноглобулина : автореф. дис. ... канд. биол. наук. Саратов, 2013. 18 с.
4. Громова О. В., Кузьмиченко И. А., Киреев М. Н., Нижегородцев С. А., Корсуков В. Н. Новый способ получения комплекса ферментов холерного вибриона протеовибрина с помощью ультрафильтрации // Acta Biomedica Scientifica. 2012. № 5-1 (87). С. 201–205
5. Котельников Д. Д., Конюхов А. И. Глинистые минералы осадочных пород. М. : Недра, 1986. 247 с.
6. Истрашкина М. В., Атаманова О. В., Тихомирова Е. И. Особенности адсорбции ароматических аминосоединений на различных вариантах модифицированного бентонита // Известия Самарского научного центра РАН. 2016. Т. 18, № 2 (2). С. 381–384.
7. Ouchterlony O. Antigen-antibody reactions in gels. IV. Types of reactions in coordinated systems of diffusion // Acta Pathol. et Microbiol. Scand. 1953. Vol. 32. P. 231–240.



References

1. Antonycheva M. V., Nizhegorodtsev S. A., Eremin S. A., Alenkina T. A., Shul'gina I. V., Belousov A. D., Zhulidov I. M., Nikiforov A. K. *Nutrient medium for submerged cultivation of cholera vibrio*. RF Patent No. 2425866, 10.08.2011 (in Russian).
2. Volokh O. A., Antonycheva M. V., Avdeeva N. G., Vakhrushina N. I., Nikiforov A. K. *Nutrient medium for submerged cultivation of tularemia microbe*. RF Patent No. 2518282, 10.06.2014 (in Russian).
3. Zhulidov I. M. *Development of biotechnological methods of low-waste technologies in the production of heterologous anti-rabies immunoglobulin*. Thesis Dis. Cand. Sci. (Biol.). Saratov, 2013. 18 p. (in Russian).
4. Gromova O. V., Kuz'michenko I. A., Kireev M. N., Nizhegorodtsev S. A., Korsukov V. N. New way of isolation of enzyme complex of cholera Vibrio – proteovibrin by means of ultrafiltration. *Acta Biomedica Scientifica*, 2012, no. 5-1 (87), pp. 201–205 (in Russian).
5. Kotelnikov D. D., Konyukhov A. I. *Glinistye mineral osadochnykh porod* [Clay Minerals of Sedimentary Rocks]. Moscow, Nedra Publ., 1986. 247 p. (in Russian).
6. Istrashkina M. V., Atamanova O. V., Tikhomirova E. I. Features of adsorption of aromatic amino compounds on different variants of modified bentonite. *Bulletin of the Samara Scientific Center of the Russian Academy of Sciences*, 2016, vol. 18, no. 2 (2), pp. 381–384 (in Russian).
7. Ouchterlony O. Antigen-antibody reactions in gels. IV. Types of reactions in coordinated systems of diffusion. *Acta Pathol. et Microbiol. Scand.*, 1953, vol. 32, pp. 231–240.

Поступила в редакцию 03.05.21, после рецензирования 12.05.21, принята к публикации 15.05.21
Received 03.05.21, revised 12.05.21, accepted 15.05.21



Известия Саратовского университета. Новая серия. Серия: Химия. Биология. Экология. 2021. Т. 21, вып. 3. С. 324–327

Izvestiya of Saratov University. Chemistry. Biology. Ecology, 2021, vol. 21, iss. 3, pp. 324–327

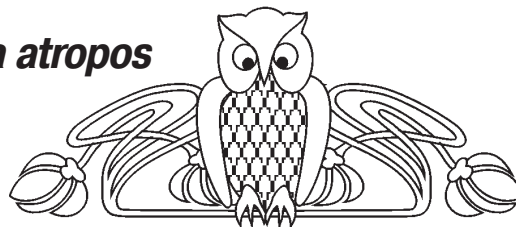
<https://ichbe.sgu.ru>

<https://doi.org/10.18500/1816-9775-2021-21-3-324-327>

Научная статья

УДК 595.788/591.613/638.8

Особенности культивирования бражника мёртвая голова *Acherontia atropos* (Linnaeus, 1758) на искусственных питательных средах



И. С. Леонтьев

Пензенский государственный университет, Россия, 440026, г. Пенза, ул. Красная, д. 40

Леонтьев Илья Сергеевич, студент 4-го курса факультета физико-математических и естественных наук, кафедра «Зоология и экология», leontiev.ilya2015@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0002-3144-1592>

Аннотация. В настоящей работе приведены результаты апробации методики культивирования бражника мёртвая голова *Acherontia atropos* (Linnaeus, 1758) с применением искусственной питательной среды. Для всех стадий развития данного вида указаны оптимальные условия культивирования. Приводится информация по бактериальной инфекции гусениц, вызванной представителями грамотрицательной палочковидной флоры, которая также отмечена в ходе работы. Эмпирическим путем были подобраны методы решения данной проблемы, которые также приведены в данной работе – использование бактерицидных антибиотиков (цефтриаксон) и селенопирана. В перспективе планируется проведение подобного исследования в рамках создания и апробирования специфических составов сред, применимых для выращивания таких редких чешуекрылых, как *Proserpinus proserpina*, *Eudia pavonia*, *Saturnia pyri*, ряда других видов.

Ключевые слова: техническая энтомология, бражники, *Acherontia atropos*, искусственные питательные среды

Благодарности: За помощь в поиске научной литературы и консультации по содержанию и разведению бражников в лабораторных условиях выражаю благодарность Вадиму Викторовичу Золотухину и Сергею Ивановичу Евдошенко, за помощь в микробиологических исследованиях – Дмитрию Юрьевичу Ильину.

Работа выполнена при финансовой поддержке конкурса исследовательских проектов «Ректорские гранты» № ХП-87/21 в 2021 г.

Для цитирования: Леонтьев И. С. Особенности культивирования бражника мёртвая голова *Acherontia atropos* (Linnaeus, 1758) на искусственных питательных средах // Известия Саратовского университета. Новая серия. Серия: Химия. Биология. Экология. 2021. Т. 21, вып. 3. С. 324–327. <https://doi.org/10.18500/1816-9775-2021-21-3-324-327>

Статья опубликована на условиях лицензии Creative Commons Attribution 4.0 International (CC-BY 4.0)

Article

Features of cultivation of the deadhead hawk moth *Acherontia atropos* (Linnaeus, 1758) on artificial nutrient media

I. S. Leontiev

Penza State University, 40 Krasnaya St., Penza 440026, Russia

Ilya S. Leontiev, leontiev.ilya2015@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0002-3144-1592>

Abstract. The results of testing of the method of cultivation of the deadhead hawk moth *Acherontia atropos* (Linnaeus, 1758) using solid culture medium are given in this article. Optimal cultivation conditions for all caterpillar stages of this species are discussed. Information about bacterial infection of caterpillars which is caused by Gram-negative rod-shaped bacterial flora, is also noted in the results. Methods of treatment of this bacterial infection were selected empirically and also given use of bactericidal antibiotics (ceftriaxone) and selenopiran. We also trialled the use of a similar method of cultivation on some specific media for rare species of Lepidoptera like *Proserpinus proserpina*, *Eudia pavonia*, *Saturnia pyri* and some other species.

Keywords: technical entomology, Sphingidae, *Acherontia atropos*, artificial culture media

Acknowledgements: For the help in a search for scientific literature and advice on the maintenance and breeding of hawk moths in laboratory conditions, the author is grateful to Vadim V. Zolotuhin and Sergey I. Evdoshenko, and for the help in microbiological research – to Dmitry Yu. Ilyin. The work was prepared with the financial support of the competition of research projects “Rector’s Grants” No. HP-87/21 in 2021.

For citation: Leontiev I. S. Features of cultivation of the deadhead hawk moth *Acherontia atropos* (Linnaeus, 1758) on artificial nutrient media. *Izvestiya of Saratov University. Chemistry. Biology. Ecology*, 2021, vol. 21, iss. 3, pp. 324–327. <https://doi.org/10.18500/1816-9775-2021-21-3-324-327>

This is an open access article distributed under the terms of Creative Commons Attribution 4.0 International License (CC-BY 4.0)



Введение

Выращивание насекомых на искусственных питательных средах (ИПС) представляет собой большой практический интерес. Данный метод позволяет поддерживать лабораторные популяции насекомых-фитофагов круглогодично, в том числе вне вегетационного периода кормовых растений и в случае их отсутствия в регионе. Выращивание лабораторных культур на ИПС позволяет получить культуры, необходимые для проведения различных экспериментов. Наиболее известными лабораторными насекомыми, для выращивания которых используется ИПС, являются плодовые мушки рода *Drosophila*. ИПС применяются при выращивании в лаборатории гусениц различных чешуекрылых, таких как *Lymantria dispar* (Linnaeus, 1758), *Manduca sexta* (Linnaeus, 1763), в том числе как среды для производства бактерицидов и вирусных препаратов. Мёртвая голова является крупным, аттрактивным, не-

сложным в выращивании видом, который легко можно культивировать круглогодично.

Материалы и методы

Для выращивания данного вида исходно использовали культуру мёртвой головы, полученную от Е. Жуковой и ИПС № 1, полученную от А. А. Загоринского [1]. Предоставить её составляющие не является возможным из-за сильного изменения первоначального варианта. Гусеницы первых возрастов вставляли на эту среду без проблем, но в ходе развития часть не смогла нормально перелинять и погибла; дожившие до 5-й линьки благополучно окуклились и дали крепких жизнеспособных бабочек. Последующие поколения были выращены на ИПС № 2, полученной от С. И. Евдошенко [2]. Состав среды известен (таблица), однако в ходе дальнейших экспериментов пришлось внести некоторые дополнительные составляющие, отмеченные в таблице (*).

Компоненты ИПС № 2, с авторскими добавками
Components of IPS No. 2, with author's additions

Основные компоненты Main components	Кол-во, г/1000 г ИПС Number, g/1000 g IPS
Зародыши пшеницы / Wheat germ	320
Дрожжи пивные / Beer yeast	64
Сахар / Sugar	112
Соевая мука (содержание белка – 43%) Soy flour (protein content – 43%)	128
Соли Вессона / Wesson salts	32
Бета-ситостерол / Beta-sitosterol	8
Холин-хлорид / Choline chloride	4
Сорбиновая кислота / Sorbic acid	12
Аскорбиновая кислота / Ascorbic acid	16
Витаминный премикс / Vitamin premix	2,5
Каррагенан/Агар / Carrageenan/Agar	80–100/70
Вода, мм / Water, ml	3500–4000
*Сухое кормовое растение (бирючина) / * Dry forage plant (<i>Ligustrum</i>)	150
Дополнительные компоненты Additional components	
Льняное масло, мл / Linseed oil, ml	16
Стрептомицин сульфат/*Цефтриаксон Streptomycin sulfate/*Ceftriaxone	0,26
*Селенопиран * Selenopyran	0,02

В связи с тем что несколько поколений данный вид выращивали на среде № 1, большая часть гусениц первых возрастов отказывалась питаться на среде № 2 и гибла, однако те, кто начинали

питаться, в дальнейшем росли без проблем. Из 100 посаженных на ИПС № 2 гусениц начинали питаться только 30–40. Чтобы повысить число гусениц, начинающих кормление, было решено



добавить в смесь сухую бирючину (как одно из кормовых растений вида) из расчёта 15 г на 100 г сухой смеси ИПС. Результаты оказались хорошими: из 20 посаженных на рамку из ИПС гусениц начинали питаться и выживали 16–18 особей.

Для выращивания *Acherontia atropos* на ранних возрастах использовали закрытые пластиковые контейнеры размером 190 × 130 мм, с отверстиями по бокам. Дно контейнера прокладывалось бумажными полотенцами, поверх которых помещался вырезанный под размер контейнера прямоугольник из листа бумаги. Для того чтобы гусеницы охотнее начинали питаться, из ИПС вырезались рамки размером 40 × 35 мм, облегчающие нахождение еды. В рамку помещали 20 особей, сверху рамку плотно накрывали увлажнённым кусочком из бумажных полотенец. Замену корма производили раз в 2–3 дня. Со 2-го возраста гусениц пересаживали на пластиковую сетку с находящимися на ней кусочками ИПС, а с 4-го возраста гусениц перемещали в контейнер размером 390 × 290 мм, с сетчатой конструкцией на дне, на которую выкладывали куски ИПС. Плотность посадки составляла 35–40 гусениц на контейнер. По мере роста и подготовки гусениц к окукливанию их заворачивали в бумажные полотенца и помещали по одной в закрытый пластиковый контейнер размером 93 × 66 мм, после чего их перемещали в тёмное место до полного формирования и отвердения куколки. После этого, обычно на 4–5-й день, её перемещали в сетчатый садок размером 400 × 400 × 600 мм, где хранили вплоть до выхода бабочки. Куколок хранили при комнатном освещении во влажном мхе, который раз в 3–4 дня увлажнялся. После выхода из куколки имаго пересаживали в сетчатый садок размером 600 × 600 × 900 мм, где в дальнейшем они жили и откладывали яйца. Для стимуляции откладки яиц в садок был поставлен паслён ложноперегородный *Solanum pseudocapsicum* (Linnaeus, 1753), который был затянут тканью (органзой) для удобства сбора яиц. Кормление бабочек производилось раз в 2 дня 50% раствором гречишного мёда. Яйца собирались каждый день. Все стадии развития проходили при температуре 23–26°C и влажности 30–60%.

Результаты и их обсуждение

Одной из особенностей выращивания чешуекрылых на ИПС является бледная или бирюзовая окраска гусениц, это связано с дехлорофиллизацией покровов гусениц при питании на субстратах, лишенных хлорофилла (рисунок). Однако дехлорофиллизация покровов гусениц никак не сказывается на окраске взрослых особей.



Гусеница, выращенная на ИПС (цвет online)
Larva, grown on the IPS (color online)

Основными проблемами при массовом культивировании являются болезни гусениц, часто приводящие к полной гибели культуры. В нашем случае, как особо опасное, выявлено одно заболевание, внешне похожее на ядерный полиэдроз, но с иной симптоматикой начальных стадий. Гусеницы как бы начинали готовиться к линьке, но в итоге они сжимались, выдавливая гемолимфу, тем самым захлёбываясь в собственных выделениях. При этом они цеплялись ложноножками к сетке, свисали и погибали; содержимое их тела разжижалось. Была выдвинута гипотеза, что в закрытом контейнере повышена влажность и недостаточно кислорода, а также из-за кормления гусениц ИПС с добавлением нестерилизованной бирючины вероятно занесение в культуру бактериальной инфекции. В лаборатории микробиологии Пензенского государственного аграрного университета (ПГАУ) нами были проведены окрашивания образцов по Граму и их анализ. В пробе обнаружили палочковидные грамтрицательные бактерии. В экспериментах, проводимых позднее, было решено добавить антибиотики и селенопиран для снижения количества погибших гусениц; добавление этих веществ практически на 90% снизило смертность гусениц на всех возрастах и улучшило становление на ИПС личинок ранних возрастов.

В перспективе решено опробовать добавление в ИПС эргостерина как препарата, уменьшающего патогенное действие бактерий на организм на стадии гусениц и улучшающего рост и сопротивляемость организма к инфекциям, а также будет проведена работа по созданию и апробированию специфических составов сред для таких редких видов чешуекрылых, как *Proserpinus proserpina*, *Eudia pavonia*, *Saturnia pyri* и др.



Список литературы

1. Загоринский А. А., Горбунов О. Г., Сидоров А. В. Опыт использования искусственных питательных сред для разведения некоторых видов бражников (Lepidoptera, Sphingidae) // Зоологический журнал. 2013. Т. 92. С. 825–833.
2. Золотухин В. В., Евдошенко С. И. Бражники (Lepidoptera: Sphingidae) фауны России и сопредельных территорий. Ульяновск : Корпорация технологий продвижения, 2019. 478 с.

References

1. Zagoryansky A. A., Gorbunov O. G., Sidorov A. V. Experience of using artificial nutrient media for breeding some species of hawk moth (Lepidoptera, Sphingidae). *Zoological Journal*, 2013, vol. 92, pp. 825–833 (in Russian).
2. Zolotuhin V. V., Evdoshenko S. I. *Brazhniki (Lepidoptera: Sphingidae) fauny Rossii i sopredel'nykh territoriy* [Hawk Moths (Lepidoptera: Sphingidae) of the Fauna of Russia and Adjacent Territories]. Ulyanovsk, Korporatsiya Tekhnologiy prodvizheniya Publ., 2019. 478 p. (in Russian).

Поступила в редакцию 04.05.21, после рецензирования 10.05.21, принята к публикации 12.05.21

Received 04.05.21, revised 10.05.21, accepted 12.05.21



Известия Саратовского университета. Новая серия. Серия: Химия. Биология. Экология. 2021. Т. 21, вып. 3. С. 328–334

Izvestiya of Saratov University. Chemistry. Biology. Ecology, 2021, vol. 21, iss. 3, pp. 328–334

<https://ichbe.sgu.ru>

<https://doi.org/10.18500/1816-9775-2021-21-3-328-334>

Научная статья

УДК 582.675.1:58.009:58.084.2

Морфологическая изменчивость и состояние популяций *Delphinium pubiflorum* (Ranunculaceae) на территории Саратовской области



А. В. Богослов[✉], А. С. Кашин, И. В. Шилова, А. С. Пархоменко, Л. В. Гребенюк

Саратовский национальный исследовательский государственный университет имени Н. Г. Чернышевского, Россия, 410012, г. Саратов, ул. Астраханская, д. 83

Богослов Артём Валерьевич, ведущий биолог отдела биологии и экологии растений УНЦ «Ботанический сад», dandelioncave@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-2248-1285>

Кашин Александр Степанович, доктор биологических наук, профессор кафедры генетики, kashinas2@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0002-2342-2172>

Шилова Ирина Васильевна, кандидат биологических наук, ведущий биолог отдела биологии и экологии растений УНЦ «Ботанический сад», schiva1952@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0002-9828-4229>

Пархоменко Алёна Сергеевна, кандидат биологических наук, заведующий отделом биологии и экологии растений УНЦ «Ботанический сад», parkhomenko_as@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-9948-7298>

Гребенюк Людмила Владимировна, кандидат геолого-минералогических наук, ведущий биолог отдела биологии и экологии растений УНЦ «Ботанический сад», grebenuk2@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0003-0812-8861>

Аннотация. Приводятся результаты изучения морфологической изменчивости трёх популяций *Delphinium pubiflorum* из Саратовской области. Измерения проводили в течение четырёх лет в период массового цветения растений. Наибольшее отличие по количественным характеристикам показали популяции из Красноармейского и Татищевского районов. Отличия популяций в основном связаны с общими размерами листьев и количественными показателями осевой структуры, в частности длины генеративного побега, а также генеративной сферы – длины соцветия и сопряжённым с последней – количеством цветков. В полевых условиях, при визуальной оценке состояния популяций также стоит отметить наилучшее состояние растений именно популяции из Татищевского района. Наихудшее состояние особей отмечено в популяции из Красноармейского района. Вероятнее всего, условия юга Саратовской области являются наименее оптимальными для роста и развития растений данного вида. Данная популяция требует дополнительного мониторинга и разработки мер по её охране.

Ключевые слова: *Delphinium pubiflorum*, мониторинг, морфометрия, Саратовская область

Благодарности: Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ (проект № 20-34-90001).

Для цитирования: Богослов А. В., Кашин А. С., Шилова И. В., Пархоменко А. С., Гребенюк Л. В. Морфологическая изменчивость и состояние популяций *Delphinium pubiflorum* (Ranunculaceae) на территории Саратовской области // Известия Саратовского университета. Новая серия. Серия: Химия. Биология. Экология. 2021. Т. 21, вып. 3. С. 328–334. <https://doi.org/10.18500/1816-9775-2021-21-3-328-334>
Статья опубликована на условиях лицензии Creative Commons Attribution 4.0 International (CC-BY 4.0)

Article

Morphological variability and state of *Delphinium pubiflorum* (Ranunculaceae) populations in the Saratov region

A. V. Bogoslov[✉], A. S. Kashin, I. V. Shilova, A. S. Parkhomenko, L. V. Grebenyuk

Saratov State University, 83 Astrakhanskaya St., Saratov 410012, Russia

Artem V. Bogoslov, dandelioncave@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-2248-1285>

Alexandr S. Kashin, kashinas2@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0002-2342-2172>

Irina V. Shilova, schiva1952@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0002-9828-4229>

Alena S. Parhomenko, parkhomenko_as@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-9948-7298>

Liudmila V. Grebenyuk, grebenuk2@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0003-0812-8861>

Abstract. The article presents the results of studying the morphological state of three populations of *Delphinium pubiflorum* on the basis of quantitative traits measured over four years during the period of mass flowering of plants. The greatest difference in quantitative characteristics was shown by the populations from the Krasnoarmeisky and Tatischchevsky districts of the Saratov region. The differences between



the populations are mainly associated with the overall size of the leaves and the quantitative indicators of the axial structure, in particular the length of the generative shoot, as well as the generative sphere – the length of the inflorescence and the number of flowers associated with the latter. In the field, with a visual assessment of the state of the populations, it was noted that plants in the best condition, were those from the Tatishchevsky district. As for the population from the Krasnoarmeysky district, the state of its individuals was the worst.

Key words: *Delphinium pubiflorum*, monitoring, morphometry, Saratov region

Acknowledgements: This work was supported by the Russian Foundation for Basic Research (project No. 20-34-90001).

For citation: Bogoslov A. V., Kashin A. S., Shilova I. V., Parkhomenko A. S., Grebenyuk L. V. Morphological variability and state of *Delphinium pubiflorum* (Ranunculaceae) populations in the Saratov region. *Izvestiya of Saratov University. Chemistry. Biology. Ecology*, 2021, vol. 21, iss. 3, pp. 328–334. <https://doi.org/10.18500/1816-9775-2021-21-3-328-334>

This is an open access article distributed under the terms of Creative Commons Attribution 4.0 International License (CC-BY 4.0)

Введение

На сегодняшний день остро стоит вопрос сохранения исчезающих видов и сокращения биоразнообразия в целом. При этом основой любой природоохранной деятельности в области растительного мира должен выступать долгосрочно продуманный и весомо обоснованный мониторинг, сопряжённый со сбором необходимой информации касательно общего морфологического состояния растений, а также их жизненных стадий. В этом отношении основной целью сохранения растений становится поддержание жизнеспособных популяций видов в долгосрочной перспективе и предотвращение их исчезновения на местном, региональном или глобальном уровнях.

