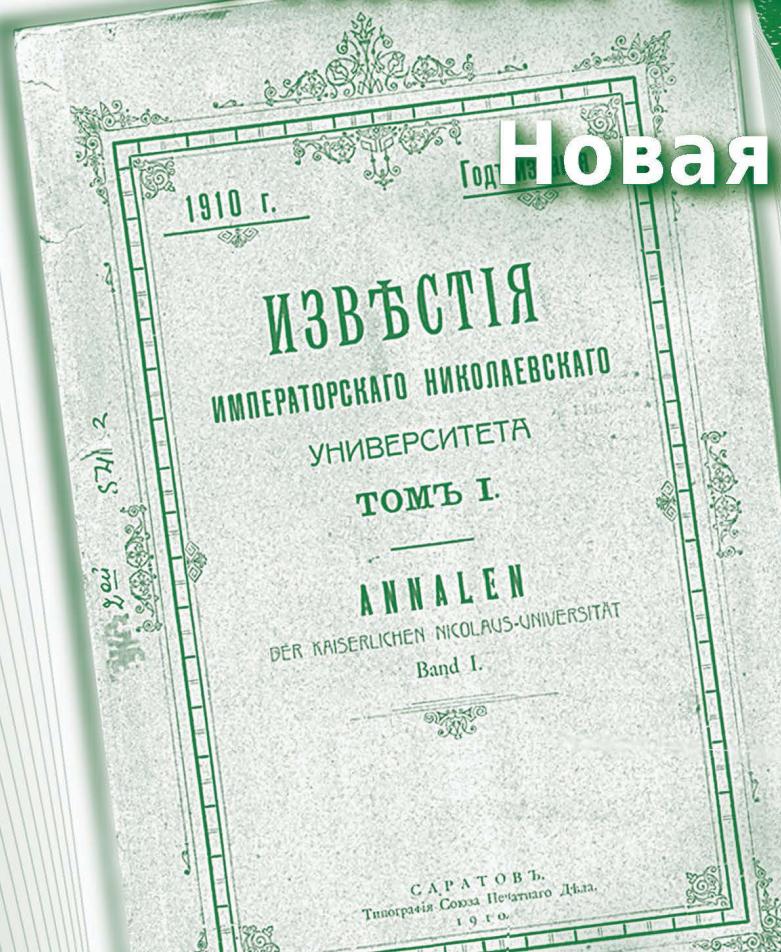


ISSN 1816-9775 (Print)
ISSN 2541-8971 (Online)

ИЗВЕСТИЯ САРАТОВСКОГО УНИВЕРСИТЕТА

Новая серия



Серия: Химия. Биология. Экология
2022
Том 22
Выпуск 4

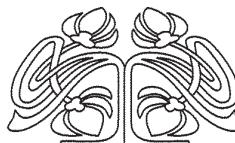


Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования
«Саратовский национальный исследовательский государственный университет имени Н. Г. Чернышевского»

ИЗВЕСТИЯ

Серия Химия. Биология. Экология, выпуск 4

Продолжение «Известий Императорского Николаевского Университета» 1910–1918, «Ученых записок СГУ» 1923–1962,
«Известий Саратовского университета. Новая серия» 2001–2004



Научный журнал
2022 Том 22

ISSN 1816-9775 (Print)

ISSN 2541-8971 (Online)

Издается с 2005 года

СОДЕРЖАНИЕ

Научный отдел

Химия

Кутина А. А., Сумина Е. Г., Юрасов Н. А., Угланова В. З.

Определение статинов методом обращенно-фазовой ВЭЖХ
в подвижных фазах с разными вариантами модифицирования

364

Маркова Е. О., Некрасов Д. А., Дьяков М. Ю., Данилов А. А.

Определение содержания йода, йодидов и йодатов в пищевых продуктах

373

Разуваева Л. М., Фомина А. Д., Махова Т. М., Аржанухина А. И.,
Доронин С. Ю. Твердофазные сорбенты на основе синтетических
нановолокон и глауконита для извлечения магнезона I из водных сред

382

Никифоров А. И., Чесноков Е. А., Никифоров И. А., Попов А. Г.,
Маслаков К. И. Влияние фторирования катализатора $\text{MoO}_3/\text{Al}_2\text{O}_3$
на протекание метатезиса пропилена

390

Ашихмин Е. А., Внуков И. В., Ромаденкина С. Б., Аниськова Т. В.
Превращение стабильного гидрогенизата на каталитических системах
 $\text{Pt}/\text{ЦВМ}$, $\text{Pr}/\text{ЦВМ}$

398

Биология

Trofimova T. A., Shovkoon D. F. *Neocrambus wolfschlaegeri*
(Schawerda, 1937) (Lepidoptera: Crambidae, Crambinae) new to Russia.
[Трофимова Т. А., Шовкун Д. Ф. *Neocrambus wolfschlaegeri*

405

(Schawerda, 1937) – новый вид огневки (Lepidoptera: Crambidae,
Crambinae) для фауны России]

Плешакова Е. В., Касаткина М. А., Нгун К. Т., Решетников М. В.
Изучение марганецокисляющих микроорганизмов, выделенных

409

из микробоценозов высокомагнитных почв

419

Седельникова Л. Л., Цандекова О. Л. Оценка содержания биологически
активных веществ и химических элементов в листьях хост и ириса гибридного
в зеленых насаждениях Новосибирской области

427

Купришина М. А., Пономарева Е. Г. Исследование влияния солей металлов
на активность ферментов фенолоксидазного комплекса бактерий
рода *Azospirillum*

437

Шевченко С. В., Коростылев А. А., Шевчук О. М. Особенности
биологии развития *Orthosiphon aristatus* (Lamiaceae) в условиях
интродукции на Южном берегу Крыма

445

Красова Ю. В., Фадеев В. В., Моисеева Е. М., Гусев Ю. С.,
Чумаков М. И. Оптимизация методики получения протопластов кукурузы
и их нативность после электропорации

455

Васюков В. М., Никельшпарг М. И. Образцы тимьянов (*Thymus*, Lamiaceae)
из центральной части Российского Кавказа, хранящиеся в Гербарии
Института экологии Волжского бассейна РАН (PVB)

460

Экология

Богослов А. В., Пархоменко А. С., Кондратьева А. О., Шилова И. В.,
Орлова А. Д., Кашир А. С. Морфологическая изменчивость популяций
Colchicum laetum Steven (Colchidaceae) в Нижнем Поволжье

474

и на прилегающих территориях
Миронова А. А., Сажнев А. С., Аникин В. В. Мицетофильные жесткокрылые
(Insecta: Coleoptera), связанные с ксилотрофными грибами
селитебных зон г. Саратова

Журнал «Известия Саратовского университета. Новая серия. Серия
“Химия. Биология. Экология”» зарегиctrирован 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:
1.4.2; 1.4.3; 1.4.4; 1.5.2; 1.5.9; 1.5.12;
1.5.14; 1.5.15).
Журнал входит в Международную
базу данных DOAJ

Подписной индекс издания 36013.
Подписку на печатные издания можно
оформить в интернет-каталоге
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

Агафонов Андрей Петрович

Верстка

Ковалева Наталья Владимировна

Технический редактор

Каргин Игорь Анатольевич

Корректор

Малютина Елена Анатольевна

Адрес учредителя, издателя и издательства (редакции):

410012, Саратов, ул. Астраханская, 83
Тел.: +7(845-2)51-29-94, 51-45-49, 52-26-89

E-mail: publ@sgu.ru, izdat@sgu.ru

Подписано в печать 15.12.22.

Подписано в свет 23.12.22.

Формат 60 × 84 1/8.

Усл. печ. л. 13,95 (15,0).

Тираж 100 экз. Заказ 141-Т

Отпечатано в типографии
Саратовского университета.

Адрес типографии:

410012, Саратов, Б. Казачья, 112А

© Саратовский университет, 2022



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 рецензирована. Материалы, отклоненные редакцией, не возвращаются.

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

CONTENTS

Scientific Part

Chemistry

Kutina A. A., Sumina E. G., Yurasov N. A., Uglanova V. Z.

Determination of statins by reverse-phase HPLC in mobile phases with different modification options 364

Markova E. O., Nekrasov D. A., Dyakov M. Yu., Danilov A. A.

Determination of the content of iodine, iodides and iodates in food products 373

Razuvayeva L. M., Fomina A. D., Makhova T. M., Arzhanukhina A. I., Doronin S. Yu. Solid-phase sorbents based on synthetic nanofibers and glauconite for extracting magneson I from aqueous media

382

Nikiforov A. I., Chesnokov E. A., Nikiforov I. A., Popov A. G., Maslakov K. I. Effect of the $\text{Mo}_3/\text{Al}_2\text{O}_3$ catalyst fluorination on the propylene metathesis reaction

390

Ashikhmin E. A., Vnukov I. V., Romadenkina S. B., Aniskova T. V.

Transformation of stable hydrogenate on catalytic systems Pt/CVM, Pr/CVM 398

Biology

Trofimova T. A., Shovkoon D. F. *Neocrambus wolfschlaegeri*

(Schawerda, 1937) (Lepidoptera: Crambidae, Crambinae) new to Russia 405

Pleshakova E. V., Kasatkina M. A., Ngun C. T., Reshetnikov M. V.

A study of manganese-oxidizing microorganisms isolated from microbiocenoses of highly magnetic soils 409

Sedelnikova L. L., Tsandekova O. L. Assessment of the content of biologically active substances and chemical elements in the leaves of *Hosta* and *Iris hybrida* in the landscaping of the Novosibirsk region 419

Kupryashina M. A., Ponomareva E. G. The effect of metal salts on the activity of the phenol oxidase complex enzymes of bacteria of the genus *Azospirillum* 427

Shevchenko S. V., Korostylev A. A., Shevchuk O. M. Features of the developmental biology of *Orthosiphon aristatus* (Lamiaceae) under the conditions of introduction on the Southern coast of the Crimea 437

Krasova Yu. V., Fadeev V. V., Moiseeva Ye. M., Gusev Yu. S., Chumakov M. I. Optimization of the technique for obtaining maize protoplasts and their nativity after electroporation 445

Vasjukov V. M., Nikelshparg M. I. Samples of *Thymus* (Lamiaceae) from the central part of the Russian Caucasus, stored in the Herbarium of the Institute of Ecology of the Volga river basin of the Russian Academy of Sciences (PVB) 455

Ecology

Bogoslov A. V., Parkhomenko A. S., Kondratieva A. O., Shilova I. V., Orlowa A. D., Kashin A. S.

Morphological variability of *Colchicum laetum* Steven (Colchidaceae) populations in the Lower Volga region and surrounding territories 460

Mironova A. A., Sazhnev A. S., Anikin V. V. Mycetophilic beetles (Insecta: Coleoptera) associated with xylotoprophic fungi in residential areas of Saratov city 474

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

Главный редактор

Горячева Ирина Юрьевна, доктор химических наук, профессор (Саратов, Россия)

Заместитель главного редактора

Коннова Светлана Анатольевна, доктор биологических 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 РАН (Самара, Россия)

Горбунов Олег Григорьевич, доктор биологических наук, ведущий научный сотрудник (Москва, Россия)

Дубатолов Владимир Викторович, доктор биологических наук, ведущий научный сотрудник (Новосибирск, Россия)

Дыкман Лев Абрамович, доктор биологических наук, ведущий научный сотрудник (Саратов, Россия)

Егорова Алевтина Юрьевна, доктор химических 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)

Кащин Александр Степанович доктор биологических наук, профессор (Саратов, Россия)

Кулагин Алексей Юрьевич, доктор биологических наук, профессор, заслуженный деятель науки Республики Башкортостан, академик РАН (Уфа, Россия)

Кулиш Елена Ивановна, доктор химических наук, доцент (Уфа, Россия)

Ларинова Дарья Анатольевна, кандидат химических наук (Гент, Бельгия)

Максимов Георгий Владимирович, доктор биологических наук, профессор (Москва, Россия)

Мисра Прадумна Кумар, PhD (Бхопал, Индия)

Монахова Юлия Борисовна, доктор химических наук (Аахен, Германия)

Мостовский Михаил Борисович, доктор биологических наук (Тель-Авив, Израиль; Питермартицбург, ЮАР)

Опарин Михаил Львович, доктор биологических наук, профессор (Саратов, Россия)

Позднякова Наталья Николаевна, доктор биологических наук, ведущий научный сотрудник (Саратов, Россия)

Ревин Виктор Васильевич, доктор биологических наук, профессор (Саранск, Россия)

Шиповская Анна Борисовна, доктор химических наук, доцент (Саратов, Россия)

Шихалиев Хидмет Сафарович, доктор химических наук, профессор (Воронеж, Россия)

Шляхтин Геннадий Викторович, доктор биологических наук, профессор, академик Международной академии наук экологии и безопасности жизнедеятельности, академик РАН, член-корреспондент РАН (Саратов, Россия)

Штыков Сергей Николаевич, доктор химических наук, профессор, заслуженный деятель науки РФ, действительный член РАН (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 – Irina Yu. Goryacheva (Saratov, Russia)

Deputy Editor-in-Chief – Svetlana A. Konnova (Saratov, Russia)

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

Members of the Editorial Board:

Vasilii V. Anikin (Saratov, Russia)

Georgy V. Maksimov (Moscow, Russia)

Nadezhda T. Berberova (Astrakhan, Russia)

Pradyumna Kumar Mishra (Bhopal, India)

Vladimir A. Bogatyrev (Saratov, Russia)

Yuliya B. Monakhova (Aachen, Germany)

Ivan K. Garkushin (Samara, Russia)

Mikhail B. Mostovski (Tel Aviv, Israel;

Oleg G. Gorbunov (Moscow, Russia)

Pietermaritzburg, South African Republic)

Vladimir V. Dubatolov (Novosibirsk, Russia)

Michail L. Oparin (Saratov, Russia)

Lev A. Dykman (Saratov, Russia)

Natalia N. Pozdnyakova (Saratov, Russia)

Alevtina Yu. Egorova (Saratov, Russia)

Viktor V. Revin (Saransk, Russia)

Galina A. Eroshenko (Saratov, Russia)

Anna B. Shipovskay (Saratov, Russia)

Vladimir M. Zacharov (Moscow, Russia)

Khidmet S. Shikhaliyev (Voronezh, Russia)

Alexandr S. Kashin (Saratov, Russia)

Gennady V. Shlyakhtin (Saratov, Russia)

Alexey Yu. Kulagin (Ufa, Russia)

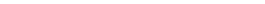
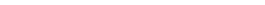
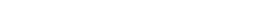
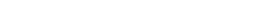
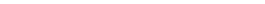
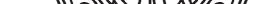
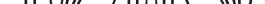
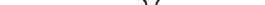
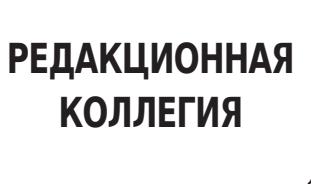
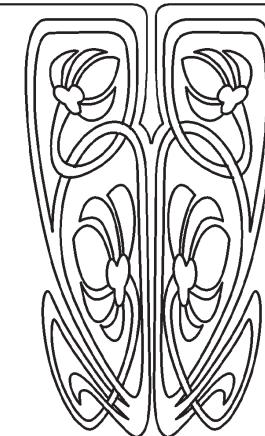
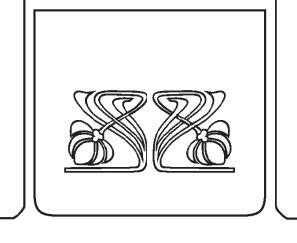
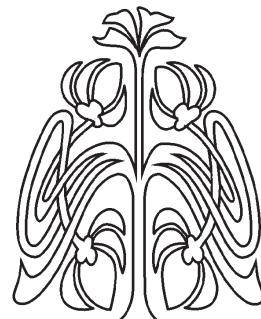
Sergey N. Shtykov (Saratov, Russia)

Elena I. Kulish (Ufa, Russia)

Sergey Ju. Shchyogolev (Saratov, Russia)

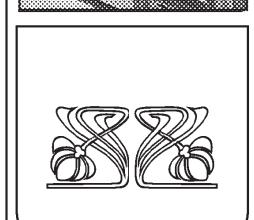
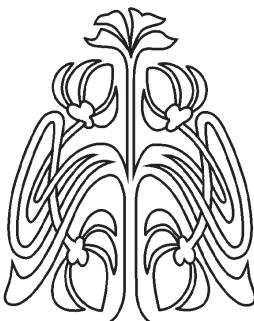
Dariya A. Larionova (Ghent, Belgium)

Olga I. Yudakova (Saratov, Russia)

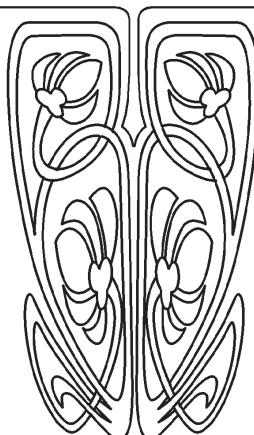




ХИМИЯ



НАУЧНЫЙ
ОТДЕЛ



Известия Саратовского университета. Новая серия. Серия: Химия. Биология. Экология.
2022. Т. 22, вып. 4. С. 364–372

Izvestiya of Saratov University. Chemistry. Biology. Ecology, 2022, vol. 22, iss. 4, pp. 364–372
<https://ichbe.sgu.ru> <https://doi.org/10.18500/1816-9775-2022-22-4-364-372>
EDN: GBIZKS

Научная статья
УДК 543.645: 543.544.943.3

Определение статинов методом обращенно-фазовой ВЭЖХ в подвижных фазах с разными вариантами модификации

А. А. Кутина, Е. Г. Сумина[✉], Н. А. Юрсов, В. З. Угланова

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

Кутина Ангелина Александровна, студент 4-го курса Института химии, kutina2000@mail.ru
Сумина Елена Германовна, доктор химических наук, профессор кафедры аналитической
химии и химической экологии Института химии, suminaeg@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0002-7310-9459>

Юрсов Николай Александрович, кандидат химических наук, заведующий экологической
лабораторией Института химии, nik-yurasov@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0003-0620-4680>

Угланова Варсения Загидовна, кандидат химических наук, доцент кафедры нефтехимии
и техногенной безопасности Института химии, uglanovav@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-6638-4508>

Аннотация. Методом обращенно-фазовой высокоэффективной жидкостной хроматографии изучено хроматографическое поведение аторвастатина, розувастатина и симвастатина в присутствии основных модификаторов подвижной фазы: элюирующей силы и буферного раствора. Найдены оптимальные условия модификации и показано их применение для определения исследуемых статинов в фармацевтических препаратах «Аторвастатин-ОВЛ», «Липримар» и «Тулип». Значение Sr составляет 0,03. Относительная погрешность определения не превышает 7%.

Ключевые слова: статины, высокоэффективная жидкостная хроматография, органические растворители, буферные растворы

Для цитирования: Кутина А. А., Сумина Е. Г., Юрсов Н. А., Угланова В. З. Определение статинов методом обращенно-фазовой ВЭЖХ в подвижных фазах с разными вариантами модификации // Известия Саратовского университета. Новая серия. Серия: Химия. Биология. Экология. 2022. Т. 22, вып. 4. С. 364–372. <https://doi.org/10.18500/1816-9775-2022-22-4-364-372>, EDN: GBIZKS

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

Article

Determination of statins by reverse-phase HPLC in mobile phases
with different modification options

A. A. Kutina, E. G. Sumina[✉], N. A. Yurasov, V. Z. Uglanova

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



Angelina A. Kutina, kutina2000@mail.ru

Elena G. Sumina, suminaeg@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0002-7310-9459>

Nikolai A. Yurasov, nik-yurasov@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0003-0620-4680>

Varseniya Z. Uglanova, uglanovavz@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-6638-4508>

Abstract. The chromatographic behavior of atorvastatin, rosuvastatin and simvastatin in the presence of the main modifiers of the mobile phase: elution strength and buffer solution, has been studied by means of the reverse-phase high-performance liquid chromatography (HPLC) method. Optimal modification conditions have been found and their application for the determination of statins under study in the pharmaceutical preparations Atorvastatin-OBL, Liprimar and Tulip has been shown. The Sr value is 0.03. The relative determination error does not exceed 7%.

Keywords: statins, high performance liquid chromatography, organic solvents, buffer solutions

For citation: Kutina A. A., Sumina E. G., Yurasov N. A., Uglanova V. Z. Determination of statins by reverse-phase HPLC in mobile phases with different modification options. *Izvestiya of Saratov University. Chemistry. Biology. Ecology*, 2022, vol. 22, iss. 4, pp. 364–372 (in Russian). <https://doi.org/10.18500/1816-9775-2022-22-4-364-372>, EDN: GBIZKS

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

Введение

Статины относятся к классу гиполипидемических соединений природного или синтетического происхождения [1], которые являются ингибиторами одного из основных ферментов синтеза холестерина [2]. Статины обладают также ярко выраженным комплексом антиокислительных и антимутагенных свойств, антиатеросклеротическим, антиангинальным, противишемическим, антитромбическим эффектами, вследствие этого широко используются в медицине [3–6], прежде всего для поддержания здоровья пожилых людей. Поскольку холестерин содержится в мясных продуктах, молоке, яйцах, рыбе, орехах и многих других продуктах, требуется разработка разнообразных методов его определения в биологических объектах (жидкостях, тканях), продуктах питания, пищевых добавках, биологически активных добавках и фармацевтических препаратах.

Анализ методов определения статинов показывает, что основное место отводится хроматографии, в основном высокоеффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ) [7] и тонкослойной хроматографии (ТСХ) [8]. Отмечается, что ВЭЖХ позволяет одновременно проводить определение нескольких лекарственных веществ, вспомогательных компонентов и возможных токсичных примесей в многокомпонентных смесях, отличаясь высокой точностью и прецизионностью [9]. Обычно используют колонки с обращенной фазой, такие как «Supelcosil LC-18» (5 мкм, 150 × 4,6 мм) [10], «BecKmanCoulter» (5 мкм, 250 × 4,6 мм) [11], «Sherisorb ODS-C18» (5 мкм, 250 × 4,6 мм) [12] и др. Органическим компонентом подвижной фазы (ПФ) является ацетонитрил [10, 11, 13–17], иногда в сочетании с метанолом [18–23], муравьиной кислотой

[24], уксусной кислотой [25], тетрагидрофураном [10] или триэтиламином [26]. Основой водной составляющей ПФ является фосфатный буферный раствор с pH 3–5 [10–13, 19, 27, 28]. При определении статинов используются разные варианты детектирования: спектрофотометрическим, флуориметрическим детекторами, иногда после реакции дериватизации, а также кондуктометрическим, масс-спектроскопическим и другими детекторами [29, 30]. Анализ литературы показал также, что в ацетонитрильных подвижных фазах недостаточно полно изучено влияние элюирующей силы ПФ и pH буферных растворов на результаты хроматографирования. Однако это является важным для получения точных, воспроизводимых и правильных результатов. В связи с этим целью работы являлось изучение этих вопросов на примере наиболее распространенных статинов в фармацевтической практике – аторвастатина (Атв), розувастатина (Рзв) и симвастатина (Смв).

Материалы и методы

Реагенты. В экспериментальной части работы были использованы –аторвастатин, розувастатин и симвастатин фирмы Sigma Aldrich, США с содержанием основного вещества более 94%. Стандартные растворы исследуемых статинов с концентрацией 1 мг/мл готовили в этаноле растворением точной навески. Рабочие растворы с концентрациями 1·10⁻⁶–1·10⁻⁵ г/мл готовили разбавлением стандартного раствора в воде. Все растворы хранили в холодильнике.

Для приготовления подвижных фаз использовали ацетонитрил (о.с.ч.), наиболее распространенный в жидкостной хроматографии [10, 11].

В качестве буферов использовали ацетатно-аммиачный (pH 3–8) и фосфатный (pH 3–5) буферные растворы, значения pH которых кон-



тролировали на приборе pH-метр (pH-673 M) со стеклянным индикаторным электродом и хлоридсеребряным электродом сравнения.

Аппаратура. Анализ в вариантах ВЭЖХ проводили на жидкостном хроматографе Стайер фирмы «Аквилон» со спектрофотометрическим детектором, на хроматографической колонке с неполярным сорбентом C₁₈ (00F-4252-EQ, Luna 5u C₁₈, диаметр 4,6 мм, длина 150 мм; Phenomenex, США). Объем вводимой пробы 50 мкл, скорость потока 1 мл/мин.

Хроматографирование в водно-ацетонитрильной подвижной фазе проводили путем варьирования соотношения CH₃CN – вода (буфер). С помощью микрошипца отбирали 50 мкл пробы, содержащей статины в концентрации 1·10⁻⁶ и 1·10⁻⁵ г/мл, и вводили в хроматографическую колонку. Объем петли дозатора составлял 20 мкл. Регистрацию и обработку данных при λ=240 нм проводили с помощью программы «Мультихром

2.4». Оптимальная длина волны при детектировании была выбрана на основании спектров поглощения статинов.

В ВЭЖХ удерживание реагентов в неподвижной фазе (t_R), параметры эффективности (число теоретических тарелок (N) и высоту, эквивалентную теоретической тарелке, ВЭТТ (H)), разрешение (Rs) и селективность (α) определяли согласно [9].

Результаты и их обсуждение

В настоящей работе изучено влияние двух модификаторов ПФ на разделение и определение статинов.

Элюсирующая сила

С целью выбора ПФ провели хроматографирование, варьируя объемную концентрацию ацетонитрила и воды от 80 до 20 % и наоборот. В табл. 1, 2 приведены значения хроматографических характеристик.

Таблица 1 / Table 1

**Времена удерживания статинов в зависимости от соотношения компонентов ПФ
(n = 3, P = 0,95)**

Retention times of statins depending on the ratio of MP components (n = 3, P = 0,95)

Соотношение CH ₃ CN – H ₂ O / Ratio CH ₃ CN – H ₂ O	t _R , мин / t _{R'} , min		
	Смв / Smv	Атв / Atv	Рзв / Rzv
80 : 20	4,53	1,42	1,34
70 : 30	6,62	1,57	1,35
60 : 40	12,77	1,63	1,40
50 : 50	14,71	3,92	2,49
40 : 60	–	9,77	3,79
30 : 70	–	–	9,32
20 : 80	–	–	–

Таблица 2 / Table 2

**Селективность разделения статинов в зависимости от соотношения компонентов в ПФ
(n = 3, P = 0,95)**

**Selectivity of the statins separation depending on the ratio of components in the MP
(n = 3, P = 0,95)**

Соотношение CH ₃ CN : H ₂ O / Ratio CH ₃ CN – H ₂ O	Вещества / Substances	R _s	α
80 : 20	Смв-Атв / Smv-Atv	2,7	0,31
	Смв-Рзв / Smv-Rzv	2,4	0,30
70 : 30	Смв-Атв / Smv-Atv	8,2	0,24
	Смв-Рзв / Smv-Rzv	7,5	0,20
60 : 40	Смв-Атв / Smv-Atv	8,8	0,13
	Смв-Рзв / Smv-Rzv	6,2	0,11
50 : 50	Смв-Атв / Smv-Atv	9,2	0,27
	Смв-Рзв / Smv-Rzv	10,4	0,17



По данным табл. 1 и 2 и с учетом хроматографической картины можно сделать вывод, что оптимальной является система ацетонитрил : вода в соотношении 70 : 30, так как по мере уменьшения органической составляющей в ПФ и соответствующего уменьшения элюирующей силы ПФ происходит уширение хроматографических пиков, сильное увеличение t_R всех веществ иискажение хроматографической картины.

Проведенные исследования показали, что время удерживания аторвастатина – 1,6 мин, розувастатина – 1,3 мин, симвастатина – 6,6 мин, что позволяет сделать вывод о возможном разделении этих веществ при совместном присутствии.

Буферные растворы

С целью улучшения качества разделения в водно-ацетонитрильных ПФ вместо воды ис-

пользовали фосфатный (ФБ) и ацетатно-аммиачный (ААБ) буферные растворы с оптимальным значением pH 3–4.

Установлено, что в присутствии буферных растворов существенно улучшается хроматографическая картина: увеличиваются значения Δt_R между пиками, а хроматограммы становятся более узкими и симметричными. Поскольку для ФБ и ААБ оптимальные значения pH одинаковы, можно полагать, что основное влияние на наблюдаемые эффекты оказывает природа буфера, однако это требует дополнительных исследований.

Для сравнения эффективности разделения статинов в разных ПФ приведены данные табл. 3, которые подтверждают сделанное заключение.

Таблица 3 / Table 3

Селективность разделения статинов в ацетонитрильной ПФ ($n = 3, P = 0,95$)
Selectivity of the statins separation in acetonitrile MP ($n = 3, P = 0,95$)

Условия хроматографирования / Chromatography conditions	Разделяемые вещества / Substances to be separated	Δt_R , мин / Δt_R , min	R_S	α
Ацетонитрил – Вода (70:30) / Acetonitrile – Water (70:30)	Сим – Атв / Smv – Atv	4,36	1,0	0,24
	Сим – Рзв / Smv – Rzv	4,81	0,9	0,20
	Атв – Рзв / Atv – Rzv	–	–	–
Ацетонитрил – Фосфатный буфер (70:30) (pH 3) / Acetonitrile – PhB (70:30) (pH 3)	Сим – Атв / Smv – Atv	3,96	3,8	0,41
	Сим – Рзв / Smv – Rzv	4,30	4,0	0,32
	Атв – Рзв / Atv – Rzv	0,56	0,7	0,79
Ацетонитрил – ААБ (70:30) (pH 4) / Acetonitrile – AAB (70:30) (pH 4)	Сим – Атв / Smv – Atv	4,00	3,5	0,40
	Сим – Рзв / Smv-Rzv	4,51	3,1	0,32
	Атв – Рзв / Atv – Rzv	0,52	0,4	0,81

Таким образом, исходя из полученных расчетов можем сделать вывод, что наибольшая селективность разделения статинов наблюдается при использовании подвижной фазы, состоящей из ацетонитрила и фосфатного буферного раствора с pH 3 в соотношении 70 : 30, так как позволяет разделить все исследуемые статины с высокой эффективностью.

Градуировочные зависимости для определения аторвастатина в реальных объектах

В данной работе показана возможность применения водно-органической ВЭЖХ для количественного определения аторвастатина в лекарственных препаратах. Для этого в выбранных оптимальных водно-органических подвижных фазах были построены градуировочные зависимости на аторвастатин: НФ : C₁₈, ПФ : ацетонитрил – вода (70:30);

ацетонитрил – ФБ (pH 3) (70 : 30); ацетонитрил : ААБ (pH 4) (70 : 30).

Для построения градуировочной зависимости был приготовлен исходный раствор аторвастатина с концентрацией 5 мг/мл, из которого готовили рабочие растворы от 0,2 до 10 мкг/мл для ВЭЖХ последовательным разбавлением исходного раствора в объеме 5 мл дистиллированной водой, отбирая точные аликовты с помощью дозатора.

Были построены зависимости площади хроматографических зон аторвастатина от его концентраций в растворе. Площадь хроматографических пиков ВЭЖХ определяли в условных единицах с помощью программы «Мультихром 2.4». Ввиду полного совпадения градуировочных характеристик в ВЭЖХ в разных ПФ графики не приводятся, а полученные результаты обобщены в табл. 4.