В настоящем исследовании нами предпринята попытка выявления морфологической изменчивости по количественным признакам *Delphinium pubiflorum* в Саратовской области. Ранее нами уже были опубликованы некоторые аспекты изучения состояния популяций этого вида на юго-востоке Европейской России [1–3].

Живокость пушистоцветковая (*Delphinium pubiflorum* (DC.) Turcz.) – представитель семейства Лютиковых (Ranunculaceae), редкое эндемичное растение, многолетник высотой 60–150 см с прямостоячими, облиственными стеблями [4–6]. Вид занесён в Красную книгу Саратовской обл. последней ревизии 2021 г. [1], а также в «Перечень (список) объектов растительного, животного мира и грибов, нуждающихся в особом внимании» Красной книги Ульяновской области [7].

Материалы и методы

В полевые сезоны 2017–2020 гг. изучены три популяции *D. pubiflorum*, расположенные на территории Саратовской области: Красноармейский р-н, окр. с. Каменка (Krm), Татищевский р-н, окр. д. Ильиновка (Tat), Хвалынский р-н, окр. с. Акатная Маза (Hvl) (рис. 1). Исследованы все известные популяции этого вида в Саратовской области [8].

Морфологические характеристики, с целью поддержания единообразия в оценке морфологи-

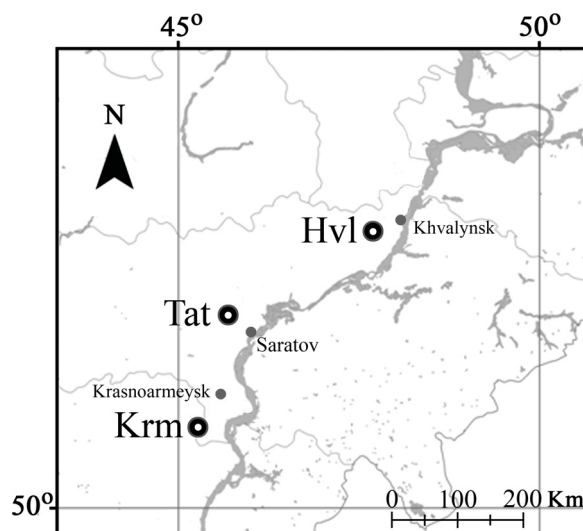


Рис. 1. Географическое расположение исследованных популяций

Fig. 1. Geographic location of the studied populations

ческих данных, учитывались только у растений зрелого генеративного состояния (g_2). В каждой популяции измерялись морфометрические показатели у 30 растений данного возрастного состояния, остальные растения учитывались для оценки общей численности и дальнейшего установления онтогенетической структуры популяций. Если в популяции количество зрелых генеративных особей было меньше 30, то производились промеры у имеющегося количества растений. Всего в анализе использовался 251 образец.

Всего было измерено 27 количественных показателей: число генеративных побегов (Ngs), длина генеративного побега (Gsl), число листьев на генеративном побеге (Nls), длина междоузлия (Intl), диаметр стебля (в первом от земли междоузлии) (Std), число цветков в соцветии (Fln), длина соцветия (Infl), число паракладиев первого порядка (Prn), длина наиболее развитого паракладия первого порядка (Pr1), длина чашелистика (Fsl), ширина чашелистика (Fsw), длина шпорца (Spl), ширина шпорца (Spw), длина листовой пластины (Lbl), длина нерасчленённой части



листовой пластины (Uplbl), длина центрального сегмента средней лопасти (Csmbl), ширина листовой пластины (Lbw), ширина основания центрального сегмента средней лопасти (Csmbbw), максимальная ширина средней лопасти (Mbmw), ширина основания средней лопасти (Mbbw), длина черешка (Ptl), ширина черешка (Ptw), длина прицветника (Brl), ширина прицветника (Brgw), длина прицветничка (Brsl), ширина прицветничка (Brsw), длина цветоножки (Pdl).

Анализ внутри- и межпопуляционной изменчивости морфологических показателей проводили с использованием описательной статистики (минимум и максимум показателя и 95% доверительный интервал среднего значения), одностороннего непараметрического дисперсионного анализа Краскела – Уоллиса, диаграмм размаха (среднее значение \pm ошибка средней и стандартное отклонение) по наиболее важным признакам, выделенным в ходе предварительно проведенного факторного анализа, а также дискриминантного анализа. Ординация проводилась методами главных компонент и канонического дискриминантного анализа. Для оценки соответствия данных требованиям нормальности, в случае использования параметрических методов, морфометрические переменные были проверены с помощью теста Шапиро–Уилкса. Количественные признаки, которые не соответствовали предположению о нормальности, были подвергнуты \log_{10} -трансформации и извлечению квадратного корня, после чего снова проверены на нормальное распределение. Если признаки вновь не соответствовали закону нормального распределения, или хотя бы не были близки к таковому, они удалялись из анализа. Кроме того, были рассчитаны непараметрические коэффициенты корреляции Спирмена. В случае, если коэффициенты корреляции для коррелированных пар переменных были ≥ 0.90 , один признак из пары исключался из многомерных видов анализа – факторного и дискриминантного. Данные, перед проведением многомерных видов анализа, кроме того, подвергались процедуре стандартизации. Имеющиеся немногочисленные пропуски данных были заменены средним значением по генеральной совокупности отдельных признаков [9–13]. Для расчетов и визуализации результатов использовались программы «Statistica 6.0» и «Past 3.26».

Результаты и их обсуждение

Из анализа описательных статистик видно, что популяции в целом сходны по представленным показателям – доверительные интервалы

признаков перекрываются между собой (таблица). Максимальное отличие от других популяций, по размерным показателям листовой пластинки и соцветия, показала популяция из Татищевского района. Интересно, что, несмотря на максимально длинные генеративные побеги (Gsl) (и, соответственно, наиболее длинные и тонкие первые от земли междоузлия – Intl и Std) у особей красноармейской популяции, длина соцветий (Infl) у особей в ней уступает таковой особям популяции Tat и немного превышает таковую по популяции Hvl. При этом число цветков в соцветии (Fln), а также количество листьев на генеративном побеге (Nls) в популяции Tat являются минимальными среди исследованных популяций.

Непараметрический дисперсионный анализ по всем измеренным количественным параметрам показал, что имеются различия между популяциями практически по всем признакам. Исключения составили только длина паракладия первого порядка (Prl), ширина чашелистика (Fsw) и шпорца (Spw).

Факторный анализ, выполненный по 17 отобранным признакам, выявил, что максимальные по модулю значения факторной нагрузки (0.60–0.80) по первой компоненте имеют: диаметр стебля (Std) – 0.64, длина соцветия (Infl) – 0.60, число цветков в нём (Nfl) – 0.75, длина (Lbl) – 0.83 и ширина листовой пластины (Lbw) – 0.72, длина центрального сегмента средней лопасти (Csmbl) – 0.69 и ширина черешка (Ptw) – 0.63. По второй компоненте максимальные нагрузки (0.60–0.70) имеют: длина (Brl) – 0.70 и ширина прицветника (Brgw) – 0.60. Суммарный объём объяснённой дисперсии по двум компонентам составил 42.23%. В целом определяющими, – в большей степени связанными с другими признаками, – для структурной формы растений *D. pubiflorum*, являются показатели листовой пластинки и генеративной сферы (в особенности число цветков в соцветии).

Ординация методом главных компонент (рис. 2) демонстрирует что большая часть особей наиболее южной популяции Kgm приурочена к левой стороне области ординации. Особи наиболее северной популяции Hvl занимают промежуточное (срединное) положение области ординации, равномерно перемешиваясь с особями других популяций. Большая часть особей популяции Tat занимают правую часть области ординации. Более значительный разброс точек рассеяния, соответствующих особям популяции Kgm в пространстве главных компонент, указывает на более широкую амплитуду морфологической изменчивости особей данной



**Описательные статистики измеренных морфометрических количественных показателей
растений *Delphinium pubiflorum***
Descriptive statistics of measured morphometric quantitative parameters of *Delphinium pubiflorum* plants

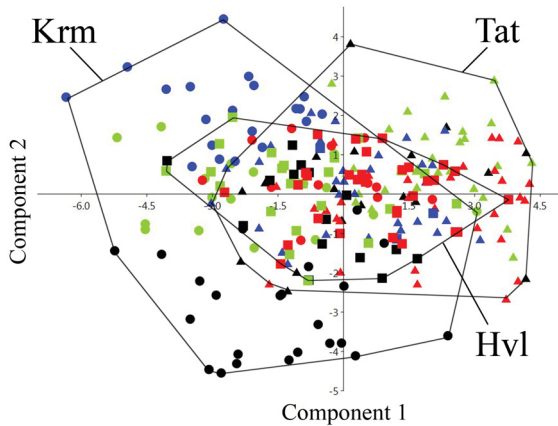
Признак / Parameter	Популяция / Population		
	Krm	Tat	Hvl
мин-(95 % доверительный интервал)-макс / min-(95 % confidence interval)-max			
Ngs, шт / pc	2.00-(6.37-8.69)-25.00	2.00-(7.40-9.45)-27.00	2.00-(3.10-4.22)-17.00
Gsl, см / cm	80.00-(139.52-152.79)-210.00	70.00-(134.27-142.95)-200.00	80.00-(120.62-130.42)-170.00
Nls, шт / pc	13.00-(23.17-26.64)-42.00	18.00-(28.46-31.32)-53.00	18.00-(30.12-33.40)-55.00
Intl, см / cm	3.00-(6.18-6.97)-10.50	2.00-(4.69-5.26)-9.30	1.00-(4.92-5.88)-10.00
Std, см / cm	2.00-(4.59-5.31)-10.80	2.54-(6.55-7.22)-11.20	4.27-(6.16-6.79)-11.00
Fln, шт / pc	7.00-(29.81-37.69)-77.00	20.00-(65.26-77.71)-186.00	11.00-(32.61-42.69)-154.00
Infl, см / cm	7.00-(22.68-28.08)-54.30	11.00-(28.78-32.94)-63.00	7.50-(20.67-25.72)-60.00
Ptn, шт / pc	0.00-(3.36-4.58)-11.00	0.00-(7.24-8.44)-19.00	0.00-(3.75-5.26)-18.00
Prl, см / cm	1.10-(6.27-7.92)-18.80	1.00-(6.82-8.16)-16.00	1.00-(6.25-7.74)-16.00
Fsl, мм / mm	4.45-(9.41-10.85)-19.70	6.12-(11.20-12.10)-16.91	8.15-(11.64-12.66)-17.92
Fsw, мм / mm	2.92-(6.49-7.36)-12.80	3.43-(6.95-7.49)-11.95	4.57-(7.02-7.57)-10.75
Spl, мм / mm	5.33-(9.37-10.27)-14.16	7.46-(12.08-13.17)-21.94	9.07-(12.20-13.01)-16.89
Spw, мм / mm	1.20-(2.38-2.68)-4.00	1.26-(2.55-2.94)-8.76	1.67-(2.64-3.10)-7.56
Lbl, мм / mm	59.67-(77.50-83.51)-120.11	65.64-(99.22-105.19)-144.66	62.30-(91.00-98.76)-132.85
Uplbl, мм / mm	0.00-(11.32-13.70)-24.41	1.49-(19.41-22.07)-42.05	4.92-(15.03-17.53)-36.87
Csmbl, мм / mm	20.88-(37.94-41.96)-66.66	20.61-(46.54-50.43)-79.47	15.23-(44.87-49.75)-65.68
Lbw, мм / mm	73.60-(111.46-120.94)-168.00	95.58-(133.34-141.80)-214.32	91.22-(125.55-134.75)-184.00
Csmbbw, мм / mm	4.69-(7.81-8.77)-14.01	4.59-(9.14-10.03)-15.40	4.16-(7.19-8.00)-11.95
Mbmw, мм / mm	16.62-(36.53-41.90)-75.04	21.03-(43.34-47.97)-82.47	17.20-(42.16-48.33)-79.35
Mbbw, мм / mm	1.99-(6.80-8.06)-14.79	3.59-(8.40-9.38)-19.37	3.27-(6.15-6.97)-10.72
Ptl, мм / mm	14.63-(47.71-56.46)-106.33	41.88-(66.53-72.24)-128.54	24.46-(54.82-62.06)-95.79
Ptw, мм / mm	0.77-(1.30-1.43)-2.04	1.08-(1.62-1.75)-2.74	0.77-(1.40-1.52)-2.23
Brl, мм / mm	4.93-(11.77-14.32)-25.32	7.63-(15.11-17.23)-35.71	7.69-(11.92-13.81)-25.27
Brw, мм / mm	0.20-(0.54-0.68)-1.60	0.33-(0.68-0.78)-1.61	0.34-(0.64-0.75)-1.48
Brsl, мм / mm	3.58-(5.99-6.78)-10.46	3.59-(6.17-6.71)-11.39	3.62-(6.06-6.64)-10.23
Brsw, мм / mm	0.30-(0.46-0.52)-0.77	0.15-(0.52-0.56)-0.86	0.20-(0.55-0.60)-0.99
Pdl, мм / mm	6.91-(13.27-14.95)-21.87	6.04-(13.24-14.68)-30.37	4.79-(14.55-16.48)-26.12

популяции и существенное варьирование диапазона изменчивости признаков по годам.

Построенные диаграммы размаха (рис. 3) по девяти морфологическим показателям, выделенным по большим значениям факторных нагрузок, также наглядно демонстрируют, что во всех случаях среднее значение признака было больше в популяции Tat. В большинстве случаев минимальными значениями среднего арифметического характеризуется популяция Krm. Что касается хвалынской популяции, то средние значения признаков были либо близки к таковым по популяции Krm, либо занимали срединное

(или близкое к популяции Tat) положение между соответствующими значениями популяций Tat и Krm. По параметрам длины прицветника (Brl) и длины соцветия (Infl) в популяции Hvl средние значения были минимальными среди исследованных популяций.

Дискриминантный анализ по 17 признакам был проведён с целью установления значений расстояний Махалонобиса, а также точности отнесения особей к тем или иным популяциям. Так, согласно значениям расстояний Махалонобиса, наименее похожи между собой северная и южная популяции Krm и Hvl (12.21), наиболее



Популяция / Population: ○Krm △Tat □Hvl

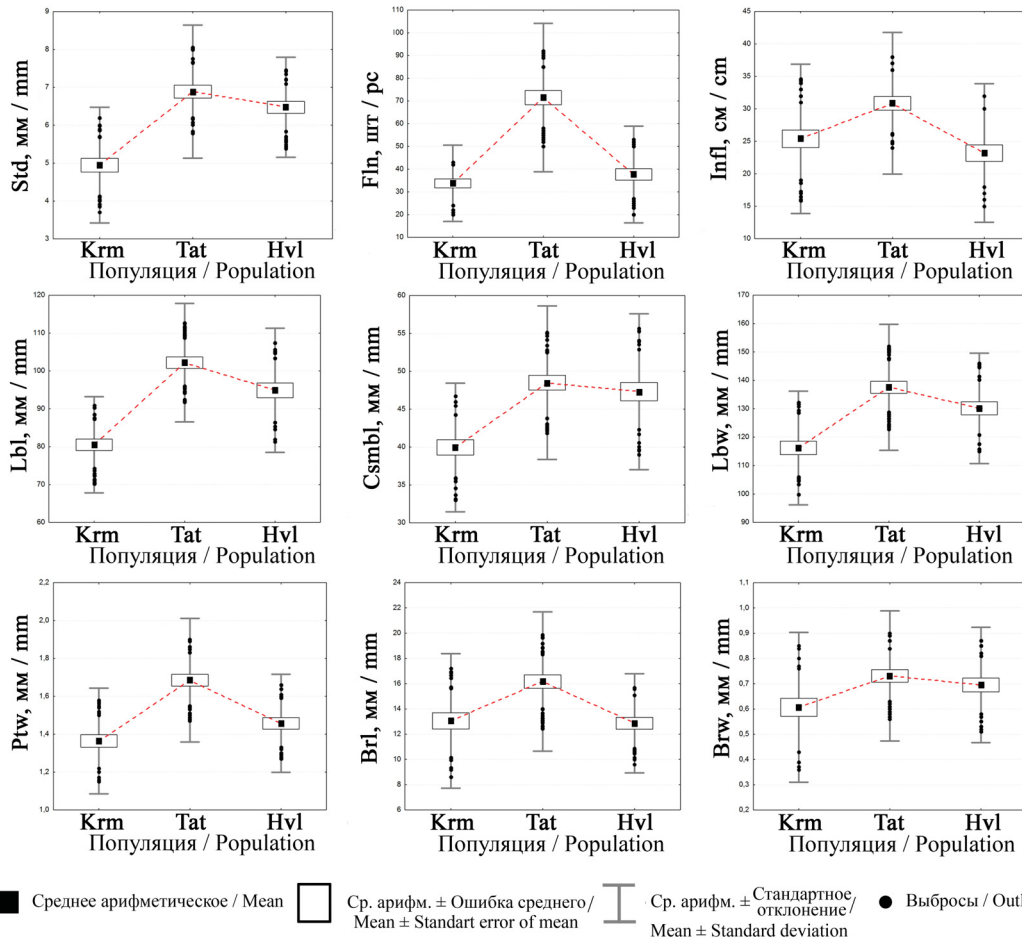
Год / Year: ■ 2017 ■ 2018 ■ 2019 ■ 2020

Рис. 2. Ординация точек, отвечающих растениям популяций *Delphinium pubiflorum*, методом главных компонент (цвет online)

Fig. 2. Ordination of points corresponding to plants of *Delphinium pubiflorum* populations by the method of principal components (color online)

похожи Tat и Hvl (5.96). При этом популяции Krm и Tat также демонстрируют достаточно высокую степень различия (10.93). Что касается процента правильности отнесения особей к той или иной популяции, то он составил 90.84%. Самым высоким процентом правильности определения особей характеризуется популяция Krm (95.83%): из 72 особей этой популяции – 69 определены правильно, в то время, как три особи отнесены к популяциям Tat и Krm. Популяции Tat и Hvl характеризуются примерно одинаковым процентом правильного определения их особей – 89.81 и 87.32% соответственно.

График канонического дискриминантного анализа (рис. 4) также демонстрирует, что при определённой близости нахождения точек друг к другу (и частичному их перемешиванию) имеет место и обособление имеющихся популяционных выборок относительно области ординации, образованной дискриминантными функциями. Это также доказывает морфометрическое различие особей исследованных популяций.



■ Среднее арифметическое / Mean □ Ср. арифм. ± Ошибка среднего / Mean ± Standart error of mean | Ср. арифм. ± Стандартное отклонение / Mean ± Standard deviation ● Выбросы / Outliers

Рис. 3. Диаграммы размаха по девяти морфологическим показателям, выделенным по большим значениям факторных нагрузок

Fig. 3. Diagrams of the range of nine morphological indicators identified by large values of factor loadings

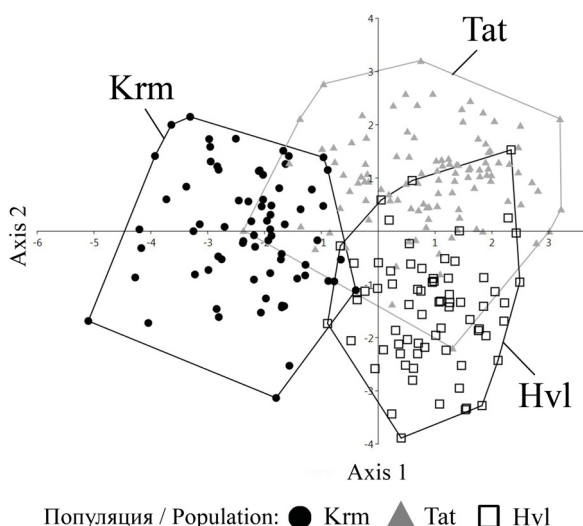


Рис. 4. Ординация точек, отвечающих растениям популяций *Delphinium pubiflorum*, методом канонического дискриминантного анализа

Fig. 4. Ordination of points corresponding to plants of *Delphinium pubiflorum* populations by the method of canonical discriminant analysis

Заключение

Таким образом, максимальное отличие по количественным характеристикам показали популяции Krm и Tat. Различия особей популяций в основном связаны с размерами листьев и количественными показателями осевой структуры, в частности длиной генеративного побега, а также генеративной сферой – длиной соцветия и сопряжённым с последней – количеством цветков. В полевых условиях при визуальной оценке состояния популяций также стоит отметить наилучшее состояние растений именно популяции из Татищевского района. Состояние особей популяции Krm было наихудшим, причём как по общему состоянию растений, так и по их количеству. Вероятнее всего, условия юга Саратовской области являются наименее оптимальными для роста и развития растений этого вида. Данная популяция требует дополнительного мониторинга и разработки мер по её охране.

Список литературы

1. Кашин А. С., Богослов А. В., Шилова И. В., Крицкая Т. А., Пархоменко А. С., Гребенюк Л. В., Петрова Н. А. Изменчивость морфологических признаков видов *Delphinium* (Ranunculaceae) Юго-Востока европейской части России // Ботанический журнал. 2019. Т. 104, № 7. С. 1090–1109.
2. Богослов А. В., Шилова И. В., Пархоменко А. С., Крицкая Т. А., Гребенюк Л. В., Кашин А. С. Состояние популяций видов *Delphinium* L. (Ranunculaceae,

Magnoliopsida) в Нижнем Поволжье и прилегающих территориях // Поволж. экол. журн. 2020. Вып. 3. С. 271–289.

3. Bogoslov A. V., Shilova I. V., Parkhomenko A. S., Kritskaya T. A., Grebenyuk L. V., Kashin A. S. Current state of populations of *Delphinium* L. (Ranunculaceae, Magnoliopsida) species in the Lower Volga region and adjacent territory // Biology Bulletin. 2020. Vol. 47, № 10. P. 1442–1451.
4. Красная книга Саратовской области: Грибы. Лишайники. Растения. Животные. Саратов: Папирус, 2021. 496 с.
5. Маевский П. Ф. Флора средней полосы европейской части России. М.: КМК, 2014. 600 с.
6. Цвелев Н. Н. Род 10. Живокость – *Delphinium* L. // Флора Восточной Европы. Т. 10. СПб.: Мир и семья; СПХФА, 2001. С. 66–74.
7. Красная книга Ульяновской области. М.: Буки Веди, 2015. 550 с.
8. Шилова И. В., Петрова Н. А., Ермолаева Н. Н., Кашин А. С., Архипова Е. А. О распространении видов рода *Delphinium* L. (Ranunculaceae) на территории Саратовской области // Ботанический журнал. 2016. Т. 101, № 7. С. 842–849.
9. Finot V. L., Soreng R. J., Giussani L. M., Munoz R. G. A multivariate morphometric delimitation of species boundaries in the South American genus *Nicoraepoa* (Poaceae: Pooideae: Poeae) // Pl. Syst. Evol. 2018. Vol. 304. P. 679–697.
10. Maia F. R., Goldenberg R. Morphometric analysis and the distinction between *Tibouchina hatschbachii* and *T. marumbiensis*: Morphological differentiation driven from the past // Pl. Syst. Evol. 2019. Vol. 305. P. 169–180.
11. Nobis M., Klichowska E., Nowak A., Gudkova P. D., Rola K. Multivariate morphometric analysis of the *Stipa turkestanica* group (Poaceae: *Stipa* sect. *Stipa*) // Pl. Syst. Evol. 2016. Vol. 302. P. 137–153.
12. Spaniel S., Zozomova-Lihova, J., Marhold K. Revised taxonomic treatment of the *Alyssum montanum*-*A. repens* complex in the Balkans: A multivariate morphometric analysis // Pl. Syst. Evol. 2017. Vol. 303. P. 1413–1442.
13. Torrecilla P., Acedo C., Marques I., Diaz-Perez A. J., Lopez-Rodriguez J. A., Mirones V., Sus A., Llamas F., Alonso A., Perez-Collazos E., Viruel J., Sahuquillo Sancho M. D., Komac B., Manso J. A., Segarra-Moragues J. G., Draper D., Villar L., Catalan P. Morphometric and molecular variation in concert: Taxonomy and genetics of the reticulate Pyrenean and Iberian alpine spiny fescues (*Festuca eskia* complex Poaceae) // Botanical Journal of the Linnean Society. 2013. Vol. 173. P. 676–706.

References

1. Kashin A. S., Bogoslov A. V., Shilova I. V., Kritskaya T. A., Parkhomenko A. S., Grebenyuk L. V., Petrova N. A. Variability of morphological features of *Delphinium* (Ranunculaceae) species in the South-East of the European part of Russia. *Botanicheskii Zhurnal*, 2019, vol. 104, no. 7, pp. 1090–1109 (in Russian).



2. Bogoslov A. V., Shilova I. V., Parkhomenko A. S., Kritskaya T. A., Grebenyuk L. V., Kashin A. S. Status of *Delphinium* L. (Ranunculaceae, Magnoliopsida) species populations in the Lower Volga region and adjacent territories. *Povolzhskiy Journal of Ecology*, 2020, iss. 3, pp. 271–289 (in Russian).
3. Bogoslov A. V., Shilova I. V., Parkhomenko A. S., Kritskaya T. A., Grebenyuk L. V., Kashin A. S. Current state of populations of *Delphinium* L. (Ranunculaceae, Magnoliopsida) species in the Lower Volga region and adjacent territory. *Biology Bulletin*, 2020, vol. 47, no. 10, pp. 1442–1451.
4. *Krasnaya kniga Saratovskoy oblasti: Griby. Lishayniki. Rasteniya. Zhivotnyye* [Red Data Book of the Saratov Region : Mushrooms. Lichens. Plants. Animals]. Saratov, Papirus Publ., 2021. 496 p. (in Russian).
5. Mayevskiy P. F. *Flora sredney polosy yevropeyskoy chasti Rossii* [Flora of the Middle Zone of the European Part of Russia]. Moscow, KMK Publ., 2014. 600 p. (in Russian).
6. Tzvelev N. N. Larkspur – *Delphinium* L. *Flora Vostochnoj Evropy. T. 10* [Flora of Eastern Europe. Vol. 10]. St. Petersburg, Mir i sem'ya, SPHFA Publ., 2001, pp. 66–74 (in Russian).
7. *Krasnaya kniga Ulyanovskoy oblasti* [Red Data Book of the Ulyanovsk Region]. Moscow, Buki Vedi Publ., 2015. 550 p. (in Russian).
8. Shilova I. V., Petrova N. A., Ermolaeva N. N., Kashin A. S., Arhipova E. A. On the distribution of species of the genus *Delphinium* L. (Ranunculaceae) in the Saratov region. *Botanicheskii Zhurnal*, 2016, vol. 101, no. 7, pp. 842–849 (in Russian).
9. Finot V. L., Soreng R. J., Giussani L. M., Munoz R. G. A multivariate morphometric delimitation of species boundaries in the South American genus *Nicoraepoa* (Poaceae: Pooideae: Poaceae). *Pl. Syst. Evol.*, 2018, vol. 304, pp. 679–697.
10. Maia F. R., Goldenberg R. Morphometric analysis and the distinction between *Tibouchina hatschbachii* and *T. marumbiensis*: Morphological differentiation driven from the past. *Pl. Syst. Evol.*, 2019, vol. 305, pp. 169–180.
11. Nobis M., Klichowska E., Nowak A., Gudkova P. D., Rola K. Multivariate morphometric analysis of the *Stipa turkestanica* group (Poaceae: *Stipa* sect. *Stipa*). *Pl. Syst. Evol.*, 2016, vol. 302, pp. 137–153.
12. Spaniel S., Zozomova-Lihova, J., Marhold K. Revised taxonomic treatment of the *Alyssum montanum-A. repens* complex in the Balkans: A multivariate morphometric analysis. *Pl. Syst. Evol.*, 2017, vol. 303, pp. 1413–1442.
13. Torrecilla P., Acedo C., Marques I., Diaz-Perez A. J., Lopez-Rodriguez J. A., Mirones V., Sus A., Llamas F., Alonso A., Perez-Collazos E., Viruel J., Sahuquillo Sancho M. D., Komac B., Manso J. A., Segarra-Moragues J. G., Draper D., Villar L., Catalan P. Morphometric and molecular variation in concert: Taxonomy and genetics of the reticulate Pyrenean and Iberian alpine spiny fescues (*Festuca eskia* complex Poaceae). *Botanical Journal of the Linnean Society*, 2013, vol. 173, pp. 676–706.

Поступила в редакцию 04.05.21, после рецензирования 12.05.21, принята к публикации 14.05.21
Received 04.05.21, revised 12.05.21, accepted 14.05.21



Известия Саратовского университета. Новая серия. Серия: Химия. Биология. Экология. 2021. Т. 21, вып. 3. С. 335–341

Izvestiya of Saratov University. Chemistry. Biology. Ecology, 2021, vol. 21, iss. 3, pp. 335–341

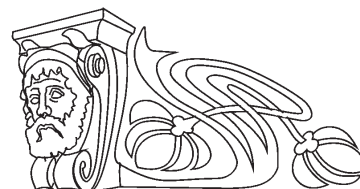
<https://ichbe.sgu.ru>

<https://doi.org/10.18500/1816-9775-2021-21-3-335-341>

Научная статья

УДК 58.084.2:58.009

Динамика демографической структуры и изменчивость некоторых морфологических параметров *Calophaca wolgarica* (Fabaceae) при реинтродукции в Саратовскую область



А. А. Денисов[✉], А. С. Пархоменко, И. В. Шилова, Л. В. Гребенюк, А. С. Кашин

Саратовский национальный исследовательский государственный университет имени Н. Г. Чернышевского, Россия, 410012, г. Саратов, ул. Астраханская, д. 83

Денисов Антон Александрович, лаборант отдела биологии и экологии растений УНЦ «Ботанический сад», boss.nhg@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0002-2887-758X>

Пархоменко Алёна Сергеевна, кандидат биологических наук, заведующая отделом биологии и экологии растений УНЦ «Ботанический сад», parkhomenko_as@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-9948-7298>

Шилова Ирина Васильевна, кандидат биологических наук, ведущий биолог отдела биологии и экологии растений УНЦ «Ботанический сад», schiva1952@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0002-9828-4229>

Гребенюк Людмила Владимировна, кандидат геолого-минералогических наук, ведущий биолог отдела биологии и экологии растений УНЦ «Ботанический сад», grebenuk2@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0003-0812-8861>

Кашин Александр Степанович, доктор биологических наук, профессор кафедры генетики, kashinas2@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0002-2342-2172>

Аннотация. Приводятся предварительные результаты исследований по реинтродукции *Calophaca wolgarica* на территорию Саратовской области. В период с 2018 по 2020 г. изучены возрастная структура искусственных насаждений и изменение морфологических параметров особей внутри них. Показано, что на территории Саратовской области лучше всего себя чувствуют искусственные насаждения данного вида около ООПТ «Тюльпанная степь у с. Максютово». В них отмечен переход растений из одного онтогенетического состояния в другое, появились первые генеративные растения, которые дали плоды. Условия местообитания искусственных насаждений около ООПТ «Урочище Иваново поле» можно оценить как удовлетворительные – рост растений идет медленнее, а количество особей, перешедших из одного возрастного состояния в другое, незначительно. Особи искусственных насаждений *C. wolgarica* на одной из террас утёса Степана Разина в основном погибли, оставшиеся показывают общую стагнацию и чрезвычайно незначительный рост без перехода в более поздние возрастные состояния.

Ключевые слова: *Calophaca wolgarica*, реинтродукция, онтогенетическая структура, морфометрия, Саратовская область

Для цитирования: Денисов А. А., Пархоменко А. С., Шилова И. В., Гребенюк Л. В., Кашин А. С. Динамика демографической структуры и изменчивость некоторых морфологических параметров *Calophaca wolgarica* (Fabaceae) при реинтродукции в Саратовскую область // Известия Саратовского университета. Новая серия. Серия: Химия. Биология. Экология. 2021. Т. 21, вып. 3. С. 335–341. <https://doi.org/10.18500/1816-9775-2021-21-3-335-341>

Статья опубликована на условиях лицензии Creative Commons Attribution 4.0 International (CC-BY 4.0)

Article

Dynamics of the demographic structure and variability of some morphological parameters of *Calophaca wolgarica* (Fabaceae) during reintroduction to the Saratov region

А. А. Denisov[✉], А. S. Parkhomenko, I. V. Shilova, L. V. Grebenyuk, A. S. Kashin

Saratov State University, 83 Astrakhanskaya St., Saratov 410012, Russia

Anton A. Denisov, boss.nhg@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0002-2887-758X>

Alena S. Parkhomenko, parkhomenko_as@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-9948-7298>

Irina V. Shilova, schiva1952@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0002-9828-4229>

Luydmila V. Grebenyuk, grebenuk2@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0003-0812-8861>

Alexandr S. Kashin, kashinas2@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0002-2342-2172>

Abstract. Preliminary results of studies on the reintroduction of *Calophaca wolgarica* to the territory of the Saratov region are presented. In the period from 2018 to 2020, the age structure of artificial plantings and changes in the morphological parameters of individuals within them



were studied. It is shown that on the territory of the Saratov region, artificial plantings of this species are best located near the protected area "Tulip Steppe near the village of Maksyutovo". They marked the transition of plants from one ontogenetic state to another, the first generative plants appeared, which gave fruit. The habitat conditions of artificial plantings near the protected area "Ivanovo Field Tract" can be assessed as satisfactory – plant growth is slower, and the number of individuals that have passed from one age state to another is insignificant. Individuals of artificial plantings of *C. wolgarica* on one of the terraces of the Stepan Razin cliff mostly died, the remaining ones show general stagnation and extremely insignificant growth without transition to later age states.

Keywords: *Calophaca wolgarica*, reintroduction, ontogenetic structure, morphometry, Saratov region

For citation: Denisov A. A., Parkhomenko A. S., Shilova I. V., Grebenyuk L. V., Kashin A. S. Dynamics of the demographic structure and variability of some morphological parameters of *Calophaca wolgarica* (Fabaceae) during reintroduction to the Saratov region. *Izvestiya of Saratov University. Chemistry. Biology. Ecology*, 2021, vol. 21, iss. 3, pp. 335–341. <https://doi.org/10.18500/1816-9775-2021-21-3-335-341>

This is an open access article distributed under the terms of Creative Commons Attribution 4.0 International License (CC-BY 4.0)

Введение

Майкараган волжский (*Calophaca wolgarica* (L. fil.) DC.) – высокодекоративный засухоустойчивый кустарник семейства Fabaceae. Является эндемиком Юго-Восточной Европы и нуждается в охране [1]. Вид занесен в Красную книгу Российской Федерации со статусом 2а – вид, сокращающийся в численности [2]. Единственное указание на сборы *C. wolgarica* на территории Саратовской области к югу от верховьев р. Иловля датируется 1869–1870 гг. [3, 4]. В научной литературе отсутствуют сведения о находках в более поздний период майкарагана волжского на территории Саратовской области. Современными сборами произрастание вида в регионе не подтверждается (гербарии SARAT, SARBG). Среди редких и исчезающих растений Красной книги Саратовской области данный вид не указан. В связи с этим представляется актуальным изучение возможности реинтродукции *C. wolgarica* на территориях Саратовской области, оптимальных для его произрастания [5].

Целью работы было изучение динамики возрастной структуры и изучение изменчивости некоторых морфологических параметров в искусственных насаждениях майкарагана волжского в Саратовской области.

Материалы и методы

Исследования проводились с 2018 по 2020 г. в трех местах произрастания искусственных насаждений *C. wolgarica*, созданных на территории

Саратовской области. Материалом для реинтродукции служили семена майкарагана волжского, собранные из естественных популяций вида в Волгоградской области с 2013 по 2015 г. семена высевали поздней осенью в количестве 100 шт. на площадку размером 1×2 м. В каждом месте посева создавали по 5 таких площадок [5]. Искусственные насаждения в Пугачевском р-не около ООПТ «Тюльпанная степь у с. Максютово» произрастают на пологом склоне юго-западной экспозиции с темно-каштановыми карбонатными почвами при среднегодовом количестве осадков около 360 мм. Второе место произрастания искусственных насаждений находится в Федоровском р-не около ООПТ «Урочище Иваново поле» на склоне западной экспозиции с темно-каштановыми карбонатными почвами при среднегодовом количестве осадков около 270 мм. Третье место произрастания искусственных насаждений находится в Красноармейском р-не в окр. с. Белогорское, на одной из террас утёса Степана Разина на вершине холма с неполноразвитыми среднекаменистыми почвами при среднегодовом количестве осадков около 370 мм.

В исследованных насаждениях *C. wolgarica* выделяли следующие возрастные состояния особей: ювенильное (j) – имеет только побег первого порядка; имматурное (im) – присутствуют зачатки или уже развитые побеги второго порядка; виргинильное (v) – имеются побеги третьего и четвертого порядка с одревеснением; молодое генеративное (g₁) – наличие цветков и плодов [6] (рис. 1).

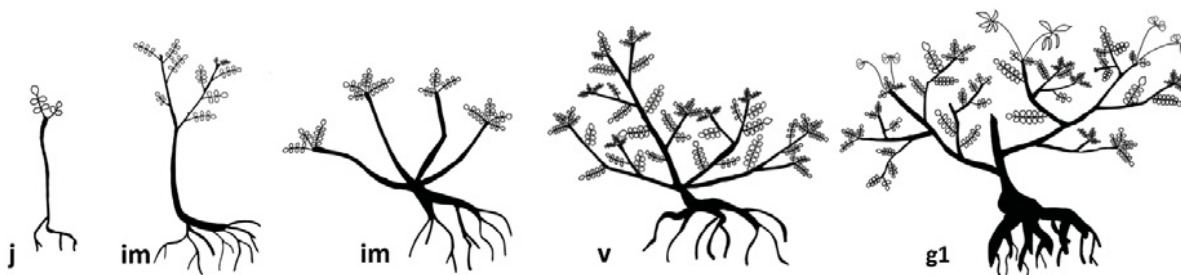


Рис. 1. Онтогенетические состояния *Calophaca wolgarica*: j – ювенильная особь; im – имматурная особь; v – виргинильная особь; g₁ – молодая генеративная особь

Fig. 1. Ontogenetic states of *Calophaca wolgarica*: j – juvenile; im – immature; v – virginal; g₁ – young generative individuals



У каждого растения *C. wolgarica* измеряли 14 морфометрических параметров: высоту и диаметр куста, количество побегов первого и второго порядка, длину побегов первого и второго порядка, длину и диаметр междоузлия, количество листьев на основном побеге, длину и ширину листа, количество листочков сложного листа, длину и ширину листочка. Статистическую обработку проводили с использованием программ Microsoft Office Excel и STATISTICA 6.0.

Результаты и их обсуждение

Результаты исследования онтогенетической структуры искусственных насаждений представлены в табл. 1. По онтогенетическим спектрам они в основном относятся к инвазионным, т.е. состоящим из особей прегенеративного периода [7].

Больше всего растений *C. wolgarica* отмечено в искусственных насаждениях около ООПТ «Тюльпанная степь у с. Максютово».

Таблица 1 / Table 1

Возрастные состояния особей *Calophaca wolgarica* в искусственных насаждениях на территории Саратовской области в 2018–2020 гг.
Age states of individuals of *Calophaca wolgarica* in artificial plantings in the Saratov region in 2018–2020

Искусственные насаждения Artificial plantings	Год Year	Количество, шт. / Quantity, pcs.				
		j	im	v	g ₁	Общее / Total
Тюльпанная степь у с. Максютово / Tyul'pannaya step' u s. Maksyutovo	2018	56	34	6	0	96
	2019	45	37	9	2	93
	2020	27	23	19	2	71
Урочище Иваново поле / Urochishche Ivanovo pole	2018	61	5	0	0	66
	2019	47	8	1	0	56
	2020	42	11	3	0	56
Утёс Степана Разина / Cliff of Stepan Razin	2018	8	0	0	0	8
	2019	7	0	0	0	7
	2020	7	0	0	0	7

В 2018 г. здесь насчитывалось 96 особей. К 2020 г. их число снизилось до 71 шт. Погибла часть ювенильных и имматурных особей. Снижение численности произошло, вероятно, вследствие сильной засухи поздней весной и летом 2018 и 2019 гг. [8]. Несмотря на снижение численности, в этих насаждениях с 2018 по 2020 г. увеличилось количество виргинильных особей (с 6 до 19 шт.). В 2019 г. впервые появились генеративные особи. Два растения не только зацвели, но и дали нормальные, выполненные плоды, что является важным показателем успешности реинтродукции.

Искусственные насаждения около ООПТ «Урочище Иваново поле» являются вторыми по количеству растений *C. wolgarica*. В 2018 г. здесь насчитывалось 66 ювенильных и имматурных особей. Из них десять растений к 2020 г. погибли, скорее всего, по тем же причинам, что и в насаждениях около ООПТ «Тюльпанная степь у с. Максютово». При этом в 2019 г. здесь появляется первое виргинильное растение, а к 2020 г. их количество увеличилось до 3 шт., т. е. развитие растений идет, но медленно, так как количество особей, перешедших из одного возрастного состояния в другое, незначительно.

Самое маленькое по численности выживших особей – третье искусственное насаждение на

одной из террас утёса Степана Разина. Кроме того, в нём чрезвычайно замедлен рост реинтродуцированных растений. В период с 2018 по 2020 г. наблюдались только ювенильные особи (8 и 7 шт. соответственно). Уменьшение количества особей связано с гибелью одного растения в 2019 г. Медленный рост и развитие растений указывает на неблагоприятные условия в данном местообитании для реинтродукции *C. wolgarica*.

Изменчивость морфометрических параметров в искусственных насаждениях представлена в табл. 2.

В исследованных насаждениях наблюдалось увеличение высоты растений. В особенности выделялись имматурные особи в насаждениях около ООПТ «Урочище Иваново поле», у которых высота за 2019–2020 гг. увеличилась в 1.8 раза, и виргинильные особи в насаждениях около ООПТ «Тюльпанная степь у с. Максютово», где прирост этих особей за два последних полевых сезона увеличился в 1.6 раза. Также в этих насаждениях в последний год в 2 раза подросли и молодые генеративные растения. В насаждении на одной из террас утёса Степана Разина в течение всего периода исследования высота растений оставалась почти без изменений.

Во всех трёх местах произрастания искусственных насаждений у особей увеличился



Таблица 2 / Table 2

Морфометрические параметры особей *Salorhiza wolgarica* в искусственных насаждениях при реинтродукции в Саратовскую область в 2018–2020 гг.
Morphometric parameters of individuals of *Salorhiza wolgarica* in artificial plantings during reintroduction to the Saratov region in 2018–2020.