Таблица 4 / Table 4

Сравнение метрологических характеристик градуировочных графиков в ВЭЖХ
Comparison of the metrological characteristics of calibration curves in HPLC

Характеристики / Characteristics	CH ₃ CN – H ₂ O	CH ₃ CN – ФБ (pH 3) / CH ₃ CN – PhB (pH 3)	CH ₃ CN – ААБ (pH 4) / CH ₃ CN – AAB (pH 4)
Уравнение градуировочного графика / Calibration curve equation	$y = 160x + 26$	$y = 167x - 11$	$y = 173x + 25$
Коэффициент корреляции (R ²) / Correlation coefficient (R ²)	0,987	0,999	0,996
Интервал линейности, мкг/мл / Linearity interval, µg/ml	0,2–10	0,2–10	0,2–10
Чувствительность (tgα) / Sensitivity (tgα)	0,2	0,06	0,1

Исходя из представленных данных в табл. 4, для определения Аст была выбрана оптимальная подвижная фаза, содержащая ацетонитрил и фосфатный буферный раствор с pH 3. У этой ПФ более высокие показатели линейности и хроматографические параметры лучше по сравнению с остальными ПФ.

Контроль правильности был проведен методом «введено–найдено» путем сравнения концентраций введенной аликовоты аторвастатина с концентрацией, рассчитанной по

градуировочному графику. Для этого были приготовлены растворы с тремя различными концентрациями аторвастатина и проведено их хроматографирование в водно-органической ПФ, модифицированной фосфатным буферным раствором с pH 3. Площади зон измеряли в графическом редакторе «Adobe Photoshop CC», затем с помощью градуировочной зависимости были найдены значения искомых концентраций. Результаты исследований представлены в табл. 5.

Таблица 5 / Table 5

**Результаты определения аторвастатина методом «введено–найдено» в ВЭЖХ
(n = 3, P = 0,95)**
**Results of the determination of atorvastatin by the «introduced-found» method in HPLC
(n = 3, P = 0,95)**

Введено, мкг/мл / Introduced, mcg/ml	Найдено, мкг/мл / Found, mcg/ml	Метрологические характеристики / Metrological characteristics	
		S _r	Δx/x _{cp} , %
2	2,00 ± 0,05	0,01	2,27
4	3,98 ± 0,06	0,01	1,53
8	7,92 ± 0,54	0,03	6,78

Таким образом, из рассчитанных данных в табл. 5 видно, что значения S_r и относительной погрешности при определении аторвастатина не превышают 0,03 и 7% соответственно. Поэтому данная методика может быть использована для количественного определения аторвастатина в реальных объектах.

**Количественное определение аторвастатина
в лекарственных препаратах**

В качестве объектов для количественного определения аторвастатина были выбраны следующие фармацевтические препараты: «Аторвастатин-OBL» (Oblpharm, Россия), «Ту-

лив» (Sandoz, Словения), «Липримар» (Pfizer, Германия). Содержание аторвастатина в таблетках составляло 10 мг.

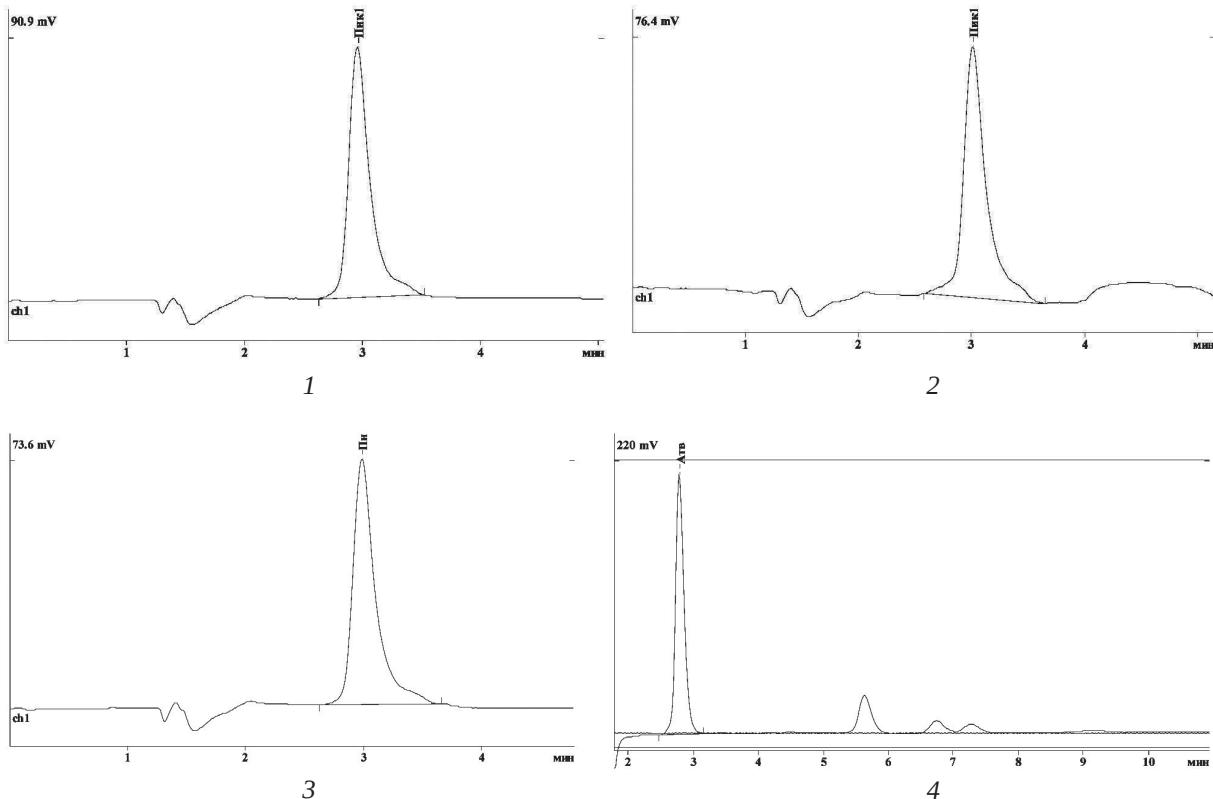
**Методика определения аторвастатина
в фармацевтических препаратах.**

Для исследования были взяты навески препаратов Аторвастатин-OBL, Тулив и Липримар по 125 мг. Навески растворяли в этаноле в колбе на 25 мл. Для проведения анализа в ВЭЖХ растворы готовили последовательным разбавлением до концентрации 5 мкг/мл. Хроматографический процесс в ВЭЖХ проводили в водно-органической подвижной фазе, состоящей из ацетонитрила и фосфатного буферного раство-



ра. С помощью микроширица отбирали 50 мкл пробы, содержащей исследуемый раствор, и вводили в хроматографическую колонку. Объем петли составлял 20 мкл. Времена удерживания полученных пиков сравнивали со стандартным веществом аторвастатина. Регистрацию и обработку данных при $\lambda = 240$ нм осуществляли с помощью программы «Мультихром 2.4». Проводили три параллельных опыта. Содержание аторвастатина в исследуемых объектах рассчитывали по градуировочной зависимости.

Установили, что времена удерживания стандартного вещества совпадают со значениями в исследуемых объектах, что свидетельствует о правильной идентификации. На рисунке представлены хроматограммы аторвастатина в исследуемых объектах и стандарте.



Хроматограммы аторвастатина в фармацевтических препаратах: 1 – «Аторвастатин-OBL» (Oblpharm, Россия), 2 – «Тулип» (Sandoz, Словения), 3 – «Липримар» (Pfizer, Германия), 4 – стандартное вещество – аторвастатин
Figure. Chromatograms of atorvastatin in pharmaceutical preparations. 1 – «Atorvastatin-OBL» (Oblpharm, Russia), 2 – «Tulip» (Sandoz, Slovenia), 3 – «Liprimar» (Pfizer, Germany), 4 – reference substance – atorvastatin

Можно сделать вывод, что аторвастатин содержится в каждом из исследуемых объектов с одинаковыми значениями t_R .

В табл. 6 представлены результаты определения аторвастатина в фармацевтических препаратах.

Таблица 6 / Table 6

Результаты определения аторвастатина в лекарственных препаратах. ПФ: ацетонитрил – ФБ (70 : 30, pH 3), ($n = 3, P = 0,95$)

Results of the atorvastatin determination in medicinal preparations. MP: acetonitrile – PhB (70 : 30, pH 3), ($n = 3, P = 0,95$)

Объект / An objec	$x_{cp} \pm \Delta x$, мг/мл / $x_{av} \pm \Delta x$ mg/ml	Sr	$\Delta x/x_{cp}$, % / $\Delta x/x_{av}$, %	Найдено Ast, мг / Found Ast, mg	Паспортные данные объекта, мг / Passport data object, mg
Аторвастатин-OBL / Atorvastatin-OBL	$4,9 \pm 0,1$	0,01	2,5	9,8	10
Липримар / Liprimarin	$4,9 \pm 0,1$	0,01	1,7	9,8	
Тулип / Tulip	$4,9 \pm 0,1$	0,01	2,8	9,7	



Из данных табл. 6 видно, что метод ВЭЖХ позволяет достичнуть достаточно близких результатов, что подтверждает правильность определения.

Заключение

Впервые систематически исследовано влияние основных модификаторов подвижной фазы в ВЭЖХ – элюирующей силы и буферного раствора на результаты хроматографирования наиболее значимых для медицины статинов – аторвастатина, розувастатина и симвастатина. Выбраны оптимальные модификаторы и на их основе разработана методика определения статинов в фармацевтических препаратах. Значение Sr составляет 0,03, относительная погрешность определения не превышает 7%.

Список литературы

1. Житникова Л. М. «Новые» статины – новые возможности для врача и пациента // Русский медицинский журнал. 2011. Т. 19, № 29. С. 1832–1834.
2. Istvan E. S., Deisenhofer J. Structural mechanism for statin inhibition of HMG-CoA reductase // Science. 2001. Vol. 292, № 5519. P. 1160–1164. <https://doi.org/10.1126/science.1059344>
3. Арефьева Т. И., Филатова А. Ю., Потехина А. В., Щинова А. М. Иммунотропные эффекты и предполагаемые механизмы действия ингибиторов 3-гидрокси-3-метилглутарил-коэнзим А редуктазы (стацинов) // Биохимия. 2018. Т. 83, № 8. С. 1111–1129. <https://doi.org/10.1134/S032097251808002X>
4. Олейников В. Э., Хромова А. А., Гусаковская Л. И., Сергацкая Н. В., Романовская Е. М. Аторвастатин у больных с острой и хронической формой ишемической болезни сердца // Российский кардиологический журнал. 2015. Т. 20, № 11. С. 98–103. <https://doi.org/10.15829/1560-4071-2015-11-98-103>
5. Леонова М. В. Статины и риск развития сахарного диабета: данные доказательной медицины // Фарматека. 2019. Т. 26, № 14. С. 30–39. <https://doi.org/10.18565/pharmateca.2019.14.30-39>
6. Бритов А. Н., Чупина М. П. Клиническая, липид-нормализующая и плейотропная эффективность розувастатина: обзор серии исследований GALAXY // Кардиоваскулярная терапия и профилактика. 2011. Т. 10, № 1. С. 104–109.
7. ФС 42-0276-07. Симвастатин // Государственная фармакопея Российской Федерации. 12-е изд. М., 2008. Ч. 1. С. 704.
8. Raj H. A., Rajput S. J., Dave J. B., Patel C. N. Development and validation of two chromatographic stability-indicating methods for determination of rosuvastatin in pure form and pharmaceutical preparation // Intern. J. of Chem. Tech. Research. 2009. Vol. 1, № 3. С. 677–689.
9. Шаповалова Е. Н., Пирогов А. В. Хроматографические методы анализа: методическое пособие для спец. курса. М. : МГУ им. М. В. Ломоносова, 2007. 204 с.
10. Рябуха А. Ф., Кузнецов К. А., Магницкая О. В., Смирнова Л. А., Сучков Е. А., Ефимова А. А., Толкачев Б. Е. Особенности количественного определения аторвастатина в плазме крови пациентов с ишемической болезнью сердца // Вестник Волгоградского государственного медицинского университета. 2011. № 1 (37). С. 53–55.
11. Попова Н. М. Методика количественного определения β-гидроксимивастатина в плазме крови // Российский медико-биологический вестник имени академика И. П. Павлова. 2011. Т. 19, № 4. С. 141–146.
12. Блынская Е. В., Чернова О. А., Алексеев В. К., Кондаков С. Э. Сравнительное фармакокинетическое изучение таблеток нормостатина // Вестник Московского университета. Серия 2. Химия. 2012. Т. 53, № 3. С. 198–206.
13. Петров В. И., Смирнова Л. А., Магницкая О. В., Рябуха А. Ф., Кузнецов К. А., Сучков Е. А. Количественное определение аторвастатина для проведения терапевтического лекарственного мониторинга, установления фенотипирования по активности CYP450 и межлекарственного взаимодействия у больных ИБС // Биомедицина. 2010. № 3. С. 111–113.
14. Kublin E., Malanowicz E., Kaczmarśka-Graczyk B., Mazurek A. P. Development of chromatographic method for determination of drugs reducing cholesterol level // Acta Poloniae Pharmaceutica. 2012. Vol. 69, № 1. P. 139–143.
15. Stanisz B., Kania L. Validation of HPLC method for determination of atorvastatin in tablets and for monitoring stability in solid phase // Acta Poloniae Pharmaceutica. 2006. Vol. 63, № 6. P. 471–476.
16. Wagh K., Sonawane S., Chhajad S., Kshirsagar S. Development of a RP-HPLC method for separation of ezetimibe in presence of atorvastatin calcium and simvastatin and its application for quantitation of tablet dosage forms // Asian J. of Pharmaceutical Analysis. 2017. Vol. 7, № 3. P. 169–175. <https://doi.org/10.5958/2231-5675.2017.00027.8>
17. Sultana N., Arayne M. S., Naveed S. Simultaneous determination of captopril and statins in API, pharmaceutical formulations and in human serum by RP-HPLC // J. of Chinese Chem. Soc. 2010. Vol. 57, № 3A. P. 378–383. <https://doi.org/10.1002/jccs.201000056>
18. Грецкая М. А., Трухачева Т. В. Валидация методики совместного определения амлодипина и аторвастатина и их примесей в комбинированном антигипертензивном препарате // Медико-социальная экология личности: состояние и перспективы: материалы X Междунар. конф., 6–7 апр. 2012 г., Минск / отв. ред. В. А. Прокашева. Минск : Изд. центр БГУ, 2012. С. 380–382.
19. Абу-Намех Э. С. М., Шавабках Р. Ф., Аззам А. Определение симвастатина в лекарственных препаратах методом высокоэффективной жидкостной хроматографии // Журн. анализ. химии. 2006. Т. 61, № 1. С. 70–73.



20. Sultana N., Arayne M. S., Shahzad W. Simultaneous determination of ceftriaxone sodium and statin drugs in pharmaceutical formulations and human serum by RP-HPLC // J. of the Chilean Chemical Society. 2010. Vol. 55, № 2. P. 193–198. <https://doi.org/10.4067/S0717-97072010000200010>
21. Shah D. A., Bhatt K. K., Mehta R. S., Baldania S. L., Gandhi T. R. Stability indicating RP-HPLC estimation of atorvastatin calcium and amlodipine besylate in pharmaceutical formulations // Indian J. Pharm. Sci. 2008. Vol. 70, № 6. P. 754–760. <https://doi.org/10.4103/0250-474X.49117>
22. Shah D. A., Bhatt K. K., Shankar M. B., Mehta R. S., Gandhi T. R., Baldania S. L. RP-HPLC determination of atorvastatin calcium and amlodipine besylate combination in tablets // Ind. J. Pharm. Sci. 2006. Vol. 68, № 6. P. 796–799. <https://doi.org/10.4103/0250-474X.31019>
23. Sultana N., Arayne M. S., Shafi N., Siddiqui F. A., Hussain A. Development of a RP-HPLC method for the simultaneous analysis of diltiazem and statin: Application in pharmaceuticals and human serum // Anal. Methods. 2010. Vol. 2, № 10. P. 1571–1576. <https://doi.org/10.1039/C0AY00337A>
24. Красных Л. М., Смирнов В. В., Горошко А. О., Егоренков Е. А., Василенко Г. Ф., Раменская Г. В., Петухов Е. А. Изучение сравнительной фармакокинетики препаратов, содержащих розувастатин // Биомедицина. 2016. № 1. С. 108–116.
25. Simionato L. D., Ferello L., Stamer S. G., Repetto M. F., Zubata P. D., Segall A. I. A validated reversed-phase HPLC method for the determination of atorvastatin calcium in tablets // Austin Chromatogr. 2014. Vol. 1, № 1. P. 1–4.
26. Sonawane S. S., Shirkhedkar A. A., Fursule R. A., Surana S. Application of UV-Spectrophotometry and RP-HPLC for Simultaneous Determination of Atorvastatin Calcium and Ezetimibe in Pharmaceutical Dosage Form // Eurasian J. of Analytical Chemistry. 2006. Vol. 1. P. 31–41. <https://doi.org/10.12973/EJAC/77004>
27. Mustafa G., Azeem A., Jalees F., Khan A., Khan Z. I., Shakeel F., Talegaonkar S. Stability-indicating RP-HPLC method for analysis of atorvastatin in bulk drug, marketed tablet and nanoemulsion formulation // J. of the Chilean Chemical Society. 2010. Vol. 55, № 2. P. 184–188. <https://doi.org/10.4067/S0717-97072010000200008>
28. Gupta K. R., Wadodkar A. R., Wadodkar S. G. Validated Reverse Phase HPLC method for simultaneous estimation of atorvastatin and Atenolol in tablets // Pharm. Lett. 2011. Vol. 3, № 4. P. 393–403.
29. Nováková L., Vlčkova H. A review of current trends and advances in modern bio-analytical methods: Chromatography and sample preparation // Analytica Chimica Acta. 2009. Vol. 656, № 1–2. P. 8–35. <https://doi.org/10.1016/j.aca.2009.10.004>
30. Bozhanov S., Maslarska V. Spectroscopic and high-performance liquid chromatography methods for determination of statins // Pharmacia. 2016. Vol. 63, № 2. P. 35–48.

References

1. Zhitnikova L. M. «New» statins are new opportunities for the doctor and the patient. *Russian Medical Journal*, 2011, vol. 19, no. 29, pp. 1832–1834 (in Russian).
2. Istvan E. S., Deisenhofer J. Structural mechanism for statin inhibition of HMG-CoA reductase. *Science*, 2001, vol. 292, no. 5519, pp. 1160–1164. <https://doi.org/10.1126/science.1059344>
3. Arefieva T. I., Filatova A. Y., Potekhina A. V., Shchinnova A. M. Immunotropic effects and proposed mechanism of action for 3-hydroxy-3-methylglutaryl-coenzyme a reductase inhibitors (statins). *Biochemistry*, 2018, vol. 83, no. 8, pp. 874–889 (in Russian). <https://doi.org/10.1134/S032097251808002X>
4. Oleynikov V. E., Khromova A. A., Gusakovskaya L. I., Sergatskaya N. V., Romanovskaya E. M. Atorvastatin in acute and chronic kinds of ischemic heart disease. *Russian Journal of Cardiology*, 2015, vol. 20, no. 11, pp. 98–103 (in Russian). <https://doi.org/10.15829/1560-4071-2015-11-98-103>
5. Leonova M. V. Statins and the risk of diabetes: An evidence-based review. *Pharmateca*, 2019, vol. 26, no. 14, pp. 30–39 (in Russian). <https://doi.org/10.18565/pharmateca.2019.14.30-39>
6. Britov A. N., Chupina M. P. Clinical, lipid-lowering, and pleiotropic effectiveness of rosuvastatin: A review of the GALAXY programme results. *Cardiovascular Therapy and Prevention*, 2011, vol. 10, no. 1, pp. 104–109 (in Russian)
7. FS 42-0276-07. Simvastatin. *State Pharmacopeia of the Russian Federation*. 12th ed. Moscow, 2008, part 1, pp. 704 (in Russian).
8. Raj H. A., Rajput S. J., Dave J. B., Patel C. N. Development and validation of two chromatographic stability-indicating methods for determination of rosuvastatin in pure form and pharmaceutical preparation. *Intern. J. of Chem. Tech. Research.*, 2009, vol. 1, no. 3, pp. 677–689.
9. Shapovalova E. N., Pirogov A. V. *Khromatograficheskiye metody analiza : metodicheskoye posobiye dlya spets. kursa* [Chromatographic methods of the analysis. The study guide for a special course]. Moscow, Lomonosov Moscow State University Publ., 2007. 204 p. (in Russian).
10. Ryabucha A. F., Kuznetsov K. A., Magnitskaya O. V., Smirnova L. A., Suchkov Y. A., Yefimova A. A., Tolkachev B. Y. Specifics of determining atorvastatin in human plasma of patients with coronary heart disease. *Journal of VolgSMU*, 2011, no. 1 (37), pp. 53–55 (in Russian).
11. Popova N. M. Method for the quantitative determination of β-hydroxysimvastatin in blood plasma. *I. P. Pavlov Russian Medical Biological Herald*, 2011, vol. 19, no. 4, pp. 141–146 (in Russian).
12. Blynskaya E. V., Chernova O. A., Alekseev V. K., Kondakov S. E. Comparative pharmacokinetic study of normostatin tablets. *Moscow University Chemistry Bulletin*, 2012, vol. 67, no. 3, pp. 136–141 (in Russian).
13. Petrov V. I., Smirnova L. A., Magnitskaya O. V., Ryabukh A. F., Kuznetsov K. A., Suchkov E. A. Quantitative



- definition of an atorvastatin for carrying out therapeutic medicinal monitoring, establishment of phenotyping on activity of CYP450 and intermedicinal interaction at sick IBS. *Biomeditsina*, 2010, no. 3, pp. 111–113 (in Russian).
14. Kublin E., Malanowicz E., Kaczmarśka-Graczyk B., Mazurek A. P. Development of chromatographic method for determination of drugs reducing cholesterol level. *Acta Poloniae Pharmaceutica*, 2012, vol. 69, no. 1, pp. 139–143.
15. Stanisz B., Kania L. Validation of HPLC method for determination of atorvastatin in tablets and for monitoring stability in solid phase. *Acta Poloniae Pharmaceutica*, 2006, vol. 63, no. 6, pp. 471–476.
16. Wagh K., Sonawane S., Chhajad S., Kshirsagar S. Development of a RP-HPLC method for separation of ezetimibe in presence of atorvastatin calcium and simvastatin and its application for quantitation of tablet dosage forms. *Asian J. of Pharmaceutical Analysis*, 2017, vol. 7, no. 3, pp. 169–175. <https://doi.org/10.5958/2231-5675.2017.00027.8>
17. Sultana N., Arayne M. S., Naveed S. Simultaneous determination of captopril and statins in API, pharmaceutical formulations and in human serum by RP-HPLC. *J. of Chinese Chem. Soc.*, 2010, vol. 57, no. 3A, pp. 378–383. <https://doi.org/10.1002/jccs.201000056>
18. Grezkaya M. A., Trukhacheva T. V. Validation of a technique of joint definition of an amiodipine and atorvastatin and their impurity in the combined antihypertensive medicine. In: V. A. Prokasheva, ed. *Medico-social Ecology of the Personality: State and Prospects*: materials of the X International conference, Apr. 6–7, 2012, Minsk]. Minsk, Publ. center BGU, 2012, pp. 380–382 (in Russian).
19. Abu-Nameh Eyad S. M., Shawabkeh R. A., Azzam Ali. High-performance liquid chromatographic determination of simvastatin in medical drugs. *J. of Analytical Chemistry*, 2006, vol. 61, no. 1, pp. 70–73 (in Russian).
20. Sultana N., Arayne M. S., Shahzad W. Simultaneous determination of ceftriaxone sodium and statin drugs in pharmaceutical formulations and human serum by RP-HPLC. *J. of the Chilean Chemical Society*, 2010, vol. 55, no. 2, pp. 193–198. <https://doi.org/10.4067/S0717-97072010000200010>
21. Shah D. A., Bhatt K. K., Mehta R. S., Baldania S. L., Gandhi T. R. Stability indicating RP-HPLC estimation of atorvastatin calcium and amlodipine besylate in pharmaceutical formulations. *Indian J. Pharm. Sci.*, 2008, vol. 70, no. 6, pp. 754–760. <https://doi.org/10.4103/0250-474X.49117>
22. Shah D. A., Bhatt K. K., Shankar M. B., Mehta R. S., Gandhi T. R., Baldania S. L. RP-HPLC determination of atorvastatin calcium and amlodipine besylate combination in tablets. *Indian. J. Pharm. Sci.*, 2006, vol. 68, no. 6, pp. 796–799. <https://doi.org/10.4103/0250-474X.31019>
23. Sultana N., Arayne M. S., Shafi N., Siddiqui F. A., Hussain A. Development of a RP-HPLC method for the simultaneous analysis of diltiazem and statin: Application in pharmaceuticals and human serum. *Anal. Methods*, 2010, vol. 2, no. 10, pp. 1571–1576. <https://doi.org/10.1039/C0AY00337A>
24. Krasnykh L. M., Smirnov V. V., Goroshko O. A., Yegorenkov E. A., Vasilenko G. F., Ramenskaya G. V., Petukhov A. E. The study of comparative pharmacokinetics of preparations containing rosuvastatin. *J. Biomed.*, 2016, no. 1, pp. 108–116 (in Russian).
25. Simionato L. D., Ferello L., Stamer S. G., Repetto M. F., Zubata P. D., Segall A. I. A validated reversed-phase HPLC method for the determination of atorvastatin calcium in tablets. *Austin Chromatogr.*, 2014, vol. 1, no. 1, pp. 1–4.
26. Sonawane S. S., Shirkhedkar A. A., Fursule R. A., Surana S. Application of UV-Spectrophotometry and RP-HPLC for Simultaneous Determination of Atorvastatin Calcium and Ezetimibe in Pharmaceutical Dosage Form. *Eurasian J. of Analytical Chemistry*, 2006, vol. 1, pp. 31–41. <https://doi.org/10.12973/EJAC/77004>
27. Mustafa G., Azeem A., Jalees F., Khan A., Khan Z. I., Shakeel F., Talegaonkar S. Stability-indicating RP-HPLC method for analysis of atorvastatin in bulk drug, marketed tablet and nanoemulsion formulation. *J. of the Chilean Chemical Society*, 2010, vol. 55, no. 2, pp. 184–188. <https://doi.org/10.4067/S0717-97072010000200008>
28. Gupta K. R., Wadodkar A. R., Wadodkar S. G. Validated Reverse Phase HPLC method for simultaneous estimation of atorvastatin and Atenolol in tablets. *Pharm. Lett.*, 2011, vol. 3, no. 4, pp. 393–403.
29. Nováková L., Vlčková H. A review of current trends and advances in modern bio-analytical methods: Chromatography and sample preparation. *Analytica Chimica Acta*, 2009, vol. 656, no. 1–2, pp. 8–35. <https://doi.org/10.1016/j.aca.2009.10.004>
30. Bozhanov S., Maslarska V. Spectroscopic and high-performance liquid chromatography methods for determination of statins. *Pharmacia*, 2016, vol. 63, no. 2, pp. 35–48.

Поступила в редакцию 16.06.22; одобрена после рецензирования 25.06.22; принята к публикации 29.06.22
The article was submitted 16.06.22; approved after reviewing 25.06.22; accepted for publication 29.06.22

Известия Саратовского университета. Новая серия. Серия: Химия. Биология. Экология. 2022. Т. 22, вып. 4. С. 373–381

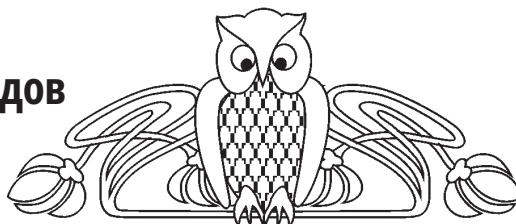
Izvestiya of Saratov University. Chemistry. Biology. Ecology, 2022, vol. 22, iss. 4, pp. 373–381

<https://ichbe.sgu.ru>

<https://doi.org/10.18500/1816-9775-2022-22-4-373-381>, EDN: IWRMEA

Научная статья
УДК 546.15:613.26

Определение содержания йода, йодидов и йодатов в пищевых продуктах



Е. О. Маркова[✉], Д. А. Некрасов, М. Ю. Дьяков, А. А. Данилов

Смоленский государственный медицинский университет, Россия, 214019, г. Смоленск, ул. Крупской, д. 28

Маркова Екатерина Олеговна, кандидат биологических наук, доцент кафедры общей и медицинской химии, smeshik-kate@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-4361-0824>

Некрасов Дмитрий Александрович, студент 4-го курса, dister555@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0001-9903-6166>

Дьяков Михаил Юрьевич, кандидат химических наук, доцент кафедры общей и медицинской химии, dyakov.mikhail@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0003-2615-7674>

Данилов Аркадий Александрович, студент 5-го курса, danilov.arkadiy@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0003-0490-0316>

Аннотация. В настоящее время йододефицитные заболевания являются одной из важнейших медицинских и социальных проблем. В связи с этим цель исследования – определить содержание йода, йодидов, йодатов в йодированной соли, питьевой и минеральной воде, морских водорослях, определить устойчивость содержания йода в соли. Для качественного определения йодид- и йодатов-ионов в солях и молекулярного йода в морских водорослях проводили йодкрахмальную реакцию. Наличие йодид-ионов в йодированной воде определяли по реакции с нитратом серебра и хлорной водой, выделяющийся йод экстрагировали хлороформом. Количественное определение йода в соли проводилось титриметрическим методом, в воде – колориметрическим, в морской капусте – гравиметрическим с последующим титрованием. В ходе исследования установлено, что йодированная соль содержит йод в форме йодата калия, в количестве 18.65 мкг/г элементарного йода, ламинария содержит молекулярный йод в количестве 8.12 мкг/г элементарного йода, а йодированная вода содержит йодид калия в количестве 0.327 мкг/мл элементарного йода. В ходе исследования доказано, что количество йода в йодированной йодатом калия соли уменьшается через месяц в 5,6 раза. Для того чтобы соблюдать ежедневную норму потребления йода, необходимо включать в свой рацион около 9.7 г йодированной соли, что превышает суточную норму ее потребления в 5 г. В связи с этим рекомендуется в качестве профилактики йододефицита употреблять йодированную соль (не более 5 г) или йодированную воду (0.7 л воды) или ламинарии (18.47 г).