Морфологический параметр / Morphological parameter	Год / Year	Тюльпанная степь у с. Максотова / Туль'pannaya step' u s. Maksutovo				Урочище Иваново поле / Urochishche Ivanovo pole				Утёс Степана Разина / Cliff of Stepan Razin
		j	im	v	g ₁	j	im	v	v	
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	
Высота растения, мм / Plant height, mm	2018	35.8±1.7	85.2±5.3	126.7±20.3	–	42.1±1.9	71.0±4.0	–	31.6±6.3	
	2019	37.7±2.3	89.5±4.6	152.2±14.2	130.0±60.0	33.0±2.1	64.4±4.8	220.0	40.7±6.5	
	2020	41.9±3.1	89.4±4.2	200.0±16.9	260.0±60.0	41.1±2.2	113.2±10.7	233.3±12.0	31.4±5.0	
	2018	28.6±2.1	96.5±8.5	288.3±52.6	–	27.7±1.5	85.0±16.8	–	16.1±1.4	
Диаметр куста, мм / Bush diameter, mm	2019	33.3±2.6	96.5±6.3	255.6±54.5	620.0±150.0	27.7±1.7	67.5±4.5	230.0	39.3±4.8	
	2020	36.9±2.8	98.9±6.7	294.2±23.3	780.0±190.0	32.4±2.2	106.4±9.6	250.0±25.2	31.4±2.4	
	2018	1.4±0.2	1.8±0.2	4.2±0.9	–	1.1±0.1	1.8±0.5	–	1	
	2019	1.2±0.1	2.7±0.2	6.2±1.4	10.5±6.5	1.2±0.1	1.9±0.2	8.0	1	
Кол-во побегов 1-го порядка, шт. / Amount of 1 st order sprigs, pcs	2020	1.0±0.1	1.8±0.2	7.6±1.7	18.5±7.5	1.2±0.1	2.4±0.4	6.3±2.0	1	
	2018	0	2.9±0.4	13.2±3.0	–	0	1.2±0.7	–	0	
	2019	0	1.5±0.3	7.7±1.5	14.0±2.0	0	1.8±0.5	9.0	0	
	2020	0	1.8±0.3	3.1±0.8	30.5±12.5	0	0.2±0.2	1.3±1.3	0	
Длина побега 1-го порядка, мм / Length of 1 st order sprig, mm	2018	41.0±2.1	105.9±7.5	208.3±32.9	–	25.9±1.3	38.0±8.0	–	21.3±4.7	
	2019	21.6±2.4	73.4±5.2	168.3±35.8	310.0±70.0	22.4±1.5	47.5±5.2	220.0	40.7±6.5	
	2020	42.1±3.3	89.4±4.3	235.0±21.1	405.0±125.0	41.0±2.3	113.2±9.9	198.3±28.0	31.4±5.0	
	2018	0	43.4±4.6	110.0±14.8	–	0	8.0±5.2	–	0	
Длина побега 2-го порядка, мм / Length of 2 nd order sprig, mm	2019	0	5.9±2.2	6.4±1.9	27.5±2.5	0	6.3±2.1	25.0	0	
	2020	0	53.0±7.8	89.8±21.9	180.0±10.0	0	4.6±4.6	43.3±43.3	0	
	2018	11.8±0.9	14.8±1.1	18.0±2.0	–	4.8±0.2	6.0±1.0	–	2.5±0.5	
	2019	2.6±0.4	10.1±0.8	18.1±2.0	21.5±5.5	1.4±0.1	2.1±0.4	19.0	17.1±3.6	
Длина междоузлия, мм / Internode length, mm	2020	4.5±0.2	7.5±0.6	12.3±1.0	15.9±0.7	4.2±0.2	7.2±0.6	8.4±0.6	7.6±1.8	
	2018	1.3±0.1	5.7±0.2	4.0±1.2	–	1.1±0.1	16.0±0.3	–	1.6±0.2	
	2019	1.0±0.1	1.7±0.3	1.8±0.2	2.9±0.2	1.1±0.2	1.4±0.1	1.6	1.8±0.2	
	2020	1.3±0.1	1.6±0.1	2.1±0.1	3.7±1.4	1.4±0.1	1.5±0.1	2.5±0.1	1.8±0.2	



Окончание таблицы 2 / End of the Table 2

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Кол-во листьев, шт. / Amount of leafs, pcs	2018	4.8±0.2	22.7±2.8	27.8±4.6	–	4.9±0.3	8.0±1.9	–	4.0±1.1
	2019	5.2±0.4	10.7±1.0	31.0±7.4	68.5±1.5	4.7±0.4	11.9±1.4	33.0	6.6±1.4
	2020	7.2±1.2	17.1±2.0	32.9±4.0	110.5±85.5	4.5±0.3	11.8±1.9	30.3±5.2	6.4±1.7
Длина листа, мм / Leaf length, mm	2018	20.0±1.2	37.9±2.3	50.8±4.2	–	22.7±1.0	49.8±6.4	–	13.9±1.5
	2019	24.9±1.2	47.4±2.1	57.8±4.7	72.5±2.5	22.2±1.3	41.9±2.1	55.0	27.1±3.2
	2020	24.7±1.5	47.2±2	66.3±2.7	75.0±5.0	30.0±2.0	56.4±5.2	73.3±4.4	21.4±1.8
Ширина листа, мм / Leaf width, mm	2018	9.8±0.4	14.6±0.9	14.2±0.8	–	11.1±0.3	14.8±1.8	–	8.0±1.1
	2019	12.3±0.5	16.7±0.7	19.3±1.2	17.0±5.0	11.0±0.4	14.3±0.3	20.0	13.0±1.1
	2020	11.8±0.6	17.5±0.8	21.3±0.6	21.5±1.5	13.8±0.8	18.7±1.2	21.0±1.0	10.4±0.6
Кол-во листочков, шт. / Amount of leaflets, pcs	2018	4.7±0.2	7.7±0.5	13.3±1.9	–	4.5±0.2	8.2±0.5	–	4.8±0.3
	2019	5.0±0.3	8.4±0.4	10.8±0.6	17.5±0.5	4.9±0.3	7.5±0.7	11.0	6.1±0.4
	2020	4.9±0.3	7.0±0.4	11.4±0.5	17.0	5.6±0.3	8.0±0.7	10.3±0.7	5.4±0.4
Длина листочка, мм / Leaflet length, mm	2018	5.9±0.2	7.9±0.3	7.9±0.6	–	5.7±0.2	8.1±0.8	–	4.2±0.3
	2019	6.5±0.3	8.7±0.4	9.3±0.5	11.0±1.0	6.2±0.3	7.8±0.2	11.0	6.5±0.5
	2020	6.4±0.3	8.9±0.3	10.0±0.3	9.9±1.8	6.2±0.3	9.1±0.5	8.8±0.4	7.4±0.5
Ширина листочка, мм / Leaflet width, mm	2018	4.8±0.2	6.4±0.3	5.5±0.3	–	4.2±0.1	5.7±0.5	–	2.3±0.2
	2019	5.4±0.3	7.1±0.3	7.8±0.5	9.0±1.0	5.3±0.2	6.5±0.3	9.0	4.1±0.2
	2020	5.4±0.3	7.1±0.3	8.2±0.3	6.7±0.3	5.7±0.2	7.5±0.4	7.0±0.2	4.8±0.4

Примечание. Прочерк в ячейках обозначает отсутствие значений по данному параметру.
Note. A dash in the cells indicates the absence of values for this parameter.



диаметр куста. Так, у иматурных особей в насаждениях около ООПТ «Урочище Иваново поле» за 2019–2020 гг. средний диаметр куста увеличился в 1.6 раза, а в насаждении на одной из террас утёса Степана Разина их диаметр за тот же период увеличился в 2.4 раза. В насаждениях около ООПТ «Тюльпанная степь у с. Максютново» у двух генеративных особей диаметр куста увеличился в 1.3 раза.

Среднее количество побегов первого порядка и их длина увеличивались во всех трех местах произрастания искусственных насаждений.

Длина и диаметр междоузлия являются параметрами, меняющимися год от года без какой-либо закономерности.

Количество, длина, ширина листьев на основном побеге и листочков сложного листа во всех местах произрастания искусственных насаждений постепенно увеличивались. Отмечена потеря листьев на основном побеге у иматурных особей в насаждениях около ООПТ «Тюльпанная степь у с. Максютново» в 2018–2019 гг., что, скорее всего, связано с их повреждением паразитами.

Заключение

Таким образом, лучше всего себя чувствуют искусственные насаждения *C. wolgarica* около ООПТ «Тюльпанная степь у с. Максютново». В них в период наблюдения с 2018 по 2020 г. была незначительная гибель особей, отмечен переход растений из одного онтогенетического состояния в другое, появились первые молодые генеративные растения, которые дали зрелые плоды, что является важным показателем успешности реинтродукции.

Условия местообитания искусственных насаждений около ООПТ «Урочище Иваново поле» можно оценить как удовлетворительные – рост растений идет медленнее, а количество особей, перешедших из одного возрастного состояния в другое, незначительно.

Искусственное насаждение на одной из террас утёса Степана Разина показывает общую стагнацию. Большая часть особей в нём не возшла, погибла ещё до начала мониторинга, у оставшихся – наблюдался лишь незначительный прирост. Особи произрастают на рухляке, слабо удерживающем влагу, что, скорее всего, и является неблагоприятным для реинтродукции *C. wolgarica* условием.

Список литературы

1. Тахтаджян А. Л. Редкие и исчезающие виды флоры СССР, нуждающиеся в охране. Л.: Наука. Ленингр. отд-ние, 1981. 264 с.

2. Красная книга Российской Федерации: растения и грибы. М.: Товарищество научных изданий КМК, 2008. 855 с.
3. Борисова А. Г. Род *Calophaca* Fisch. – Майкараган // Флора Юго-Востока европейской части СССР. Вып. 5. М.; Л.: Гос. изд-во с.-х. и колх.-коопер. лит., 1931. 585 с.
4. Баум О. О. Отчёт о ботанических исследованиях на правом берегу Волги между Казанью и Сарептой // Протоколы заседаний общества естествоиспытателей при Императорском Казанском университете. 1869–1870 гг. Казань, 1870. С. 65–73.
5. Куликова Л. В., Кашин А. С., Шилова И. В., Петрова Н. А. Результаты реинтродукции *Calophaca wolgarica* (L. Fil.) DC. в Саратовскую область // Научные труды Национального парка «Хвалынский». 2018. Вып. 11. С. 62–71.
6. Куликова Л. В., Кашин А. С., Шилова И. В., Пархоменко А. С., Лаврентьев М. В. Динамика возрастной структуры искусственных популяций *Calophaca wolgarica* (L. Fil.) DC. в Саратовской области // Материалы X междунар. конф. по экологической морфологии растений, посвященной памяти Ивана Григорьевича и Татьяны Ивановны Серебряковых. М.: Московский пед. гос. ун-т, 2019. С. 85–91.
7. Османова Г. О., Животовский Л. А. Онтогенетический спектр как индикатор состояния ценопопуляций растений // Известия РАН. Серия Биологическая. 2020. № 2. С. 144–152. <https://doi.org/10.31857/S0002332920020058>
8. Кашин А. С., Куликова Л. В., Петрова Н. А., Шилова И. В., Пархоменко А. С., Лаврентьев М. В. Онтогенетическая структура ценопопуляций *Bulbocodium versicolor* (Melanthiaceae) в Нижнем Поволжье // Ботанический журнал. 2020. Т. 105, № 5. С. 479–496. <https://doi.org/10.31857/S000681362005004X>

References

1. Tahtadzhyan A. L. *Redkie i ischezayushchie vidy flory SSSR, nuzhdayushchiesya v ohrane* [Rare and Endangered Species of Flora of the USSR in Need of Protection]. Leningrad, Nauka, Leningradskoe otделение Publ., 1981. 264 p. (in Russian).
2. *Krasnaya kniga Rossiyskoy Federatsii: rasteniya i griby* [Red Data Book of the Russian Federation: Plants and Mushrooms]. Moscow, Tovarischestvo nauchnykh izdaniy KMK Publ., 2008. 855 p. (in Russian).
3. Borisova A. G. The genus of *Calophaca* Fisch. – Майкараган. *Flora Yugo-Vostoka evropeyskoy chasti SSSR*, вып. 5 [Flora of the South-East of the European Part of the USSR, iss. 5]. Moscow, Leningrad, Gos. izd-vo s.-kh. i kolhk.-koop. lit. Publ., 1931. 585 p. (in Russian).
4. Baum O. O. Report on botanical research on the right bank of the Volga between Kazan and Sarepta. In: *Protokoly zasedaniy obshchestva estestvoispytatelej pri Imperatorskom Kazanskom universitete* [Minutes of



- meetings of the Society of Naturalists at the Imperial Kazan University]. 1869 – 1870 biennium. Kazan, 1870, pp. 65–73 (in Russian).
5. Kulikova L. V., Kashin A. S., Shilova I. V., Petrova N. A. The results of the reintroduction of *Calophaca wolgarica* (L. FIL.) DC to the Saratov oblast. *Scientific Papers of Khvalynsky National Park*, 2018, vol. 11, pp. 62–71 (in Russian).
 6. Kulikova L. V., Kashin A. S., Shilova I. V., Parkhomenko A. S., Lavrentyev M. V. Dynamics of the age structure in the unnatural populations *Calophaca wolgarica* (L. Fl.) DC. of Saratov region. *Materialy X mezhdunarodnoj konferencii po ekologicheskoy morfologii rastenij. posvyashchennoj pamyati Ivana Grigor'evicha i Tat'yany Ivanovny Serebryakovyh* [Materials of the X International Conference on Ecological Morphology of Plants Dedicated to the Memory of Ivan Grigorievich and Tatiana Ivanovna Serebryakov]. Moscow, Moskovskiy gos. ped. un-t, 2019, pp. 85–91 (in Russian).
 7. Osmanova G. O., Zhivotovsky L. A. Ontogenetic Spectrum as an Indicator of the Status of Plant Populations. *Izvestiya RAN. Biology series*, 2020, № 2, pp. 144–152 (in Russian). <https://doi.org/10.31857/S0002332920020058>
 8. Kashin A. S., Kulikova L. V., Petrova N. A., Shilova I. V., Parhomenko A. S., Lavrentyev M. V. Ontogenetic structure of *Bulbocodium versicolor* (Melanthiaceae) cenopopulations in the Lower Volga region. *Botanicheskii zhurnal*, 2020, vol. 105, no. 5, pp. 479–496 (in Russian). <https://doi.org/10.31857/S000681362005004X>

Поступила в редакцию 05.05.21, после рецензирования 10.05.21, принята к публикации 13.05.21
Received 05.05.21, revised 10.05.21, accepted 13.05.21



Известия Саратовского университета. Новая серия. Серия: Химия. Биология. Экология. 2021. Т. 21, вып. 3. С. 342–346

Izvestiya of Saratov University. Chemistry. Biology. Ecology, 2021, vol. 21, iss. 3, pp. 342–346

<https://ichbe.sgu.ru>

<https://doi.org/10.18500/1816-9775-2021-21-3-342-346>

Научная статья

УДК 58.009

Пространственно-возрастная структура ценопопуляций *Globularia bisnagarica* L. (Plantaginaceae) в северо-восточной части ареала



А. О. Кондратьева[✉], А. С. Пархоменко, А. С. Кашин

Саратовский национальный исследовательский государственный университет имени Н. Г. Чернышевского, Россия, 410012, г. Саратов, ул. Астраханская, д. 83

Кондратьева Анна Олеговна, ведущий биолог лаборатории микрклонального размножения растений УНЦ «Ботанический сад», porova.ao@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0001-5000-8914>

Пархоменко Алена Сергеевна, кандидат биологических наук, заведующая отделом биологии и экологии растений УНЦ «Ботанический сад», parkhomenko_as@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-9948-7298>

Кашин Александр Степанович, доктор биологических наук, профессор кафедры генетики, kashinas2@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0002-2342-2172>

Аннотация. Представлены результаты изучения пространственно-возрастной структуры пяти ценопопуляций вида *Globularia bisnagarica* L., произрастающих на территории Оренбургской области и Республики Татарстан. Анализ возрастной структуры с применением алгоритма программы OntoParam выявил гетерогенность онтогенетических спектров большинства ценопопуляций. Оценка параметров средней возрастности, индекса восстановления и индекса старения показала, что большинство ценопопуляций способны к самовосстановлению и поддержанию численности. Анализ пространственной структуры с учетом онтогенетического состояния особей показал, что пространственное взаиморасположение прегенеративных и генеративных особей в большинстве случаев носит случайный характер, что говорит об отсутствии каких-либо ярко выраженных взаимодействий между растениями этих возрастных групп. В ценопопуляции из Северного р-на Оренбургской области отмечена небольшая разреженность во взаиморасположении прегенеративных и генеративных особей, что может быть обусловлено влиянием внутривидовой конкуренции.

Ключевые слова: *Globularia bisnagarica* L., пространственно-возрастная структура, R-среда

Благодарности: Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда (проект № 21-74-00004).

Для цитирования: Кондратьева А. О., Пархоменко А. С., Кашин А. С. Пространственно-возрастная структура ценопопуляций *Globularia bisnagarica* L. (Plantaginaceae) в северо-восточной части ареала // Известия Саратовского университета. Новая серия. Серия: Химия. Биология. Экология. 2021. Т. 21, вып. 3. С. 342–346. <https://doi.org/10.18500/1816-9775-2021-21-3-342-346>

Статья опубликована на условиях лицензии Creative Commons Attribution 4.0 International (CC-BY 4.0)

Article

Spatial-ontogenetic structure of *Globularia bisnagarica* L. (Plantaginaceae) cenopopulations

А. О. Kondratieva[✉], А. S. Parkhomenko, А. S. Kashin

Saratov State University, 83 Astrakhanskaya St., Saratov 410010, Russia

Anna O. Kondratieva, popova.ao@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0001-5000-8914>

Alena S. Parkhomenko, parkhomenko_as@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-9948-7298>

Alexandr S. Kashin, kashinas2@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0002-2342-2172>

Abstract. The results of studying the spatial-ontogenetic structure of five cenopopulations of *Globularia bisnagarica* L. on the territory of the Orenburg region and the Republic of Tatarstan are presented. Analysis of the age structure using the OntoParam program algorithm revealed the heterogeneity of ontogenetic spectra in most cenopopulations. Assessment of the parameters of average age, recovery index and ageing index showed that most cenopopulations are capable of self-restoration and maintenance of numerosity. Analysis of spatial structure taking into account the ontogenetic state of individuals showed that the spatial relationships between pregenerative and generative individuals is random in most cases, which indicates the absence of any pronounced interactions between plants from these age groups. In the cenopopulation from Severny district of the Orenburg region, there is a slight sparseness in the mutual arrangement of pregenerative and generative individuals, which may be due to the influence of intraspecific competition.

Key words: *Globularia bisnagarica* L., spatial-ontogenetic structure, R-environment

Acknowledgements: This work was supported by the Russian Science Foundation (project No. 21-74-00004).



For citation: Kondratieva A. O., Parkhomenko A. S., Kashin A. S. Spatial-ontogenetic structure of *Globularia bisnagarica* L. (Plantaginaceae) cenopopulations. *Izvestiya of Saratov University. Chemistry. Biology. Ecology*, 2021, vol. 21, iss. 3, pp. 342–346. <https://doi.org/10.18500/1816-9775-2021-21-3-342-346>

This is an open access article distributed under the terms of Creative Commons Attribution 4.0 International License (CC-BY 4.0)

Введение

Для оценки состояния ценопопуляций редких видов растений традиционно применяются методы популяционной экологии, при этом пространственная и возрастная структуры являются важными диагностическими параметрами, позволяющими охарактеризовать устойчивость популяции на данном этапе своего развития [1, 2]. Анализ пространственного взаиморасположения особей разных возрастных групп позволяет выявить специфику их взаимоотношений внутри ценопопуляции и оценить степень влияния внутривидовой конкуренции, аллелопатии, способа диссеминации на формирование пространственного рисунка ценопопуляции.

Объектом исследования является редкий, реликтовый вид *Globularia bisnagarica* L. (Plantaginaceae) с дизъюнктивным ареалом. Это многолетнее травянистое растение, местообитания которого приурочены к эродированным формам рельефа с выходом на поверхность карбонатных пород. Основная часть ареала находится в Атлантической, Центральной, Южной и Юго-Вос-

точной Европе, Средиземноморье. На территории Российской Федерации ареал вида представлен двумя дизъюнктами: первый из них охватывает несколько регионов Среднего Поволжья: Самарскую, Ульяновскую, Саратовскую области, а также Оренбургскую обл., Республику Татарстан и Башкортостан. Второй дизъюнкт находится на значительном удалении от первого и включает в себя местообитания вида в пределах Ставропольской возвышенности. Вид включен в Красную книгу Российской Федерации, Республик Башкортостан и Татарстан, а также в Красные книги всех регионов, на территории которых встречается [3].

Материалы и методы

Исследование проводилось в 2020 г. в пяти ценопопуляциях (ЦП) *G. bisnagarica*, произрастающих на территории Оренбургской обл. (Alb – Пономаревский р-н, окр. с. Алябьево; Slт – Александровский р-н, окр. с. Султакай; Bkv – Северный р-н, окр. с. Бакаево) и Республики Татарстан (Bvl – Бавлинский р-н, окр. г. Бавлы; Krb – Бугульминский р-н, окр. п. Карабаш) (рис. 1).