Ключевые слова: йододефицит, йод, профилактика, соль, вода, морские водоросли

Для цитирования: Маркова Е. О., Некрасов Д. А., Дьяков М. Ю., Данилов А. А. Определение содержания йода, йодидов и йодатов в пищевых продуктах // Известия Саратовского университета. Новая серия. Серия: Химия. Биология. Экология. 2022. Т. 22, вып. 4. С. 373–381. <https://doi.org/10.18500/1816-9775-2022-22-4-373-381>, EDN: IWRMEA

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

Article

Determination of the content of iodine, iodides and iodates in food products

Е. О. Маркова[✉], Д. А. Некрасов, М. Ю. Дьяков, А. А. Данилов

Smolensk State Medical Academy of the Ministry of Health of the Russian Federation, 28 Krupskaya St., Smolensk 214019, Russia

Ekaterina O. Markova, smeshik-kate@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-4361-0824>

Dmitry A. Nekrasov, dister555@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0001-9903-6166>

Michael Yu. Dyakov, dyakov.mikhail@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0003-2615-7674>

Arkady A. Danilov, danilov.arkadiy@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0003-0490-0316>

Abstract. Currently iodine deficiency diseases are one of the most important medical and social problems. In this regard, the purpose of the study is to determine the content of iodine, iodides, iodates in iodized salt, drinking and mineral water, seaweed, to determine the stability of the iodine content in salt. For the qualitative determination of iodides and iodates ions in salts and molecular iodine in seaweed, an iodine starch reaction has been carried out. The presence of iodide ions in iodized water has been determined by reaction with silver nitrate and chlorine water, the iodine released has been extracted with chloroform. Quantitative determination of iodine in salt has been carried out by the titrimetric method, in water – by colorimetric method, in seaweed – by gravimetric method with subsequent titration. The study has found that iodized salt contains iodine in the form of potassium iodate, in an amount of 18.65 µg / g of elemental iodine, kelp contains molecular iodine in the amount of 8.12 µg / g of elemental iodine, and iodized water contains potassium iodide in the amount of 0.327 µg / ml of elemental iodine. The study has proved that over time, the



amount of iodine in the salt iodized with potassium iodate decreases after a month by 5.6 times. In order to comply with the daily rate of iodine intake, it is necessary to include in your diet about 9.7 g of iodized salt, which exceeds the daily norm of its consumption in 5 g. In this regard, it is recommended to use iodized salt (not more than 5 g) or iodized water (0.7 L of water) or kelp (18.47 g) as a prevention of iodine deficiency.

Keywords: iodine deficiency, iodine, prophylaxis, salt, water, seaweed

For citation: Markova E. O., Nekrasov D. A., Dyakov M. Yu., Danilov A. A. Determination of the content of iodine, iodides and iodates in food products. *Izvestiya of Saratov University. Chemistry. Biology. Ecology*, 2022, vol. 22, iss. 4, pp. 373–381 (in Russian). <https://doi.org/10.18500/1816-9775-2022-22-4-373-381>, EDN: IWRMEA

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

Введение

Дефицит йода является крайне актуальной медицинской и социальной проблемой в большинстве стран, включая промышленно развитые и развивающиеся регионы мира [1]. Около 30% населения всего мира страдает от заболеваний, связанных с йододефицитом [2]. Нарушения, вызванные йододефицитом, объединены термином «йододефицитные заболевания». Согласно ВОЗ – это патологические состояния, обусловленные дефицитом йода, которые могут быть предотвращены посредством обеспечения населения необходимым количеством йода. Ни в одном из регионов России доля семей, которые регулярно потребляют йодированную соль, не достигает целевого показателя в 90%, а находится на отметке не выше 30% [3]. Практически на всей территории России у детского и подросткового населения обнаружена зобная эндемия: ребёнок школьного возраста в среднем потребляет менее 100 мкг/л йода в день [4], в то время как рекомендуемый уровень суточного потребления йода составляет 90 мкг – для детей до 5 лет; 120 мкг – для детей с 5 до 12 лет; 150 мкг – для детей с 12 лет и взрослых; 250 мкг – для беременных и кормящих женщин [5].

Недостаточное поступление йода с пищей может служить причиной 65% случаев заболеваний щитовидной железы у взрослых и 95% у детей [6]. При этом нарушение выработки гормонов щитовидной железы негативно влияет на мышцы, сердце, печень, почки и мозг, что приводит к патологиям различной степени тяжести (зоб и его осложнения, нарушения умственного и физического развития, гипотиреоз, злокачественные образования щитовидной железы и другие) [7]. В популяциях, постоянно испытывающих даже легкий йодный дефицит, уровень IQ снижается на 10–13 пунктов [3]. Субклинический дефицит часто носит эндемический характер и характерен для определенных районов, где йод является низким или недоступен в геохимической среде [8].

В связи с этим необходима профилактика йододефицита посредством добавления в пище-

вой рацион определённых продуктов питания, содержащих достаточное количество микрэлемента. Таковыми, например, являются йодированная соль, вода с содержанием йода и морские водоросли. Ряд исследователей предлагают вводить йодированные добавки в кисломолочные [9, 10] и мясные продукты [11].

Аналитическое определение йода до сегодняшнего дня, несмотря на наличие многих методов, остается весьма сложным и трудоемким. Это связано с летучестью йода, возможностью вступать в окислительно-восстановительные реакции с компонентами анализируемого вещества, поливалентностью и, в ряде случаев, с малой концентрацией. В современной литературе указываются следующие методы определения йода.

Титриметрические методы рекомендованы для определения йода в питьевой воде, хлебобулочных изделиях, поваренной соли. Они просты, доступны, не требуют применения специальной аппаратуры, позволяют определять йод в молекулярной форме, форме йодидов, йодатов. Недостатками являются многостадийность, введение ряда окислителей и восстановителей для перевода различных степеней окисления йода в элементный йод. Метод обладает невысокой чувствительностью (10^{-3} – 10^{-4} моль/л) и высоким пределом обнаружения (в поваренной соли 54 мг/кг) [12].

Оптические методы более специфичны, используются для определения йода в биологических жидкостях, пищевых продуктах растительного и животного происхождения, в кормах и растениях, например, в картофеле, моркови, яблоках, молоке, морских продуктах, чае, сладостях и др. Они характеризуются довольно высокой чувствительностью и низким пределом обнаружения. Предел обнаружения йода в среднем составляет в фотометрических методах – 10^{-1} мг/л, экстракционно-фотометрических или флуориметрических – 10^{-2} мг/л, спектро-фотометрических – 10^{-2} мг/л [13].

Фотометрические методы (чувствительность в среднем 10^{-5} – 10^{-6} М с погрешностью 2–5%) можно разделить на две группы. Первая – методы,

основанные на образовании йодидом окрашенных комплексных соединений или ассоциатов. Разработанная методика определения йода с образованием йодкрахмального комплекса имеет предел обнаружения 10^{-2} мг/л и ошибку 3–10%. В первую группу также входят методы, использующие окислительно-восстановительные реакции с образованием йода, йодата, периодата с их последующим определением. Например, при исследовании минеральных вод разного состава использовалась реакция с участием пар $\text{Sb(V)}/\text{Sb(III)} - \text{I}_2/2\text{I}^-$. Предел обнаружения (ПрO) $5 \cdot 10^{-5}$ мг/л, относительная погрешность не превышает 20% [13]. Методы первой группы удобны в исполнении, просты и с достаточной достоверностью выполнимы при относительно высоком содержании солей йода в пробе [11]. Вторая группа методов – это кинетические методы, которые обладают большей чувствительностью. Общепринятым ВОЗ методом является кинетический церий-арсенитный метод, основанный на измерении скорости реакции между церием (IV) и мышьяком (III) в кислом растворе. ПрO метода составляет $10^{-2} - 1$ мкг йодида, стандартное отклонение (S_r) 2,15–7,21%, правильность метода $90 \pm 7\%$. Но метод имеет недостатки: токсичность используемых реагентов, необходимость высокой чистоты используемых реагентов и растворов, проведение реакций в строго контролируемых условиях (времени, температуры, рН) [14].

Наиболее часто используют спектрофотометрический метод определения йода в неводных растворителях: ацетонитриле, диметилформамиде и диметилсульфоксиде (чувствительность $10^{-5} - 10^{-6}$ моль/л с погрешностью 2–5%). Недостатки метода: строгое соблюдение оптимальных условий, сложная и длительная пробоподготовка, при которой возможны потери йода из-за неоднократного выпаривания пробы, использование дорогого оборудования и редких реагентов [15]. В последние годы был предложен колориметрический датчик для чувствительного и точного определения форм йода с использованием полиметакрилатной матрицы, который может использоваться с образцами без предварительной обработки и подходит для установки в портативном приборе для анализа. Этот метод обеспечивает определение $0,05 - 80,0$ мкг·г⁻¹ йода с ПрO 0,02 мкг·г⁻¹. Результаты испытаний показывают, что эта полиметакрилатная матрица может быть использована для определения содержания йода в растворах, пищевой соли и йодированной минеральной воде [16].

Хроматографические методы. Метод газожидкостной хроматографии чувствителен, используется для объектов с малым содержанием йода, ПрO 10^{-3} мг/л.

При использовании ВЭЖХ необходима предварительная тщательная подготовка проб, удаление из них жиров, белков, минеральных примесей и т.п. ВЭЖХ была применена для определения йодидов в жидким молоке и молочном порошке. Детектирование проводится с применением электрохимического либо ультрафиолетового детектора. Проводилось определение йода в минерализованной воде методом изократической ионной хроматографии с кондуктометрическим детектированием. ПрO иодида составил $7 \cdot 10^{-2}$ мг/л, воспроизводимость $\leq 5\%$ [17]. Определение йодид-иона в морской капусте проводили методом микроэмulsionной электрохимической хроматографии. ПрO 110 мкг/кг высшенного образца [16].

Электрохимические методы. Вольтамперометрический метод основан на переводе всех форм йода в электрохимическую активную форму йодида с последующим определением йодид-ионов с помощью инверсионной вольтамперометрии. Метод чувствителен ($10^{-9} - 10^{-10}$ моль/л), ПрO низкий – $10^{-5} - 10^{-6}$ мг/л. Методом катодной инверсионной вольтамперометрии проводилось определение йода в поливитаминных препаратах [18].

Метод потенциометрического титрования основан на определении потенциала индикаторного серебряного электрода, в процессе титрования йодид-ионов серебром. Применяют ионоселективные электроды, в том числе йодидселективные, мембранны этих электродов состоят из малорастворимой соли йодида серебра в смеси с сульфидом серебра. Метод используется при оценке качества природных и пищевых вод [19]. Редокс-потенциометрия характеризуется высоким ПрO (10 мг/л), но недостаточной избирательностью.

Можно отметить еще ряд высокоеффективных инструментальных методов определения йода:

- метод изотопного разбавления – метод основан на введении изотопного элемента, после чего вводят индикатор известной концентрации, что позволяет определить содержание элемента в исходном продукте. ПрO – 1 мкг/л; Sr – 14% [20];

- метод нейтронно-активационного анализа – метод качественного и количественного определения элементов, основанный на измерении характеристик излучения радионуклидов, образующихся при облучении материалов нейтронами. Абсолютный ПрO 5 нг йода в пробе, Sr – 5% [12];



• метод масс-спектрометрии с индуктивно-связанной плазмой – разновидность масс-спектрометрии, основан на использовании индуктивно-связанной плазмы в качестве источника ионов и масс-спектрометра для их разделения и детектирования. Метод использовался для определения йода в морепродуктах. ПрО – 15 мкг/кг, Sr – 3,2–12% при концентрации сухого продукта 4,7–0,17 мг/кг [21].

Многие из современных методов, обладающих высокой чувствительностью и достоверностью (нейтронно-активационного анализа, масс-спектрометрии с индуктивно-связанной плазмой, изотопного разбавления, высокоэффективная жидкостная хроматография), в настоящий момент малодоступны для использования в массовой аналитической практике. В связи с этим чаще используются более доступные и простые, хотя и менее чувствительные методы (титриметрические, фотометрические и др.). Титриметрический метод рекомендован Минздравом РФ для оценки степени йодирования пищевой поваренной соли йодатом калия, международной ассо-

циацией химиков-аналитиков он рекомендован в качестве официального стандартного метода для определения йода в пищевых продуктах, при оценке уровня йодирования соли, анализе йода в лекарственных средствах.

Указанный обширный набор методов количественного анализа йода свидетельствует о поиске учеными эффективных, высокоточных и доступных методов, позволяющих определять йод в различных пищевых продуктах, воде и биологических объектах с целью решения остро стоящей йододефицитной проблемы населения. Для профилактики йододефицита необходимо контролировать количество йода, вводимое в ежедневный рацион с пищей.

Цель исследования: определить содержание йода, йодидов и йодатов в йодированной соли, питьевой и минеральной воде и морских водорослях и оценить устойчивость йода в соли.

Материалы и методы

Для исследования была отобрана пищевая продукция, указанная в табл. 1.

Таблица 1 / Table 1

Исследуемая пищевая продукция Investigated food products

Вид продукции Product type	Название Title	Производитель Manufacturer	Антислеживающий агент E536, массовая доля, % Anti-tracking agent E536 mass fraction, %
Йодированная соль (в составе KIO ₃) Iodized salt (as part of KIO ₃)	«Экстра» «Extra»	ООО «ТДС», РФ ООО «TDS», Russia	0.001
	«Щепотка» «Pinch»	ООО «ТДС», РФ ООО «TDS», Russia	0.001
	«4Life»	ООО «КОПЭКЕР АГРО», РФ ООО KOPACKER AGRO, Russia	–
	«Зимушка» «Zimushka»	«Akzo Nobel Functional Chemicals B.V.», Нидерланды / Netherlands	0.002
	«SeaSalt»	ООО «Руссоль», РФ ООО «Russol», Russia	0.001
	«Setra»	«Salinen Prosold. o.o.», Словения / Slovenia	–
Йодированная вода (в составе I ⁻) Iodized water (as part of I ⁻)	«Архыз» «Arkhyz»	ЗАО «Висма», РФ CJSC «Visma», Russia	–
	«Jodika»	«SMW» GmbH, Австрия / Austria	–
Морские водоросли (состав не указан) Seaweed (composition not specified)	«ВкусВилл» «Vkusville»	ООО Рыбопромышленная группа «БИНОМ», РФ ООО Fishing group «BINOM», Russia	–
	«Беломорская жемчужина» «Belomorskaya pearl»	ООО «Архангельский водорослевый комбинат», РФ LLC «Arkhangelsk Algae Plant», Russia	–
	«Green Laminaria»	ООО «Компас здоровья», РФ ООО «Compass of health», Russia	–

Пробы соли каждого наименования отбирались из 10 упаковок в потребительской таре по 1 кг. Из отобранных упаковок отбирались первичные пробы, а затем смешивались для получения суммарной пробы. Суммарную пробу сокращали до лабораторной последовательным квартованием вручную (ГОСТ 33770-2016). Пробы морской капусты отбирались аналогично из 10 упаковок потребительской тары (ГОСТ 31412-2010). Отбор проб минеральной воды проводили согласно ГОСТ 23268.0-91. Определение содержания йода проводили из усредненной пробы, которую готовили, используя воду из 6 бутылок.

Для проведения анализа использовались методы качественного и количественного определения. Для качественного определения содержания KI в солях использовали реакцию с нитритом натрия и серной кислотой, а выделившийся молекулярный йод определяли йодкрахмальной реакцией. Для качественного определения содержания KIO_3 в солях использовали реакцию с иодидом, а выделившийся молекулярный йод определяли йодкрахмальной реакцией [22].

Для качественного определения содержания KI в питьевой воде «Архыз» и «Jodika» были использованы фармакопейные методики [23].

Для качественного определения содержания йода в морских водорослях был использован метод, основанный на взаимодействии йода с крахмалом [24].

Определение массовой доли йода в соли, обработанной йодноватокислым калием, проводилось титриметрическим методом (ГОСТ РФ 51575-2000). Определение массовой доли йода в воде проводилось колориметрическим методом (ГОСТ РФ 23268.16-78). Определение массовой доли йода в морской капусте проводилось гравиметрическим методом с последующим титрованием фильтрованного раствора [24].

Статистическую обработку данных проводили с помощью пакетов прикладных программ Microsoft Excel 2019 и Statistica 7.

Результаты и их обсуждение

Качественный анализ показал, что йод в йодированной соли находится в форме KIO_3 , что соответствует данным, заявленным производителями в разделе «Состав», иодид-ионов в солях обнаружено не было.

Данные по количественному содержанию йода в йодированной соли представлены в табл. 2.

Таблица 2 / Table 2

**Содержание йодата калия в йодированных солях, мкг/г
The content of potassium iodate in iodized salts, mcg/g**

Йодированная соль Iodized salt	KIO_3 , мас., % KIO_3 , mass., %		Содержание йода, заявленное производителем, мкг/г The iodine content declared by the manufacturer, mcg/g
	04.05.2020	04.06.2020	
«4Life» (образец 1 / sample 1)	27,93 ± 0,25	3,10 ± 0,55*	11.25 – 40.00
«Экстра» / «Extra» (образец 2 / sample 2)	17,29 ± 0,30	2,10 ± 0,50*	11.25 – 40.00
«Щепотка» / «Pinch» (образец 3 / sample 3)	10,73 ± 0,20	1,10 ± 0,30*	25 – 55
«Зимушка» / «Zimushka» (образец 4 / sample 4)	49,10 ± 0,55	12,70 ± 0,60*	30.00 – 60.00
«Sea Salt» (образец 5 / sample 5)	35,20 ± 0,40	4,20 ± 0,50*	11.25 – 40.00
«Setra» (образец 6 / sample 6)	62,60 ± 0,15	10,40 ± 0,15*	42.10 – 92.70

Примечание. * – $p < 0,05$ по отношению к первоначальным значениям.

Note. * – $p < 0.05$ relative to the original values.

Все исследуемые образцы соответствуют приведенной рекомендуемой норме, кроме образца 3, что может быть обусловлено неправильными условиями хранения в магазине

розничной торговли, на складе, при транспортировке или ошибками в производстве.

Через месяц в соли образца 4 произошла наименьшая потеря йода – концентрация снизи-



лась в 3,9 раза. Возможно, это произошло из-за изначально высокого содержания KIO_3 , а также из-за того, что стабилизатор и антиследящий агент E536 в составе продукта находился в более высокой концентрации. В образцах 2 и 5 содержание йода уменьшилось в 8,3 раза. Однаковое изменение концентрации может быть вызвано тем, что добавка E536 входит в их состав в одинаковом количестве. В солях образцов 1 и 3 – содержание йода уменьшилось в 9,1 и 9,7 раза соответственно.

Таким образом, йодированная соль обогащается йодом искусственным путём в виде соли KIO_3 и содержит в среднем 18.65 мкг/г йода, что в пересчёте на йодат калия составляет 15.47 мкг/г. Для соблюдения ежедневной нормы потребления

йода, необходимо включать в свой рацион 9.7 г йодированной соли. Однако суточная норма потребления соли составляет не более 5 г, поэтому восполнить суточную потребность йода только за счет йодированной соли невозможно, целесообразно вводить в рацион другие продукты, содержащие йод.

При качественном исследовании питьевой и минеральной воды было установлено, что йод содержится в форме KI , как и заявлено производителем.

При количественном определении также было установлено соответствие полученных значений показателям содержания йодид-ионов, заявленным производителем в разделе «Основной состав» (табл. 3).

Таблица 3 / Table 3

**Содержание йодид-ионов в йодированной воде, мкг/г
The content of iodide ions in iodized water, mg/l**

Йодированная вода Iodized water	I^-	Содержание йода, заявленное производителем Iodine content, declared by the manufacturer
Питьевая вода «Архыз» Drinking water «Arkhyz»	$0.0585 \pm 0.002^*$	0.01 – 0.06
Минеральная вода «Jodika» Mineral water «Jodika»	$0.9225 \pm 0.002^*$	0.75 – 1.05

Примечание. * – $p < 0,05$ по отношению к средним показателям йодированной соли.

Note. * – $p < 0.05$ in relation to the average values of iodized salt.

Содержание йода в питьевой и минеральной воде не одинаково. В минеральной воде «Jodika» количество йода в 15.8 раза больше, чем в питьевой воде «Архыз». Среднее содержание йода в йодированной воде 0.327 мкг/мл, что в пересчёте на йодид калия составляет 0.21 мкг/мл, поэтому для соблюдения ежедневной нормы потребления йода, необходимо выпивать примерно 0.7 л воды с содержанием данного микроэлемента.

В настоящее время рекомендуют восполнять дефицит йода в организме за счет употребления продуктов, обогащенных органическим йодом, который уменьшает опасность передозировки, гарантирует нормированное потребление нутриента, способствует хорошему

усвоению, что приводит к оптимизации йодного метаболизма в организме человека. Морские водоросли представляют собой ценный биологический ресурс, активно используемый в пищевой промышленности для непосредственного употребления в пищу и получения специфических пищевых добавок. Основная часть йода (до 90%) концентрируется в ламинарии в виде органических соединений с белками и аминокислотами [25].

При качественном исследовании морских водорослей было установлено, что они содержат йод в виде I_2 .

Результаты количественного анализа морских водорослей представлены в табл. 4.

Таблица 4 / Table 4

**Массовая доля йода в морской капусте, мкг/100г
Mass fraction of iodine in seaweed, mcg/100g**

Морские водоросли / Seaweed	I^-
«ВкусВилл» (образец 1) / «Vkusville» (sample 1)	$972 \pm 0,0982^*$
«GreenLaminaria» (образец 2) / «GreenLaminaria» (sample 2)	$926 \pm 0,1014^*$
«Беломорская жемчужина» (образец 3) / «Belomorskaya pearl» (sample 3)	$533 \pm 0,0854^*$

Примечание: * – $p < 0,05$ по отношению к средним показателям йодированной соли.

Note: * – $p < 0.05$ in relation to the average values of iodized salt.

Содержание йода в морских водорослях превосходит его количество в питьевой воде, но уступает количеству в йодированной соли, однако употреблять ламинарию можно без ограничения, в отличие от йодированной соли. Содержание йода в морских водорослях не одинаково (см. табл. 4). Наибольшее количество обнаружено в морских водорослях торговых марок образцов 1 и 2. В морских водорослях образца 3 содержание йода в 1.8 раза меньше, чем в 1 и 2. Для пополнения запаса йода в организме достаточно употреблять примерно 15 г консервов образцов 1 и 2. В среднем содержание органического йода в ламинарии составляет 8.12 мкг/г и для соблюдения ежедневной нормы потребления данного микроэлемента необходимо включать в свой рацион 18.47 г морских водорослей. Некоторые исследователи рекомендуют не только употреблять ламинарии, но и вводить их в различные продукты [26, 27].

Основной метод профилактики йододефицитных заболеваний – введение в пищу продуктов, обогащенных йодом. В связи с этим целесообразно употреблять йодированную соль (не более 5 г в сутки), которая обладает наименее требовательными условиями и относительно большим сроком хранения. Однако йодированная соль решает проблему лишь частично, так как при производстве равномерно распределить йодат калия в объеме соли практически не удается, количество йода в соли с течением времени уменьшается в среднем в 5.6 раза, кроме того, при некоторых заболеваниях соль противопоказана, поэтому для определенной категории населения такой источник йода является неприемлемым.

Выводы

Регулярный анализ содержания йода в пищевой продукции различными методами аналитической химии позволит контролировать количество микроэлемента в пищевом рационе и поможет в решении проблемы йододефицита. В качестве профилактики йододефицита целесообразнее употреблять ламинарии или йодированную воду.

Список литературы

1. The Iodine Global Network: 2018 Annual Report. URL: https://www.ign.org/cm_data/IGN_2018_Annual_Report_5_web.pdf (дата обращения: 07.04.2022).
2. Ma Z. F., Skeaff S. A. Assessment of population iodine status // Iodine Deficiency Disorders and Their Elimination. Berlin ; Heidelberg, Germany : Springer, 2017. P. 15–28. https://doi.org/10.1007/978-3-319-49505-7_
3. Дефицит йода в России. Время принятия решений. Выступление чл.-кор. РАН, проф. Е. А. Трошиной // Вестник эндокринологии. 2020. № 1. С. 8–9.
4. Duborska E., Matulova M., Vaculovic T., Matus P., Urik M. Iodine Fractions in Soil and Their Determination // Forests. 2021. № 12. P. 1512. <https://doi.org/10.3390/f12111512>
5. Cesar J. A., Santos I. S., Black R. E., Chrestani M. A. D. Iodine status of Brazilian school-age children: A national cross-sectional survey // Nutrients. 2020. Vol. 12. P. 1077–1092. <https://doi.org/10.3390/nu12041077>
6. Zimmermann M. B., Andersson M. Global perspectives in endocrinology: Coverage of iodized salt programs and iodine status in 2020 // European Society of Endocrinology. 2021. Vol. 185, № 1. P. 13–21.
7. Xin S., Zhongyan Sh., Weiping T. Effects of increased iodine intake on thyroid disorders // Endocrinology and Metabolism. 2014. Vol. 29, № 3. P. 240–247. <https://doi.org/10.3803/EnM.2014.29.3.240>
8. Aghini-Lombardu F., Antonangeli L., Martino E., Vitti P., Maccherini D., Leoli F., Rago T., Grasso L., Valeriano R., Balestrieri A., Pinchera A. The spectrum of thyroid disorders in an iodine – deficient community: The Pescopagano survey // J. Clin. Endocrinol Metab. 1999. Vol. 84, № 2. P. 561–566.
9. Ковалёва О. А., Поповичева Н. Н., Здробова Е. М., Киреева О. С. Перспективы использования йодированного пищевого композита «Йодонорм» в молочных продуктах питания // Ползуновский вестник. 2020. №1. С. 74–77. <https://doi.org/10.25712/ASTU.2072-8921.2020.01.015>
10. Поповичева Н. Н. Обогащение молочных продуктов питания йодированной пищевой добавкой в условиях йододефицита // Сетевой научный журнал ОРЕЛ ГАУ. 2017. Т. 8, № 1. С. 29–32.
11. Хамаганова И. В., Цыжипова А. В., Замбалова Н. А., Лхагвадолгор Д. Разработка технологии йодированных мясных продуктов // Вестник ВСГУТУ. 2019. Т. 72, № 1. С. 13–18.
12. Явич П. А., Кахетелидзе М. Б., Чурадзе Л. И. Методы аналитического определения йода // Исследования в области естественных наук. 2014. № 1. URL: <https://science.sciencedirect.com/science/article/pii/S002196941400016X> (дата обращения: 31.05.2022).
13. Сергеев Г. М., Шляпунова Е. В., Макеева И. В. Определение йодид-ионов в минеральных водах методом экстракционной редокс-фотометрии // Аналитика и контроль. 2006. Т. 10, № 1. С. 49–54.
14. 06.02-19Г.217 Определение йода в биологических жидкостях с использованием кинетического церий-арсенитного метода // РЖ 19ГД. Аналитическая химия. Оборудование лабораторий. 2006. № 2.
15. Benvidi A., Heidari F., Tabaraki R., Mazloum-Ardakani M. Simultaneous determination of iodate and periodate by kinetic spectrophotometric method using principal component artificial neural network // Zhurnal Analiticheskoi Khimii. 2012. Vol. 67, № 7. P. 727.



16. Gavrilenko N. A., Fedan D. A., Saranchina N. V., Gavrilenko M. A. Solid phase colorimetric determination of iodine in food grade salt using polymethacrylate matrix // Food Chemistry. 2019. Vol. 280. P. 15–19
17. Колотилина Н. К., Долгоносов А. М. Определение йодид-иона в минерализованной природной воде методом изократической ионной хроматографии с кондуктометрическим детектированием // Сорбционные и хроматографические процессы. 2009. Т. 9, № 5. С. 610–615.
18. Дербина А. А., Пирогов А. В., Каргин И. Д., Попик М. В., Шпигун О. А. Определение йодид-иона в морской капусте методом микроэмulsionной электрохимической хроматографии с применением микроэмulsionного типа «вода в масле» и электростэкинга // Заводская лаборатория. Диагностика материалов. 2015. Т. 81, № 6. С. 5–9.
19. Кулаг А. И., Матвеенко Н. П., Брайкова А. М., Садовский В. В. Определение иода в поливитаминных препаратах методом катодной инверсионной вольтамперометрии // Известия Национальной академии наук Беларусь. Серия химических наук. 2019. Т. 55, № 1. С. 32–37. <https://doi.org/10.29235/1561-8331-2019-55-1-32-37>
20. 06.13-19Г.176 Применение ионселективных электрородов для определения йодид-ионов в питьевой и минеральной водах // РЖ 19ГД. Аналитическая химия. Оборудование лабораторий. 2006. № 13.
21. 06.20-19Г.144 Высокоточный метод первичных отношений для определения йода в сложных матрицах при помощи двойного изотопного разбавления с использованием мультиколлекторной масс-спектрометрии с индуктивно связанный плазмой и метки йод-129 // РЖ 19ГД. Аналитическая химия. Оборудование лабораторий. 2006. № 20.
22. Вторушина Э. А. Определение хлора, брома и йода в водных объектах и образцах с органической матрицей методом атомно-эмиссионной спектрометрии с индуктивно-связанной плазмой с применением газовой генерации: автореф. дис. ... канд. хим. наук. Новосибирск, 2010. 19 с.
23. Володина Г. Б., Якунина И. В. Общая экология. Тамбов : Изд-во ТГГУ, 2005. 104 с.
24. ОФС.1.2.2.0001.15 Общие реакции на подлинность. URL: <https://pharmacopoeia.ru/ofs-1-2-2-0001-15-obshchie-reaktsii-na-podlinnost> (дата обращения: 20.03.2022).
25. Сокол Н. В., Родионова Л. Я. Методы определения содержания йода в пищевом сырье и продуктах питания. Краснодар : КГАУ, 2014. 18 с.
26. Беспалов В. Г., Некрасова В. Б., Скальный А. В. Йод Элам – продукт из ламинарии: применение в борьбе с йоддефицитными заболеваниями. СПб. : Нордмедиздат, 2010. 92 с.
27. Стациенко Е. С. Разработка технологии кулинарного изделия с использованием обогащающей добавки на основе сои и ламинарии // Достижения науки и техники АПК. 2020. Т. 34, № 8. С. 107–110. <https://doi.org/10.24411/0235-2451-2020-10819>

References

1. *The Iodine Global Network: 2018 Annual Report.* Interner resource: https://www.ign.org/cm_data/IGN_2018_Annual_Report_5_web.pdf (accessed 20 March 2022).
2. Ma Z. F., Skeaff S. A. Assessment of population iodine status. *Iodine Deficiency Disorders and Their Elimination.* Berlin, Heidelberg, Germany, Springer, 2017, pp. 15–28. https://doi.org/10.1007/978-3-319-49505-7_
3. Iodine deficiency in Russia. Decision-making time. Speech by Corresponding Member of the Russian Academy of Sciences, professor E. A. Troshina. *Vestnik Endocrinologii*, 2020, no. 1, pp. 8–9 (in Russian).
4. Duborska E., Matulova M., Vaculovic T., Matus P., Urik M. Iodine Fractions in Soil and Their Determination. *Forests*, 2021, no. 12, pp. 1512. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.12.037>
5. Cesar J. A., Santos I. S., Black R. E., Chrestani M. A. D. Iodine status of Brazilian school-age children: A national cross-sectional survey. *Nutrients*, 2020, vol. 12, pp. 1077–1092. <https://doi.org/10.3390/nu12041077>
6. Zimmermann M. B., Andersson M. Global perspectives in endocrinology: Coverage of iodized salt programs and iodine status in 2020. *European Society of Endocrinology*, 2021, vol. 185, no. 1, pp. 13–21.
7. Xin S., Zhongyan Sh., Weiping T. Effects of increased iodine intake on thyroid disorders. *Endocrinology and Metabolism*, 2014, vol. 29, no. 3, pp. 240–247. <https://doi.org/10.3803/EnM.2014.29.3.240>
8. Aghini-Lombardu F., Antonangeli L., Martino E., Vitti P., Maccherini D., Leoli F., Rago T., Grasso L., Valeriano R., Balestrieri A., Pinchera A. The spectrum of thyroid disorders in an iodine – deficient community: The Pescopagano survey. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 1999, vol. 84, no. 2, pp. 561–566.
9. Kovaleva O. A., Popovicheva N. N., Yastrebova E. M., Kireeva O. S. Prospects for the use of iodized food composite «Yodonorm» in dairy products. *Polzunovskiy Vestnik*, 2020, no. 1, pp. 74–77. <https://doi.org/10.25712/ASTU.2072-8921.2020.01.015>
10. Popovicheva N. N. Enrichment of dairy products with an iodized food additive in conditions of iodine deficiency. *Setevoy nauchnyy zhurnal OREL GAU*, 2017, vol. 8, no. 1, pp. 29–32 (in Russian).
11. Khamaganova I. V., Tsyzhipova A. V., Zambalova N. A., Lhagvadolgor D. Development of technology of iodized meat products. *Vestnik VSGUTU*, 2019, vol. 72, no. 1, pp. 13–18 (in Russian).
12. Yavich P. A., Kakhetelidze M. B., Churadze L. I. Methods of analytical determination of iodine. *Research in the Field of Natural Sciences*, 2014, no. 1. Available at: <https://science.snauka.ru/2014/01/6585> (accessed 31 May 2022) (in Russian).
13. Sergeev G. M., Shlyapunova E. V., Makeeva I. V. Determination of iodide ions in mineral waters by extraction redox photometry. *Analitika i kontrol'*[Analytics and Control], 2006, vol. 10, no. 1, pp. 49–54 (in Russian).