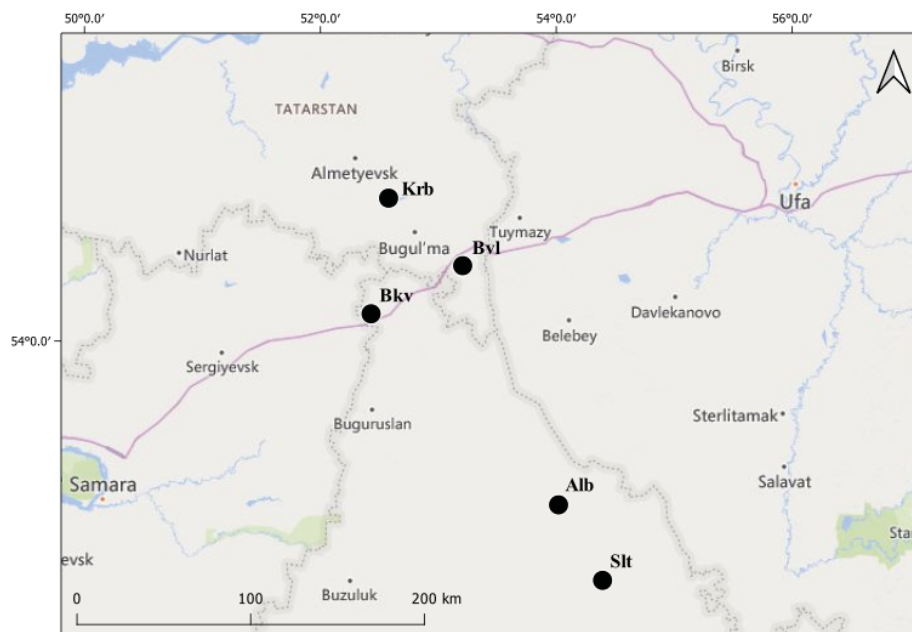


Рис. 1. Местоположение исследованных ценопопуляций *Globularia bisnagarica* L.: Alb – Оренбургская обл., Пономаревский р-н, окр. с. Алябьево; Slт – Оренбургская обл., Александровский р-н, окр. с. Султакай; Bkv – Оренбургская обл., Северный р-н, окр. с. Бакаево; Bvl – Республика Татарстан, Бавлинский р-н, окр. г. Бавлы; Krb – Республика Татарстан, Бугульминский р-н, окр. п. Карабаш (цвет online)

Fig. 1. Location of the studied *Globularia bisnagarica* cenopopulations: Alb – Orenburg region, Ponomarevsky district, Alyabyevo; Slт – Orenburg region, Aleksandrovsky district, Sultakay; Bkv – Orenburg region, Severny district, Bakaevo; Bvl – Republic of Tatarstan, Bavlinsky district, Bavly; Krb – Republic of Tatarstan, Bugulminsky district, Karabash (color online)



Для каждой ЦП в пределах постоянной пробной площади случайным образом закладывались 7 учетных площадок площадью 1 м², на которых подсчитывались особи *G. bisnagarica* с учетом онтогенетических состояний. Для анализа онтогенетических спектров исследуемых ЦП использовались такие параметры, как средняя возрастность [4], индекс восстановления и индекс старения [5, 6]. Данные индексы позволяют судить о способности ЦП к самоподдержанию и самовосстановлению численности. Согласно методике сбора материала каждая выборка (ЦП) включает в себя данные нескольких субвыборок (учетных площадок). В связи с этим при оценке и сравнении онтогенетических параметров необходимо учитывать особенности распределения данных, так как от этого зависит обоснованность применения тех или иных статистических методов. В данной работе использовался алгоритм статистической обработки, представленный в программе OntoParam [7].

Для выявления особенностей пространственной структуры ЦП две учетные площадки были зартированы с использованием условных обозначений, указывающих на принадлежность особей к той или иной возрастной группе. Далее карты-схемы сканировались, а полученные изображения оцифровывались для съемки условных координат размещения особей в пределах площадок.

Пространственный анализ выполнялся с использованием программного пакета Spatstat [8]. С целью упрощения процедуры пространственного анализа и интерпретации его результатов выделялись две возрастные группы: прегенеративная и генеративная. Первый этап анализа представлял собой оценку интенсивности процесса, порождающего наблюдаемый пространственный рисунок, и ее визуализацию в виде карт локальных плотностей [9]. Анализ пространственных взаимодействий между прегенеративными и генеративными

особями осуществлялся с применением парной корреляционной функции (*pair correlation function, pcf*) кросс-типа [10]. Для определения значимости отклонений поведения эмпирических функций от их теоретических значений использовался метод на основе симуляций Монте-Карло [11]. С помощью данного метода выявлялась область принятия нулевой гипотезы о полной пространственной случайности и независимости компонентов (*Completely spatial randomness and independence of components, CSRI*). Выход функции за нижнюю границу области интерпретируется как разреженность в наблюдаемом точечном рисунке, превышение функции над областью указывает на наличие агрегаций. Все вычисления проводились в среде статистического программирования R [12].

Результаты и их обсуждение

Гетерогенность онтогенетических спектров учетных площадок была обнаружена в четырех ЦП *G. bisnagarica*, т.е. условие однородности учетных площадок соблюдалось лишь в одной ЦП – Bv1. Было установлено, что значения средней возрастности и индекса старения в разных ценопопуляциях достоверно различаются. Парные сравнения показали, что наиболее отличающейся от всех других исследованных популяций является ЦП Bv1. При этом для нее характерны максимальные значения средней возрастности и индекса старения, наряду с минимальной средней плотностью особей на площадке. Минимальное значение средней возрастности и максимальная средняя плотность особей отмечены в ЦП Krb (таблица). Сравнение значений индекса восстановления не выявило достоверных различий между популяциями по данному параметру. Его среднее значение составило 0.79. Доля влияния изменчивости по значению средней возрастности в общей изменчивости всех онтогенетических спектров составила 0.6, по индексу старения 0.5.

Средняя возрастность и индекс старения в ценопопуляциях *Globularia bisnagarica*
Average age and aging index in *Globularia bisnagarica* cenopopulations

ЦП / Cenopopulation	Количество пробных пло- щадок, шт. / Number of sample plots, pcs	Число растений на площадке (min–max), шт. / Number of plants on plot (min–max), pcs	Средняя плотность особей на площадке шт./м ² / Mean density of individuals on plot, pcs/m ²	Значение средней возрастности и его 95% доверительный интервал / Average age value and its 95% confidence interval	Индекс старения и его 95% доверительный интервал / Aging index and its 95% confidence interval
Alb	7	11–38	26.7±3.85	0.25–0.28–0.33	0
Bkv	7	29–449	178.6±66.16	0.09–0.15–0.24	0–0.002–0.005
Bv1	7	13–33	20.4±2.70	0.36–0.42–0.48	0.04–0.1–0.2
Krb	7	12–677	180.3±90.37	0.07–0.1–0.17	0
Sl1	7	17–43	29.4±3.92	0.23–0.26–0.28	0

Примечание. Максимальные значения выделены жирным шрифтом, минимальные – курсивом.
Note. Maximum values are in bold, minimum values are in italics.



Анализ пространственной структуры ценопопуляций по всей совокупности площадок с выделением двух возрастных групп показал, что взаиморасположение прегенеративных и гене-

ративных особей в большинстве случаев (80%) носит случайный характер, в 20% случаев (ЦП Вкв) наблюдается разреженность особей при малых радиусах взаимодействия (рис. 2).

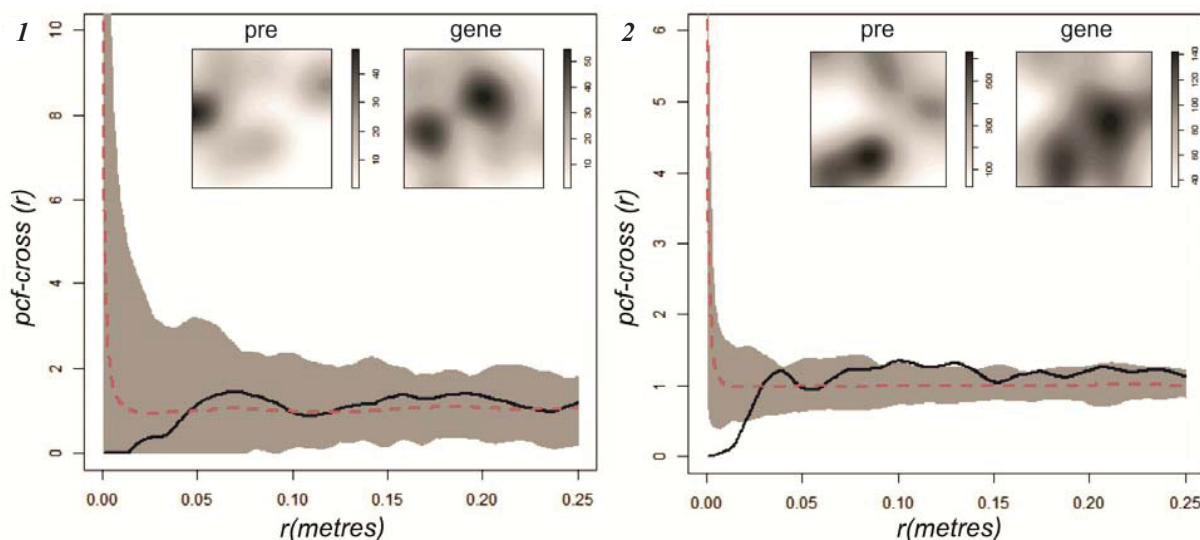


Рис. 2. Примеры поведения парной корреляционной функции кросс-типа и карты локальных плотностей в ценопопуляциях *Globularia bisnagarica* (pre – прегенеративная и gene – генеративная группы): 1 – случайное распределение; 2 – разреженность при малом радиусе взаимодействия. На графиках: сплошная черная линия – оценка эмпирической функции; красная пунктирная линия – оценка теоретической функции в случае CSRI; серой заливкой отмечена область принятия гипотезы о CSRI (цвет online)

Fig. 2. Examples of cross-type pair correlation function and maps of the local densities in *Globularia bisnagarica* cenopopulations (pre – pregenerative and gene – generative groups). 1 – random distribution; 2 – sparseness at a small interaction radius. On plots: solid black line – the empirical function; red dotted line – the theoretical function under CSRI; shaded areas – the simulation envelopes of CSRI (color online)

Заключение

Таким образом, анализ онтогенетических спектров пяти ценопопуляций *G. bisnagarica*, произрастающих на территории Оренбургской области и Республики Татарстан, показал, что данные ЦП способны к самовосстановлению и поддержанию численности.

Наиболее возрастной является ЦП из Бавлинского района Республики Татарстан (Вв1). Все остальные ценопопуляции характеризуются меньшим показателем средней возрастности.

Пространственное взаиморасположение прегенеративных и генеративных особей в большинстве ценопопуляций носит случайный характер. Присутствие небольшой разреженности между прегенеративными и генеративными особями в ЦП из Северного р-на Оренбургской области (Вкв), вероятнее всего, обусловлено наличием слабо выраженной внутривидовой конкуренции между растениями этих возрастных групп.

Список литературы

1. Богослов А. В., Шилова И. А., Пархоменко А. С., Крицкая Т. А., Гребенюк Л. В., Кашин А. С. Состояние популяций видов *Delphinium* L. (Ranunculaceae, Magnoliopsida) в Нижнем Поволжье и на прилегающих территориях // Поволжский экологический журнал. 2020. № 3. С. 271–289. <https://doi.org/10.35885/1684-7318-2020-3-271-289>
2. Шилова И. В., Пархоменко А. С., Денисов А. А., Кондратьева А. О., Кашин А. С. Эколого-ценотическая характеристика сообществ с *Globularia bisnagarica* L. в Среднем и Нижнем Поволжье // Известия Саратовского университета. Новая серия. Серия: Химия. Биология. Экология. 2021. Т. 21, вып. 1. С. 99–113. <https://doi.org/10.18500/1816-9775-2021-21-1-99-113>
3. Kondratieva A. O., Parkhomenko A. S., Bogoslov A. V., Shilova I. V., Kashin A. S. Spatial structure of *Globularia bisnagarica* L. (Plantaginaceae) coenopopulations // Povolzhskiy Journal of Ecology. 2021. № 1. P. 35–46. <https://doi.org/10.35885/1684-7318-2021-1-35-46>
4. Уранов А. А. Возрастной спектр фитоценопопуляций как функция времени и энергетических волновых процессов // Биологические науки. 1975. № 2. С. 7–34.



5. Жукова Л. А. Динамика популяций луговых растений в естественных фитоценозах // Динамика ценопопуляций травянистых растений. Киев : Наукова Думка, 1987. С. 9–19.
6. Глотов Н. В. Об оценке параметров возрастной структуры популяции растений // Жизнь популяций в гетерогенной среде. Йошкар-Ола : Периодика Марий Эл, 1998. Ч. I. С. 146–149.
7. Программа для оценки и сравнения параметров онтогенетических спектров популяций растений и лишайников при гетерогенности выборки «OntoParam». MapГУ : сайт. URL: <http://marsu.ru/structur/BasicUnits/fakultet/bhf/program.php> (дата обращения: 17.02.2021).
8. Baddeley A., Rubak E., Turner R. *Spatial Point Patterns: Methodology and Applications with R*. London: Chapman and Hall/CRC Press, 2015. 810 p. URL: <http://www.crcpress.com/Spatial-Point-Patterns-Methodology-and-ApplicationswithR/Baddeley-Rubak-Turner/9781482210200/> (дата обращения: 27.01.2021).
9. Теория пространственных точечных процессов в задачах экологии и природопользования (с применением пакета R): учебное пособие / сост.: А. А. Савельев, С. С. Мухарамова, Н. А. Чижикова, А. Г. Пилюгин. Казань: Изд-во Казан. ун-та, 2014. 146 с.
10. Lotwick H. W., Silverman B. W. Methods for analysing spatial processes of several types of points // *Journal of the Royal Statistical Society. Series B*. 1982. № 44. P. 406–413.
11. Besag J., Diggle P. J. Simple Monte Carlo tests for spatial pattern // *Applied Statistics*. 1977. № 26. P. 327–233.
12. R Core Team. *R: A language and environment for statistical computing*. R Foundation for Statistical Computing. Vienna, Austria, 2020. URL: <http://www.R-project.org/> (дата обращения: 27.01.2021).
3. Kondratieva A. O., Parkhomenko A. S., Bogoslov A. V., Shilova I. V., Kashin A. S. Spatial structure of *Globularia bisnagarica* L. (Plantaginaceae) coenopopulations. *Povolzhskiy Journal of Ecology*, 2021, no. 1, pp. 35–46. <https://doi.org/10.35885/1684-7318-2021-1-35-46>
4. Uranov A. A. Age spectrum of phytocenopopulations as a function of time and energy wave processes. *Biologicheskie nauki*, 1975, no. 2, pp. 7–34 (in Russian).
5. Zhukova L. A. Dynamics of populations of meadow plants. In: *Dinamika cenopopulyacij travyanistyh rastenij* [Dynamics of Cenopopulations of Herbaceous Plants]. Kiev, Naukova Dumka Publ., 1987, pp. 9–19 (in Russian).
6. Glotov N. V. Estimation of the parameters of the age structure of the plant population. In: *Zhizn' populyacij v geterogennoj srede* [Life of Populations in a Heterogeneous Environment]. Yoshkar-Ola, Periodika Marij El Publ., 1998, pt. I, pp. 146–149 (in Russian).
7. *Programma dlya ocenki i sravneniya parametrov ontogeneticheskikh spektrov populyacij rastenij i lishajnikov pri geterogennosti vyborki «OntoParam»* (A program for assessing and comparing the parameters of ontogenetic spectra of plant and lichen populations with a heterogeneity of the sample «OntoParam»). Available at: <http://marsu.ru/structur/BasicUnits/fakultet/bhf/program.php> (accessed 17 February 2021) (in Russian).
8. Baddeley A., Rubak E., Turner R. *Spatial Point Patterns: Methodology and Applications with R*. London, Chapman and Hall/CRC Press, 2015. 810 p. Available at: <http://www.crcpress.com/Spatial-Point-Patterns-Methodology-and-ApplicationswithR/Baddeley-Rubak-Turner/9781482210200/> (accessed 27 January 2021) (in Russian).
9. *Teoriya prostranstvennyh tochechnykh processov v zadachah ekologii i prirodopol'zovaniya (s primeneniem paketa R)* [A. A. Savel'ev, S. S. Muharamova, N. A. Chizhikova, A. G. Pilyugin, compls. The Theory of Spatial Point Processes in Problems of Ecology and Nature Management (using the R package)]. Kazan', Izd-vo Kazan. un-ta, 2014. 146 p. (in Russian).
10. Lotwick H. W., Silverman B. W. Methods for analysing spatial processes of several types of points. *Journal of the Royal Statistical Society. Series B*, 1982, no. 44, pp. 406–413.
11. Besag J., Diggle P. J. Simple Monte Carlo tests for spatial pattern. *Applied Statistics*, 1977, no. 26, pp. 327–233.
12. *R Core Team. R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing*. Vienna, Austria, 2020. Available at: <http://www.R-project.org/> (accessed 27 January 2021).

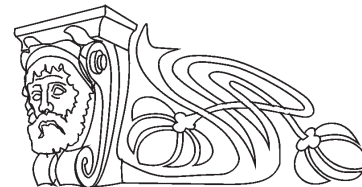
Поступила в редакцию 03.05.21, после рецензирования 12.05.21, принята к публикации 14.05.21
Received 03.05.21, revised 12.05.21, accepted 14.05.21



Научная статья

УДК 58.009

Эколого-ценотическая характеристика местообитаний *Colchicum laetum* (Colchicaceae) в Волгоградской области



В. А. Шушунов[✉], И. В. Шилова, А. С. Пархоменко, А. С. Кашин

Саратовский национальный исследовательский государственный университет имени Н. Г. Чернышевского, Россия, 410012, г. Саратов, ул. Астраханская, д. 83

Шушунов Вячеслав Александрович, ведущий биолог лаборатории молекулярной биологии и цитогенетики УНЦ «Ботанический сад», shushun2003@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-6245-4230>

Шилова Ирина Васильевна, кандидат биологических наук, ведущий биолог отдела биологии и экологии растений УНЦ «Ботанический сад», schiva1952@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0002-9828-4229>

Пархоменко Алёна Сергеевна, кандидат биологических наук, заведующая отделом биологии и экологии растений УНЦ «Ботанический сад», parkhomenko_as@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-9948-7298>

Кашин Александр Степанович, доктор биологических наук, профессор кафедры генетики, kashinas2@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0002-2342-2172>

Аннотация. В период цветения *Colchicum laetum* Steven (16–19.09.2020) изучены семь его местообитаний на территории Волгоградской области. *C. laetum* встречается на небольших (0.006–4 га) нераспаханных участках степей, прилегающих к балкам. В сообществах зарегистрировано 28 видов сосудистых растений, из которых, помимо *C. laetum*, вегетировали лишь 10 видов (от 2 до 7 в сообществе): *Artemisia austriaca* Jacq., *A. santonicum* L., *Bassia prostrata* (L.) Beck, *Cynanchum acutum* L., *Dianthus polymorphus* M. Bieb., *Euphorbia seguieriana* Neck., *E. virgata* Waldst., *Grubovia sedoides* (Pall.) G.L. Chu, *Limonium bungei* (Claus) Gamajun., *Medicago falcata* L. Участие *C. laetum* – от единичных особей до довольно обильных, при проективном покрытии, не превышающем 5%. Предварительная экологическая оценка местообитаний по растительному покрову по шкалам Раменского показала, что под большинством сообществ почва довольно богатая, под одним – богатая и ещё под одним – небогатая. Увлажнение – от сухостепного до пустынного. Антропогенного воздействия не испытывает лишь одно сообщество, в двух – отмечен проезд автотранспорта, в трёх – ведётся выпас скота, сопровождающийся сбоем.

Ключевые слова: *Colchicum laetum*, Волгоградская область, растительные сообщества

Для цитирования: Шушунов В. А., Шилова И. В., Пархоменко А. С., Кашин А. С. Эколого-ценотическая характеристика местообитаний *Colchicum laetum* (Colchicaceae) в Волгоградской области // Известия Саратовского университета. Новая серия. Серия: Химия. Биология. Экология. 2021. Т. 21, вып. 3. С. 347–352. <https://doi.org/10.18500/1816-9775-2021-21-3-347-352>

Статья опубликована на условиях лицензии Creative Commons Attribution 4.0 International (CC-BY 4.0)

Article

Ecological and cenotic characteristics of *Colchicum laetum* (Colchicaceae) habitats in the Volgograd region

V. A. Shushunov[✉], I. V. Shilova, A. S. Parkhomenko, A. S. Kashin

Saratov State University, 83 Astrakhanskaya St., Saratov 410012, Russia

Vyacheslav A. Shushunov, shushun2003@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-6245-4230>

Irina V. Shilova, schiva1952@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0002-9828-4229>

Alena S. Parkhomenko, parkhomenko_as@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-9948-7298>

Alexandr S. Kashin, kashinas2@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0002-2342-2172>

Abstract. During the flowering period of *Colchicum laetum* Stephen (September 16–19, 2020), seven habitats were studied in the Volgograd region. *C. laetum* occurs on small (0.006–4 ha) unploughed areas of the steppes adjacent to gullies. In the community, 28 species of vascular plants were recorded, including *C. laetum*, only 10 species vegetated (from 2 to 7 in the community): *Artemisia austriaca* Jacq., *A. santonicum* L., *Bassia prostrata* (L.) Beck, *Cynanchum acutum* L., *Dianthus polymorphus* M. Bieb., *Euphorbia seguieriana* Neck., *E. virgata* Waldst., *Grubovia sedoides* (Pall.) G.L. Chu, *Limonium bungei* (Claus) Gamajun., *Medicago falcata* L. The participation of *C. laetum* is from single individuals to quite abundant, with a projective cover not exceeding 5%. A preliminary assessment of habitat by vegetation according to the Ramenskoye scales showed that one community is quite rich, one is rich and one is not rich. The humidification is from dry steppe to desert. Only one community does not experience anthropogenic impact. In the second the arrival of vehicles was marked. In the third grazing is carried out, accompanied by a failure.

Keywords: *Colchicum laetum*, Volgograd region, plant communities



For citation: Shushunov V. A., Shilova I. V., Parkhomenko A. S., Kashin A. S. Ecological and cenotic characteristics of *Colchicum laetum* (Colchicaceae) habitats in the Volgograd region. *Izvestiya of Saratov University. Chemistry. Biology. Ecology*, 2021, vol. 21, iss. 3, pp. 347–352. <https://doi.org/10.18500/1816-9775-2021-21-3-347-352>

This is an open access article distributed under the terms of Creative Commons Attribution 4.0 International License (CC-BY 4.0)

Введение

Безвременник яркий, или безвременник весёлый (*Colchicum laetum* Steven) – многолетнее травянистое растение из семейства Colchicaceae, цветущее в августе-сентябре и плодоносящее в апреле следующего года. Этот вид имеет небольшой ареал, охватывающий Предкавказье, нижнее течение Волги и Дона, является эндемиком, включён в Красную книгу РФ [1] и Красные книги всех регионов, на территории которых встречается.