14. 06.02-19G.217 Determination of iodine in biological fluids using kinetic cerium-arsenite method. *RZh 19GD. Analiticheskaya Khimiya. Oborudovanie laboratorii*, 2006, no. 2 (in Russian).
15. Benvidi A., Heidari F., Tabaraki R., Mazloum-Ardakani M. Simultaneous determination of iodate and periodate by kinetic spectrophotometric method using principal component artificial neural network. *Zhurnal Analiticheskoi Khimii*, 2012, vol. 67, no. 7, pp. 727.
16. Gavrilenko N. A., Fedan D. A., Saranchina N. V., Gavrilenko M. A. Solid phase colorimetric determination of iodine in food grade salt using polymethacrylate matrix. *Food Chemistry*, 2019, vol. 280, pp. 15–19
17. Kolotilina N. K., Dolgonosov A. M. Determination of iodide ion in mineralized natural water by isocratic ion chromatography with conductometric detection. *Sorption and Chromatography Processes*, 2009, vol. 9, no. 5, pp. 610–615 (in Russian).
18. Derbina A. A., Pirogov A. V., Kargin I. D., Popik M. V., Shpigun O. A. Determination of iodide ion in seaweed by microemulsion electrokinetic chromatography using microemulsions of the “water in oil” type and electrostacking. *Industrial Laboratory. Diagnostics of Materials*, 2015, vol. 81, no. 6, pp. 5–9 (in Russian).
19. Kulak A. I., Matvejko N. P., Brajkova A. M., Sadovskij V. V. Determination of iodine in multivitamin preparations by cathodic inversion voltammetry. *Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus. Chemical Series*, 2019, vol. 55, no. 1, pp. 32–37 (in Russian). <https://doi.org/10.29235/1561-8331-2019-55-1-32-37>
20. 06.13-19G.176 Application of ion-selective electrodes for the determination of iodide ions in drinking and mineral waters. *RZh 19GD. Analiticheskaya Khimiya. Oborudovanie laboratorij*, 2006, no. 13 (in Russian).
21. 06.20-19G.144 A high-precision method of primary ratios for the determination of iodine in complex matrices using double isotope dilution using multicollector mass spectrometry with inductively coupled plasma and the iodine-129 label. *RZh 19GD. Analiticheskaya Khimiya. Oborudovanie laboratorij*, 2006, no. 20 (in Russian).
22. Vtorushina E. A. *Determination of chlorine, bromine and iodine in water bodies and samples with an organic matrix by atomic emission spectrometry with inductively coupled plasma using gas generation*. Thesis. Dis. Cand. Sci. (Chim.). Novosibirsk, 2010. 19 p. (in Russian).
23. Volodina G. B., Yakunina I. V. *Obshchaya ekologiya [General Ecology]*. Tambov, Izd-vo TGTU, 2005. 104 p. (in Russian).
24. *General pharmacopoeia article.1.2.2.0001.15 General reactions to authenticity*. Available at: <https://pharmacopoeia.ru/ofs-1-2-2-0001-15-obshchie-reaktsii-na-podlinnost> (accessed 20 March 2022).
25. Sokol N. V., Rodionova L. Ya. *Metody opredeleniya soderzhaniya yoda v pishchevom syr'ye i produktakh pitaniya* [Methods for Determining The Content of Iodine in Food Raw Materials and Food Products]. Krasnodar, KGAU, 2014. 18 p. (in Russian).
26. Bespalov V. G., Nekrasova V. B., Skalny A. V. *Yod Elam – produkt iz laminarii: primeniye v bor'be s yoddefitsitnymi zabolевaniyami* [Iodine Elam – a Product from Kelp: Application in the Fight Against Iodine Deficiency Diseases]. St. Petersburg, Nordmedizdat, 2010. 92 p. (in Russian).
27. Statsenko E. S. Development of a culinary product technology using an enriching additive based on soy and kelp. *Achievements of Science and Technology of the Agro-industrial Complex*, 2020, vol. 34, no. 8, pp. 107–110 (in Russian). <https://doi.org/10.24411/0235-2451-2020-10819>

Поступила в редакцию 12.04.22; одобрена после рецензирования 13.10.22; принята к публикации 19.10.22
The article was submitted 12.04.22; approved after reviewing 13.10.22; accepted for publication 19.10.22



Известия Саратовского университета. Новая серия. Серия: Химия. Биология. Экология. 2022. Т. 22, вып. 4. С. 382–389

Izvestiya of Saratov University. Chemistry. Biology. Ecology, 2022, vol. 22, iss. 4, pp. 382–389

<https://ichbe.sgu.ru>

<https://doi.org/10.18500/1816-9775-2022-22-4-382-389>, EDN: BPGCDS

Научная статья

УДК 544.723:547.3

Твердофазные сорбенты на основе синтетических нановолокон и глауконита для извлечения магнезона I из водных сред



Л. М. Разуваева, А. Д. Фомина, Т. М. Махова, А. И. Аржанухина, С. Ю. Доронин

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

Разуваева Людмила Михайловна, магистрант 1-го года обучения Института химии, razuvaeva2000@list.ru, <https://orcid.org/0000-0002-8958-9418>

Фомина Александра Дмитриевна, студент 4-го курса Института химии, Aleksafomina00@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-6662-0136>

Махова Татьяна Михайловна, инженер испытательной лаборатории Института химии, tatianaahrimova@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-1896-6175>

Аржанухина Александра Ильинична, кандидат химических наук, доцент кафедры аналитической химии и химической экологии Института химии, alexandra-danchuk@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0001-8378-774X>

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. Проведена сравнительная оценка сорбционной способности синтетических и природных сорбентов по отношению к фенолу и его некоторым производным. Методом электроформования в оптимальных условиях получены нетканые материалы на основе полиамида-6 (ПА-6) из формовочного раствора полимера, растворённого в смеси муравьиной и уксусной кислот. Осуществлена подготовка глинистого минерала ситовым методом, при этом выделена обогащённая фракция глауконита (200–500 мкм). Исследована морфология немодифицированных нановолокон, а также глауконита методом сканирующей электронной микроскопии. Предварительные эксперименты показали низкую эффективность сорбции фенола и его некоторых нитро- и хлорпроизводных используемыми в работе сорбентами. Для улучшения характеристик сорбции использован способ дериватизации исходных аналитов реакциями диазотирования и азосочетания. Спектрофотометрически определены концентрации магнезона I (нитрофенилазо-производное резорцина) с использованием градуировочной зависимости в диапазоне молярных концентраций магнезона I от $3 \cdot 10^{-6}$ до $2 \cdot 10^{-5}$ моль/л. Исследована сорбционная способность глауконита Саратовской области (Белоозерское месторождение) и синтетических нановолокон на основе ПА-6 по отношению к магнезону I. Оценено влияние pH на эффективность извлечения магнезона I глауконитом и нановолокном на основе ПА-6, кроме того, рассчитаны степени извлечения магнезона I указанными сорбентами, которые находились в интервале 88–100% при оптимальном pH (≈ 3 –6). Проведенные эксперименты на модельном соединении – магнезоне I – позволили сделать вывод о потенциальной возможности применения глауконита Белоозерского месторождения Саратовской области и нановолокна на основе полиамида-6 для извлечения фенолов в виде их азопроизводных из различных вод.

Ключевые слова: сорбция, глауконит, нановолокно, электроформование, фенолы и его производные, экотоксикианты

Для цитирования: Разуваева Л. М., Фомина А. Д., Махова Т. М., Аржанухина А. И., Доронин С. Ю. Твердофазные сорбенты на основе синтетических нановолокон и глауконита для извлечения магнезона I из водных сред // Известия Саратовского университета. Новая серия. Серия: Химия. Биология. Экология. 2022. Т. 22, вып. 4. С. 382–389. <https://doi.org/10.18500/1816-9775-2022-22-4-382-389>, EDN: BPGCDS

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

Article

Solid-phase sorbents based on synthetic nanofibers and glauconite for extracting magneson I from aqueous media

L. M. Razuvayeva, A. D. Fomina, T. M. Makhova, A. I. Arzhankhina, S. Yu. Doronin

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

Lyudmila M. Razuvayeva, razuvaeva2000@list.ru, <https://orcid.org/0000-0002-8958-9418>

Alexandra D. Fomina, Aleksafomina00@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-6662-0136>

Tatiana M. Makhova, tatianaahrimova@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-1896-6175>

Alexandra I. Arzhankhina, alexandra-danchuk@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0001-8378-774X>

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

Abstract. A comparative evaluation of the sorption capacity of synthetic and natural sorbents with respect to phenol and some of its derivatives has been carried out. Electrospun nanofibers based on polyamide-6 (PA-6) were obtained under optimal conditions from a spinning solution of a polymer dissolved in a mixture of formic and acetic acids. The preparation of the clay mineral by the sieve method has been carried out, while the enriched fraction of glauconite (200–500 microns) has been isolated. The morphology of unmodified nanofibers, as well as glauconite, has been studied by scanning electron microscopy. Preliminary experiments showed low efficiency of sorption of phenol and some of its nitro- and chlorine derivatives by the sorbents used in this work. To improve the sorption characteristics, the method of derivatization of initial analytes by diazotization and azo coupling reactions has been used. The concentrations of magneson I (nitrophenylazo-derivative of resorcinol) have been determined spectrophotometrically using a calibration dependence in the range of magneson I molar concentrations from 3·10·6 to 2·10·5 mol/l. The sorption capacity of glauconite from the Saratov region (Beloozerskoye deposit) and synthetic nanofibers based on PA-6 with respect to magneson I has been studied. The effect of pH on the sorption efficiency of magnezone I by glauconite and nanofibers based on PA-6 has been evaluated, in addition, the extraction coefficients of magnezone I by these sorbents have been calculated, which were in the range of 88–100% at optimal pH (\approx 3–6). The experiments performed on a model compound, magnesone I, led to the conclusion about the potential possibility of using glauconite from the Beloozerskoye deposit in the Saratov region and nanofibers based on polyamide-6 for the extraction of phenols in the form of their azo derivatives from various waters.

Keywords: sorption, glauconite, nanofiber, electroforming phenols and its derivatives, ecotoxics

For citation: Razuvayeva L. M., Fomina A. D., Makhova T. M., Arzhanukhina A. I., Doronin S. Yu. Solid-phase sorbents based on synthetic nanofibers and glauconite for extracting magneson I from aqueous media. *Izvestiya of Saratov University. Chemistry. Biology. Ecology*, 2022, vol. 22, iss. 4, pp. 382–389 (in Russian). <https://doi.org/10.18500/1816-9775-2022-22-4-382-389>, EDN: BPGCDS

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 особенно остро стоит проблема определения различных экотоксикантов в природных и сточных водах. Основными загрязнителями вод являются нефть и нефтепродукты; токсичные синтетические вещества, такие как углеводородное топливо, термостойкие добавки к маслам – полихлорированные бифенилы (ПХБ), канцерогенные красители, высокомолекулярный поливинилхлорид (ПВХ), хлорорганические пестициды (включая ДДТ и продукты диенового синтеза), тяжелые металлы и другие органические [1] и неорганические токсиканты [2].

Среди вышеуказанных загрязнителей особенно выделяют фенол и его производные. В случае поступления в организм человека они могут вызывать серьезные нарушения, в частности, функций нервной системы [3]. Зачастую фенол является причиной онкологических и многих других заболеваний [4]. Источники поступления таких токсикантов в поверхностные воды – стоки предприятий нефтеперерабатывающей, сланцевперерабатывающей, лесохимической, коксохимической промышленности и др. [5].

Определение низких содержаний фенола и его производных в различных водах является актуальной задачей аналитической химии, что обусловлено его низкими предельно допустимыми концентрациями (ПДК). Так, в водоемах санитарно-бытового пользования ПДК составляет 0,001 мг/дм³ [6]. Методы концентрирования позволяют решить данные задачи, в частности, методы твердофазной экстракции с использованием различных сорбентов, например, химически

модифицированных кремнеземов, полимеров, пористых углеродов и других. Некоторые из них приведены в таблице.

Эффективность сорбентов разнообразна и зависит от многих факторов. В качестве наиболее важных следует упомянуть химическую структуру сорбента и его пористость. На процесс сорбции также влияют pH, температура и т.д. [13].

Широкое применение среди сорбентов органических соединений нашли полимерные материалы на основе полиамида. Алифатические полиамиды обладают хорошими механическими свойствами, что обусловлено наличием межмолекулярных водородных связей. Сорбенты на основе полиамида применяются для извлечения хлорфенолов, анионных красителей и других органических веществ [14].

Кроме того, перспективным природным сорбентом является глауконит – калийсодержащий водный алюмосиликат, глинистый минерал из группы гидрослюд подкласса слоистых силикатов непостоянного и сложного переменного состава с высоким содержанием двух- и трехвалентного железа, калия, магния и еще более двадцати элементов [15]. Для глауконита характерно широкое распространение, доступность, дешевизна, термическая стойкость, радиационная устойчивость, кроме того, он обладает молекулярно-сорбционными и ионообменными свойствами, которые в значительной степени зависят от pH раствора [16].

В настоящей работе для изучения сорбционного концентрирования применяли природные и синтетические сорбенты: глауконит Белоозерского месторождения Саратовской



Данные по сорбции фенола и его производных природными и синтетическими сорбентами
Table. Data on the sorption of phenol and its derivatives by natural and synthetic sorbents

No	Сорбтив Sorbitive	Сорбент Sorbent	Условия сорбции Sorption conditions	Характеристики сорбции Sorption characteristics	Лит-ра / A source
1	Фенол Phenol	Мергель мелоподобный / Chalk-like marl $S_{\text{удел}} = 30,807 \text{ м}^2/\text{г}$ (m^2/g)	$m = 0,5 \text{ г}$ (g) $c_{(\text{фенола})} = 100 \text{ мг/л}$ (mg/l) $t = 30 \text{ мин}$ (min) рН 5,45–7,55	СЕ = 1 мг/г (mg/g) $v_{\text{уд}} = 0,0708 \text{ mmol}/(\text{l}\cdot\text{min})$ $R = 0,9823$	[7]
2	Фенол Phenol	Ш-Ст-ПЭИ Sh-St-PEI $S_{\text{удел}} = 49,91 \text{ м}^2/\text{г}$ (m^2/g)	$m = 0,2\text{--}0,5 \text{ г}$ (g) $c_{(\text{фенола})} = 0,8 \text{ мг/л}$ (mg/l) $t = 20 \text{ мин}$ (min) рН~7	$R = 0,984$	[8]
3	Фенол Phenol	Кора сосны Pine bark	$c_{(\text{сорбента})} = 5 \text{ г}/\text{дм}^3$ (g/dm^3) $t = 120 \text{ мин}$ (min) рН 6	СЕ = 142,9 мг/г (mg/g) $R = 0,998$	[9]
4	2-НФ 2-NF	АУВ ACF $S_{\text{удел}} = 1288 \text{ м}^2/\text{г}$ (m^2/g)	$m = 0,2\text{--}0,5 \text{ г}$ (g) $c_{(\text{фенола})} = 0,02\text{--}0,8 \text{ мг/мл}$ (mg/l) $t = 5 \text{ мин}$ (min) рН 7	$R = 0,96$	[10]
5	4-НФ 4-NF	Бентонит Bentonite	$c = 50 \text{ мг/л}$ (mg/l) $t = 180 \text{ мин}$ (min) рН 6	СЕ = 284 мг/г (mg/g) $R = 98 \%$	[11]
6	3-НФ 3-NF	ПС-4 PS-4	$m = 0,01 \text{ г}$ (g) $t = 60 \text{ мин}$ (min) рН 3–5	$R = 0,96$	[12]

Список сокращений, применяемых в таблице: c – исходная концентрация аналита; R – степень извлечения; $S_{\text{удел}}$ – удельная площадь поверхности; $v_{\text{уд}}$ – удельная скорость сорбции; ПС-4 – полимерный сорбент на основе N-винилпирролидона (ФМ) и этиленгликольдиметакрилата (СА); СЕ – сорбционная емкость; Ш-Ст-ПЭИ – шунгит с привитыми группами полистирола с аминированием полиэтиленимоном; 4-НФ – 4-нитрофенол; 3-НФ – 3-нитрофенол; 2-НФ – 2-нитрофенол; АУВ – активированное углеродное волокно.

List of abbreviations used in Table: c – initial concentration of the analyte; R – degree of extraction; S_{spec} – specific surface area; v_{sp} – specific sorption rate; PS-4 – polymeric sorbent based on N-vinylpyrrolidone (FM) and ethylene glycol dimethacrylate (CA); CE – sorption capacity; Sh-St-PEI – shungite with grafted polystyrene groups with amination of poly-ethyleneimone; 4-NF, 4-nitrophenol; 3-NF, 3-nitrophenol; 2-NF, 2-nitrophenol; ACF – activatedcarbonfiber.

области, химическая формула которого – $(\text{K}, \text{H}_2\text{O}) \cdot (\text{Fe}^{3+}, \text{Al}, \text{Fe}^{2+}, \text{Mg})_2 \cdot [\text{Si}_3\text{AlO}_{10}] (\text{OH})_2 \cdot n\text{H}_2\text{O}$, а также полимерные нановолокна (нетканые материалы, (НМ)) на основе полиамида-6 (ПА-6) (рис. 1), полученные методом электроформования. Последние широко используются в различных областях, таких как тканевая инженерия, энергетика, катализ, защитная одежда, электроника, оптика и др., что в значительной степени связано с уникальными свойствами нановолокон, включая их малый диаметр, большую удельную поверхность, легкость модификации и др. [18].

Предварительные эксперименты показали низкую эффективность сорбции указанными сорбентами фенола и его некоторых нитро- и хлорпроизводных. Поэтому для улучшения

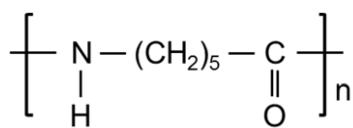


Рис. 1. Структурная формула полииамида-6
Fig. 1. Structural formula of polyamide-6

характеристик сорбции предложен способ дериватизации исходных анализаторов реакцией diazotирования и азосочетания, согласно схеме, представленной на рис. 2.

В настоящей работе для изучения сорбционных свойств синтетических нановолокон и природного глауконита в качестве модельного нитрофенилазо-производного резорцина выбран азокраситель магнезон I.

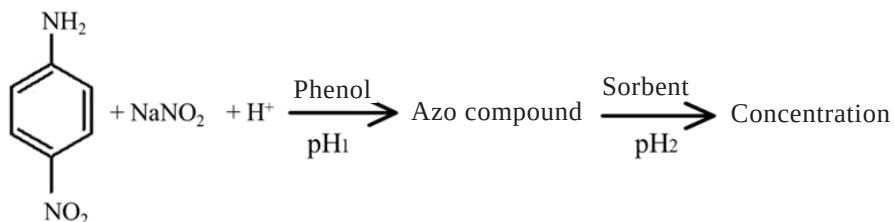


Рис. 2. Схема дериватизации и сорбции фенолов на примере системы фенол – 4-нитроанилин – нитрит – твердофазный сорбент

Fig. 2. Scheme of derivatization and sorption of phenols on the example of the system phenol – 4-nitroaniline – nitrite – solid-phase sorbent

Целью настоящей работы явилась сравнительная характеристика сорбционных свойств по отношению к магнезону I нановолокна на основе полиамида-6 и глауконита Белоозерского месторождения Саратовской области.

Материалы и методы

Для получения НМ применяли метод бескапиллярного электроформования, используя прибор Elmarco «Nanospider NS Lab200» (Чехия). Микрофотографии поверхности НМ, а также глауконита получены с помощью автоэмиссионного сканирующего электронного микроскопа MIRA 2 LMU, производства фирмы Tescan, оснащенного системой энергодисперсионного микроанализа INCA Energy 350 (Чехия).

Для получения нетканых материалов на основе ПА-бготовый формовочный раствор полимера, полученный путем растворения навески массой 15 г в 85 мл смеси муравьиной и уксусной кислот в соотношении 1:2 соответственно, помещали в гальваническую ванну с погруженным в неё электродом, на который была натянута вольфрамовая проволока. После подачи высокого напряжения электрод вращался, а формовочный раствор полимера ПА-6, касаясь вольфрамовой проволоки, расщеплялся на тонкие струи (образуя конусы Тейлора), которые дрейфовали к заземленной подложке, таким образом получался нетканый материал. Параметры электроформования – расстояние между электродами 16–18 см, скорость вращения электрода 10–16 об/мин, напряжение 70–75 кВ, время электроформования 15–30 мин.

Подготовку глинистого минерала осуществляли ситовым методом, выделяли обогащённую фракцию глауконита (200–500 мкм), полученную из глауконитового песка методом магнитной сепарации и содержащую глауконита до 85%.

В работе применяли магнезон I ([4-(п-нитрофенилазо)резорцин], C₁₂H₉O₄N₃ч.д.а., ТУ 6-09-166-74). Раствор магнезона I готовили растворением навески, массой 0,0648 г в 0,1 М растворе NaOH в колбе на 25 мл. Рабочие растворы с концентрациями 1·10⁻⁵, 2·10⁻⁵, 3·10⁻⁶, 7·10⁻⁶, 8·10⁻⁶, 9·10⁻⁶ М готовили путем разбавления дистilledированной водой стандартного раствора с концентрацией 1·10⁻³ М.

Концентрацию магнезона I определяли спектрофотометрически на спектрофотометре Shimadzu UV-1800 (Япония). Для построения градуировочной зависимости готовили растворы с молярной концентрацией магнезона I в интервале от 3·10⁻⁶ до 2·10⁻⁵ моль/л. Градуировочный график характеризуется уравнением вида: $y = 0,042x$ с коэффициентом корреляции 0,999 (рис. 3).

Для создания оптимального pH раствора магнезона I добавляли 4 мл соответствующего ацетатно-аммиачного буферного раствора в интервале от 3 до 10. Растворы тщательно перемешивали.

Для изучения сорбции магнезона I в статическом режиме исследуемые образцы НМ и глауконита помещали в плоскодонные колбы вместимостью 25 мл, добавляли раствор изучаемого азокрасителя с постоянной концентрацией ($c = 2 \cdot 10^{-5}$ М) и выдерживали при комнатной температуре в течение двух часов при непрерывном перемешивании на горизонтальном шейкере.

Контроль pH осуществляли на pH-метре pH-150Mn (Беларусь), погрешность измерения ± 0,01 pH.

Для количественного определения эффективности извлечения магнезона I из растворов с применением НМ на основе ПА-6 и глауконита в качестве сорбента рассчитывали степень извлечения ($R, \%$).

$$R = \frac{A_0 - A}{A_0} \cdot 100,$$

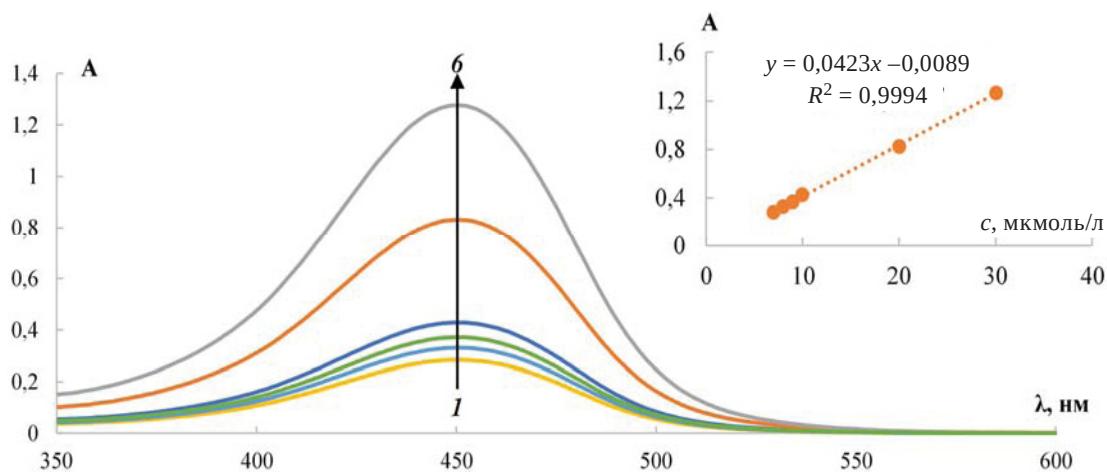


Рис. 3. Электронные спектры поглощения магнезона I ($c = 1 - 3 \cdot 10^{-6}$; $2 - 7 \cdot 10^{-6}$; $3 - 8 \cdot 10^{-6}$; $4 - 9 \cdot 10^{-6}$ M; $5 - 1 \cdot 10^{-5}$; $6 - 2 \cdot 10^{-5}$) (цвет online)

Fig. 3. Electronic absorption spectra of magnesone I ($c = 1 - 3 \cdot 10^{-6}$; $2 - 7 \cdot 10^{-6}$; $3 - 8 \cdot 10^{-6}$; $4 - 9 \cdot 10^{-6}$ M; $5 - 1 \cdot 10^{-5}$; $6 - 2 \cdot 10^{-5}$) (color online)

где A_0 – оптическая плотность раствора магнезона I до сорбции HM, А – оптическая плотность раствора после сорбции.

Результаты и их обсуждение

Предварительно исследовали морфологию модифицированных нановолокон, а также не модифицированного глауконита методом сканирующей электронной микроскопии (рис. 4). Как видно из рис. 4, а, нановолокна на основе ПА-6 имели в поперечном сечении – окружную форму; поверхности нановолокон однородны и не имели видимых дефектов. Средние диаметры отдельных волокон исходного материала ПА-6 находились в пределах от 80 до 120 нм.

Исследованные образцы глауконита имели слоистую поверхность, состоящую из чешуек различной формы с толщиной от 10 до 50 нм, расстояние между чешуйками составило 10–200 нм (см. рис. 4, б). Полученные результаты свидетельствуют о принадлежности глауконита к микропористым образцам с относительно небольшой внешней поверхностью.

Одним из важных факторов, влияющих на сорбцию магнезона I, является кислотность среды. Во-первых, в зависимости от pH молекула азокрасителя может находиться в растворе в различных формах (рис. 5). Так, в кислой среде образуется протонированная форма магнезона I (форма А), при увеличении pH раствора (щелочная среда) форма А переходит в аци-форму Б.

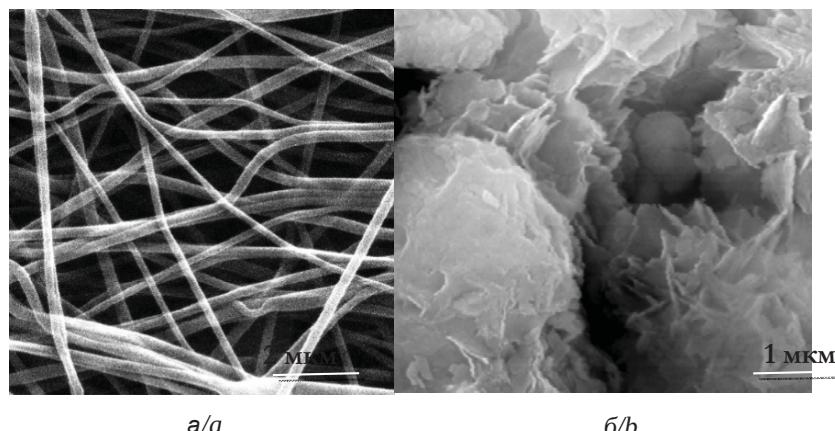


Рис. 4. Электронные микрофотографии: а – НМ на основе полиамида-6; б – глауконита

Fig. 4. Electron micrographs: a – NM based on polyamide-6; b – glauconite

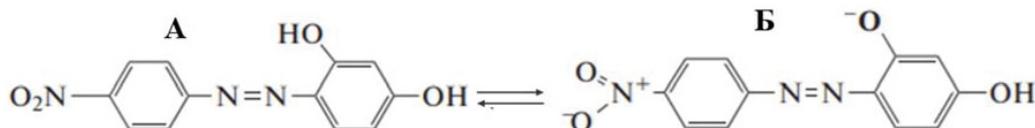


Рис. 5. Химическая структура магнезона I в кислой (А) и щелочной (Б) средах

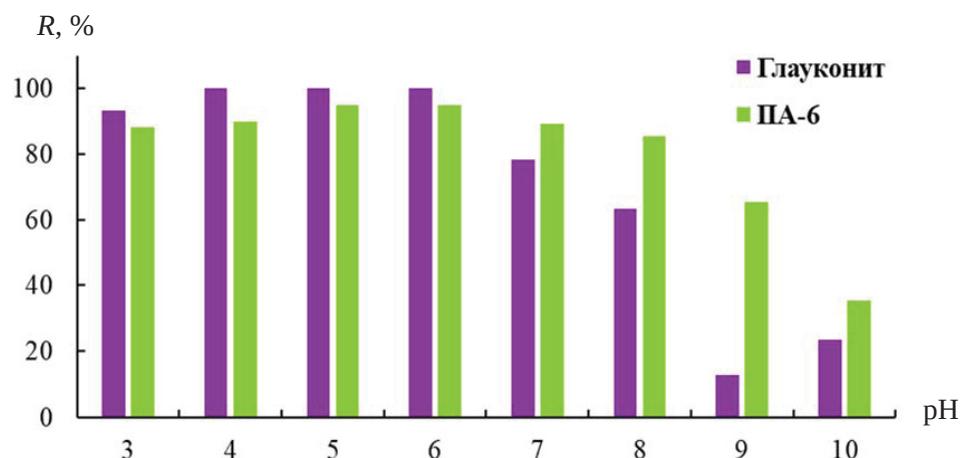
Fig. 5. Chemical structure of magneson I in acidic (A) and alkaline (B) media

При образовании аци-формы атом водорода из фенольного гидроксила переходит к атому кислорода в нитрогруппе. Во-вторых, pH влияет на состояние функциональных групп применяемого сорбента. Так, для глауконита при pH < 8,9 преобладает адсорбция ионов H⁺, в результате чего поверхность заряжается положительно, при этом глауконит способен проявлять катионообменные свойства, тогда как при pH > 8,9 он может быть анионообменником.

В настоящей работе изучено влияния pH сорбции магнезона I в статических условиях с использованием ПА-6 и глауконита с учетом его кинетики сорбции.

Из рис. 6 видно, что ПА-6 ((-NH-(CH₂)₅-CO-)_n) и глауконит весьма эффективны в качестве сор-

бентов для извлечения магнезона I из водных сред в диапазоне pH от 3 до 7, что подтверждается рассчитанными степенями извлечения азокрасителя, которые были достаточно близки и достигали от 88 до 100%. В случае применения ПА-6 максимальная сорбция в кислой среде связана с электростатическим взаимодействием анионных групп (NO₂⁻) (см. рис. 5, форма А) азокрасителя с положительно заряженными протонированными в кислой среде амидными группами, а также концевыми аминогруппами полимера с образованием ионных связей. Водородные связи, а также межмолекулярные силы Ван-дер-Ваальса также могут вносить вклад в механизм сорбции азокрасителей волокном на основе ПА-6.

Рис. 6. Зависимость степени извлечения магнезона I от pH раствора. с (магнезона I) = = 2 · 10⁻⁵ M, V = 25 мл, m_{hm} = 0,015–0,020 г, m_{глауконита} = 0,5 г (цвет online)Fig. 6. The dependence of the degree of extraction of magneson I on the pH of the solution. c (magneson I) = 2 · 10⁻⁵ M, V = 25 ml, m_{hm} = 0,015–0,020 g, m_{glauconite} = 0,5 g (color online)

В случае применения глауконита максимальная сорбция азокрасителя также наблюдалась в кислой среде, что связано с содержанием протонированных силанольных групп (=Si-OH) в глауконите, который, в свою очередь, проявляет свойства слабого основания, что приводит к формированию слабощелочной среды водной вытяжки сорбента. Основной вклад в механизм сорбции магнезона I глауконитом, вероятно, вно-

сят образующиеся ионные связи в кислой среде между заряженными частицами азокрасителя и поверхностью минерала, как и в случае ПА-6. Кроме того, может иметь место также и физический характер сорбции. В диапазоне pH раствора от 7 до 8 наблюдается небольшой спад степеней извлечения (R, %) магнезона I, а при pH больше 8 единиц – значительное ухудшение сорбции для двух сорбентов, что связано с изменением



их поверхностного заряда на положительный и электростатическим отталкиванием молекул азокрасителя и групп изучаемых сорбентов.

Выводы

Таким образом, можно сделать вывод об эффективном применении различных по природе сорбентов для извлечения магнезона I из водных сред, который, в свою очередь, является модельным соединением и продуктом дериватизации некоторых фенолов (в частности, резорцина), являющихся приоритетными загрязнителями вод. Исходя из этого, можно заключить о возможности применения ПА-6 и глауконита, которые являются доступными, нетоксичными, термостойкими, достаточно экономичными сорбентами, для твердофазного концентрирования некоторых фенолов на уровне ПДК в виде их азопроизводных из объектов окружающей среды, в частности природных вод с целью дальнейшего их определения, например, методами спектрофотометрии или колориметрии. Также в дальнейшем возможность регенерации таких сорбентов позволит их многоразовое использование и обеспечит экологичность их применения в аналитической химии. Кроме того, в перспективе нетканые материалы на основе ПА-6 можно использовать для создания тест-средств указанных экотоксикантов.

Список литературы

1. Истрашкина М. В., Атаманова О. В., Косарев А. В., Тихомирова Е. И. Применение фильтрующих загрузок в системах водоотведения для очистки сточных вод // Вестник КРСУ. 2017. Т. 17, № 5. С. 149–152.
2. Яшиева З. З., Ахмаджанова Ё. Т. Загрязнение водных объектов неорганическими токсикантами // Scienceand Education. 2021. Т. 2, № 10. С. 107–108.
3. Сычева Е. В. К вопросу о критериях оценки экологического риска воздействия фенолов на водные экосистемы // Известия Петербургского университета путей сообщения. 2008. Т. 18, № 2. С. 258–263.
4. Филова В. Ф. Общая токсикология / под ред. Б. А. Курляндского. М. : Медицина, 2002. 608 с.
5. Шакирова В. В., Пакалова Е. В., Типиширова А. В. Новый сорбент для очистки сточных вод от токсикантов органического и неорганического происхождения // Научный потенциал регионов на службу модернизации. 2012. № 2 (3). С. 61.
6. Мальцева В. С., Сазонова А. В. Исследование механизма сорбции фенола из сточных вод природными сорбентами // Известия ЮЗГУ. Серия Физика и химия. 2013. № 1. С. 66–73.
7. Беляева О. В., Голубева Н. С., Великанова Е. С., Гора Н. В. Использование новых углеродных адсорбентов для очистки воды от фенола // Техника и технология пищевых производств. 2012. № 1. С. 143.
8. Акимбаева А. М. Сорбция фенола модифицированными шунгитами // Нефтехимия. 2007. Т. 47, № 3. С. 225–229.
9. Галимова Р. З., Шайхиев И. Г., Алмазова Г. А. Изучение термодинамики сорбции фенола на осиновых опилках // Вестник Казанского технологического университета. 2016. № 1. С. 60–63.
10. Фазылова Г. Ф., Валинурова Э. Р., Хатмуллина Р. М., Кудашева Ф. Х. Сорбционные параметры производных фенолов на различных углеродных материалах // Сорбционные и хроматографические процессы. 2013. Т. 13, вып. 5. С. 728–731.
11. Махова Т. М., Доронин С. Ю. Глауконит – как сорбент 4-нитрофенола // Известия Саратовского университета. Новая серия. Серия: Химия. Биология. Экология. 2021. Т. 21, вып. 2. С. 152–158. <https://doi.org/10.18500/1816-9775-2021-21-2-152-158>
12. Суханов П. Т., Кушнир А. А. Сорбция нитрофенолов из водных сред полимерными сорбентами на основе N-винилпирролидона // Вестник Моск. ун-та. Сер. 2. Химия. 2019. Т. 60, № 2. С. 117–122.
13. Назаров А. М., Латыпова Ф. М., Арасланова Л. Х., Сальманова Э. Р., Туктарова И. О. Исследование эффективности природных и модифицированных сорбентов для очистки промышленных сточных вод от ионов тяжелых металлов // Нанотехнологии в строительстве: научный интернет-журнал. 2018. Т. 10, № 5. С. 133–134. <https://doi.org/10.15828/2075-8545-2018-10-5-125-143>
14. Xu F., Shili X., Mingwu S., Rui G., Shanyuan W., Xiangyang Shi. Fabrication and characterization of water-stable electrospun polyethyleneimine/polyvinyl alcohol nanofibers with super dyesorption capability // New J. Chem. 2011. Iss. 2. P. 360–368. <https://doi.org/10.1039/C0NJ00764A>
15. Махова Т. М., Доронин С. Ю. Нановолокна как сорбенты для концентрирования органических токсикантов из водных сред // Бутлеровские сообщения. 2018. Т. 53, № 3. С. 61.
16. Вениг С. Б., Сержантов В. Г., Чернова Р. К., Щербакова Н. Н., Селифонова Е. И., Сплюхин В. П., Хапцов З. Ю. Отечественные технологии получения и применения глауконитовых сорбентов для очистки и восстановления объектов от химических загрязнений // Химическая безопасность. 2018. Т. 2, № 2. С. 183–198. <https://doi.org/10.25514/CHS.2018.2.14114>
17. Синельцев А. А., Губина Т. И., Антонова И. А., Сержантов В. Г. Эффективный адсорбент на основе природных глауконитов в очистке воды от тяжелых металлов // Химическая физика. 2012. Т. 31, № 10. С. 29–30.

References

1. Istrashkina M. V., Atamanova O. V., Kosarev A. V., Tikhomirova E. I. Application of filter loadings in wastewater disposal systems for wastewater treatment. *Bulletin of KRSU*, 2017, vol. 17, no. 5, pp. 149–152 (in Russian).

2. Yakhshieva Z. Z., Akhmedzhanova E. T. Pollution of water bodies with inorganic toxicants. *Science and Education*, 2021, vol. 2, no. 10, pp. 107–108 (in Russian).
3. Sycheva E. V. On the issue of criteria for assessing the environmental risk of phenols' impact on aquatic ecosystems. *Izvestiya of the St. Petersburg University of Railways*, 2008, vol. 18, no. 2, pp. 258–263 (in Russian).
4. Filova V. F. *Obshchaya toksikologiya. Pod red. B. A. Kurlandsky* [Kurlandsky B. A., ed. General Toxicology]. Moscow, Meditsina Publ., 2002. 608 p. (in Russian).
5. Shakirova V. V., Pikalova E. V., Tipishova A. V. A new sorbent for wastewater treatment from toxicants of organic and inorganic origin. *The Scientific Potential of the Regions for the Service of Modernization*, 2012, no. 2 (3), pp. 61 (in Russian).
6. Maltseva V. S., Sazonova A. V. Investigation of the mechanism of phenol sorption from wastewater by natural sorbents. *Izvestiya YuZGU. Physics and Chemistry Series*, 2013, no. 1, pp. 66–73 (in Russian).
7. Belyaeva O. V., Golubeva N. S., Velikanova E. S., Gora N. V. Use of new carbon adsorbents for water purification from phenol. *Equipment and Technology of Food Production*, 2012, no. 1, pp. 143 (in Russian).
8. Akimbayeva A. M. Sorption of phenol by modified shungites. *Petrochemistry*, 2007, vol. 47, no. 3, pp. 225–229 (in Russian).
9. Galimova R. Z. Shaikhiev I. G., Almazova G. A. The study of thermodynamics of phenol sorption on aspen sawdust. *Bulletin of Kazan Technological University*, 2016, no. 1, pp. 60–63 (in Russian).
10. Fazylova G. F., Valinurova E. R., Khatmullina R. M., Kudasheva F. H. Sorption parameters of phenol derivatives on various carbon materials. *Sorption and Chromatographic Processes*, 2013, vol. 13, iss. 5, pp. 728–731 (in Russian).
11. Makhova T. M., Doronin S. Yu. Glauconite as a sorbent of 4-nitrophenol. *Izvestiya of Saratov University. Chemistry. Biology. Ecology*, 2021, vol. 21, iss. 2, pp. 152–158 (in Russian). <https://doi.org/10.18500/1816-9775-2021-21-2-152-158>
12. Sukhanov P. T., Kushnir A. A. Sorption of nitrophenols from aqueous media with polymer sorbents based on N-vinylpyrrolidone. *Bulletin of Moscow University. Ser. 2. Chemistry*, 2019, vol. 60, no. 2, pp. 117–122 (in Russian).
13. Nazarov A. M., Latypova F. M., Araslanova L. H., Salmanova E. R., Tuktarova I. O. Investigation of the effectiveness of natural and modified sorbents for industrial wastewater treatment from heavy metal ions. *Nanotechnologies in Construction: Scientific Online Journal*, 2018, vol. 10, no. 5, pp. 133–134 (in Russian). <https://doi.org/10.15828/2075-8545-2018-10-5-125-143>
14. Xu F., Shili X., Mingwu S., Rui G., Shanyuan W., Xiangyang Shi. Fabrication and characterization of water-stable electrospun polyethyleneimine/polyvinyl alcohol nanofibers with super dyesorption capability. *New J. Chem.*, 2011, iss. 2, pp. 360–368. <https://doi.org/10.1039/C0NJ00764A>
15. Makhova T. M., Doronin S. Yu. Nanofibers as sorbents for the concentration of organic toxicants from aqueous media. *Butlerovskie Communications*, 2018, vol. 53, no. 3, pp. 61 (in Russian).
16. Venig S. B., Serzhantov V. G., Chernova R. K., Shcherbakova N. N., Selifonova E. I., Splyukhin V. P., Khaptsev Z. Yu. Domestic technologies for obtaining and applying glauconite sorbents for cleaning and restoring objects from chemical contamination. *Chemical Safety*, 2018, vol. 2, no. 2, pp. 183–198 (in Russian). <https://doi.org/10.25514/CHS.2018.2.14114>
17. Sinel'tsev A. A., Gubina T. I., Antonova I. A., Sergeants V. G. Effective adsorbent based on natural glauconites in water purification from heavy metals. *Chemical Physics*, 2012, vol. 31, no. 10, pp. 29–30 (in Russian).

Поступила в редакцию 28.05.22; одобрена после рецензирования 22.08.22; принята к публикации 31.08.22
The article was submitted 28.05.22; approved after reviewing 22.08.22; accepted for publication 31.08.22



Известия Саратовского университета. Новая серия. Серия: Химия. Биология. Экология. 2022. Т. 22, вып. 4. С. 390–397

Izvestiya of Saratov University. Chemistry. Biology. Ecology, 2022, vol. 22, iss. 4, pp. 390–397

<https://ichbe.sgu.ru>

<https://doi.org/10.18500/1816-9775-2022-22-4-390-397>, EDN: CLUVTS

Научная статья

УДК 544.478



Влияние фторирования катализатора $\text{MoO}_3/\text{Al}_2\text{O}_3$ на протекание метатезиса пропилена

А. И. Никифоров¹✉, Е. А. Чесноков¹, И. А. Никифоров², А. Г. Попов¹, К. И. Маслаков¹

¹Московский государственный университет имени М. В. Ломоносова, Россия, 119991, г. Москва, ГСП-1, Ленинские горы, д. 1

²Саратовский национальный исследовательский государственный университет имени Н. Г. Чернышевского, Россия, 410012, г. Саратов, ул. Астраханская, д. 83

Никифоров Александр Игоревич, младший научный сотрудник, аспирант кафедры физической химии, alexandernikiforov@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0001-9797-5530>

Чесноков Евгений Антонович, студент химического факультета, evgeniches@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0001-7234-4302>

Никифоров Игорь Александрович, кандидат химических наук, доцент кафедры нефтехимии и техногенной безопасности Института химии, galtek@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0003-2856-1021>

Попов Андрей Геннадиевич, кандидат химических наук, ведущий научный сотрудник химического факультета, andreygpopov@yahoo.com, <https://orcid.org/0000-0002-6900-8516>

Маслаков Константин Игоревич, кандидат физико-математических наук, старший научный сотрудник химического факультета, nonvitas@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0002-0672-2683>

Аннотация. Были синтезированы катализаторы метатезиса олефинов состава $\text{MoO}_3/\text{Al}_2\text{O}_3\text{-F}$. Материалы охарактеризованы различными физико-химическими методами и испытаны в реакции метатезиса пропилена. Показано, что фторирование носителя приводит к частичному замещению поверхностных гидроксильных групп на F, что сопровождается увеличением силы как льюисовских кислотных центров, так и остаточных мостиковых OH-групп. Увеличение содержания фтора на $\gamma\text{-Al}_2\text{O}_3$ до 3 масс. % приводит к увеличению конверсии пропилена в 1,5 раза ($\text{WHSV} = 1,1 \text{ ч}^{-1}, T = 100^\circ\text{C}, p = 9 \text{ атм.}$) при селективности более 95%. Однако при проведении реакции при атмосферном давлении фторированные образцы показывают активность меньшую, чем непромотированные. Результаты работы указывают на то, что кислотность носителя играет важную роль в метатезисе пропилена. Предлагаемый метод модификации катализатора открывает новые возможности для улучшения классических катализаторов метатезиса.

Ключевые слова: метатезис, олефины, производство этилена, производство пропилена, ИК-спектроскопия, РФЭС-спектроскопия, кислотность катализатора

Благодарности. Работа выполнена с использованием оборудования, приобретенного за счет средств программы развития Московского государственного университета им. М. В. Ломоносова.

Для цитирования: Никифоров А. И., Чесноков Е. А., Никифоров И. А., Попов А. Г., Маслаков К. И. Влияние фторирования катализатора $\text{MoO}_3/\text{Al}_2\text{O}_3$ на протекание метатезиса пропилена // Известия Саратовского университета. Новая серия. Серия: Химия. Биология. Экология. 2022. Т. 22, вып. 4. С. 390–397. <https://doi.org/10.18500/1816-9775-2022-22-4-390-397>, EDN: CLUVTS

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

Article

Effect of the $\text{MoO}_3/\text{Al}_2\text{O}_3$ catalyst fluorination on the propylene metathesis reaction

А. И. Никифоров¹✉, Е. А. Чесноков¹, И. А. Никифоров², А. Г. Попов¹, К. И. Маслаков¹

¹Lomonosov Moscow State University, GSP-1, 1 Leninskie Gory, Moscow 119991, Russia

²Saratov State University, 83 Astrakhanskaya St., Saratov 410012, Russia

Alexander I. Nikiforov, alexandernikiforov@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0001-9797-5530>

Evgeny A. Chesnokov, evgeniches@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0001-7234-4302>

Igor A. Nikiforov, galtek@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0003-2856-1021>

Andrey G. Popov, andreygpopov@yahoo.com, <https://orcid.org/0000-0002-6900-8516>

Konstantin I. Maslakov, nonvitas@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0002-0672-2683>

Abstract. In the course of this work, fluorinated catalysts $\text{MoO}_3/\text{Al}_2\text{O}_3\text{-F}$ for the olefins metathesis have been synthesized. The materials have been characterized by various physicochemical methods and tested in the propylene metathesis reaction. It has been shown that the support



fluorination leads to partial replacement of surface hydroxyl groups by F, which is accompanied by an increase in the strength of both Lewis acid sites and residual bridging OH groups. Increasing the fluorine content on $\gamma\text{-Al}_2\text{O}_3$ up to 3 wt. % leads to an increase in the conversion of propylene in the metathesis reaction by 1.5 times (WHSV = 1.1 h^{-1} , $T = 100^\circ\text{C}$, $p = 9 \text{ atm}$) with a selectivity of more than 95%. However, when the reaction is carried out at atmospheric pressure, fluorinated samples show lower activity than unpromoted ones. The results of this work show that the support acidity plays an important role in propylene metathesis. The proposed method of catalyst modification opens up new possibilities for improving classical metathesis catalysts.

Keywords: metathesis, olefins, ethylene production, propylene production, IR spectroscopy, XPS spectroscopy, catalyst acidity

Acknowledgements. The work was performed using equipment purchased at the expense of the Development Program of Lomonosov Moscow State University.

For citation: Nikiforov A. I., Chesnokov E. A., Nikiforov I. A., Popov A. G., Maslakov K. I. Effect of the $\text{MoO}_3/\text{Al}_2\text{O}_3$ catalyst fluorination on the propylene metathesis reaction. *Izvestiya of Saratov University. Chemistry. Biology. Ecology*, 2022, vol. 22, iss. 4, pp. 390–397 (in Russian). <https://doi.org/10.18500/1816-9775-2022-22-4-390-397>, EDN: CLUVTS

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

Введение

Метатезис олефинов – реакция, позволяющая создавать новые C=C связи. В ходе данного процесса происходит обмен алкилиденовыми группами алкенов, что приводит к образованию новых непредельных соединений. Одним из промышленных процессов, в основе которого лежит реакция метатезиса, является Olefin Conversion Technology [1]. Суть данной технологии заключается во взаимодействии этилена и бутилена с получением пропилена. По причине обратимости реакции метатезиса возможно и обратное протекание процесса с получением этилена и бутиленов из пропилена [2].

Метатезис низших олефинов – каталитический процесс. В качестве катализаторов обычно используются композиции на основе оксидов вольфрама, молибдена, рения, нанесенных на пористую подложку, в качестве которой чаще всего выступает оксид алюминия. Поскольку каталитические композиции на основе Re_2O_7 быстро дезактивируются, а на основе WO_3 устойчивы к каталитическим ядам, но менее активны, чем MoO_3 , именно катализаторы состава $\text{MoO}_3/\text{Al}_2\text{O}_3$ сейчас считаются наиболее перспективными для использования в промышленных установках в качестве катализаторов метатезиса пропилена. Установлено, что в системе $\text{MoO}_3/\text{Al}_2\text{O}_3$ происходит образование каталитических центров различной природы, на которых реакция метатезиса протекает с разной эффективностью. Более активные центры образуются на более кислых гидроксильных группах оксида алюминия [3]. Однако на данный момент отсутствует информация о влиянии общей кислотности носителя на образование активных в метатезисе каталитических центров различной природы. Мы предлагаем новый способ увеличения каталитической активности

катализаторов метатезиса низших олефинов посредством увеличения силы кислотных центров носителя с помощью фторирования.

Материалы и методы

Получение из бемита γ -модификации оксида алюминия подтверждалось с помощью метода рентгеновской дифракции. Спектры регистрировали на дифрактометре D2PHASER (Bruker) с излучением $\text{CuK}\alpha$ в диапазоне 2θ от 5 до 80° с шагом $0,05^\circ$, толщина слоя 1 мм, время сканирования – 3 с.

Спектры РФЭС регистрировали на спектрометре Axis Ultra DLD (Kratos Analytical, UK). Использовали монохроматическое рентгеновское излучение $\text{AlK}\alpha$ (1486.7 эВ). Энергия пропускания – 160 эВ (обзорный), 40 эВ (спектры высокого разрешения).

Продукты реакции метатезиса анализировали методами *in situ* масс-спектрометрии с использованием масс-спектрометра RGA200 (Stanford Research Systems) и газовой хроматографии на приборе «Кристалл 5000», колонка $\text{Al}_2\text{O}_3/\text{KCl}$ (50 м), система детектирования – ПИД. Селективности продуктов метатезиса рассчитывались по уравнению:

$$S_i = \frac{\frac{m_i}{M_i}}{\sum_j \frac{m_j}{M_j}} \cdot 100\%,$$

где m_i – масса i -го вещества в смеси продуктов, M_i – молекулярная масса i -го вещества.

ИК-спектры регистрировали на ИК-спектрометре с преобразованием Фурье Nicolet Protege 460 с разрешением 4 cm^{-1} . Удаление воды с образцов проводили на вакуумной установке, оснащённой датчиками абсолютного давления с рабочим вакуумом $5 \cdot 10^{-4}$ Па. При регистрации спектров температуру вакуумирования варьировали от комнатной до 250°C .



Для зондирования кислотных центров использовали CO (Air Liquide, 99,99%). Обработку полученных ИК-спектров проводили с помощью пакета программ OMNIC ESP версии 7.3.

Каталитические композиции готовили из бемита методом пропитки по влагоемкости по следующей методике: бемит прокаливали в печи при 550 °C в течение 5 ч для получения $\gamma\text{-Al}_2\text{O}_3$. Полученный оксид пропитывали раствором NH_4HF_2 из расчета на 1, 2 или 3% масс. F при комнатной температуре в течение суток. Образец высушивали в сушильном шкафу при 60 °C и прокаливали в печи при 550 °C в токе воздуха в течение пяти часов. Полученный фторированный оксид алюминия пропитывали раствором $(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24}$ по влагоемкости аналогично пропитке $\gamma\text{-Al}_2\text{O}_3$ из расчета на 9% масс. MoO_3 . Полученный образец высушивали в сушильном шкафу и прокаливали в печи при 550 °C в токе воздуха в течение 5 ч.

Каталитические эксперименты проводили по следующей методике: навеску фракции 0,5–

1,0 мм катализатора массой 3,0 г активировали в каталитическом реакторе в токе азота с объемной скоростью подачи 60 мл/мин при 500 °C в течение часа; реактор охлаждали до 100 °C и повышали давление в каталитической установке до 9 атм. Пропилен подавали на катализатор с объемной скоростью 30 мл/мин при 100 °C в течение 2 ч. После этого давление понижали до 1 атм. и продолжали пропускать пропилен с прежней объемной скоростью.

Результаты и их обсуждение

Носитель $\gamma\text{-Al}_2\text{O}_3$ получали путем прокаливания бемита. Фазовую чистоту получаемого оксида подтверждают с помощью метода рентгеновской дифракции. На приведенной дифрактограмме (рис. 1) не наблюдается рефлексов, соответствующих исходному бемиту или δ -форме оксида алюминия, которая образуется при более высокотемпературном прокаливании $\gamma\text{-Al}_2\text{O}_3$ [4].

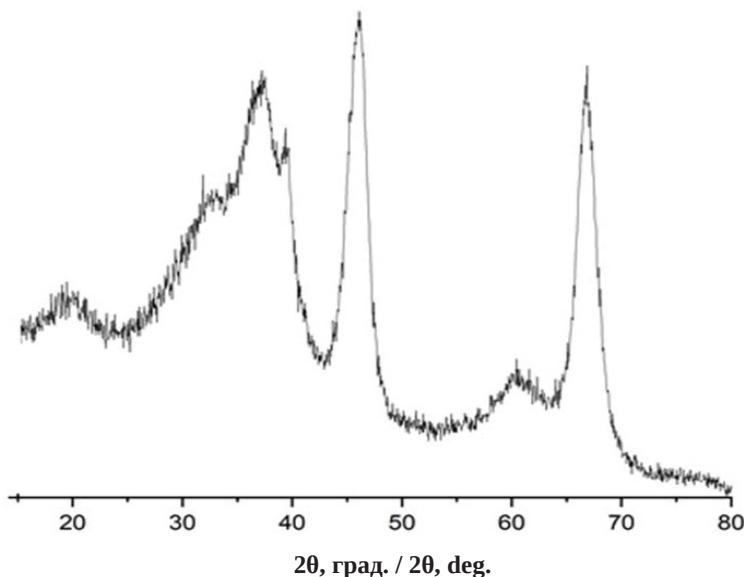


Рис. 1. Дифрактограмма прокаленного бемита
Fig. 1. XRD pattern of calcined boehmite

Для исследования влияния фторирования на кислотность оксида алюминия методом пропитки по влагоемкости была синтезирована серия образцов 0Mo/xF-Al₂O₃ ($x = 1\text{--}3$ масс. % F, 0 масс. % MoO₃).

ИК-спектры вакуумированных при 400 °C образцов представлены на рис. 2. На основании данных спектроскопии для OH-области можно сделать вывод о том, что исходный образец

Al₂O₃ содержит OH-группы всех семи типов, традиционно обнаруживаемых на поверхности $\gamma\text{-Al}_2\text{O}_3$ [5] (табл. 1). Однако фторирование носителя приводит к исчезновению с поверхности оксида алюминия терминальных гидроксильных групп, т. е. наиболее основных, что подтверждается ранними работами [6]. Мостиковые группы при низком содержании фтора остаются на образце из-за трудности их обмена на F

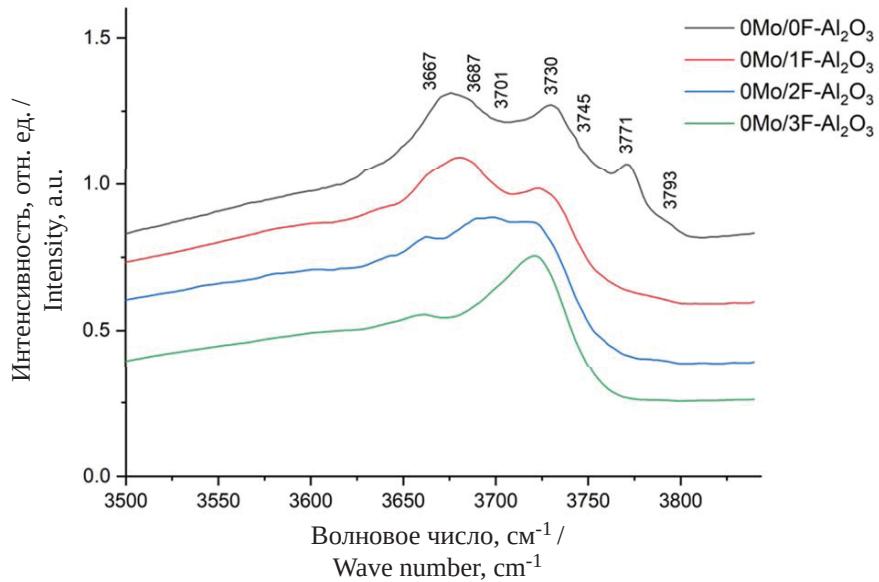


Рис. 2. ИК-спектры фторированных образцов оксида алюминия после вакуумирования при $400\text{ }^{\circ}\text{C}$ (цвет online)

Fig. 2. IR spectra of fluorinated alumina samples after evacuation at $400\text{ }^{\circ}\text{C}$ (color online)

Таблица 1 / Table 1

Типы OH групп на поверхности немодифицированного $\gamma\text{-Al}_2\text{O}_3$
Types of OH groups on the surface of unmodified $\gamma\text{-Al}_2\text{O}_3$

Тип OH-группы* / Type of OH groups*	V-IV	VI-IV	VI-V	VI-VI	VI	V	IV
$\nu(\text{OH})$, cm^{-1} / cm^{-1}	3665–3675	3685–3690	3700–3710	3730–3740	3745–3758	3765–3776	3785–3792

Примечание. *Координационное число Al, связанного с OH-группой.

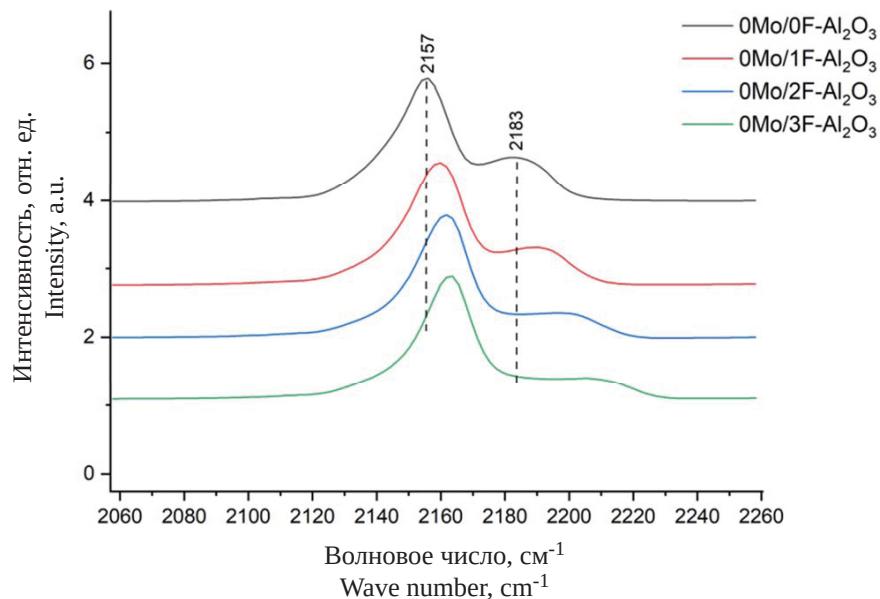
Note. *Coordination number of Al bound to OH group.

и малой вероятности такого процесса. Однако на фторированных образцах они смещаются в более низкочастотную область. Это связано с увеличением их кислотности, что подтверждается данными ИК-спектроскопии адсорбированного CO.

На основании ИК-спектров адсорбированного CO можно сделать вывод о том, что сила как OH-групп, так и ЛКЦ (льюисовских кислотных центров) на поверхности Al_2O_3 увеличивается при фторировании (рис. 3). В ИК-спектре адсорбированного CO на исходном оксиде алюминия присутствуют полосы, соответствующие CO на ЛКЦ на частоте $\sim 2183\text{ cm}^{-1}$ и OH-группах на частоте $\sim 2157\text{ cm}^{-1}$, что согласуется с литературными данными [7]. Полоса в области $2180\text{--}2220\text{ cm}^{-1}$ довольно широкая и, скорее всего, состоит из нескольких компонент, соответствующих центрам разной силы. При модификации фтором полосы, отвечающие адсорбции на ЛКЦ, смещаются на $\sim 6\text{ cm}^{-1}$ в высокочастотную

область. В литературе отсутствует четкое разделение полос, отвечающих адсорбции CO на различных OH-группах. Однако соответствующая им полоса при фторировании образца также смещается в область более высоких частот, что свидетельствует об увеличении кислотной силы остаточных OH-групп [8]. Таким образом, фторирование $\gamma\text{-Al}_2\text{O}_3$ приводит к увеличению силы как ЛКЦ, так и OH-групп.