На территории бывшего СССР ботаники отмечали 11 видов безвременника, которые можно встретить в лесной и лесостепной зонах, горах, по лугам, долинам рек, опушкам леса, альпийским пастбищам [2].

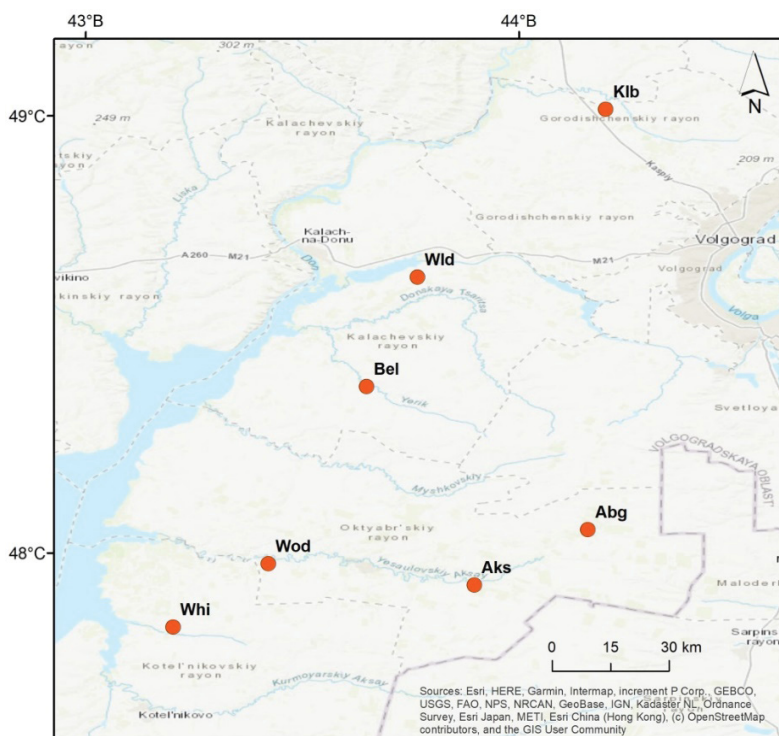
В отличие от других видов безвременник весёлый обитает в жаркой сухой степи и полупустыне Нижнего Поволжья на тяжелых солонцовых почвах скудных природных пастбищ с изреженной

растительностью. Но даже столь скромные требования к условиям обитания, непритязательность этого реликта на фоне бескрайних просторов южных степей сейчас не гарантируют сохранности этого растения на его родине [2].

Цель настоящего исследования – дать эколого-ценологическую характеристику местообитаниям *C. laetum* в северной части ареала, на территории Волгоградской области.

Материалы и методы

С целью изучения экологии вида нами 16–19.09.2020 г. обследованы семь местообитаний *C. laetum* в Волгоградской области: одно – в Городищенском р-не, окр. п. Котлубань (Klb); два – в Калачёвском р-не, окр. п. Волгодонской (Wld) и окр. п. Белоглинский (Bel); три – в Октябрьском р-не, окр. с. Абганерово (Abg), окр. х. Водянский (Wod) и окр. с. Аксай (Aks); одно – в Котельниковском р-не, окр. х. Верхнеяблочный (Whi) (рисунок).



Местонахождение изученных сообществ с *Colchicum laetum* на территории Волгоградской области: Klb – Городищенский р-н, окр. п. Котлубань; Wld – Калачёвский р-н, окр. п. Волгодонской; Bel – Калачёвский р-н, окр. п. Белоглинский; Abg – Октябрьский р-н, окр. с. Абганерово; Wod – Октябрьский р-н, окр. х. Водянский; Aks – Октябрьский р-н, окр. с. Аксай; Whi – Котельниковский р-н, окр. х. Верхнеяблочный

Location of the studied communities with *Colchicum laetum* in the Volgograd region: Klb – Gorodishchensky district, Kotluban; Wld – Kalachevsky district, Volgodonskaya; Bel – Kalachevsky district, Beloglinsky; Abg – Oktyabrsky district, Abganerovo; Wod – Oktyabrsky district, Vodyansky; Aks – Oktyabrsky district, Aksai; Whi – Kotelnikovskiy district, Verkhneyablochnyy



Определялась общая площадь ценопопуляций *C. laetum*. При этом указывались географическое положение сообщества, приуроченность его к элементу рельефа, экспозиция, ближайшее окружение, а также негативные факторы, влияющие на сообщество, в том числе на популяцию *C. laetum*. В пределах пробной площади в 100 м² проводились геоботанические описания. Выявлялся флористический состав сообществ. Обилие видов оценивалось по шкале Друде [3], кроме того, определялось проективное покрытие (ПП) каждого вида и общее проективное покрытие (ОПП). По растительному покрову проведена оценка местообитаний согласно экологическим шкалам [4] с использованием программы EcoScaleWin [5].

Номенклатура растений приведена по Всемирному контрольному списку сосудистых растений [6].

Результаты и их обсуждение

C. laetum встречается на небольших нераспаханных участках степей, прилегающих к балкам, практически на горизонтальной поверхности или участках с небольшим уклоном (до 3°) к югу или юго-востоку. Почвы каштановые или светло-каштановые, зачастую солонцеватые [7], на период исследований очень иссушенные и растрескавшиеся вследствие длительной засухи. В июле–сентябре 2020 г. на исследованной территории среднемесячная температура колебалась в пределах 17.4–27.2°C, ежемесячно выпадало всего от 1 до 18 мм осадков (табл. 1) [8].

Таблица 1 / Table 1

Погодные условия в местообитаниях *Colchicum laetum* на территории Волгоградской области
Weather conditions in the habitats of *Colchicum laetum* in the Volgograd region

Метеостанция / Weather station	Местонахождение сообществ / Location of communities	Среднемесячная температура, °С / Average monthly temperature, °C			Осадки, мм / Precipitation, mm		
		июль / July	август / August	сентябрь / September	июль / July	август / August	сентябрь / September
Волгоград / Volgograd	Ktl, Abg, Wod, Aks, Whi	27.2	22.6	18.4	7	8	2
Калач-на-Дону / Kalach-on-Don	Wld, Bel	26.4	21.7	17.4	4	18	1

При описании растительного покрова в сообществах с *C. laetum* зарегистрировано в целом 28 видов сосудистых растений, от 8 до 16 в каждом (табл. 2). Лишь 11 видов (от 2 до 7 в сообществе) вегетировали, включая цветущий *C. laetum*, у прочих надземная масса высохла. Общее проективное покрытие вместе с высохшими остатками растений в разных сообществах колебалось от 45 до 95%. Наиболее обильными оказались злаки с высохшей надземной массой: *Elymus repens* (sp – сор₃), *Festuca valesiaca* (сор₁ – сор₃), *Koeleria pyramidata* (до сор₁), *Stipa lessingiana* (sp – сор₃), а также полыни, вегетирующие или отмершие: *Artemisia austriaca* (сор₁ – сор₃), *A. santonicum* (до сор₁). ОПП живых растений в большинстве сообществ составляло лишь 1–5%. В двух сообществах ОПП достигало 30% (Abg) и 50% (Wod). Последние сообщества располагаются на берегу пруда (Abg) и поблизости от ручья (Wod), то есть в более обеспеченных влагой местообитаниях. Вегетирующими в разных сообществах, помимо *C. laetum*, были представители Asteraceae – *Artemisia austriaca*, *A. santonicum*; Аросунaceae – *Synanchum acutum*; Caryophyllaceae – *Dianthus polymorphus*; Chenopodiaceae – *Bassia prostrata*,

Grubovia sedoides; Euphorbiaceae – *Euphorbia seguieriana*, *E. virgata*; Fabaceae – *Medicago falcata*; Plumbaginaceae – *Limonium bungei*. Участие *C. laetum* невелико: даже при довольно обильной встречаемости (сор₁) в отдельных сообществах, ПП растений безвременника не превышает 5%.

Предварительная экологическая оценка местообитаний по растительному покрову (учитывались только вегетирующие растения) по шкалам Раменского с использованием программы EcoScaleWin [5] показала, что под большинством сообществ почва довольно богатая, под одним (Abg) богатая и ещё под одним (Whi) небогатая. Увлажнение сухостепное (Abg, Wod), полупустынное (Klb), пустынное-полупустынное (Wld, Bel, Aks), пустынное (Whi). Переменность увлажнения удалось определить лишь в четырёх местообитаниях, причём в трёх (Klb, Wod, Whi) – как среднеобеспеченное увлажнение, в одном (Abg) – как переменное обеспеченное. Пастбищная дигрессия определена в пяти сообществах, из них в четырёх (Klb, Wld, Bel, Wod) определено очень слабое, в одном (Abg) – слабое влияние выпаса. По нашим наблюдениям это не совсем так, поскольку оценка проводилась по вегетирующим растениям, а в



Таблица 2 / Table 2

Характеристика сообществ с *Colchicum laetum* на территории Волгоградской области
Characteristics of communities with *Colchicum laetum* in the Volgograd region

Ценопопуляции / Cenopopulations	Klb	Wild	Bel	Abg	Wod	Aks	Whi	Видовое участие* / Species participation*	
								ОД/AD	ПП/PC
Координаты / Coordinates	N, °	48.63137	48.38049	48.05287	47.97566	47.92638	47.83031		
	E, °	43.76526	43.64795	44.15841	43.42131	43.8965	43.20133		
Экспозиция / Exposition	Ю / S	горизонтальная / horizontal	Ю / S	горизонтальная / horizontal	горизонтальная / horizontal	горизонтальная / horizontal	ЮВ / SE		
Угол склона, ° / Slope angle, °	3	0	1-3	0	0	0	3		
Площадь, м² / Area, m²	100	60	20000	100	100	1000	40000		
Антропогенное воздействие / Anthropogenic impact	выпас / grazing	проезд автотранспорта / vehicle passage	отсутствует / absent	прогон скота / livestock drive	заезд автотранспорта / arrival of vehicles	сильный выпас / strong grazing	очень сильный выпас / very strong grazing	ОД/AD	ПП/PC
								ОД/AD	ПП/PC
Вегетирующие виды / Vegetative species									
<i>Artemisia austriaca</i> Jacq.	-	-	-	-	cop ₃	50	-	-	-
<i>Artemisia santonicum</i> L. subsp. <i>santonicum</i>	-	-	-	cop ₁	20	-	sp	5	-
<i>Bassia prostrata</i> (L.) Beck	sol	<1	sol	sp	5	1	-	-	-
<i>Colchicum laetum</i> Steven	sol	<1	sp	cop ₁	3	5	sp	1	2
<i>Cyananchem acutum</i> L.	-	-	-	-	-	<1	-	-	-
<i>Dianthus polymorphus</i> M. Bieb.	-	-	-	-	-	<1	-	-	-
<i>Euphorbia seguieriana</i> Neck.	sol	<1	-	-	-	-	-	-	-
<i>Euphorbia virgata</i> Waldst.	-	-	-	sol	<1	-	-	-	-
<i>Grubovia sedoides</i> (Pall.) G.L.Chu	-	-	-	sp	15	-	sol	<1	<1
<i>Limonium bungei</i> (Claus) Gamajun.	-	sol	sol	sol	<1	-	sol	<1	-
<i>Medicago falcata</i> L.	-	-	-	sol	<1	<1	sol	-	-
Виды с высохшей надземной массой / Species with dried above ground mass									
<i>Achillea setacea</i> Waldst. & Kit.	-	sol	-	-	-	-	-	-	-
<i>Artemisia austriaca</i> Jacq.	-	cop ₃	cop ₁	10	-	-	-	-	-
<i>Artemisia pauciflora</i> Weber ex Stechmann	-	-	sol	<1	-	-	-	-	-



Окончание таблицы 2 / End of the Table 2

Виды с высушенной надземной массой / Species with dried above ground mass																	
	sp	10	sol	<1	sp	5	-	-	-	-	cop ₃	75	cop ₁	sol	<1	sol	<1
<i>Artemisia santonicum</i> L.	sp	10	sol	<1	sp	5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	sol	<1
<i>Bromus tectorum</i> L.	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	sol	<1	-	-
<i>Carex supina</i> Willd. ex Wahlenb.	-	-	sp	1	sol	<1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Dianthus polymorphus</i> M. Bieb.	sol	<1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Elymus repens</i> (L.) Gould	-	-	-	-	-	-	sp	5	cop ₃	75	cop ₁	50	cop ₁	-	-	-	-
<i>Eryngium campestre</i> L.	sol	<1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Festuca valesiaca</i> Schleich. ex Gaudin	cop ₃	50	cop ₃	75	-	-	cop ₁	30	cop ₁	50	cop ₁	30	cop ₁	cop ₁	30	cop ₁	15
<i>Galatella villosa</i> (L.) Rchb. F.	sp	10	sol	<1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Koeleria pyramidata</i> (Lam.) P. Beauv.	cop ₁	20	sol	<1	sol	<1	-	-	sp	10	sp	10	sp	sol	10	sp	-
<i>Linum perenne</i> L.	sol	<1	sol	<1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	sol	<1	sol	<1
<i>Phlomis herba-venti</i> subsp. <i>Pungens</i> (Willd.) Maire ex De Filippi	sol	<1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	sol	<1
<i>Seseli tortuosum</i> L.	-	-	sol	<1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Silene wolgensis</i> (Hornem.) Otth	sol	<1	sol	<1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Stipa capillata</i> L.	-	-	-	-	sol	<1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Stipa lessingiana</i> Trin. & Rupr.	-	-	sp	10	cop ₃	90	-	-	-	-	-	-	-	-	-	cop ₂	20
<i>Tanacetum achilleifolium</i> Sch. Bip.	-	-	sp	10	sol	5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	sp	30
<i>Veronica verna</i> L.	-	-	sol	<1	sol	<1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Количество видов в сообществе / Number of species in the community	12	12	16	95	12	9	9	9	9	95	9	9	9	9	9	9	8
ОПШ***, % / ГРС***, %	90	90	95	95	95	75	75	95	95	95	90	90	90	90	90	45	45

Примечание. *ОД – обилие по шкале Друде, **ПП – проективное покрытие вида, %; ***ОПШ – общее проективное покрытие, %.
Note. *AD – abundance according to the Drude scale; **PC – projective cover of the species, %; ***ГРС – total projective cover, %.



изучаемых сообществах в период исследований вегетировали в основном не поедаемые скотом растения. Через сообщество Abg ведётся прогон скота, наблюдается сбой и выедание травостоя; в сообществе Aks отмечен сильный выпас, с обкусыванием даже *C. laetum*; в сообществе Whi имеет место очень сильный выпас, до выедания под корень соломы *Stipa lessingiana* и *Festuca valesiaca*.

Для уточнения сведений об экологических условиях в местообитаниях *C. laetum* необходимы повторные исследования во время его цветения, к тому же в благоприятный по погодным условиям год, а также в период его вегетации весной.

Список литературы

1. Красная книга Российской Федерации : растения и грибы. М. : Товарищество научных изданий КМК, 2008. 855 с.
2. Буйанкин В. И., Никольская О. А. Реликт южных степей России // Научно-агрономический журнал. 2019. № 3 (106). С. 44–45. <https://doi.org/10.34736/FNC.2019.106.3.014>
3. Воронов А. Г. Геоботаника. М. : Высшая школа, 1973. 384 с.
4. Раменский Л. Г., Цаценкин И. А., Чижииков О. Н., Антипин Н. А. Экологическая оценка кормовых угодий по растительному покрову. М. : Сельхозгиз, 1956. 472 с.
5. Зубкова Е. В., Ханина Л. Г., Грохлина Т. И., Дорогова Ю. А. Компьютерная обработка геоботанических описаний по экологическим шкалам с помощью программы EcoScaleWin. Йошкар-Ола : Мар. гос. ун-т, Пушчинский гос. ун-т, 2008. 96 с.
6. World Checklist of Vascular Plants, version 2.0. Facilitated by the Royal Botanic Gardens, Kew. Published on the Internet. URL: <http://wcvp.science.kew.org/> (дата обращения: 07.04.2021).
7. Национальный атлас почв Российской Федерации. М. : АСТРЕЛЬ: АСТ. 2011. 632 с. [Электронный ресурс]. URL: <https://soil-db.ru/soilatlas/razdel-8-ispolzovanie-zemelnyh-resursov-i-pochv/8-2-regiony-rossiyskoi-federacii/volgogradskaya-oblast> (дата обращения: 08.04.2021).
8. Справочно-информационный портал «Погода и климат» [Электронный ресурс]. URL: <http://www.pogodaiklimat.ru/archive.php> (дата обращения: 25.01.2021).

References

1. *Krasnaya kniga Rossiyskoy Federatsii: rasteniya i griby* [Red Data Book of the Russian Federation: Plants and Mushrooms]. Moscow, Tovarischestvo nauchnykh izdaniy KMK Publ., 2008. 855 p. (in Russian).
2. Buyankin V. I., Nikolskaya O. A. Relict plants of the southern steppes of Russia. *Scientific Agronomy Journal*, 2019, no. 3 (106), pp. 44–45 (in Russian). <https://doi.org/10.34736/FNC.2019.106.3.014>
3. Voronov A. G. *Geobotanika* [Geobotany]. Moscow, Vysshaya shkola Publ., 1973. 384 p. (in Russian).
4. Ramenskiy L. G., Tsatsenkin I. A., Chizhikov O. N., Antipin N. A. *Ekologicheskaya otsenka kormovykh ugodiy po rastitel'nomu pokrovu* [Ecological Assessment of Forage Lands by Vegetation Cover]. Moscow, Sel'khozgiz Publ., 1956. 472 p. (in Russian).
5. Zubkova E. V., Khanina L. G., Grokhlina T. I., Dorogova Yu. A. *Komp'yuternaya obrabotka geobotanicheskikh opisaniy po ekologicheskim shkalam s pomoshch'yu programmy EcoScaleWin* [Computer Processing of Geobotanical Descriptions Using Ecological Scales Using the EcoScaleWin Program]. Yoshkar-Ola, Mar. gos. un-t, Pushchinskiy gos. un-t, 2008. 96 p.
6. *World Checklist of Vascular Plants, version 2.0*. Facilitated by the Royal Botanic Gardens, Kew. Published on the Internet. Available at: <http://wcvp.science.kew.org/> (accessed 29 April 2021).
7. *Natsional'nyy atlas pochv Rossiyskoy Federatsii* [National Atlas of Soils of the Russian Federation]. Moscow, ASTREL', AST Publ., 2011. 632 p. Available at: <https://soil-db.ru/soilatlas/razdel-8-ispolzovanie-zemelnyh-resursov-i-pochv/8-2-regiony-rossiyskoi-federacii/volgogradskaya-oblast> (accessed April 8, 2021).
8. *Spravochno-informatsionnyy portal «Pogoda i klimat»* (Reference and Information Portal “Weather and Climate”). [Electronic resource]. Available at: <http://www.pogodaiklimat.ru/archive.php> (accessed 25 January 2021).

Поступила в редакцию 05.05.21, после рецензирования 11.05.21, принята к публикации 12.05.21
Received 05.05.21, revised 11.05.21, accepted 12.05.21



ДАТА

Известия Саратовского университета. Новая серия. Серия: Химия. Биология. Экология. 2021. Т. 21, вып. 3. С. 353–363
Izvestiya of Saratov University. Chemistry. Biology. Ecology, 2021, vol. 21, iss. 3, pp. 353–363
<https://ichbe.sgu.ru> <https://doi.org/10.18500/1816-9775-2021-21-3-353-363>

Научная статья
УДК 378

90 лет биологическому факультету Саратовского государственного университета имени Н. Г. Чернышевского

О. И. Юдакова

Саратовский национальный исследовательский государственный университет имени Н. Г. Чернышевского, Россия, 410012, г. Саратов, ул. Астраханская, д. 83

Юдакова Ольга Ивановна, доктор биологических наук, заведующий кафедрой генетики, yudakovaoi@info.sgu.ru, <https://orcid.org/0000-0003-1391-6803>

Аннотация. В 2021 г. исполняется 90 лет биологическому факультету Саратовского национального исследовательского государственного университета имени Н. Г. Чернышевского. Первый набор студентов для обучения на факультете был осуществлен в 1931/1932 учебном году. Однако история факультета началась задолго до его открытия, когда в 1909 г. в новом Саратовском Императорском Николаевском университете были организованы кафедра ботаники и кафедра зоологии со сравнительной анатомией. В статье описываются важные вехи в истории факультета и вклад ученых, которые стояли у истоков зарождения биологической науки в Саратовском университете и сыграли большую роль в становлении и развитии биологического факультета. В разное время в университете работали такие известные биологи и выдающиеся личности, как академики Н. И. Вавилов, Н. А. Максимов, А. А. Рихтер, члены-корреспонденты А. Я. Гордягин, С. Д. Львов, профессора Д. Е. Янишевский, А. Д. Фурсаев, И. В. Красовская, В. С. Елпатьевский, Б. К. Фенюк, П. А. Вундер, А. А. Чигурьева, С. С. Хохлов, М. П. Гнутенко, В. В. Игнатов и др. Они основали научные школы, заложили традиции факультета, задали высокий стандарт биологического образования, который современный коллектив факультета стремится поддерживать до сих пор.