Связь между кислотными свойствами носителя и каталитическими свойствами катализаторов $9\text{Mo}/x\text{F-Al}_2\text{O}_3$ в метатезисе пропилена была установлена с помощью каталитических экспериментов в проточном реакторе с неподвижным слоем. Протеканию каталитической реакции предшествует стадия предактивации катализатора, в ходе которой каталитическая композиция продувается азотом при $500\text{ }^{\circ}\text{C}$. Процессы, происходящие с катализатором на текущей стадии, до конца не ясны. Однако в литературе имеется ряд предположений о

Рис. 3. ИК-спектры адсорбированного CO на образцах 0Mo/xF-Al₂O₃ (цвет online)Fig. 3. IR spectra of adsorbed CO on 0Mo/xF-Al₂O₃ samples (color online)

сути предактивации. Во-первых, поверхность катализатора обезвоживается и очищается от сорбированных на ней примесей. Во-вторых, происходит частичное восстановление молибдена из степени окисления +6 до +5 или +4, ведь предполагается, что именно молибден в данных степенях окисления проще образует каталитически активные металл-карбеновые центры [9, 10]. Восстановление оксида молибдена в токе азота или водорода при 500 °C было исследовано нами при помощи метода РФЭС.

Обзорные РФЭС-спектры исследованных образцов приведены на рис. 4. Спектры высокого разрешения линий элементов показаны на рис. 5–6. Обработка образцов в азоте и водороде приводит к резкому уменьшению содержания углерода на поверхности в результате десорбции углеродсодержащих загрязнений. Al2p РФЭС-спектры (см. рис. 5, a) практически идентичны для всех образцов и были использованы для энергетической калибровки спектров для устранения влияния зарядки образца при съемке. Mo3d РФЭС-спектр исходного образца (см. рис. 6) наблюдается в виде дублета с энергией связи компоненты Mo3d_{5/2} равной 232.9 эВ, что характерно для молибдена в степени окисления +6 [11]. После обработки в потоке азота Mo3d-спектр практически не изменяется. Наблюдаются лишь небольшое увеличение энергии связи компоненты Mo3d_{5/2} до 233.1 эВ, что может быть связано, как с

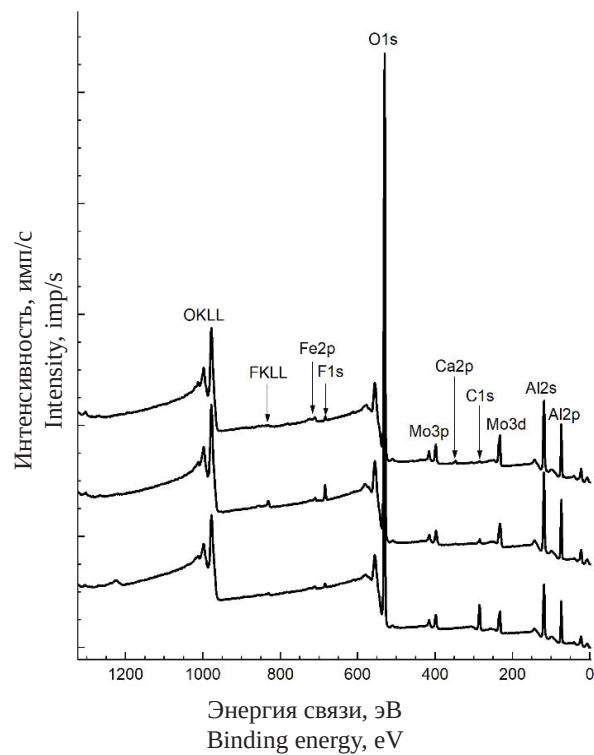


Рис. 4. Обзорные РФЭС-спектры образцов

Fig. 4. XPS spectra of the samples

изменением локального окружения атомов молибдена при сохранении степени окисления +6, так и с изменением в матрице оксида алюминия, энергия связи линии которого использовалась для калибровки и предполагалась неизменной.

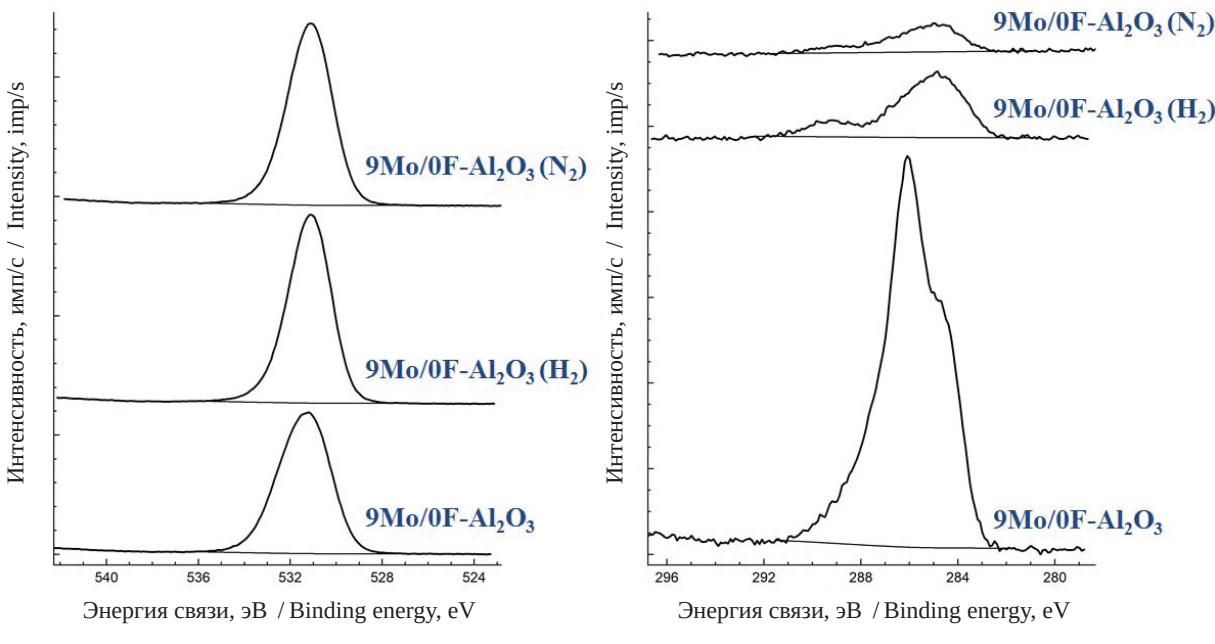


Рис. 5. Спектры образцов: *a* – Al2p РФЭС; *б* – C1s РФЭС
Fig. 5. Spectra of the samples: *a* – Al2p XPS; *b* – C1s XPS

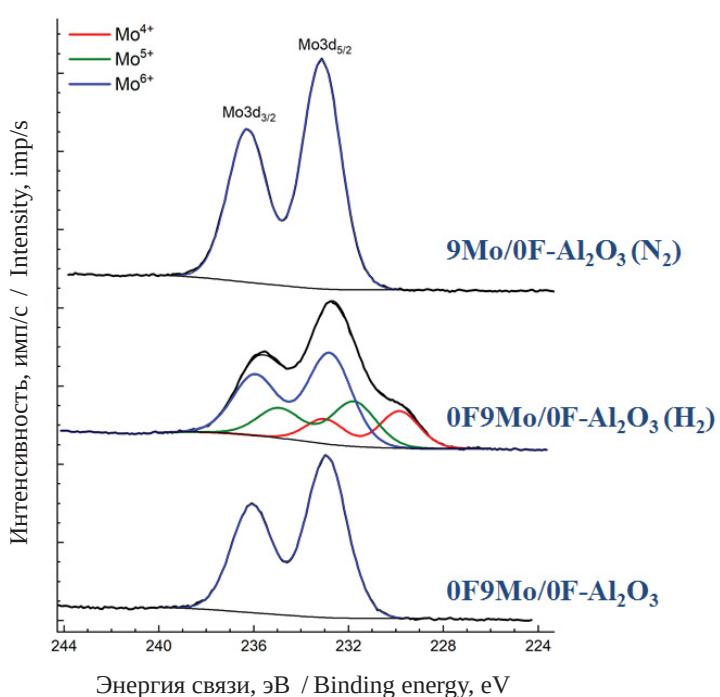


Рис. 6. Mo3d РФЭС-спектры образцов (цвет online)
Fig. 6. Mo3d XPS spectra of the samples (color online)

После обработки образцов в потоке водорода происходит существенное восстановление молибдена. Mo3d-спектр обработанного в водороде образца был разложен на компоненты, отвечающие различным окисленным

состояниям молибдена. Результаты разложения показаны на рис. 6 и приведены в табл. 2, 3. Для разложения спектра была использована наиболее простая модель, предполагающая для каждого окисленного состояния симме-



тричную форму компонент дублета и близкую полуширину. Несмотря на то что в литературе [11] приводят и более комплексные модели, использовать их в данном случае затруднительно из-за сложной формы линий и сильного перекрытия компонент в экспериментальном спектре. Таким образом, в исходном образце и образце, обработанном в азоте, компоненты, соответствующие восстановленным формам молибдена, не выявлены.

Таблица 2 / Table 2

Доля атомов молибдена в различных степенях окисления на поверхности исследованных образцов по данным РФЭС
Fraction of molybdenum atoms in various oxidation states on the surface of the studied samples according to XPS data

Образец / Sample	v (Mo), %		
	Mo ⁴⁺	Mo ⁵⁺	Mo ⁶⁺
9Mo/Al ₂ O ₃ -0F	0	0	100
9Mo/ Al ₂ O ₃ -0F (H ₂)	20	27	53
9Mo/ Al ₂ O ₃ -0F(N ₂)	0	0	100

Таблица 3 / Table 3

Энергии связи компонент РФЭС-спектров исследованных образцов, эВ
Binding energies of the XPS components of the studied samples spectra, eV

Образец / Sample	Mo3d _{5/2}			Al2p
	Mo ⁴⁺	Mo ⁵⁺	Mo ⁶⁺	Al ³⁺
9Mo/ Al ₂ O ₃ -0F	–	–	232.9	74.6
9Mo/ Al ₂ O ₃ -0F (H ₂)	229.9	231.8	232.8	74.6
9Mo/ Al ₂ O ₃ -0F(N ₂)	–	–	233.1	74.6

Результаты катализических экспериментов представлены на рис. 7. Селективность по олефинам C2 и C4 для всех экспериментов составляет более 95%.

При проведении реакции под давлением с увеличением степени фторирования носителя от 0 до 3 масс. % конверсия пропилена в этилен и бутилены увеличивается более чем на 50%. На начальном этапе наблюдается стадия активации, сопровождаемая ростом конверсии. Более того, поскольку с увеличением содержания фтора разница конверсий через 1 и 2 ч уменьшается, можно предположить, что на фторированном катализаторе облегчается образование Мо-карбеновых активных центров. Кроме

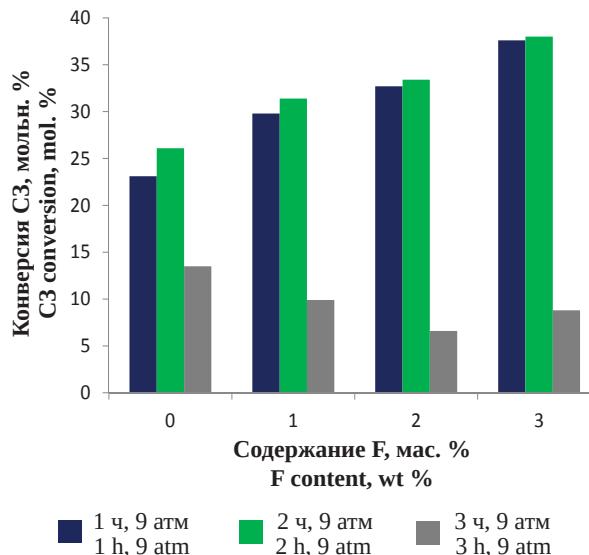


Рис. 7. Конверсия пропилена в реакции метатезиса пропилена на катализаторах 9Mo/xF-Al₂O₃ (цвет online)
Fig. 7. Propylene conversion in the propylene metathesis reaction on 9Mo/xF-Al₂O₃ catalysts (color online)

того происходит приближение к показателям термодинамической конверсии данной реакции.

Существование противоположных закономерностей в активности катализатора при повышенном и атмосферном давлении пропилена может свидетельствовать о том, что на поверхности катализатора в ходе реакции формируются активные центры различной природы и в разном количестве. Вероятно, на фторированных 9Mo/xF-Al₂O₃ происходит образование более сильных активных центров [12], но их количество меньше по сравнению с активными центрами на исходном катализаторе. Однако данное предположение требует дальнейшей проверки.

Таким образом, кислотность подложки является важным свойством нанесенного катализатора MoO₃/Al₂O₃ для реакции метатезиса пропилена. Лучшее понимание элементарных стадий механизма образования Мо-карбеновых центров даст ключ к дальнейшей разработке новых катализаторов метатезиса низших олефинов.

Список литературы

1. Mol J. C. Industrial applications of olefin metathesis // Journal of Molecular Catalysis A: Chemical. 2004. Vol. 213, № 1. P. 39–45. <https://doi.org/10.1016/j.molcata.2003.10.049>
2. Mol J. C., van Leeuwen P. W. N. M. Metathesis of alkenes // Handbook of Heterogeneous Catalysis. Weinheim, Germany : Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, 2008. P. 3240–3256. <https://doi.org/10.1002/9783527610044.hetcat0164>

3. Chakrabarti A., Wachs I. E. Molecular structure-reactivity relationships for olefin metathesis by Al_2O_3 -supported surface MoO_x sites // ACS Catal. 2018. Vol. 8, № 2. P. 949–959. <https://doi.org/10.1021/acscatal.7b03598>
4. Smith S. J., Amin S., Woodfield B. F., Boerio-Goates J., Campbell B. J. Phase progression of $\gamma\text{-Al}_2\text{O}_3$ nanoparticles synthesized in a solvent-deficient environment // Inorg. Chem. American Chemical Society. 2013. Vol. 52, № 8. P. 4411–4423. <https://doi.org/10.1021/ic302593f>
5. Belskaya O. B., Danilova I. G., Kazakov M. O., Mironenko R. M., Lavrenov A. V., Likholobov V. A. FTIR Spectroscopy of adsorbed probe molecules for analyzing the surface properties of supported Pt (Pd) catalysts // Infrared Spectroscopy : Mater. Sci. Eng. Technol. IntechOpen, 2012. <https://doi.org/10.5772/36275>
6. Berteau P., Ceckiewicz S., Delmon B. Role of the acid-base properties of aluminas, modified γ -alumina, and silica-alumina in 1-butanol dehydration // Appl. Catal. 1987. Vol. 31, № 2. P. 361–383. [https://doi.org/10.1016/S0166-9834\(00\)80702-2](https://doi.org/10.1016/S0166-9834(00)80702-2)
7. Ballinger T. H., Yates J. T. IR Spectroscopic detection of lewis acid sites on Al_2O_3 using adsorbed CO. Correlation with Al-OH group removal // Langmuir. 1991. Vol. 7, № 12. P. 3041–3045. <https://doi.org/10.1021/la00060a022>
8. Rodriguez L. M., Alcaraz J., Hernandez M., Dufaux M., Taârit Y. Ben, Vrinat M. Fluorinated alumina: Characterization of acid sites and relationship between acidity and activity in benzene alkylation // Appl. Catal. A Gen. 1999. Vol. 189, № 1. P. 53–61. [https://doi.org/10.1016/S0926-860X\(99\)00251-3](https://doi.org/10.1016/S0926-860X(99)00251-3)
9. Кашковский В., Григорьев А. Метатезис олефинов – катализаторы, механизм, кинетика // Катализ и нефтехимия. 2006. № 14. Р. 11–21.
10. Amakawa K., Wrabetz S., Kröhnert J., Tzolova-Müller G., Schlägl R., Trunschke A. In situ generation of active sites in olefin metathesis // J. Amer. Chem. Soc. 2012. Vol. 134, № 28. P. 11462–11473. <https://doi.org/10.1021/ja3011989>
11. Baltrusaitis J., Mendoza-Sanchez B., Fernandez V., Veenstra R., Dukstiene N., Roberts A., Fairley N. Generalized molybdenum oxide surface chemical state XPS determination via informed amorphous sample model // Appl. Surf. Sci. 2015. Vol. 326. P. 151–161. <https://doi.org/10.1016/J.APSUSC.2014.11.077>
12. Nikiforov A. I., Popov A. G., Chesnokov E. A., Ivanova I. I. Promoting effect of $\text{MoO}_3/\text{Al}_2\text{O}_3$ catalysts fluorination on their reactivity in propylene metathesis // J. Catal. 2022. Vol. 415. P. 58–62. <https://doi.org/10.1016/J.JCAT.2022.09.024>
2. Mol J. C., van Leeuwen P. W. N. M. Metathesis of alkenes. In: *Handbook of Heterogeneous Catalysis*. Weinheim, Germany, Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, 2008, pp. 3240–3256. <https://doi.org/10.1002/9783527610044.hetcat0164>
3. Chakrabarti A., Wachs I. E. Molecular structure-reactivity relationships for olefin metathesis by Al_2O_3 -supported surface MoO_x sites. *ACS Catal.*, 2018, vol. 8, no. 2, pp. 949–959. <https://doi.org/10.1021/acscatal.7b03598>
4. Smith S. J., Amin S., Woodfield B. F., Boerio-Goates J., Campbell B. J. Phase progression of $\gamma\text{-Al}_2\text{O}_3$ nanoparticles synthesized in a solvent-deficient environment. *Inorg. Chem. American Chemical Society*, 2013, vol. 52, no. 8, pp. 4411–4423. <https://doi.org/10.1021/ic302593f>
5. Belskaya O. B., Danilova I. G., Kazakov M. O., Mironenko R. M., Lavrenov A. V., Likholobov V. A. FTIR Spectroscopy of adsorbed probe molecules for analyzing the surface properties of supported Pt (Pd) catalysts. *Infrared Spectroscopy: Mater. Sci. Eng. Technol.*, IntechOpen, 2012. <https://doi.org/10.5772/36275>
6. Berteau P., Ceckiewicz S., Delmon B. Role of the acid-base properties of aluminas, modified γ -alumina, and silica-alumina in 1-butanol dehydration. *Appl. Catal.*, 1987, vol. 31, no. 2, pp. 361–383. [https://doi.org/10.1016/S0166-9834\(00\)80702-2](https://doi.org/10.1016/S0166-9834(00)80702-2)
7. Ballinger T. H., Yates J. T. IR Spectroscopic detection of lewis acid sites on Al_2O_3 using adsorbed CO. Correlation with Al-OH group removal. *Langmuir*, 1991, vol. 7, no. 12, pp. 3041–3045. <https://doi.org/10.1021/la00060a022>
8. Rodriguez L. M., Alcaraz J., Hernandez M., Dufaux M., Taârit Y. Ben, Vrinat M. Fluorinated alumina: Characterization of acid sites and relationship between acidity and activity in benzene alkylation. *Appl. Catal. A Gen.*, 1999, vol. 189, no. 1, pp. 53–61. [https://doi.org/10.1016/S0926-860X\(99\)00251-3](https://doi.org/10.1016/S0926-860X(99)00251-3)
9. Kashkovskiy V., Grigor'yev A. Olefin metathesis – catalysts, mechanism, kinetics. *Catalysis and Petrochemistry*, 2006, no. 14, pp. 11–21 (in Russian).
10. Amakawa K., Wrabetz S., Kröhnert J., Tzolova-Müller G., Schlägl R., Trunschke A. In situ generation of active sites in olefin metathesis. *J. Amer. Chem. Soc.*, 2012, vol. 134, no. 28, pp. 11462–11473. <https://doi.org/10.1021/ja3011989>
11. Baltrusaitis J., Mendoza-Sanchez B., Fernandez V., Veenstra R., Dukstiene N., Roberts A., Fairley N. Generalized molybdenum oxide surface chemical state XPS determination via informed amorphous sample model. *Appl. Surf. Sci.*, 2015, vol. 326, pp. 151–161. <https://doi.org/10.1016/J.APSUSC.2014.11.077>
12. Nikiforov A. I., Popov A. G., Chesnokov E. A., Ivanova I. I. Promoting effect of $\text{MoO}_3/\text{Al}_2\text{O}_3$ catalysts fluorination on their reactivity in propylene metathesis. *J. Catal.*, 2022, vol. 415, pp. 58–62. <https://doi.org/10.1016/J.JCAT.2022.09.024>

References

1. Mol J. C. Industrial applications of olefin metathesis. *Journal of Molecular Catalysis A: Chemical*, 2004, vol. 213, no. 1, pp. 39–45. <https://doi.org/10.1016/j.molcata.2003.10.049>

Поступила в редакцию 13.05.22; одобрена после рецензирования 01.06.22; принята к публикации 06.06.22
The article was submitted 13.05.22; approved after reviewing 01.06.22; accepted for publication 06.06.22



Известия Саратовского университета. Новая серия. Серия: Химия. Биология. Экология. 2022. Т. 22, вып. 4. С. 398–404

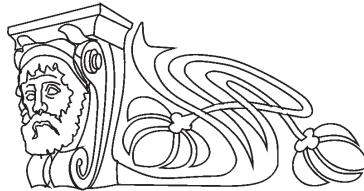
Izvestiya of Saratov University. Chemistry. Biology. Ecology, 2022, vol. 22, iss. 4, pp. 398–404

<https://ichbe.sgu.ru>

<https://doi.org/10.18500/1816-9775-2022-22-4-398-404>, EDN: EIJLEK

Научная статья
УДК 544.478.13

Превращение стабильного гидрогенизата на катализитических системах Pt/ЦВМ, Pr/ЦВМ



Е. А. Ашихмин, И. В. Внуков, С. Б. Ромаденкина , Т. В. Аниськова

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

Ашихмин Егор Александрович, магистрант Института химии, ashikhmin.yegor@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-8317-6110>

Внуков Илья Владиславович, магистрант Института химии, ilia_vnukov1999@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-8866-6370>

Ромаденкина Светлана Борисовна, кандидат химических наук, доцент, доцент кафедры нефтехимии и техногенной безопасности, romadenkina@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0001-7035-7193>

Аниськова Татьяна Владимировна, кандидат химических наук, доцент, доцент кафедры нефтехимии и техногенной безопасности, aniskovatv@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0003-1988-323X>

Аннотация. Катализитический риформинг является наиболее используемым методом облагораживания прямогонных бензинов. Тенденции модернизации катализитических систем для промышленной реализации процесса риформинга ориентированы на создание катализаторов с конкретным набором заданных свойств, которые дадут возможность получать жидкий товарный продукт с необходимыми эксплуатационными и экологическими характеристиками, а также увеличивать его выход при более низких температурах. Данная статья посвящена исследованию эффективности процесса превращения углеводородного сырья на катализитических системах Pt/ЦВМ, Pr/ЦВМ. В качестве носителя использован высокомолекулярный цеолит ЦВМ (ZSM-5). В качестве сырья использовался стабильный гидрогенизат – продукт процесса гидроочистки, основное сырье процесса риформинга. Октановое число гидрогенизата составляет 63 пункта. Для автомобильных бензинов такое значение октанового числа неприемлемо. В результате превращения сырья получено жидкое топливо многокомпонентного состава с количеством углеродных атомов в цепи от 3 до 14, а также газы, содержащие углеводороды C₁ – C₅. В данной работе при превращении стабильного гидрогенизата на исследуемых катализаторах с увеличением температуры растет величина ОЧ и содержание ароматики. Установлено, что с увеличением температуры уменьшается вклад реакций изомеризации вследствие уменьшения содержания изопарафинов. При превращении стабильного гидрогенизата на катализаторе Pt/ЦВМ при температуре 400°C содержание бензола составляет 0,8 мас. %, что соответствует стандарту автобензина ЕВРО-5.

Ключевые слова: стабильный гидрогенизат, превращение, катализитический риформинг, катализаторы, бензин

Для цитирования: Ашихмин Е. А., Внуков И. В., Ромаденкина С. Б., Аниськова Т. В. Превращение стабильного гидрогенизата на катализитических системах Pt/ЦВМ, Pr/ЦВМ // Известия Саратовского университета. Новая серия. Серия: Химия. Биология. Экология. 2022. Т. 22, вып. 4. С. 398–404. <https://doi.org/10.18500/1816-9775-2022-22-4-398-404>, EDN: EIJLEK

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

Article

Transformation of stable hydrogenate on catalytic systems Pt/CVM, Pr/CVM

Е. А. Ashikhmin, И. В. Vnukov, С. Б. Romadenkina , Т. В. Aniskova

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

Egor A. Ashikhmin, ashikhmin.yegor@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-8317-6110>

Ilya V. Vnukov, ilia_vnukov1999@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-8866-6370>

Svetlana B. Romadenkina, romadenkina@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0001-7035-7193>

Tatiana V. Aniskova, aniskovatv@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0003-1988-323X>

Abstract. Catalytic reforming is the most used method for upgrading straight-run gasolines. The trends to modernize catalytic systems so that the reforming process can be used in the industrial setting are focused on the production of catalysts with a specific set of characteristics allowing to obtain a liquid commercial product with the required operational and ecological features, in addition to increase its yield at lower temperatures. This article investigates the efficiency of the catalytic systems Pt/CVM, Pr/CVM as transformation processes of raw hydrocarbons. A high molecular weight ZSM zeolite (ZSM-5) has been used as a carrier. The raw material that has been used is a stable hydrogenate obtained through hydrotreatment, which is the main raw material of the reforming process. The octane number of the hydrogenate is 63, which is not acceptable for automobile gasolines. The transformation of the crude material results in the production of liquid fuel made up of multiple components and carbon atoms in a chain ranging from 3 to 14 atoms, as well as gases containing hydrocarbons C₁ – C₅. In this work, the transformation of a



stable hydrogenate on the catalysts under investigation has showed that temperature increase results in a higher octane number and aromatic content. It has been determined that temperature increase results in the reduction of the effects of the isomerization reaction, with a subsequent decrease in isoparaffinic content. With a transformation of a stable hydrogenate on the catalyst Pt/CVM at temperature of 400°C, the benzene content amounts to 0,8 wt. %, which corresponds to the EURO-5 automobile gasoline standard.

Keywords: stable hydrogenate, transformation, catalytic reforming, catalysts, gasoline

For citation: Ashikhmin E. A., Vnukov I. V., Romadenkina S. B., Aniskova T. V. Transformation of stable hydrogenate on catalytic systems Pt/CVM, Pr/CVM. *Izvestiya of Saratov University. Chemistry. Biology. Ecology*, 2022, vol. 22, iss. 4, pp. 398–404 (in Russian). <https://doi.org/10.18500/1816-9775-2022-22-4-398-404>, EDN: EIJLEK

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 каталитический риформинг является наиболее используемым методом облагораживания прямогонных бензинов. Практически на каждом современном нефтеперерабатывающем заводе имеются установки каталитического риформинга. Одна из основных задач этих предприятий – постоянная модернизация имеющихся установок с целью повышения объемов производства и усовершенствования качества товарного продукта. Одним из методов повышения качества продуктов является получение максимальных значений выхода катализата и его октанового числа (ОЧ) из-за повышения активности, стабильности и селективности применяемого катализатора [1].

Современные тенденции модернизации каталитических систем для промышленной реализации процесса риформинга ориентированы на создание катализаторов с конкретным набором заданных свойств, которые дадут возможность получать жидкий товарный продукт с необходимыми эксплуатационными и экологическими характеристиками, а также увеличивать его выход при более низких температурах [2].

Важнейшие реакции риформинга протекают согласно бифункциональному механизму, в соответствии с которым некоторые стадии одной и той же реакции идут либо на металлических, либо на кислотных центрах. Металл ускоряет реакции дегидрирования алканов в олефины, циклопарафинов – в циклоалкены и шестичленных нафтенов – в ароматические углеводороды. Непредельные углеводороды (продукты изомеризации и гидрокрекинга), перемещающиеся с кислотных центров на металлические, подвергаются на них гидрированию [3, 4].

На сегодняшний день существует большое количество применяемых катализаторов различного состава, таких как ПР-81 (содержание платины 0,3 мас. %, рейния 0,3 мас. %), R-254 (содержание платины 0,3 мас. %, рейния 1,0 мас. %), РФ-1 (содержание платины 0,25 мас. %, рейния 0,4 мас. %) и др. С каждым годом ужесточаются ЕВРО-стандарты, применяемые к моторным топливам, что приво-

дит к разработке новых каталитических систем, так как применимые каталитические системы не обеспечивают выход моторных топлив с требуемыми показателями [5–7].

Проведено исследование активности катализаторов Pt/ЦВМ (содержание платины 0,13 мас. %), Pr/ЦВМ (содержание празеодима 0,7 мас. %). При приготовлении данных катализаторов в качестве носителя использован высокомолекулярный цеолит ЦВМ (ZSM-5). Их отличительной чертой является очень узкое распределение пор по размерам (от 0,3 до 0,7 нм), такие поры способствуют образованию малых ароматических молекул, а также препятствует синтезу и аккумулированию поликонденсированных ароматических соединений. Нанесение металла на носитель и определение количества фактически осевшего металла проводилось методом пропитки и дальнейшим изучением остаточного раствора спектрофотометрическим методом анализа [8, 9].

Материалы и методы

Исследование активности данных катализаторов проводили на лабораторной установке проточного типа при атмосферном давлении в инертной среде, температурный режим 300–500°C. Скорость подачи сырья 8 мл/ч, объем загруженного катализатора 8 см³. Полученные жидкие продукты многокомпонентного состава с количеством углеродных атомов в цепи от 3 до 14 и газы, содержащие углеводороды C₁–C₅, исследованы на хроматографе «Кристалл-5000» с программированием температуры с 35 до 250° С. Расчет осуществлялся с помощью программы «Хроматэк Аналитик», которая позволяет установить детальный состав полученных смесей, относительную плотность, фракционный состав и октановое число продукта. В качестве сырья использовался стабильный гидрогенизат – продукт процесса гидроочистки, основное сырье процесса риформинга [10, 11].

Результаты и их обсуждение

В групповом составе гидрогенизата доминируют алканы и циклоалканы. Содержание ароматических соединений крайне мало



(7 мас. %), но за счет наличия в смеси изопарафинов (21 мас. %) октановое число сырья составляет 63 пункта. Для автобензинов такое значение октанового числа неприемлемо [12].

В табл. 1 представлен материальный баланс превращения стабильного гидрогенизата на двух катализитических системах.

Потери составляют менее 3%.

Таблица 1 / Table 1

Материальные балансы превращения стабильного гидрогенизата на катализаторах Pt/ЦВМ, Pr/ЦВМ

Material balances for the transformation of the hydrogenate on Pt/CVM and Pr/CVM catalytic systems

Приход Before			Расход After	Pt/ЦВМ Pt/CVM						Pr/ЦВМ Pr/CVM					
				300°C		400°C		500°C		300°C		400°C		500°C	
Масса Mass	г g	%	Масса Mass	г g	%	г g	%	г g	%	г g	%	г g	%	г g	%
Стабильный гидрогенизат Hydrogenate	6,0	100,0	Жидкие продукты Liquid product	3,9	65,0	2,6	43,3	1,9	31,7	3,2	53,3	2,4	40,0	1,7	28,3
			Газовые продукты Gaseous product	2,1	35,0	3,4	56,7	4,1	68,3	2,8	46,7	3,6	60,0	4,3	71,7
Сумма Sum	6,0	100,0	Сумма Sum	6,0	100,0	6,0	100,0	6,0	100,0	6,0	100,0	6,0	100,0	6,0	100,0

В табл. 2 представлены составы газообразных продуктов превращения стабильного гидрогенизата на катализаторах Pt/ЦВМ, Pr/ЦВМ.

В результате превращения углеводородного сырья с увеличением температуры наблюдается увеличение выхода газообразных продуктов с

31,7 до 65,0 мас. % (выход H_2 увеличивается на 1,2 мас. %, CH_4 на 4,1 мас. %) на катализаторе Pt/ЦВМ; с 44,6 до 68,3 мас. % (выход H_2 увеличивается на 5,3 мас. %, CH_4 на 14,6 мас. %) на катализаторе Pr/ЦВМ, что свидетельствует об увеличении вклада реакций гидрокрекинга.

Таблица 2 / Table 2

Состав газообразных продуктов превращения углеводородного сырья
Gaseous product composition of the transformation of hydrocarbon raw materials

Компонент Component	Выход продуктов, мас. % Product yield, wt. %					
	Pt/ЦВМ Pt/CVM			Pr/ЦВМ Pr/CVM		
	300°C	400°C	500°C	300°C	400°C	500°C
H_2	—	—	1.3	—	7.6	5.5
CH_4	1.0	0.6	5.3	0.5	8.3	15.8
CO_2	9.6	—	0.3	8.5	0.8	—
C_2H_4	—	0.7	6.4	5.0	2.4	10.8
C_2H_6	—	2.6	35.3	0.7	17.5	24.6
C_3H_6	64.5	76.4	29.0	60.5	58.1	39.3
C_3H_8	—	—	19.3	3.1	—	—
C_4H_{10}	22.3	19.1	2.5	19.6	5.2	3.8
C_5H_{12}	1.6	—	—	0.8	—	—
Итого / Total	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0

В табл. 3 и 4 представлен основной групповой состав продуктов превращения стабильного гидрогенизата. Из табл. 3, 4 можно сделать вывод, что с повышением температуры процесса

содержание в раффе парaffинов изо- и нормального строения уменьшается, а содержание ароматических соединений, наоборот, увеличивается.

Таблица 3 / Table 3

Основной групповой состав продуктов превращения стабильного гидрогенизата на цеолитном катализаторе Pt/ЦВМ
The main group composition of the products of the transformation of a stable hydrogenate on a zeolite catalytic systems Pt/CVM

Компоненты Components	Выход продуктов, мас. % Product yield, wt. %		
	300°C	400°C	500°C
Ароматические углеводороды Benzene hydrocarbons	8,1	26,0	34,9
Бензол / Benzene	2,9	0,8	3,7
н-парaffины C ₄ -C ₅ n-paraffineC ₄ -C ₅	14,2	11,7	7,2
i-парaffины C ₄ -C ₅ i-paraffineC ₄ -C ₅	35,2	31,8	26,7
Октановое число (исследовательский метод) Rated Octane Number	87,1	95,7	102,4
Октановое число (моторный метод) Motor Octane Number	71,3	84,6	91,3

Таблица 4 / Table 4

Основной групповой состав продуктов превращения стабильного гидрогенизата на празеодимсодержащем катализаторе Pr/ЦВМ
The main group composition of the products of the transformation of a stable hydrogenate on the praseodymium-containing catalytic systems Pr/CVM

Компоненты Components	Выход продуктов, мас. % Product yield, wt. %		
	300°C	400°C	500°C
Ароматические углеводороды Benzene hydrocarbons	6,6	9,7	27,2
Бензол / Benzene	3,2	1,2	3,8
н-парaffины C ₄ -C ₅ n-paraffineC ₄ -C ₅	32,7	22,8	11,2
i-парaffины C ₄ -C ₅ i-paraffineC ₄ -C ₅	29,2	22,9	8,2
Октановое число (исследовательский метод) Rated Octane Number	75,2	93,6	101,9
Октановое число (моторный метод) Motor Octane Number	68,1	81,0	90,0

Уменьшение доли продуктов изомеризации (с 35,2 до 26,7 мас. % на катализаторе Pt/ЦВМ; с 29,2 до 8,2 мас. % на катализаторе Pr/ЦВМ;) не влияет на значение ОЧ, так как уравновешивается высоким выходом арома-

тических соединений. Но на исследуемых катализаторах значение доли изопарaffинов остается на высоком уровне, что благотворно сказывается на экологической безопасности моторного топлива.



В данной работе при превращении сырья на исследуемых катализаторах с увеличением температуры растет величина ОЧ и содержание ароматики. Максимальные значения октановых чисел наблюдаются при 500° С, это объясняется

содержанием в рафинате ароматических углеводородов и изоалканов, обладающих самой большой детонационной стойкостью.

Увеличение ароматических соединений отмечается для всех катализитических систем (рис. 1).

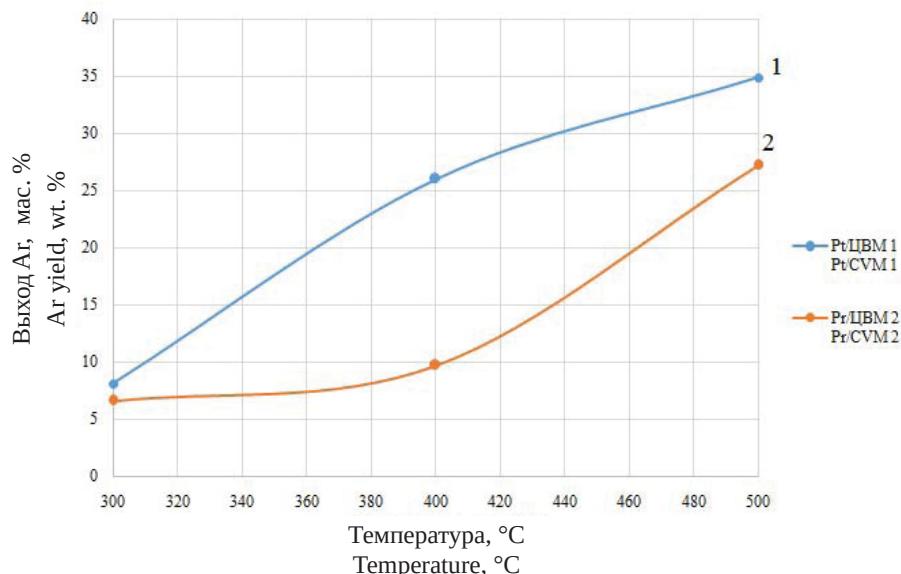


Рис. 1. Влияние температуры на выход ароматических углеводородов (цвет online)
Fig. 1. The influence of temperature on the yield of aromatic hydrocarbons (color online)

Особым показателем моторных топлив является содержание бензола (рис. 2), который строго регламентируется ЕВРО-стандартами.

Из рис. 2 видно, что в моторном топливе, полученном на катализаторе Pt/CBM при 400° С, содержание бензола наименьшее (0,8 мас. %), на других каталитических системах при всех тем-

пературах доля бензола превышает допустимые значения в 1 мас. %.

Необходимо отметить, что во всех сериях опыта образование кокса незначительно, что является немаловажным и позволяет говорить о большом межрегенерационном периоде данной цеолитной системы.

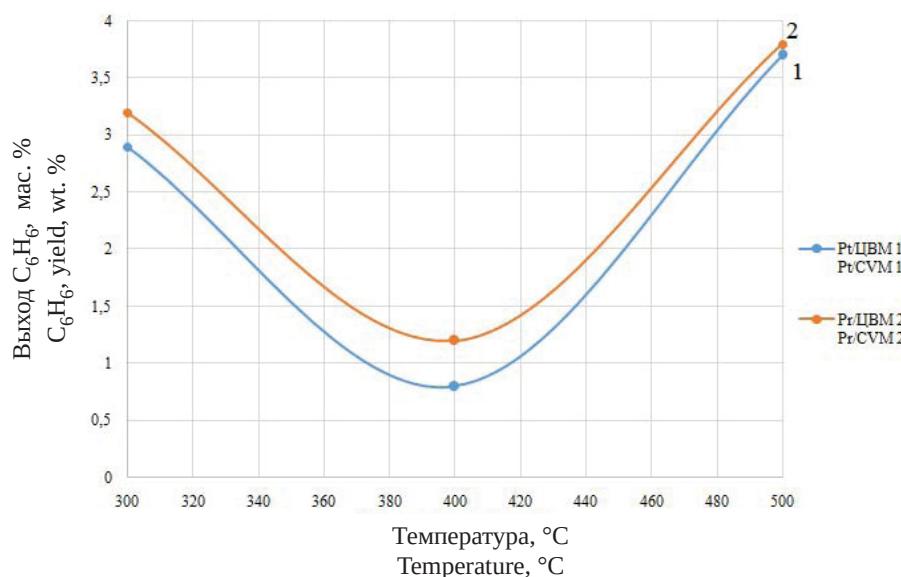


Рис. 2. Содержание бензола в продуктах (цвет online)
Fig. 2. The content of benzene in products (color online)

Заключение

Таким образом, установлено, что с увеличением температуры уменьшается вклад реакций изомеризации вследствие уменьшения содержания изопарафинов с 35,2 до 26,7 мас. % на катализаторе Pt/ЦВМ.

При превращении стабильного гидрогенизата на катализаторе Pt/ЦВМ при температуре 400°C содержание бензола составляет 0,8 мас. %, что соответствует стандарту автобензина ЕВРО-5.

При превращении стабильного гидрогенизата при температуре 400°C на катализаторе Pt/ЦВМ величина октанового числа составляет 95,7 пунктов по исследовательскому методу и 84,6 пунктов по моторному методу.

Список литературы

1. Ганцев А. В., Аюпов Э. Р. Применение цеолитсодержащего катализатора в процессе катализитического реформинга // Universum: Химия и Биология. 2019. № 12 (66). С. 65–67.
2. Пат. 2626747 РФ. Катализатор изомеризации н-алканов в процессе реформинга гидроочищенных бензиновых фракций (варианты) / Фадеев В. В., Абрамова А. В., Герасимов Д. Н., Хемчян Л. Л., Логинова А. Н., Лямин Д. В., Петрова Е. Г., Уварова Н. Ю., Смолин Р. А. Опубл. 31.07.2017. Бюл. № 22.
3. Красулина А. А., Макунина А. А., Ромаденкина С. Б. Превращение н-гексана на катализаторах с послойной загрузкой // Современные проблемы теоретической и экспериментальной химии : межвузовский сборник научных трудов XIII Всероссийской конференции молодых ученых с международным участием. Саратов : Саратовский источник, 2018. С. 219–221.
4. Агабеков В. Е., Косяков В. К. Нефть и газ: технологии и продукты переработки. Ростов н/Д : Феникс, 2014. 455 с.
5. Бакулина В. И., Воробьева Е. В. Пути оптимизации катализитического реформинга // Новые технологии в учебном процессе и производстве: материалы XVII Международной научно-технической конференции. Рязань : Рязаньпроект, 2019. С. 397–399.
6. Георгиева Э. Ю., Михайлова М. Д., Мартынова А. В. Анализ эксплуатационных характеристик катализаторов реформинга // Инновационные научные исследования: теория, методология, практика: сборник статей XVII Международной научно-практической конференции. Пенза : Наука и Просвещение, 2019. С. 189–191.
7. Пат. 2728554 РФ. Устройство для обработки цеолита путем ионного обмена и способ получения катализатора с применением этого устройства / Герзелиев И. М., Темникова В. А., Басханова М. Н., Саитов З. А., Максимов А. Л. Опубл. 30.07.2020. Бюл. № 22.
8. Бушуев Ю. Г. Цеолиты. Компьютерное моделирование цеолитных материалов. Иваново : Иван. гос. хим.-технол. ун-т, 2011. 104 с.
9. Пат. 2712077 С2 РФ. Способ получения катализатора и сам катализатор / Бауэр Ю., Дотцель Р., Мюнх Й. В. Заявка 2016141916 от 27.03.2015. Опубл. 27.01.2020.
10. Семенкова Е. С., Ахмад М. Перспективы развития процесса катализитического реформинга // Инновационные научные исследования: теория, методология, практика: сборник статей XX Международной научно-практической конференции. Пенза : Наука и Просвещение, 2019. С. 57–59.
11. Брутер Д. В., Павлов В. С., Иванова И. И. Межцеолитные превращения, как метод синтеза цеолитных катализаторов // Современные молекулярные сита. 2021. № 1. С. 2–26. https://doi.org/10.53392/27130304_2021_3_1_2
12. Иванов В. А., Ромаденкина С. Б. Превращение н-гексана в условиях катализитического реформинга // Modern Science. 2021. № 11, ч. 3. С. 30–36.
13. Аниськова Т. В., Ромаденкина С. Б., Кузьмина Р. И. Превращение стабильного катализата установки катализитического реформинга на катализаторе R-98 // Известия Саратовского университета. Новая серия. Серия: Химия. Биология. Экология. 2017. Т. 17, вып. 4. С. 394–396. <https://doi.org/10.18500/1816-9775-2017-17-4-394-396>

References

1. Gantsev A. V., Ayupov E. R. Application of a zeolite-containing catalyst in the process of catalytic reforming. *Universum: Chemistry and Biology*, 2019, no. 12 (66), pp. 65–67 (in Russian).
2. Patent RU no. 2626747 of the Russian Federation. *Catalyst for isomerization of n-alkanes in the reforming process hydrotreated gasoline fractions (variants)*. Fadeev V. V., Abramova A. V., Gerasimov D. N., Khemchyan L. L., Loginova A. N., Lyamin D. V., Petrova E. G., Uvarova N. Yu., Smolin R. A. Publ. 31.07.2017, bull. no. 22 (in Russian).
3. Krasulina A. A., Makunina A. A., Romadenkina S. B. Transformation of n-hexane on catalysts with layered loading. In: *Modern problems of theoretical and experimental chemistry. Interuniversity collection of scientific papers of the XIII All-Russian Conference of Young Scientists with international participation*. Saratov, Saratovskiy ictotechnik Publ., 2018, pp. 219–221 (in Russian).
4. Agabekov V. E., Kosyakov V. K. *Neft’ i gaz: tehnologii i produkty pererabotki* [Oil and Gas: Technologies and Processing Products]. Rostov-on-Don, Fenix Publ., 2014. 455 p. (in Russian).
5. Bakulina V. I., Vorobyeva E. V. Ways of optimizing catalytic reforming. In: *New Technologies in the Educational Process and Production: Materials of the XVII International Scientific and Technical Conference*. Ryazan, Ryazanproekt Publ., 2019, pp. 397–399 (in Russian).



6. Georgieva E. Yu., Mikhailova M. D., Martynova A. V. Analysis of operational characteristics of reforming catalysts. *Innovative scientific research: Theory, methodology, practice: Collection of articles of the XVII International Scientific and Practical Conference*. Penza, Nauka i Prosveshchenie Publ., 2019, pp. 189–191 (in Russian).
7. Pat. RU 2728554 of the Russian Federation. *A device for processing zeolite by ion exchange and a method for obtaining a catalyst using this device*. Gerzeliev I. M., Temnikova V. A., Baskhanova M. N., Saitov Z. A., Maksimov A. L. Publ. 30.07.2020, bull. no. 22 (in Russian).
8. Bushuev Yu. G. *Tseolity. Komp'yuternoye modelirovaniye tseolitnykh materialov* [Zeolites. Computer Modeling of Zeolite Materials]. Ivanovo, Ivanovo State University of Chemistry and Technology Publ., 2011. 104 p. (in Russian).
9. Pat. RU 2712077 C2. *The method of obtaining a catalyst and the catalyst itself*. Bauer Yu., Dotzel R., Munch J. V. Application 2016141916 dated 27.03.2015. Publ. 27.01.2020 (in Russian).
10. Semenkova E. S., Ahmad M. Prospects for the development of the catalytic reforming process. *Innovative scientific research: Theory, methodology, practice: Collection of articles of the XX International Scientific and Practical Conference*. Penza, Nauka i Prosveshchenie Publ., 2019, pp. 57–59 (in Russian).
11. Bruter D. V., Pavlov V. S., Ivanova I. I. Interceolite transformations as a method of synthesis of zeolite catalysts. *Modern Molecular Sieves*, 2021, no. 1, pp. 2–26 (in Russian). https://doi.org/10.53392/27130304_2021_3_1_2
12. Ivanov V. A., Romadenkina S. B. Transformation of n-hexane under conditions of catalytic reforming. *Modern Science*, 2021, no. 11, part 3, pp. 30–36 (in Russian).
13. Aniskova T. V., Romadenkina S. B., Kuzmina R. I. Transformation of a stable catalyzate of a catalytic reforming unit on an R-98 catalyst. *Izvestiya of Saratov University. Chemistry. Biology. Ecology*, 2017, vol. 17, iss. 4, pp. 394–396 (in Russian). <https://doi.org/10.18500/1816-9775-2017-17-4-394-396>

Поступила в редакцию 18.06.22; одобрена после рецензирования 30.08.22; принята к публикации 06.09.22

The article was submitted 18.06.22; approved after reviewing 30.08.22; accepted for publication 06.09.22



БИОЛОГИЯ

Известия Саратовского университета. Новая серия. Серия: Химия. Биология. Экология. 2022. Т. 22, вып. 4. С. 405–408

Izvestiya of Saratov University. Chemistry. Biology. Ecology, 2022, vol. 22, iss. 4, pp. 405–408
<https://ichbe.sgu.ru> <https://doi.org/10.18500/1816-9775-2022-22-4-405-408>
EDN: LNAZOM

Article

***Neocrambus wolfschlaegeri* (Schawerda, 1937) (Lepidoptera: Crambidae, Crambinae) new to Russia**

T. A. Trofimova^{1,2}✉, D. F. Shovkoon^{2,3}

¹Laboratory of Animal Systematic and Faunistic, Samara National Research University,
34 Moskovskoye shosse, Samara 443086, Russia

²Research laboratory of environmental biology “Ecotone”, 130 Kirova St., of. 1, Samara 443035,
Russia

³Faculty of Science, University of South Bohemia, Branišovská 31, České Budějovice 2,
370 05, Czech Republic

Tatyana A. Trofimova, apamea@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0003-4998-32663>

Dmitry F. Shovkoon, shovkoon@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0001-7175-3489>

Abstract. Crambid moth *Neocrambus wolfschlaegeri* (Schawerda, 1937) is reported from the Volga-Ural Region (Orenburg and Saratov Provinces). This represents the first record of this species from Russia. The external morphology and genitalia are illustrated and some details of the morphology are discussed.

Keywords: Lepidoptera, Crambinae, moths, fauna, Volga-Ural Region, Russia

Acknowledgements. We are very grateful to Professor Vasily V. Anikin (Saratov State University, Russia) for the collection of material and for providing specimens for study. We express our thanks to Dr. Andreas Segerer (ZSM, München, Germany) for providing invaluable help during work with the pyralid collection under his curatorship.

For citation: Trofimova T. A., Shovkoon D. F. *Neocrambus wolfschlaegeri* (Schawerda, 1937) (Lepidoptera: Crambidae, Crambinae) new to Russia. *Izvestiya of Saratov University. Chemistry. Biology. Ecology*, 2022, vol. 22, iss. 4, pp. 405–408 (in Russian). <https://doi.org/10.18500/1816-9775-2022-22-4-405-408>, EDN: LNAZOM

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

Научная статья
УДК 595.782

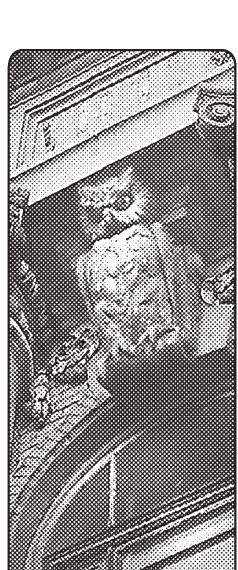
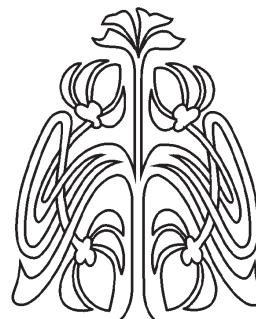
***Neocrambus wolfschlaegeri* (Schawerda, 1937) – новый вид огневки
(Lepidoptera: Crambidae, Crambinae) для фауны России**

T. A. Трофимова^{1,2}✉, Д. Ф. Шовкун^{2,3}

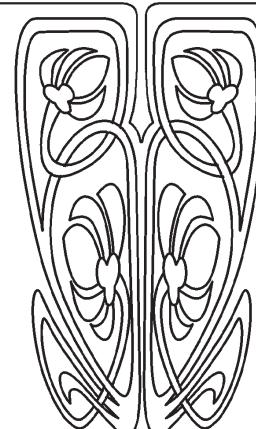
¹Самарский национальный исследовательский университет имени академика С. П. Королева, Лаборатория систематики животных и фаунистики, Россия, 443086, г. Самара, Московское шоссе, д. 34

²Исследовательская лаборатория природоохранной биологии «Экотон», Россия, 443035, г. Самара, ул. Кирова д. 130, оф. 1

³Факультет естественных наук, Южночешский университет, Банишовска 31, Ческе Будеёвице 2, 370 05, Чешская Республика



**НАУЧНЫЙ
ОТДЕЛ**





Трофимова Татьяна Александровна, кандидат биологических наук, мастер 1-й категории, apamea@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0003-4998-3266>

Шовкун Дмитрий Федорович, 1аспирант, 2научный сотрудник, shovkoon@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0001-7175-3489>

Аннотация. В ходе инвентаризационных фаунистических исследований огневка-травянка *Neocrambus wolfschlaegeri* (Schawerda, 1937) собрана на территориях Оренбургской области в предгорьях Южного Урала и в Саратовской области (Вольский р-н). Вид впервые регистрируется для фауны России. В статье обсуждаются особенности распространения *N. wolfschlaegeri* и особенности диагностических признаков. Изображения имаго экземпляров из России и генитальных структур обоих полов представлены в статье.

Ключевые слова: Lepidoptera, Crambinae, мотыльки, фауна, Волга-Уральский регион, Россия

Благодарности. Авторы признательны профессору, доктору биологических наук Василию Викторовичу Аникину (Саратовский государственный университет имени Н. Г. Чернышевского, Россия) за предоставленный материал для исследования. Мы выражаем благодарность куратору Зоологической государственной коллекции Мюнхена доктору Андреасу Сегереру (Мюнхен, Германия) за помощь в работе с коллекцией бабочек-огневок.

Для цитирования: Trofimova T. A., Shovkoon D. F. *Neocrambus wolfschlaegeri* (Schawerda, 1937) (Lepidoptera: Crambidae, Crambinae) new to Russia [Трофимова Т. А., Шовкун Д. Ф. *Neocrambus wolfschlaegeri* (Schawerda, 1937) – новый вид огневки (Lepidoptera: Crambidae, Crambinae) для фауны России] // Известия Саратовского университета. Новая серия. Серия: Химия. Биология. Экология. 2022. Т. 22, вып. 4. С. 405–408. <https://doi.org/10.18500/1816-9775-2022-22-4-405-408>, EDN: LNAZOM

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

Introduction

The subfamily Crambinae Latreille, 1810 represents a group of uniform small moths distributed worldwide in wet meadows to dry open landscapes, feeding on Poales and Bryophita. Currently, the Crambinae include 2066 valid species, of which about 490 species occur in Europe [1, 2]. Recently, the fauna of the Russian Crambinae was estimated at 28 genera and 156 species [3], of which 67 occur in the Volga-Ural region [4].

During a field study in the western foothills of the South Urals (Russia, Orenburg) in early to mid-June 2020, 8 specimens of crambid moths were collected with artificial lights and identified as a little-known species *Neocrambus wolfschlaegeri* (Schawerda, 1937) common in montane regions. We were also able to examine a male and a female of the same species collected from Saratov district. We have examined in detail the descriptions and pictures of the holotype published by Bleszynski [5, 6] and Slamka [7], as well as the genital structures of specimens from the type locality in Macedonia, which confirm this determination. The previous records of *N. wolfschlaegeri* were from the mountainous regions of the Balkan Peninsula (Macedonia, Greece) and the Armenian highlands (Kurdistan and Armenia) [8]. Therefore, it was surprising to find this species in the dry steppe from the Volga-Ural Region and, so far from the known range outside. The present record is the easternmost known and the new for Russia. Despite the careful study of the morphological characters of these specimens and our diagnosis as *N. wolfschlaegeri*, some peculiarities of genital morphology in both sexes should be noted, which were probably overlooked in the earlier publications [5–7] and are discussed below.

All specimens examined were identified as *N. wolfschlaegeri* by comparison with the specimens from the type locality preserved in the ZSM.

Photographs of adults and their genitalia from Orenburg district are provided. The genitalia of the specimens were examined after dissection using standard techniques [9] and then stained with eosin and mounted on glass slides with euparal. Adults were photographed using Canon EOS 5D camera with a macro lens. Genitalia were photographed with a Bresser MikroCam 10.0MP camera. Processing of genitalia images for publication was done using Adobe Photoshop Express (a free application for Android). The methods used to identify the genital structure and external features follow Falkovitsh & Stekolnikov [10]. The material is deposited in the collection of Samara National Research University (Russia).

***Neocrambus wolfschlaegeri* (Schawerda, 1937) (Figure).**

Crambus wolfschlaegeri Schawerda, 1937: 55. Type locality: Ochrida (Petrina 1600 m) Mazedonien, [Macedonia, Ohrid]

Material examined

Russia: Orenburg Province: 2 ♂♂, 2 ♀♀, Sol-Iletsk area, near Pervomayskoe vil., 50°54'N, 55°00'E, h = 120m, dry steppe, 2.vi.2020 (Shovkoon); 3 ♂ Akbulak area, Akoba vill., 50°54'N, 55°46'E, dry steppe, 4–5.vi.2020 (Shovkoon); 1 ♂, Perevolotsk area, near Chesnokovka vil., 51°41'N, 54°01'E h = 150m chalk steppe, 13–14.vi.2020, (Shovkoon); Saratov Province: 1 ♂, 1 ♀, Volsky area, 9km NE Vostochny Buerak, h = 60m, N 52°09' E 47°49', 9–10.06.2020 (Anikin) (all collection of Samara National Research University). **Macedonia:** 1 ♂, Mazedonien [Macedonia], Ochrida [Ohrid] Umg, 15–26, Juli [19]34,

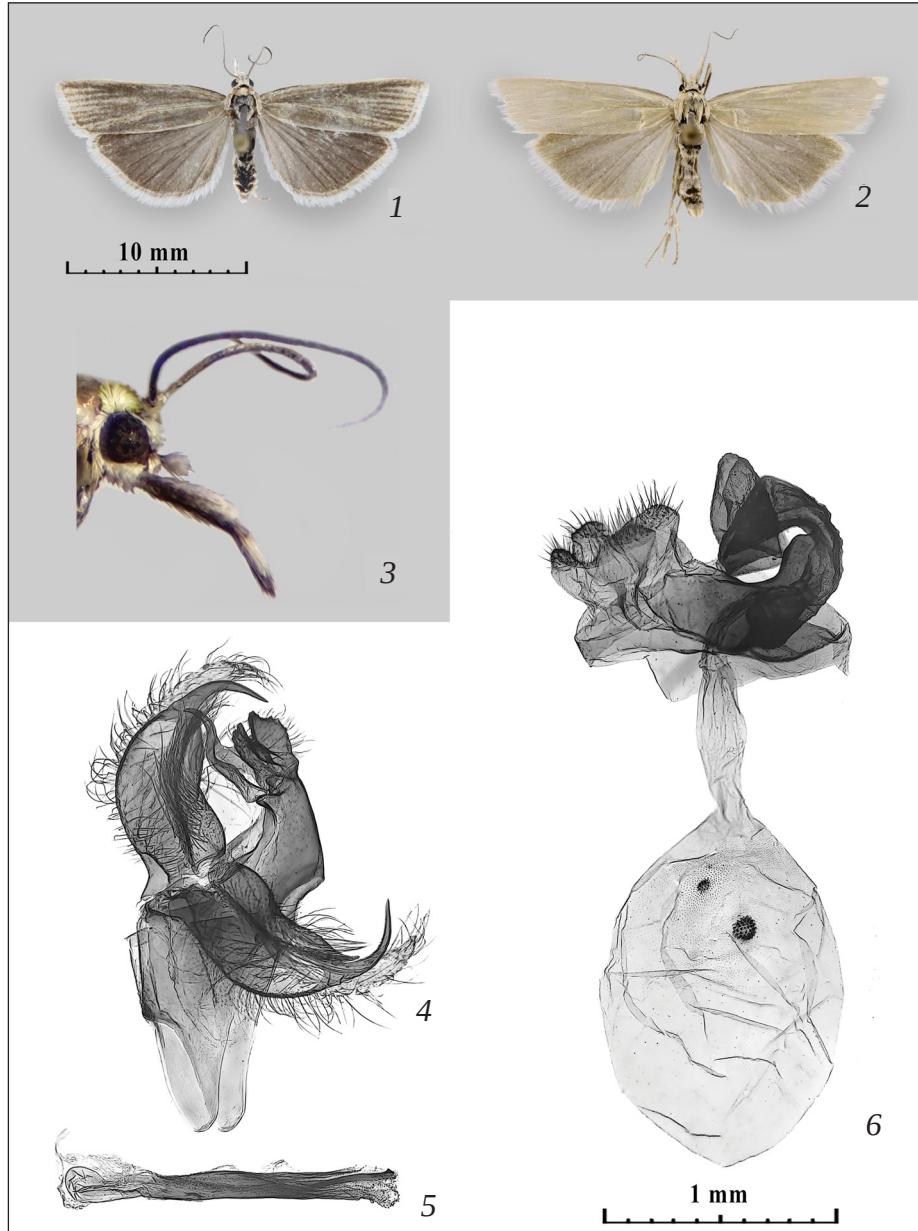


Figure. *Neocrambus wolfschlaegeri* (Schawerda, 1937): 1–2 – voucher specimens from Orenburg Region, Russia, D. Shovkoon leg.: 1 – male, 2 – female; 3 – head of adult and labial palp with maxillary palp; 4 – male, genitalia preparation T. Trofimova 4444; 5 – aedeagus, 6 – female, genitalia preparation T. Trofimova 4445

leg. Thurner; 2 ♂♂, 1 ♀, Macedonia, Asandzura, 20–23.6.1939 leg. Thurner; 1 ♂, Macedonia, Petrina plan, 1600m, 9.7.1954, leg. Thurner. **Graecia:** 1 ♂, Graecia, Olimp.geb. Litochoron [Litochoro] 300 m, 10–23.6.1957, leg. Thurner (all collection of Zoologische Staatssammlung München).