Ключевые слова: история науки, биологический факультет, СГУ, биологическое образование

Для цитирования: Юдакова О. И. 90 лет биологическому факультету Саратовского государственного университета имени Н. Г. Чернышевского // Известия Саратовского университета. Новая серия. Серия: Химия. Биология. Экология. 2021. Т. 21, вып. 3. С. 353–363. <https://doi.org/10.18500/1816-9775-2021-21-3-353-363>

Статья опубликована на условиях лицензии Creative Commons Attribution 4.0 International (CC-BY 4.0)

Article

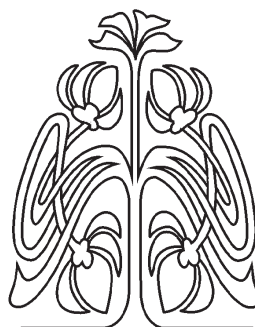
90 years of the Biology Faculty of the Saratov State University

O. I. Yudakova

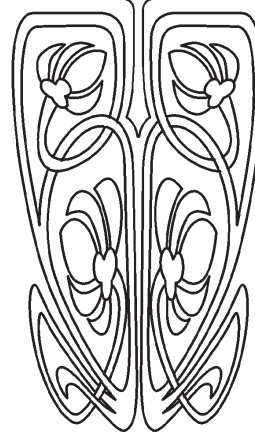
Saratov State University, 83 Astrakhanskaya St., Saratov 410012, Russia

Olga I. Yudakova, yudakovaoi@info.sgu.ru, <https://orcid.org/0000-0003-1391-6803>

Abstract. The Biological Faculty of the Saratov State University turns 90 years old in 2021. The first students were enrolled at the Faculty in the 1931–1932 academic year. However, the faculty's history began long before its opening, when the Department of Botany and the Department of



УНИВЕРСИТЕТСКАЯ
ЛЕТОПИСЬ





Zoology with Comparative Anatomy were organized in the new Saratov Imperial Nikolaev University in 1909. The article describes important events in the life of the Faculty and the contribution of scientists who stood at the origins of the birth of biological science at Saratov State University and played an important role in the formation and development of the Biological Faculty. A whole galaxy of famous biologists and eminent personalities worked at the university at different times. These are the academicians N. I. Vavilov, N. A. Maksimov, A. A. Richter, corresponding members A. Ya. Gordyagin, S. D. Lvov, professors D. E. Yanishevsky, A. D. Fursaev, I. V. Krasovskaya, V. S. Elpatevskiy, B. K. Fenyuk, P. A. Vunder, A. A. Chiguryaeva, S. S. Khokhlov, M. P. Gnutenko, V. V. Ignatov and others. They founded scientific schools, laid down faculty traditions and set a high standard for biological education, which the modern faculty team strives to maintain to this day.

Keywords: history of science, faculty of biology, Saratov State University, biological education

For citation: Yudakova O. I. 90 years of the Biology faculty of the Saratov State University. *Izvestiya of Saratov University. Chemistry. Biology. Ecology*, 2021, vol. 21, iss. 3, pp. 353–363. <https://doi.org/10.18500/1816-9775-2021-21-3-353-363>

This is an open access article distributed under the terms of Creative Commons Attribution 4.0 International License (CC-BY 4.0)

В Саратовском государственном университете биологический факультет был открыт в 1931 г., но свою историю он вправе отсчитывать с первых дней основания вуза. По утвержденному 8 мая 1909 г. законопроекту Государственной думы в создаваемом в Саратове Императорском Николаевском университете было организовано 28 кафедр, объединенных в единственный факультет – медицинский. Среди кафедр естественно-научного профиля были кафедра ботаники и кафедра зоологии со сравнительной анатомией, которые и положили начало развитию биологического образования в университете.

Профессорско-преподавательский состав биологических кафедр формировался из приглашенных в Саратов ведущих профессоров и доцентов Казанского, Московского, Санкт-Петербургского и Новороссийского университетов [1]. Кафедру ботаники возглавил выдающийся биолог, профессор Казанского университета, ставший позднее членом-корреспондентом АН СССР, *Андрей Яковлевич Гордягин*. Он проработал в Саратове всего 5 лет, но за этот непродолжительный период внес большой вклад как в становление кафедры, так и в развитие университета в целом. А. Я. Гордягин заложил основы Саратовской научной геоботанической школы и на долгие годы определил научное направление кафедры – изучение флоры и растительности юго-востока Европейской России. В 1913 г. А. Я. Гордягина назначили директором, членом педагогического совета и заведующим кафедрой ботаники высших сельскохозяйственных курсов. В университете он также продолжил заведовать кафедрой, вел активную научную и педагогическую деятельность. Являясь членом Правления и строительной комиссии университета, А. Я. Гордягин курировал процесс возведения корпусов и разрабатывал планы по созданию Ботанического сада. К сожалению, реализацию этих планов прервали перевод ученого в Казанский университет и начавшаяся Первая мировая война [2]. В 1914 г. заведование кафедрой ботаники переходит к профессору *Дмитрию*



А. Я. Гордягин, заведующий кафедрой ботаники (1909–1914)
A. Ya. Gordyagin, head of the department of botany (1909–1914)

Ерастовичу Янишевскому. Под его руководством саратовские ботаники продолжили изучать флору и растительность Поволжья, собрали богатейший гербарный материал, описали новые для науки виды растений.

Кафедру зоологии со сравнительной анатомией в 1909 г. возглавил профессор Московского университета, личный преподаватель естествознания для детей Царствующей семьи *Борис Иванович Бируков*. В короткий срок он сформировал высококвалифицированный научный коллектив кафедры, организовал научную зоологическую лабораторию и зоологический музей [3]. Первыми экспонатами музея стали 1000 экземпляров тропических бабочек и жуков, подаренные университету в дни его открытия купечеством Саратовской губернии. Эта коллекция, сохранившаяся до наших дней, и сейчас занимает в Зоологическом музее почетное место.

В 1910 г. под руководством профессора *Владимира Васильевича Вормса* в университете



Б. И. Бируков, заведующий кафедрой зоологии со сравнительной анатомией (1909–1923)
B. I. Birukov, head of the department of zoology with comparative anatomy (1909–1923)

создается кафедра физиологической химии и специальная биохимическая лаборатория, положившие начало биохимическим исследованиям в вузе. До назначения заведующим кафедрой В. В. Вормс работал приват-доцентом кафедры физиологической химии Казанского университета, а с 1909 по 1910 г. проходил стажировку в Берлинской лаборатории профессора Эмиля Абдергальдена, где занимался органическим синтезом и химией белковых тел [4].

Первые годы после революции 1917 г. проходили в стране под эгидой прогрессивной реформы высшего образования. Были отменены ученые степени и звания, а также предъявление абитуриентами в приемные комиссии документов об образовании. В результате вузы страны наполнились низкоквалифицированными сотрудниками и малограмотными студентами, что резко снизило качество образования. В то же время широкие полномочия получили студенческие советы. Воспользовавшись предоставленными возможностями, пролетарское студенчество стремилось внести в учебный процесс свои, порой абсурдные правила, например, требуя «уничтожить следы такой варварской пытки как экзамен и заменить его наблюдением за работой студентов в течение года» [1]. Руководство Саратовского университета активно сопротивлялось этим реформам, стремясь поддерживать на высоком уровне классическое образование и научные исследования. Биологические кафедры продолжили комплексное изучение флоры и фауны региона. Для анализа эпидемиологиче-

ской обстановки и борьбы с малярией были организованы экспедиции в заволжские степи и Западный Казахстан.

В 1917/1918 учебном году в Саратовском университете при физико-математическом факультете открылось естественное отделение, в состав которого вошли кафедры ботаники (заведующий Д. Е. Янишевский), зоологии позвоночных (заведующий Б. И. Бируков) и зоологии беспозвоночных (заведующий В. С. Елпатьевский). Также была организована новая кафедра – физиологии и анатомии растений. Возглавить ее был приглашен приват-доцент Московского университета Александр Робертович Кизель [5]. В Саратове А. Р. Кизель инициировал работы по биохимии углеводов, растительных белков и нуклеиновых кислот. В 1922 г. его избирают деканом сразу двух факультетов: физико-математического и рабочего. Последний был создан для подготовки малограмотной молодежи к обучению в вузе. А. Р. Кизель был не только известным ученым, но и блестящим педагогом, воспитавшим плеяду выдающихся учеников. В 1929 г., после возвращения в Москву, он возглавил кафедру биохимии растений Московского университета, сыгравшую огромную роль в становлении и развитии биохимии растений в нашей стране.

В 1918 г. в СГУ открывается еще один факультет биологического профиля – агрономический. Его возглавил профессор Вячеслав Рафаилович Заленский [6]. Ещё до революции в 1913 г. для подготовки квалифицированных ученых-агрономов, способных трудиться в специфических природных условиях рискованного земледелия юго-востока России, в Саратове были открыты Высшие сельскохозяйственные курсы. В апреле 1918 г. их преобразовали в Саратовский сельскохозяйственный институт, а в сентябре того же года в связи с тяжелыми условиями Гражданской войны институт присоединили к СГУ на правах агрономического факультета. Учебный процесс на факультете осуществляли такие известные ученые, как Г. К. Мейстер, Н. М. Тулайков, Е. М. Плачек. С 1917 по 1921 г. сначала на сельскохозяйственных курсах, а затем на агрономическом факультете СГУ преподавал один из выдающихся генетиков мира – Николай Иванович Вавилов [7, 8]. Саратовский период оказался для Н. И. Вавилова чрезвычайно плодотворным. Здесь молодой профессор разработал и сформулировал учение об иммунитете растений к инфекционным заболеваниям и закон гомологических рядов в наследственной изменчивости. В 1920 г. на III Всероссийском съезде по селекции и семеноводству, проходившем в Большой физической аудитории



Н. И. Вавилов с сотрудниками и студентами в лаборатории кафедры частного земледелия и селекции агрономического факультета (январь 1921 г.)

N. I. Vavilov with colleagues and students in the laboratory of the department of private agriculture and selection of the faculty of agronomy (January 1921)

3-го корпуса СГУ, Н. И. Вавилов впервые выступил с докладом «Закон гомологических рядов в наследственной изменчивости». Открытие закона было воспринято научным сообществом как крупнейшее событие в мировой биологической науке. Современники отмечали, что в 1920-х гг. в России существовало два центра генетики: Москва, где работал Н. К. Кольцов, и Саратов, в котором трудился Н. И. Вавилов. Уезжая в марте 1921 г. в Петроград, Николай Иванович оставил в Саратове жизнеспособную научную школу, коллег-единомышленников, которые всю жизнь хранили верность его идеям и его памяти [9]. В 1922 г. агрономический факультет был выведен из состава СГУ и вновь преобразован в самостоятельный Сельскохозяйственный институт.

1920-е годы в истории биологического образования в университете связаны с именем еще одного выдающегося биолога – академика *Андрея Александровича Рихтера* [6, 10]. После успешной работы в Петербурге и Перми его приглашают в Саратов возглавить кафедру анатомии и физиологии растений СГУ, кафедру физиологии растений и микробиологии Саратовского сельскохозяйственного института и отдел прикладной ботаники Саратовской областной опытной станции. Под его руководством начинаются исследования физиологических основ устойчивости растений к неблагоприятным факторам внешней среды, физиологических и биохимических особенностей технических культур. В 1931 г. А. А. Рихтер оставил Саратов, чтобы возглавить лабораторию

биохимии и физиологии растений, преобразованную затем в Институт физиологии растений имени К. А. Тимирязева.

К концу второго десятилетия своей истории Саратовский университет становится одним из крупнейших вузов России. В его составе 5 факультетов: медицинский, химический, педагогический, экономический и факультет советского строительства и права. Однако в 1928 г. система высшего образования в стране подверглась новой волне кардинальной перестройки, целью которой, по сути, являлась ликвидация университетов, «как корпоративных учебных заведений феодальной эпохи» [1], и создание на их основе узкоспециализированных вузов. В результате такой реорганизации в 1930 г. университет лишился нескольких факультетов. На их базе создано 8 новых самостоятельных институтов: медицинский, педагогический, кооперативный, советского права, советского строительства, финансово-экономический, планово-экономический и технологический. Вместе с медицинским факультетом из состава СГУ вышла кафедра биохимии, созданная в 1910 г. одним из отцов-основателей университета профессором В. В. Вормсом. Вследствие этого вплоть до 1967 г. научная работа в области биохимии в СГУ не проводилась, а преподавание курса общей биохимии осуществлялось сотрудниками Медицинского института. В соответствии с новыми реформами кафедры университета заменили предметные комиссии, а лекции – консультации перед практическими занятиями.



К началу 1930 г. университетское образование в России столкнулось с угрозой полной ликвидации. Закрытие ряда университетов и прекращение подготовки специалистов по фундаментальным наукам вызвало острую нехватку научных и педагогических кадров в открывающихся узконаправленных вузах и научно-исследовательских институтах. Уже летом 1931 г. руководство страны пересмотрело свое отношение к университетам и признало необходимость их поддержки и укрепления, как «учебных заведений, готовящих высококвалифицированных специалистов по общенаучным дисциплинам, а также педагогов» [1]. В университеты вновь вернули факультетскую и кафедральную системы, а в учебный процесс – лекции.

В мае 1931 г. в СГУ создается 8 отделений (ботаническое, зоологическое, физическое, механико-математическое, химическое, геологическое, географическое и почвенное), на основе которых затем были восстановлены факультеты. Первым на базе ботанического и зоологического отделений открылся биологический факультет [1]. На нем обучалось около 200 студентов. Становление факультета проходило в тяжелых материальных условиях и сложной идеологической обстановке. Вместе с отделившимися от университета факультетами в новые вузы ушли ведущие профессора, были переданы учебные корпуса и часть оборудования. В 1930-х гг. в стране начались политические репрессии. Революционно настроенное студенчество требовало очистить вуз от реакционной профессуры. Руководство университета во главе с директором Г. К. Хворостиним по мере своих возможностей противостояло этим требованиям и всеми силами стремилось не только сохранить своих профессоров «без пролетарского происхождения», но и привлечь в Саратов известных ученых, высланных из Москвы и Ленинграда как «социально чуждые» для страны элементы. Среди таких ссыльных оказался член-корреспондент АН СССР, крупнейший специалист по физиологии растений *Николай Александрович Максимов* [6, 11]. Руководство университета проявило большую смелость, предложив ему возглавить кафедру физиологии растений. В Саратове Н. А. Максимов развивает эколого-физиологическое направление исследований, изучает засухоустойчивость растений, подготавливает и издает учебник по физиологии растений, который затем неоднократно переиздается и становится базовым учебником для многих поколений отечественных и зарубежных студентов [11]. Под руководством Н. А. Максимова в университете и Институте зернового хозяйства Юго-Востока проводятся исследования рациональных приемов орошения яровой пшеницы.

В непростой обстановке 1930-х гг. на биологическом факультете одна за другой открывались новые кафедры: в 1935 г. – кафедра микробиологии, 1936 г. – кафедра динамики развития организма, 1937 г. – кафедра физиологии животных, 1939 г. – кафедра генетики и дарвинизма.

В 1930-х гг. к научно-исследовательской работе начинают активно привлекаться студенты. В научных кружках на биофаке занимается более 80 студентов. В 1938 г. организуется первая университетская научная студенческая конференция, на которой биологи представили больше всего докладов. В 1937 г. подготавливаются проекты и начинается строительство 5-го учебного корпуса для биологического факультета. Однако, после ареста 2 августа 1937 г. директора СГУ Г. К. Хворостина [12] по обвинению в троцкизме и вредительстве, строительство корпуса останавливается на долгие годы.

В 1940 г. на биологическом факультете открылась третья кафедра зоологической направленности – ихтиологии и гидробиологии. Её возглавил профессор *Александр Васильевич Морозов* [3]. Основным направлением научной работы кафедры становится изучение ихтиофауны р. Волги.

К началу 1940-х гг. СГУ практически восстановил свои позиции среди ведущих вузов России, но стремительное развитие университета прервала Великая Отечественная война. Несмотря на тяготы войны, биологический факультет продолжил свою работу. Срок обучения был сокращен до трех лет, занятия часто проходили в нетопленных помещениях, переносились на вечерние часы или отменялись для выполнения срочных общественных работ: выгрузки вагонов и барж, расчистки занесенных снегом железнодорожных путей [1]. Активное участие в них принимали не только студенты, но и преподаватели, которые стремились во всем быть примером для своих учеников. За отличную работу для нужд фронта профессор *Анастасия Андреевна Чигурьева* была награждена именными часами, а после окончания войны – медалью «За доблестный труд в Великой Отечественной войне 1941–1945 гг.» [2]. В тяжелых условиях прифронтового города на биологическом факультете не только не прерывался учебный процесс, но и проводились интенсивные научные изыскания: продолжалось изучение флоры и растительности пойм Нижней Волги и малых рек, была составлена геоботаническая карта для значительной части Волго-Ахтубинской поймы. Эти труды, наряду с теоретической значимостью, имели практическую ценность, что особенно важно для военных лет. На их основе разрабатывались мероприятия по рациональному использованию



Выпускники и преподаватели биологического факультета (июнь 1948 г.). Второй ряд слева направо: профессор кафедры зоологии позвоночных животных, д-р биол. наук Л. З. Захаров, заведующий кафедрой генетики, д-р биол. наук В. Е. Альтшулер, заведующий кафедрой физиологии человека и животных, д-р биол. наук П. А. Вундер, профессор кафедры ботаники, д-р биол. наук А. А. Чигуряева, декан биолого-почвенного факультета, д-р биол. наук А. Д. Фурсаев, заведующий кафедрой физиологии растений, д-р биол. наук И. В. Красовская, заведующий кафедрой зоологии позвоночных животных, д-р биол. наук В. С. Елпатьевский, заведующий кафедрой ихтиологии и гидробиологии, д-р биол. наук А. В. Морозов
Graduates and teachers of the Biological Faculty (June 1948). Second row from left to right: professor of the department of vertebrate zoology, doctor of biological sciences L. Z. Zakharov, head of the department of genetics, doctor of biological sciences V. E. Altshuler, head of the department of human and animal physiology, doctor of biological sciences P. A. Vunder, professor of the department of botany, doctor of biological sciences A. A. Chiguryaeva, dean of the faculty of biology and soil science, doctor of biological sciences A. D. Fursaev, head of the department of plant physiology, doctor of biological sciences I. V. Krasovskaya, head of the department of vertebrate zoology, doctor of biological sciences V. S. Elpatevskii, head of the department of ichthyology and hydrobiology, doctor of biological sciences A. V. Morozov

пойменных лугов как естественной и дешевой кормовой базы для животноводства. Результаты проведенных исследований легли в основу докторской диссертации *Александра Дмитриевича Фурсаева*, которую он успешно защитил в 1942 г. [2].

Под руководством профессора А. А. Чигуряевой проводились исследования морфологии современной и ископаемой пыльцы. Метод спорово-пыльцевого анализа был особенно востребован для решения неотложных вопросов практической геологии. Страна остро нуждалась в поиске и разработке новых месторождений полезных ископаемых.

Огромные площади плодородных пахотных земель были оккупированы врагом. Продо-вольственные задачи приходилось решать в

сельскохозяйственных регионах, входящих в зону рискованного земледелия. В силу особых эколого-климатических условий продуктивность растениеводства в них значительно уступала основным довоенным житницами Советского Союза – Украине и Кубани. Кроме того, посевы значительно повреждались вредителями сельскохозяйственных растений: саранчой и грызунами. В связи с этим перед сотрудниками факультета была поставлена задача изучить экологию азиатской саранчи и саранчовых в Поволжском регионе, на Северном Кавказе и в Западном Казахстане и разработать методы борьбы с этими насекомыми. Исследования сначала возглавил профессор *А. В. Морозов*, а затем доцент *Л. З. Захаров*, который 27 апреля 1944 г. защитил докторскую диссертацию на тему



«Биоэкологические основы системы мероприятий по ликвидации Кубано-Приазовского гнездилища азиатской саранчи» [3].

В 1944 г., после работы в Баку, в Саратовский университет возвратился профессор *В. С. Елплатевский* [3]. Он принял заведование кафедрой зоологии позвоночных и направил её исследовательскую работу на изучение экологии грызунов – вредителей лесного и сельского хозяйств, а также на изучение фауны ползающих лесонасаждений и позднее фауны Саратовской области в целом.

В этот же год произошло слияние кафедры физиологии животных с кафедрой динамики развития организма. Заведующим укрупненной кафедрой физиологии человека и животных назначается доцент, а в дальнейшем доктор медицинских наук, профессор, заслуженный деятель науки *Павел Абрамович Вундер* [13]. Он будет возглавлять кафедру 46 лет, а затем еще на протяжении 15 лет оставаться ее научным консультантом. Под его руководством будут выполнены исследования саморегуляции в эндокринной системе, изучены нейро-гуморальные механизмы формирования пола и процесса размножения, выявлены эндокринные корреляции при экспериментальном сахарном диабете [13].

В 1944 г. по приглашению ректора Саратовского государственного университета из г. Горький приезжает известный специалист в области морфологии и физиологии корневых систем растений профессор *И. В. Красовская*, которая много лет работала во Всесоюзном институте растениеводства с Н. И. Вавиловым и Н. А. Максимовым. Кроме руководства кафедрой физиологии растений СГУ, по совместительству с 1944 по 1949 г. она также заведовала лабораторией физиологии растений в Институте зернового хозяйства Юго-Востока СССР, и в 1945–1946 гг. – кафедрой физиологии растений Саратовского сельскохозяйственного института.

Особую страницу в военной истории факультета занимают события, связанные с эвакуацией из блокадного Ленинграда в Саратов коллектива Ленинградского университета [14, 15]. После приезда ленинградцев в марте 1942 г. два вуза начинают трудиться вместе на одной территории. Биологические факультеты СГУ и ЛГУ не сливаются, но работают при тесном и плодотворном сотрудничестве, проводя совместные научные исследования в университетских лабораториях. Для усиления факультетов СГУ в них переводят часть ленинградских профессоров. Член-корреспондент АН СССР, профессор *С. Д. Львов* возглавил кафедру физиологии растений, профессор *Д. И. Дейнека* – кафедру анатомии человека. *С. Д. Львов* развернул активную исследовательскую деятель-

ность по получению витамина С и изучению растительных пигментов. Результаты этих работ были необходимы для обеспечения полноценного питания военнослужащих и тружеников тыла, изможденных тяготами войны, для восстановления здоровья больных и раненных. Ученые ЛГУ *Д. И. Дейнека, Н. Н. Блохин, М. И. Прохорова* во время пребывания в Саратове добились важных результатов в изучении восстановления функций нервной системы, нарушенных в результате военных травм.

В последний военный учебный год биологический факультет постепенно возвращался к мирной жизни. Весной 1945 г. возобновились научные конференции и работа научных кружков.

В 1949 г. биологический факультет был преобразован в биолого-почвенный, начались работы по созданию НИИ биологии и Ботанического сада СГУ. Их инициатором стал декан факультета, заведующий кафедрой морфологии и систематики растений, профессор *А. Д. Фурсаев*. В 1956 г. под Ботанический сад было выделено 33 гектара на южных склонах Глебучева оврага [2, 16].

Послевоенное время не стало для факультета мирным и безмятежным. В 1948 г. после печально известной августовской сессии ВАСХНИЛ в стране разворачивается идеологическая война против «идейно чуждого» течения «вейсманизма-морганизма». Классическая генетика объявляется буржуазной лженаукой и противопоставляется коммунистическому мичуринскому учению. Заведующего кафедрой генетики и дарвинизма СГУ *Василия Евгеньевича Альтишлера*, прилюдно заявившего о скором окончании господства Т. Д. Лысенко в биологии, обвиняют в антимиучуринской пропаганде, изгоняют из университета и ссылают в Сибирь. Руководителем кафедры сначала назначают профессора *С. И. Исаева*, а затем – доцента *Сергея Спиридоновича Хохлова* [17]. К этому времени за исследования в области эволюции растений *С. С. Хохлов* был удостоен Премии академика *В. Л. Комарова* и завершил работу над докторской диссертацией. В 1950 г. за высказанные в диссертации эволюционные взгляды и пропаганду антимиучуринских идей Всесоюзная аттестационная комиссия отказала *С. С. Хохлову* в утверждении докторской диссертации и присвоении степени доктора наук. Декана *А. Д. Фурсаева* обвиняют в том, что под его руководством на факультете «свили себе гнездо вейсманисты-морганисты». Для проверки факультета назначается Комиссия Министерства образования СССР, *А. Д. Фурсаеву* объявляют выговор и освобождают от занимаемой должности. Лишь спустя 20 лет, в 1967 г., ВАК утвердила докторскую диссертацию *С. С. Хохлова*. Воспитанный на трудах Г. Менделя,



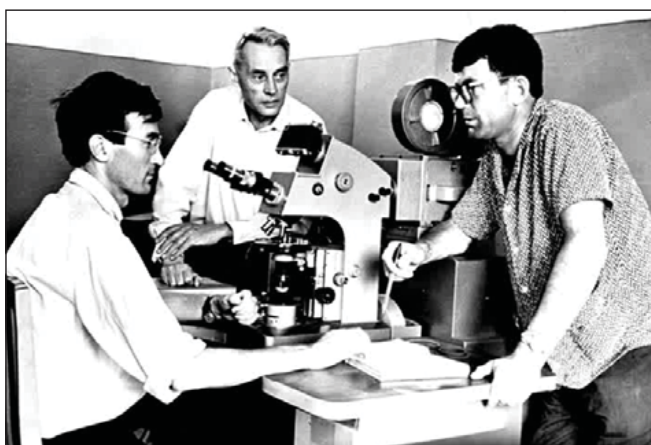
Профессор А. Д. Фурсаев на практическом занятии по ботанике (1950-е гг.)
Professor A. D. Fursaev at a practical lesson in botany (1950s)

Т. Моргана, Н. И. Вавилова и других классиков генетики, он не только хранил верность их идеям, но и не боялся выступать с открытой критикой лысенковцев. Руководимая им кафедра стала одной из первых в СССР, где после отказа от лысенковщины возобновилось преподавание классической и молекулярной генетики. В 1955 г. С. С. Хохлов был назначен председателем министерской комиссии по разработке новой программы по генетике и дарвинизму для университетов. По этой программе затем многие годы велось преподавание генетики во всех вузах Советского Союза.

О том, какие замечательные ученые и преданные своему университету люди трудились в те годы на факультете, ярко свидетельствует

следующий факт. В 1951 г. профессор кафедры зоологии позвоночных *Борис Константинович Фенюк* за разработку и внедрение в практику нового метода борьбы с грызунами – переносчиками болезней, был удостоен Сталинской премии 3-й степени в области науки и техники. Профессор посчитал недопустимым использовать денежное вознаграждение только для личных нужд и передал значительную его часть на строительство Научной библиотеки СГУ.

В 1953 г. завершилось начатое до войны строительство 5-го корпуса СГУ. Биофак, наконец, обрел свой родной дом. В 1960 г. по инициативе С. С. Хохлова началось строительство проблемной лаборатории цитологии и генетики, которая



Профессор С. С. Хохлов с молодыми сотрудниками лаборатории цитологии и генетики В. С. Тырновым (слева) и Г. С. Козловым (1974 г.)

Professor S. S. Khokhlov with young colleagues of the laboratory of cytology and genetic V. S. Tyrnov and G. S. Kozlov (1974)



долгие годы затем служила научным центром по изучению апомиксиса и гаплоидии в нашей стране [16]. Одним из важнейших событий на факультете в 1960-е гг. стало воссоздание кафедры биохимии. В 1967 г. по инициативе заведующего кафедрой микробиологии и физиологии растений (в 1955 г. кафедра микробиологии была объединена с кафедрой физиологии растений) профессора *Марии Петровны Гнутенко* была организована учебно-научная лаборатория биохимии и биофизики. Ее руководителем назначили кандидата медицинских наук, доцента *Владимира Владимировича Игнатова*. В 1976 г. лаборатория была преобразована в кафедру биохимии и биофизики также под руководством В. В. Игнатова, к тому времени уже доктора биологических наук и профессора. Лаборатория и кафедра биохимии и биофизики стали ведущим научным центром в стране по изучению биохимии стафилококков – возбудителей гнойных заболеваний и пищевых отравлений человека и животных. На базе кафедры в 1980 г. был создан Институт биохимии и физиологии растений и микроорганизмов (ИБФРМ) АН СССР. Заслуженный деятель науки РФ, доктор биологических наук, профессор В. В. Игнатов около 30 лет возглавлял Институт и многие годы оставался заведующим и профессором кафедры. С первого же дня работы ИБФРМ стал базой учебной и научной практики студентов, специализирующихся на кафедрах биологического, химического и физического факультетов. В 1987 г. в ИБФРМ создается филиал кафедры биохимии и биофизики, из которого впоследствии вырос Учебно-научный центр СГУ и ИБФРМ РАН.



Профессор В. В. Игнатов (1970-е гг.)
Professor V. V. Ignatov (1970s)

В 1980–1990-х гг. структура факультета претерпевала неоднократные изменения: кафедры делились, сливались, открывались новые. В разное время на факультете работали отделения психологии и экологии. Сейчас в составе факультета 6 кафедр: биохимии и биофизики (заведующий, доктор биологических наук, профессор *С. А. Коннова*); ботаники и экологии (заведующий, доктор биологических наук, профессор *В. А. Болдырев*); генетики (заведующий, доктор биологических наук, доцент *О. И. Юдакова*); микробиологии и физиологии растений (заведующий, доктор биологических наук, профессор *С. А. Степанов*); морфологии и экологии животных (заведующий, доктор биологических наук, профессор *Г. В. Шляхтин*); физиологии человека и животных (заведующий, доктор биологических наук, доцент *О. В. Семячкина-Глушковская*). В новом веке структура факультета дополнилась оснащенными современным оборудованием учебно-научными лабораториями: в 2004 г. лабораторией молекулярной биологии (заведующий, доктор биологических наук, профессор *В. В. Аникин*) и в 2019 г. лабораторией биотехнологии и репродуктивной биологии (заведующий, кандидат биологических наук, доцент *Ю. А. Беляченко*).

Высокую оценку научного сообщества получили в XXI в. старейшие структурные подразделения факультета – Зоологический музей и Гербарий. В 2011 г. музей вошел в реестр Зоологических коллекций мира, а в 2015 г. ЮНЕСКО присвоило Гербарию, включенному в Международный реестр гербариев, статус «Национального достояния России».

Признанием высокого качества биологического образования в СГУ стали победы образовательной программы подготовки бакалавров по направлению «Биология» во Всероссийском проекте «Лучшие образовательные программы инновационной России» (2011, 2012 гг.). Научные исследования сотрудников факультета были поддержаны десятками грантов отечественных и зарубежных фондов (РФФИ, РФ, Президента РФ, В. Потанина, Европейского и Турецкого обществ по гипертонии и др.). На факультете издается три журнала: «Известия Саратовского университета. Новая серия. Серия: Химия. Биология. Экология» (включен в список ВАК), «Поволжский экологический журнал» (включен в список ВАК и Международную наукометрическую базу Web of Science) и «Современная герпетология». Итоги многолетней плодотворной работы коллектива биологического факультета СГУ отражены в многочисленных научных трудах. К числу наиболее важных результатов научных исследований можно отнести следующее:



1) изучена флора и фауна Саратовской области и сопредельных территорий;

2) разработаны перспективные подходы для решения вопросов экологической безопасности Нижнего Поволжья, составлена Красная книга Саратовской области;

3) изучены анатомо-физиологические особенности злаковых культур сортов саратовской и инорайонной селекции;

4) исследованы микробные ассоциации различных видов насекомых, показана циркуляция фитопатогенных бактерий и грибов в экосистемах;

5) разработаны подходы для биоремедиации почв и водоемов от ксенобиотиков и нефтяных загрязнений с использованием микроорганизмов и растений;

6) установлены уникальные химические структуры О-антигенов и экзополисахаридов, которые положены в основу серологической классификации микроорганизмов, формирующих ассоциативные симбиозы с хлебными и кормовыми злаками;

7) диагностирован способ репродукции у дикорастущих злаков и некоторых видов сложноцветных в нескольких регионах России, выявлены апомиктические формы, которые могут использоваться как модельные объекты для изучения явления апомиксиса и как доноры генов апомиксиса;

8) выведены уникальные линии кукурузы с наследуемым и индуцированным типами партеногенеза, позволяющие получать с высокой частотой гаплоидные растения – ценный материал для селекции;

9) разработаны неинвазивные методы доставки препаратов в ткани мозга для лечения глиомы и болезни Альцгеймера;

10) разработаны новые технологии для МРТ анализа проницаемости гематоэнцефалического барьера в условиях нормы;

11) впервые в России заложены основы изучения лимфатической системы мозга для развития прорывных технологий ночной терапии болезней мозга, инсультов, черепно-мозговых травм, родовых повреждений ЦНС.

За 90 лет биологическим факультетом пройден большой и плодотворный путь, накоплен огромный опыт в организации и проведении научных исследований, в эффективной реализации образовательных программ, позволяющий подготавливать хороших и востребованных специалистов в области биологии и экологии. В ограниченный объем журнальной статьи трудно вместить вековую историю. Только простое перечисление имен всех, кому биофак обязан своими успехами

и достижениями, займет ни одну страницу. В научной и педагогической деятельности факультет и сегодня стремится держать ту высокую планку, которую в свое время задали выдающиеся биологи, с чьими именами связано становление и развитие биологического образования в СГУ.

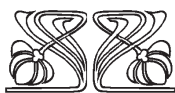
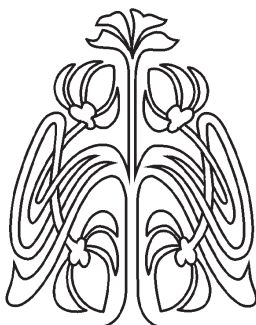
Список литературы

1. Аврус А. И., Гапоненков А. А., Данилов В. Н. История Саратовского университета. 1909–2009 : в 2 т. Саратов : Изд-во Саратов. ун-та, 2009. Т. 1: 1909–1945. 293 с.
2. Шляхтин Г. В. 110 лет зоологической кафедре Саратовского государственного университета // Известия Саратовского университета. Новая серия. Серия: Химия. Биология. Экология. 2019. Т. 19, вып. 2. С. 229–241. <https://doi.org/10.18500/1816-9775-2019-19-2-229-241>
3. Болдырев В. А. 110 лет ботанической кафедре Саратовского государственного университета // Известия Саратовского университета. Новая серия. Серия: Химия. Биология. Экология. 2019. Т. 19, вып. 2. С. 242–248. <https://doi.org/10.18500/1816-9775-2019-19-2-242-248>
4. Вормс Владимир Васильевич (Адольф-Владимир-Вильгельм) (1868–1941) // Профессора и заведующие кафедрами Саратовского государственного медицинского университета. 1909–2009 гг. / под общ. ред. П. В. Глыбочко. Саратов : Изд-во Саратов. мед. ун-та, 2008. С. 66–67.
5. Степанов С. А. Александр Робертович Кизель (1882–1942): К 135-летию со дня рождения // Бюл. Бот. сада Саратов. гос. ун-та. 2017. Т. 15, вып. 1. С. 3–14.
6. Степанов С. А., Шляхтин Г. В. Саратовские истоки и пути изучения физиологии растений в России // Известия Саратовского университета. Новая серия. Серия: Химия. Биология. Экология. 2015. Т. 15, вып. 4. С. 42–49. <https://doi.org/10.18500/1816-9775-2015-15-4-42-49>
7. Есаков В. Д. Николай Иванович Вавилов. Страницы биографии. М. : Наука, 2008. 288 с.
8. Гончаров Н. П. Николай Иванович Вавилов. Новосибирск : Изд-во СО РАН, 2014. 292 с.
9. Стуков В. И., Шашкина М. Н., Рязанцев Н. В. Н. И. Вавилов в Саратове : по материалам неизданных воспоминаний современников // Известия ТСХА. 2012. Вып. 4. С. 61–70.
10. Костицын В. И. Рихтер Андрей Александрович // Ректоры Пермского университета. 1916–2006. Пермь : Перм. ун-т, 2006. С. 66–69.
11. Манойленко К. В. Николай Александрович Максимов. 1880–1952 / отв. ред. А. Б. Георгиевский. М. : Наука, 1999. 179 с.
12. Трубецкова И. А. Университетская вселенная ректора Г. К. Хворостина : рождение и гибель // Известия вузов. ПНД. 2017. Т. 25, вып. 2. С. 89–103. <https://doi.org/10.18500/0869-6632-2017-25-2-89-103>
13. П. А. Вундер (к 90-летию со дня рождения) // Проблемы эндокринологии. 1995. Т. 41, № 6. С. 48. <https://doi.org/10.14341/probl11497>

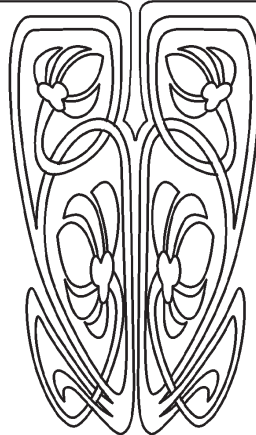


14. Гижов В. А. Ленинградский государственный университет в эвакуации в Саратове в годы Великой Отечественной войны // Исторические, философские, политические и юридические науки, культурология и искусствоведение. Вопросы теории и практики Тамбов : Грамота, 2014. Т. 49, № 11: в 2 ч. Ч. I. С. 54–57.
 15. Воронов Б. В., Жервэ Н. Н. Саратовские объятия. Военные годы ЛГУ в Саратове // Санкт-Петербургский университет. 2012. № 6, т. 3848. С. 1–10.
 16. Юдакова О. И., Тимофеева С. Н., Апанасова Н. В., Госенова О. Л., Гуторова О. В., Смолькина Ю. В. Саратовская научная школа по проблемам биологии и генетики систем репродукции растений : достижения и перспективы // Известия Саратовского университета. Новая серия. Серия: Химия. Биология. Экология. 2017. Т. 17, вып. 2. С. 232–238. <https://doi.org/10.18500/1816-9775-2017-17-2-232-238>
 17. Шишкинская Н. А. К 100-летию Сергея Спиридоновича Хохлова (29.09.1910–23.11.1974) // Вавиловский журнал генетики и селекции. 2011. Т. 15, № 1. С. 198–204.
- Reference**
1. Avrus A. I., Gaponenkov A. A., Danilov V. N. *Istoriya Saratovskogo universiteta. 1909–2009: v 2 t.* [History of Saratov University. 1909–2009: in 2 volumes]. Saratov, Izd-vo Sarat. un-ta, 2009, vol. 1: 1909–1945. 293 p. (in Russian).
 2. Shlyakhtin G. V. 110 years of the zoological department of the Saratov State University. *Izvestiya of Saratov University. Chemistry. Biology. Ecology*, 2019, iss. 19, no. 2, pp. 229–241 (in Russian). <https://doi.org/10.18500/1816-9775-2019-19-2-229-241>
 3. Boldyrev V. A. 110 years of the Botanical Department of Saratov State University. *Izvestiya of Saratov University. Chemistry. Biology. Ecology*, 2019, iss. 19, no. 2, pp. 242–248 (in Russian). <https://doi.org/10.18500/1816-9775-2019-19-2-242-248>
 4. Worms Vladimir Vasilievich (Adolf-Vladimir-Wilhelm) (1868–1941). In: P. V. Glybochko, ed. *Professora i zaveduyushchiye kafedrami Saratovskogo gosudarstvennogo meditsinskogo universiteta. 1909–2009 gg.* [Professors and Heads of Departments of the Saratov State Medical University. 1909–2009]. Saratov, Izd-vo Sarat. med. un-ta, 2008, pp. 66–67 (in Russian).
 5. Stepanov S. A. Alexander R. Kizel (1882–1942): On the occasion of the 135th anniversary of his birth. *Bulletin of Botanic Garden of Saratov State University*, 2017, vol. 15, iss. 1, pp. 3–14 (in Russian).
 6. Stepanov S. A., Shlyakhtin G. V. Saratov sources and ways of studying plant physiology in Russia. *Izvestiya of Saratov University. Chemistry. Biology. Ecology*, 2015, vol. 15, iss. 4, pp. 42–49 (in Russian). <https://doi.org/10.18500/1816-9775-2015-15-4-42-49>
 7. Esakov V. D. *Nikolay Ivanovich Vavilov. Stranitsy biografii* [Nikolay Ivanovich Vavilov. Biography Pages]. Moscow, Nauka Publ., 2008. 288 p. (in Russian).
 8. Goncharov N. P. *Nikolay Ivanovich Vavilov* [Nikolay Ivanovich Vavilov]. Novosibirsk, Izd-vo SO RAN, 2014. 292 p. (in Russian).
 9. Stukov V. I., Shashkina M. N., Ryazantsev N. V. N. I. Vavilov in Saratov: Based on the materials of unpublished memoirs of contemporaries. *Izvestiya TSKhA*, 2012, iss. 4, pp. 61–70 (in Russian).
 10. Kostitsyn V. I. Rikhter Andrey Aleksandrovich. In: *Pektory Permskogo universiteta. 1916–2006* [Rectors of the Perm University. 1916–2006]. Perm, Perm. universitet, 2006, pp. 66–69 (in Russian).
 11. Manoylenko K. V. *Nikolay Alexandrovich Maksimov. 1880–1952.* Otv. red. A. B. Georgievskiy [Nikolay Alexandrovich Maksimov. 1880–1952. Ed. by A. B. Georgievskiy]. Moscow, Nauka Publ., 1999. 179 p. (in Russian).
 12. Trubetskova I. A. University universe of the rector G. K. Khvorostin: Birth and death. *Izvestiya VUZ. Applied Nonlinear Dynamics*, 2017, vol. 25, iss. 2, pp. 89–103 (in Russian). <https://doi.org/10.18500/0869-6632-2017-25-2-89-103>
 13. P. A. Wunder (on the occasion of his 90th birthday). *Problemy of Endocrinologii*, 1995, vol. 41, no. 6, pp. 48 (in Russian). <https://doi.org/10.14341/probl11497>
 14. Gizhov V. A. Leningrad State University in evacuation in Saratov during the Great Patriotic War. *Istoricheskie, filosofskie, politicheskie i yuridicheskie nauki, kulturologiya i iskustvovedenie. Voprosy teorii i praktiki* [Historical, Philosophical, Political and Legal Sciences, Cultural Studies and Art History. Theory and Practice]. Tambov, Gramota Publ., 2014, vol. 49, no. 11: in 2 parts, part I, pp. 54–57 (in Russian).
 15. Voronov B. V., Zherva N. N. Saratov embraces. The war years of Leningrad State University in Saratov. *Sankt-Petersburgskii universitet*, 2012, no. 6, vol. 3848, pp. 1–10 (in Russian).
 16. Yudakova O. I., Timofeeva S. N., Apanasova N. V., Gosenova O. L., Gutorova O. V., Smolkina Yu. V. Saratov scientific school on the problems of biology and genetics of plant reproduction systems: achievements and prospects. *Izvestiya of Saratov University. Chemistry. Biology. Ecology*, 2017, iss. 17, no. 2, pp. 232–238 (in Russian). <https://doi.org/10.18500/1816-9775-2017-17-2-232-238>
 17. Shishkinskaya N. A. To the 100th anniversary of Sergei Spiridonovich Khokhlov (29.09.1910–23.11.1974). *Vavilovskii zhurnal genetiki i seleksii*, 2011, vol. 15, no. 1, pp. 198–204 (in Russian).

Поступила в редакцию 07.05.21, после рецензирования 10.05.21, принята к публикации 11.05.21
 Received 07.05.21, revised 10.05.21, accepted 11.05.21



ПОДПИСКА



Подписка на печатную версию

Подписной индекс издания 36013

Оформить подписку на печатную версию можно
в Интернет-каталогах

«Пресса России» (www.pressa-rf.ru)

«Пресса по подписке» (www.akc.ru)

ГК «Урал-Пресс» (ural-press.ru)

Журнал выходит 4 раза в год

Цена свободная

Электронная версия журнала находится

в открытом доступе (ichbe.sgu.ru)

Адрес Издательства

Саратовского университета (редакции):

410012, Саратов, Астраханская, 83

Тел.: +7 (845-2) 51-45-49, 52-26-89

Факс: +7 (845-2) 27-85-29

E-mail: izdat@sgu.ru

Адрес редколлегии серии:

410012, Саратов, Астраханская, 83,

СГУ имени Н. Г. Чернышевского,

биологический факультет

Тел./факс: +7 (845-2) 22-51-38

E-mail: ichbe-sgu@yandex.ru

Website: <https://ichbe.sgu.ru>