Discussion

N. wolfschlaegeri was originally described by Schawerda [11] in the genus *Crambus* Fabricius, 1798, based on a single male and two females col-

lected in late June in the mountains of northern Macedonia by R. Wolfschlaeger. Bleszynski [5] established a new monotypic genus *Neocrambus* to place a single species *C. wolfschlaegeri* based on the presence of the unique modified valvar complex in the male genital structure with ventral broad, strongly sclerotized lobe terminating in a hooked process that extends strongly beyond the uncus, and a second common costal lobe that is well sclerotized and gradually narrows to a sharp and relatively smaller process that is detached at the end (Figure, 4). The adults of



N. wolfschlaegeri and its male genitalia were illustrated by Bleszynski on plate 34 (Figure, 6) and plate 68 (Figure, 7) [5]. However, in this picture as well as in the picture in the monograph “Crambinae” of “Microlepidoptera Palaearctica” series by Bleszynski on plate 66 fig. 239 [6] the distal membranous and triangular lobe of the valva was not shown, which is clearly visible in the male genitalia of *N. wolfschlaegeri* specimens from the southern Urals (Figure, 4). In the illustration of the female genitalia of *N. wolfschlaegeri* in place cited above [6] on plate 117 fig. 239 the second smaller thorned plate in the upper third of the corpus bursae is not shown (Figure, 6). Externally, specimens of *N. wolfschlaegeri* from the Volga-Ural Region (Figure, 1–3) show distinct geographic differences in forewing colour of adult. Specimens from Macedonia with orange-yellow ground colour without any markings on forewings of males and females [7]. In specimens of females from Volga-Ural Region (Figure, 1, 2), the pale yellow forewings compared to a greyish ground colour with longitudinal pale yellow streaks on the veins of the male forewings. The latter are hardly distinguishable from sympatric dark small specimens of *Crambus perlellus* (Scopoli, 1763) with similar forewing pattern and a study of genital structure should be necessary for a clear separation. Thus, the examined specimens of *N. wolfschlaegeri* from the Volga-Ural Region appear to form an isolated population and differ externally in the pattern of the forewings, but have detailed similarity in the diagnostic peculiarities of the male genitalia in the structures of the valve, uncus, aedeagus, and the unique shape of the antrum in the female genitalia (Figure, 5, 6) are characteristic of *N. wolfschlaegeri*. The intraspecific differences among local populations of *N. wolfschlaegeri* should be further resolved by analysis of genetic markers.

References

1. Léger T., Mally R., Neinhuis C., Nuss M. Refining the phylogeny of Crambidae with complete sampling of subfamilies (Lepidoptera, Pyraloidea). *Zool. Scr.*, 2020, vol. 50, pp. 84–99. <https://doi.org/10.1111/zsc.12452>
2. Garre M. J., Girdley J., Guerrero J. J., Rubio R. M., Ortiz A. S. An annotated checklist of the Crambidae of the region of Murcia (Spain) with new records, distribution and biological data (Lepidoptera: Pyraloidea, Crambidae). *Biodivers. Data J.*, 2021, Aug 3. <https://doi.org/10.3897/BDJ.9.e69388>.
3. Sinev S. Yu., Streltsov A. N. Crambidae. In: S. Yu. Sinev, ed. *Catalogue of the Lepidoptera of Russia*. 2 ed. St. Petersburg, Zoological Institute RAS Publ., 2019, pp. 178–196 (in Russian).
4. Anikin V. V., Sachkov S. A., Zolotuhin V. V. “Fauna lepidopterologica Volgo-Uralensis”: From P. Pallas to present day. 2017. Munich, Vilnius, Museum Witt, Nature Research Center, 2017. 694 p. (in Russian).
5. Bleszynski S. Studies on the Crambidae (Lepidoptera). Part XIV. Revision of the European species of the generic group *Crambus* F. s. l. *Acta Zoologica Cracoviensis*, 1957, vol. 1, pp. 161–622, pls 27–92.
6. Bleszynski S. Crambinae. In: H. G. Amsel, F. Gregor & H. Reisser, eds. *Microlepidoptera Palaearctica*, 1 (1), 1 + 553 p., (2): 133 pls. Georg Fromme & Co., Wien, 1965 (in German).
7. Slamka F. *Pyraloidea (Lepidoptera) of Europe 2. Crambinae & Schoenobiinae*. Bratislava, Slamka press, 2008. 223 p.
8. Marjanyan M., Harutyunova L., Hovhannisyan V., Mirumyan L., Harutyunyan R., Magomedova M. Z., Yolchyan A. S. Ecosystems of the fauna of invertebrate animals of floodplain of Marmaric river (Armenia). *Proceedings of the International conference “Biological diversity and conservation problem of the fauna-3”*. September, 27–29, 2017. Yerevan, Armenia, 2017, pp. 170–173 (in Russian).
9. Robinson G. S. The preparation of slides of Lepidoptera genitalia with special reference to the Microlepidoptera. *Entomologist’s Gazette*, 1976, no. 27, pp. 127–132.
10. Falkovitsh M. I., Stekolnikov A. A. Introduction. In: Medvedev G. S., ed. *Keys to the Insect Fauna of the European Part of USSR*. 4 (1). Leningrad, Nauka, Leningradskoje otdelenie Publ., 1978, pp. 5–39 (in Russian).
11. Schawerda K. Zwei neue Microheteroceren aus Mazedonien. *Zeitschrift des Österreichischen Entomologen-Vereines*. Vienna, 1937, no. 22, pp. 55–56 (in German).

Поступила в редакцию 03.02.22; одобрена после рецензирования 02.03.22; принята к публикации 03.03.22
The article was submitted 03.02.22; approved after reviewing 02.03.22; accepted for publication 03.03.22



Известия Саратовского университета. Новая серия. Серия: Химия. Биология. Экология. 2022. Т. 22, вып. 4. С. 409–418

Izvestiya of Saratov University. Chemistry. Biology. Ecology, 2022, vol. 22, iss. 4, pp. 409–418

<https://ichbe.sgu.ru>

<https://doi.org/10.18500/1816-9775-2022-22-4-409-418>, EDN: ORDMDO

Научная статья
УДК 579.6:574.24

Изучение марганецокисляющих микроорганизмов, выделенных из микробоценозов высокомагнитных почв



Е. В. Плешакова¹✉, М. А. Касаткина¹, К. Т. Нгун², М. В. Решетников¹

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

²Национальный исследовательский университет ИТМО, Россия, 191002, г. Санкт-Петербург, ул. Ломоносова, д. 9

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

Касаткина Милена Александровна, студент кафедры биохимии и биофизики, milena.kasatkina22@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0003-3057-1341>

Нгун Клемент Такон, кандидат биологических наук, доцент факультета биотехнологии, clementngun@yahoo.com, <https://orcid.org/0000-0002-8969-1041>

Решетников Михаил Владимирович, кандидат географических наук, старший научный сотрудник отделения геологии НИИ ЕН, rmv85@list.ru, <https://orcid.org/0000-0001-8298-029X>

Аннотация. Изучение микроорганизмов, способных удалять из водной среды такие опасные загрязнители, как тяжёлые металлы, имеет большое значение с точки зрения возможного использования микроорганизмов в биотехнологиях очистки воды. Были проведены скрининговые исследования среди микроорганизмов, выделенных из микробоценозов высокомагнитных почв г. Медногорска (Оренбургская область, Россия), для оценки уровня их устойчивости к ионам марганца (II). Объектами исследований являлись девять штаммов марганецокисляющих микроорганизмов и два штамма железоокисляющих микроорганизмов: *Bacillus megaterium* 69.3 и *B. megaterium* 69.5. Установлено, что для большинства из исследованных микроорганизмов характерна повышенная устойчивость к ионам марганца (II) при росте на агаризованной среде. Максимальная устойчивость к Mn (II) обнаружена у микробных штаммов: 55.2 и *B. megaterium* 69.5. Максимально толерантная концентрация (МТК) Mn (II) для этих микроорганизмов составила 300 и 350 мкмоль/л; минимальная ингибирующая концентрация (МИК) – 350 и 450 мкмоль/л соответственно. При изучении роста двух микробных штаммов: 55.2 и *B. megaterium* 69.5 в жидких средах в течение 5 сут определено, что устойчивость микроорганизмов к Mn (II) при культивировании их в селективной среде выше, чем при культивировании их в питательной LB-среде. Результаты показали высокую резистентность микроорганизмов к диапазону концентраций Mn (II): от 0,5 до 250 мкмоль/л в жидкой среде. Максимальный рост исследованных микробных штаммов наблюдался при концентрации Mn (II) в среде культивирования 10 мкмоль/л. Выявленные нами микробные штаммы с высокой устойчивостью к Mn (II) открывают перспективу практического использования данных микроорганизмов в биотехнологиях очистки питьевых и сточных вод от повышенного содержания марганца.

Ключевые слова: ионы марганца (II), марганецокисляющие микроорганизмы, устойчивость, максимальная толерантная концентрация, минимальная ингибирующая концентрация

Для цитирования: Плешакова Е. В., Касаткина М. А., Нгун К. Т., Решетников М. В. Изучение марганецокисляющих микроорганизмов, выделенных из микробоценозов высокомагнитных почв // Известия Саратовского университета. Новая серия. Серия: Химия. Биология. Экология. 2022. Т. 22, вып. 4. С. 409–418. <https://doi.org/10.18500/1816-9775-2022-22-4-409-418>, EDN: ORDMDO

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

Article

A study of manganese-oxidizing microorganisms isolated from microbiocenoses of highly magnetic soils

Е. В. Плешакова¹✉, М. А. Касаткина¹, С. Т. Нгун², М. В. Решетников¹

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

²ITMO University, 9 Lomonosova St., room 2426, St. Petersburg 191002, Russia

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

Milena A. Kasatkina, milena.kasatkina22@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0003-3057-1341>

Clement T. Ngun, clementngun@yahoo.com, <https://orcid.org/0000-0002-8969-1041>

Mikhail V. Reshetnikov, rmv85@list.ru, <https://orcid.org/0000-0001-8298-029X>



Abstract. From the stand point of the possible use of microorganisms in water purification biotechnologies, studying microorganisms capable of removing dangerous pollutants such as heavy metals from the aquatic environment is of great importance. Microbial screening was conducted on isolates from microbiocenoses of highly magnetic soils of the city Mednogorsk (Orenburg region, Russia), to assess their resistance to manganese (II) ions. The objects of this research were nine strains of manganese-oxidizing microorganisms and two strains of iron-oxidizing microorganisms: *Bacillus megaterium* 69.3 and *B. megaterium* 69.5. It was observed that, most of the studied microorganisms were characterized by increased resistance to manganese (II) ions when grown on an agar medium. Maximum resistance to Mn (II) was observed in microbial strains: 55.2 and *B. megaterium* 69.5. The maximum tolerant concentration (MTC) of Mn (II) for these microorganisms was 300 and 350 mmol/L; the minimum inhibitory concentration (MIC) was 350 and 450 mmol/L, respectively. When studying the growth of the two microbial strains: 55.2 and *B. megaterium* 69.5 in liquid media for 5 days. It was discovered that, when cultured in a selective medium, microbial resistance of the strains to Mn (II) was higher compared to when cultured in a nutrient LB medium. The results showed high resistance of microorganisms to a range of Mn (II) concentrations: from 0,5 to 250 mmol/L in a liquid medium. Maximum growth of the studied microbial strains was observed at Mn (II) concentration of 10 mmol/L. These microbial strains with high resistance to Mn (II) open up the prospect of their practical use for biotechnological purposes involving the purification of drinking and wastewater from high manganese content.

Keywords: manganese (II) ions, manganese-oxidizing microorganisms, resistance, maximum tolerant concentration, minimum inhibitory concentration

For citation: Pleshakova E. V., Kasatkina M. A., Ngun C. T., Reshetnikov M. V. A study of manganese-oxidizing microorganisms isolated from microbiocenoses of highly magnetic soils. *Izvestiya of Saratov University. Chemistry. Biology. Ecology*, 2022, vol. 22, iss. 4, pp. 409–418 (in Russian). <https://doi.org/10.18500/1816-9775-2022-22-4-409-418>, EDN: ORDMDO

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

Введение

Марганец – элемент, играющий значительную роль в биологическом круговороте вещества и энергии, поэтому любые отклонения в содержании данного элемента в тех или иных составляющих биосфера приводят к значительным изменениям состояния окружающей среды, что, в свою очередь, оказывает влияние и на состояние здоровья человека. Это обусловлено тем, что тяжёлые металлы (ТМ) обладают свойствами: персистентностью, общетоксичностью, способностью к геоаккумуляции и биоаккумуляции, биомагнификации, канцерогенному и мутагенному воздействию на все системы органов человека [1, 2].

Многие водные объекты различных урбекосистем постоянно подвергаются сильной техногенной нагрузке, в них нередко наблюдается превышение ПДК тяжёлых металлов, в том числе марганца [3–5]. Марганец входит в перечень приоритетных поллютантов, поступающих в организм человека с питьевой водой [6]. Известно, что при экзогенном поступлении марганца в организм человека при его избытке в питьевой воде проявляется общерезорбтивное и специфическое повреждающее действие марганца на ЦНС, желудочно-кишечный тракт, почки, иммунную, кровянную и костную систему, снижается активность антиоксидантной системы и обменных процессов [7].

В условиях антропогенеза предъявляются повышенные требования к качеству воды и содержанию в ней допустимых концентраций ТМ, что требует модернизации уже существующих или поиска новых экологически безопасных и экономически выгодных способов очистки.

Необходимо отметить, что большая часть солей ТМ хорошо растворима в воде, из этого следует, что их удаление с помощью физико-химических методов является не выгодным, когда речь идет о невысоких концентрациях металла в среде [8, 9]. ТМ в растворимой форме не задерживаются большинством песчаных фильтров, которые установлены на очистных сооружениях. Хорошей альтернативой физико-химическим способам очистки воды от ТМ являются более доступные и инновационные биологические методы, например, биосорбция и биоаккумуляция [10–13].

Способность окислять двухвалентные соединения марганца, а также и другие металлы, и осаждать оксиды элементов на поверхности собственной клетки характерно для многих микроорганизмов родов *Burkholderia*, *Pseudomonas*, *Bacillus*, а также актинобактерий [14–18]. Установлено, что главный путь бактериального окисления Mn (II) – энзиматический, с использованием меди-зависимых оксидаз, которые были обнаружены у пресноводных грамотрицательных бактерий *Leptothrix discophora*, *Pseudomonas putida* и морской грамположительной бактерии *Bacillus* sp. SG-1 [19]. Микробное преобразование растворимого Mn (II) в нерастворимую форму Mn (IV) происходит при скоростях, которые на несколько порядков выше абиотического окисления марганца в природных водах [15, 17, 20]. Поэтому биологический потенциал марганецокисляющих микроорганизмов целесообразно использовать для снижения избыточного содержания данного элемента в водных экосистемах, в очищаемых сточных водах и в питьевой воде [21].



Цель настоящей работы состояла в оценке уровня устойчивости микроорганизмов, выделенных из микрообоценозов высокомагнитных почв, к марганцу (II) для выявления микробных штаммов с максимальной устойчивостью и ростом в присутствии повышенных концентраций металла.

Материалы и методы

В качестве объекта исследования использовались марганецокисляющие микроорганизмы (9 штаммов) и два штамма железоокисляющих микроорганизмов (*Bacillus megaterium* 69.3 и *B. megaterium* 69.5), выделенные нами ранее из почвенных микрообоценозов г. Медногорска (Оренбургская область, Россия) [22, 23]. В городе Медногорске, расположенном в зоне разнотравно-типчаково-ковыльных степей, сложилась сложная экологическая ситуация, обусловленная загрязнением выбросами промышленных предприятий, главным образом, ООО «Медногорским медно-серным комбинатом». Приоритетные загрязнители – медь, железо, марганец, соединения серы. Почвы – чернозёмы типичные и чернозёмы обыкновенные с нейтральной реакцией среды. По результатам проведённых нами анализов определения магнитных, механических, физико-химических свойств почв и степени антропогенной трансформации почвенного покрова мы охарактеризовали почвы, которые отличались максимально высокими значениями магнитной восприимчивости и максимальной степенью антропогенной нагрузки, как урбанозёмы. Из микрообоценозов урбанозёмов на агаризованной селективной среде [24, 25] нами были изолированы марганецокисляющие и железоокисляющие микроорганизмы, которые хранились при 4 °C на столбиках 6 %-ной агаризованной селективной среды под стерильным вазелиновым маслом с регулярными пересевами. Два штамма железоокисляющих микроорганизмов *B. megaterium* 69.3 и *B. megaterium* 69.5 ранее [23] были идентифицированы нами, последовательности 16S рРНК данных штаммов приняты в GenBank NCBI под регистрационными номерами MK764545 и MK764687 соответственно.

Для определения максимальной толерантной концентрации (МТК) и минимальной ингибирующей концентрации (МИК) Mn (II) для исследуемых микроорганизмов (11 штаммов) оценивали их способность к росту на агаризованной LB-среде [26], содержащей Mn (II) в диапазоне концентраций: 0; 0,2; 0,5; 1,0; 1,5; 2,0; 2,5; 3,0; 4,0; 5,0; 7,5; 10,0; 15,0; 20,0; 25,0; 50,0; 100,0; 150,0; 200,0; 250 ммоль/л. Для двух штаммов

(55.2 и *B. megaterium* 69.5) концентрационный ряд был продолжен: 300,0; 350,0; 400,0; 450,0; 500,0.

При приготовлении селективной среды жидкую агаризованную LB-среду (в биологических пробирках по 20 мл) и раствор металла (использовали соль $MnSO_4 \times 5H_2O$) автоклавировали отдельно при 1 атм. После автоклавирования в каждую из пробирок с неостывшей LB-средой добавляли раствор металла в необходимой концентрации и разливали в стерильные чашки Петри. Затем по 5 мкл суспензии суточной культуры исследуемых микроорганизмов наносили точечно на поверхность агаризованной LB-среды в чашках Петри с различными концентрациями марганца. Чашки Петри концентрационного ряда с исследуемыми микроорганизмами в нескольких повторностях инкубировали в термостате при 28 °C. Ежедневно визуально оценивали рост микроорганизмов в течение 10 суток. МТК определяли как концентрацию металла в среде в той последней чашке Петри, где еще наблюдался рост микроорганизмов. МИК определяли как концентрацию металла в той первой чашке Петри, где рост микроорганизмов был меньше, чем в предыдущей [27–29].

У отобранных по результатам оценки МИК и МТК микробных штаммов (55.2 и *B. megaterium* 69.5) изучали динамику роста в жидких средах: питательной LB-среде и селективной среде для марганецокисляющих микроорганизмов [24, 25], содержащих возрастающие концентрации Mn (II): 0,5; 1,0; 2,0; 5,0; 10,0; 20,0; 50,0; 100,0; 150,0; 200,0; 250,0 ммоль/л. В качестве посевного материала использовали смыв суточной микробной культуры с агаризованной питательной среды стерильным физиологическим раствором. Оптическая плотность исходной посевной дозы, измеренной на фотоколориметре КФК-2 в кювете с длиной оптического пути 1,0 см, составляла 0,2 ед. при $\lambda = 440$ нм. В качестве абиотического контроля использовали жидкие среды для культивирования без микроорганизмов. Каждый вариант был изучен в 3 повторностях. Показатели роста определяли спектрофотометрически на спектрофотометре LEKI SS2107UV («MEDIORA OY», Финляндия) через 5 сут культивирования микроорганизмов при 28 °C.

Для всех полученных данных вычисляли средние значения, для сравнения которых использовали показатели стандартного отклонения и наименьшей существенной разницы. Статистическую обработку результатов проводили при $p < 0,05$ с помощью программного обеспечения Microsoft Excel 2010.



Результаты и их обсуждение

В ходе проведённых экспериментов мы определили устойчивость одиннадцати микробных штаммов к действию диапазона концентраций Mn (II) по способности исследуемых микроорганизмов к росту на агаризованной LB-среде, содержащей Mn (II). Результаты эксперимента продемонстрировали, что большинство из исследованных нами микроорганизмов отличались повышенной устойчивостью к марганцу (табл. 1).

На рис. 1 представлена визуальная оценка роста ряда исследуемых микроорганизмов на агаризованной LB-среде, содержащей Mn (II) в концентрациях от 7,5 до 25,0 ммоль/л.

Для оценки уровня индивидуальной металлоустойчивости микробных штаммов мы рассчитали МТК и МИК Mn (II) (табл. 2). Максимальной устойчивостью к Mn (II), как показали эксперименты, обладали микробные штаммы 55.2 и *B. megaterium* 69.5. МТК Mn (II) для этих микроорганизмов составила 300,0 и 350,0 ммоль/л; МИК – 350,0 и 450,0 ммоль/л соответственно.

Микробный штамм *B. megaterium* 69.5 был выделен нами из почвенного микробоценоза на селективной среде для железоокисляющих микроорганизмов [22].

Ранее нами было установлено, что МТК Fe (II) для *B. megaterium* 69.5 составила 1200 мг/л, МИК – 1800 мг/л, была продемонстрирована способность данного микробного штамма окислять железо в жидкой среде в чрезвычайно высокой концентрации [23]. Тот факт, что *B. megaterium* 69.5 проявил максимально высокую устойчивость к марганцу по сравнению с другими исследованными микроорганизмами, согласуется с литературными данными о наличии нередко встречающейся у бактерий перекрестной резистентности к ТМ [30, 31].

Итак, по результатам оценки МТК и МИК микробных штаммов мы отобрали для дальнейших исследований два штамма с максимальной резистентностью к марганцу: 55.2 и *B. megaterium* 69.5. Результаты изучения роста микробного штамма 55.2 в жидкой питательной LB-среде и в селективной среде, содержащей возрастающие концентрации Mn (II) от 0,5 до 25,0 ммоль/л, представлены на рис. 2. Как видно из данного рисунка, наиболее активный рост штамма 55.2 происходил в LB-среде при концентрации Mn (II) 5,0 ммоль/л, в селективной среде для марганецокисляющих микроорганизмов – 10,0 ммоль/л. Значение оптической плотности

Таблица 1 / Table 1

Оценка роста микроорганизмов на агаризованной среде в присутствии Mn (II)
Evaluation of the growth of microorganisms on an agar medium in the presence of Mn (II)

Штаммы / Isolate No	Концентрация Mn (II), ммоль/л / Concentration of Mn (II), mmol/L										
	0	0,2	0,5	1,0	1,5	2,0	2,5	3,0	4,0	5,0	7,5
55.2	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
55.7	±	±	±	±	±	±	–	–	–	–	–
55.8	+	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
55.5	±	±	±	+	+	+	–	–	–	–	–
55.1	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	–
13.1	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	–
13.4	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	–
13.2	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	–
13.3	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	–
69.3	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	–
69.5	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	–

Примечание. «–» – отсутствие роста; «±» – слабый рост; «+» – хороший рост.
Note. «–» – no growth; «±» – slight growth; «+» – good growth.

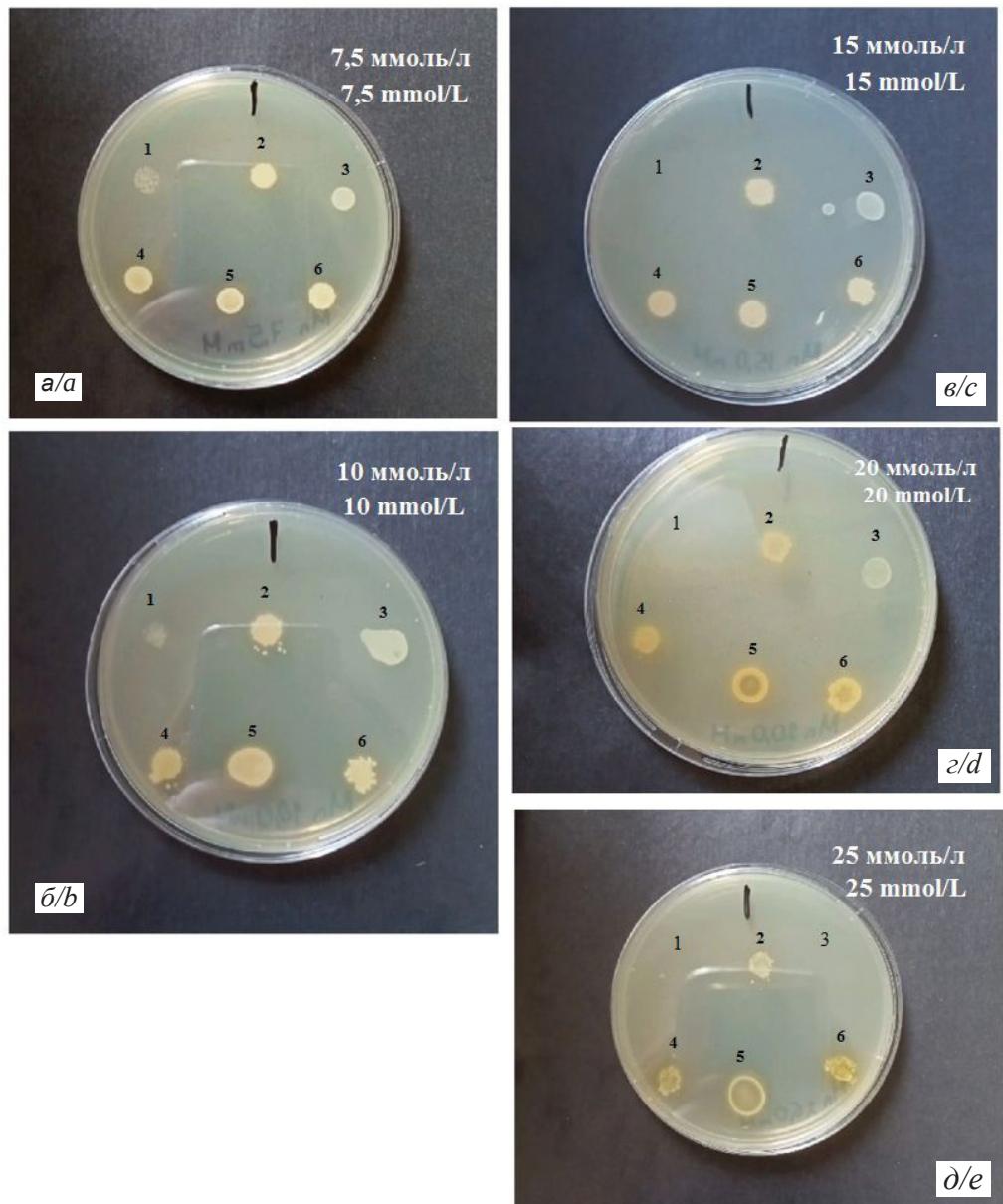


Рис. 1. Оценка роста микробных штаммов: *а* – 13.3; *б* – 13.2; *в* – 13.1; *г* – 55.1; *д* – 55.2; на агаризованной LB-среде, содержащей Mn (II) в различных концентрациях

Fig. 1. Assessment of the growth of microbial strains No: *a* – 13.3; *b* – 13.2; *c* – 13.1; *d* – 55.1; *e* – 55.2; on agar LB medium containing Mn (II) in various concentrations

Таблица 2 / Table 2

МТК и МИК исследованных микробных штаммов
MTC and MIC for the studied microbial strains

Показатель / Indicator	Микробные штаммы / Microbial strains										
	55.1	55.2	55.7	55.5	55.8	13.1	13.2	13.3	13.4	69.3	69.5
МТК, ммоль/л / MTC, mmol/L	150,0	300,0	3,0	1,5	0,2	20,0	200,0	15,0	200,0	200,0	350,0
МИК, ммоль/л / MIC, mmol/L	200,0	350,0	4,0	2,0	0,5	25,0	250,0	20,0	250,0	250,0	400,0

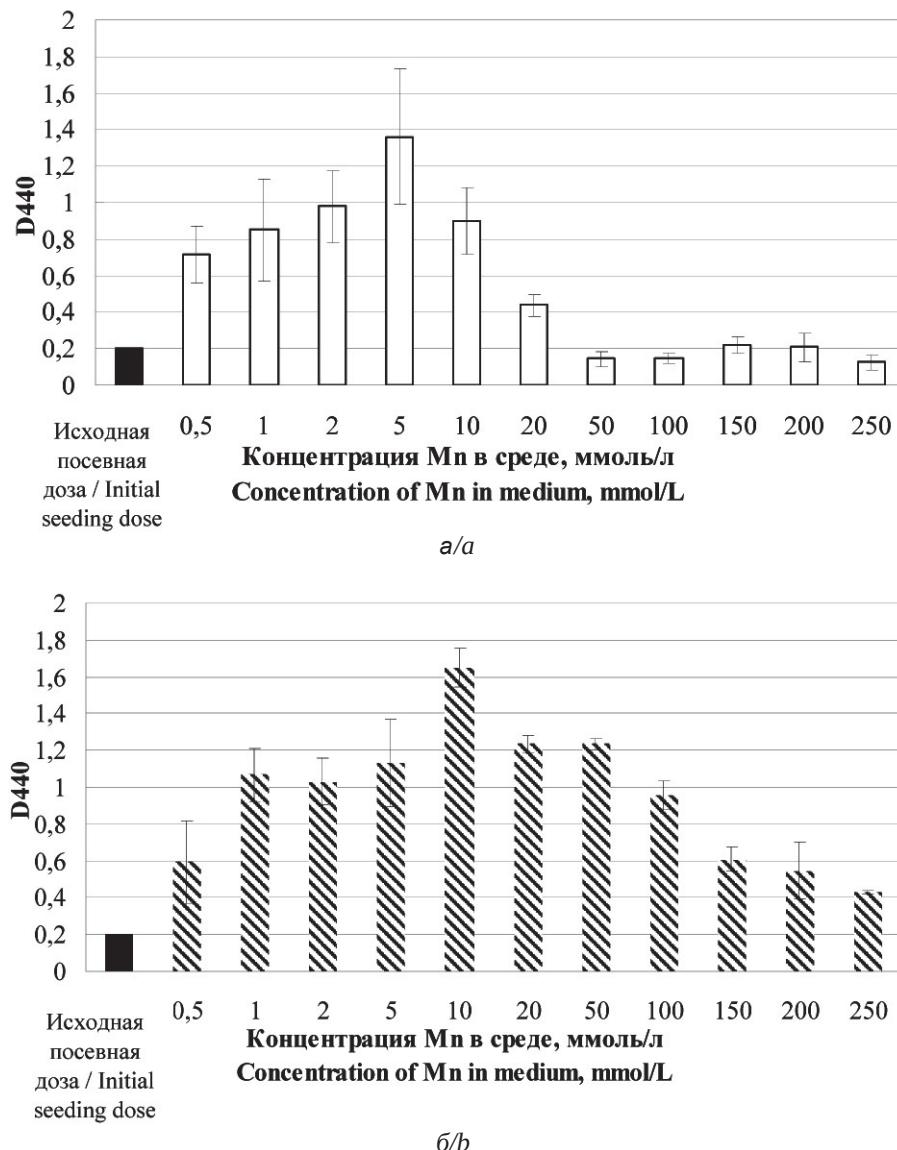


Рис. 2. Абсолютный прирост биомассы микробного штамма 55.2 при культивировании в жидкой среде с Mn (II): а – в LB-среде; б – в селективной среде [24, 25]

Fig. 2. Absolute biomass increase of microbial strain 55.2 when cultured in a liquid medium with Mn (II): a – in LB-medium; b – in selective medium [24, 25]

культуральной среды увеличилось в 6,8 и 8,2 раза соответственно (см. рис. 2, а и б). При культивировании штамма 55.2 в LB-среде, содержащей марганец в концентрации 50,0 ммоль/л и выше, развития микроорганизма не наблюдалось, значения оптической плотности культуральной среды соответствовали значениям исходной посевной дозы или были ниже. В то же время рост микробного штамма 55.2 в селективной среде, содержащей Mn (II) во всех изученных концентрациях (от 0,5 до 250,0 ммоль/л), превышал исходную оптическую плотность (в 2 раза и более), свидетельствуя об отсутствии лимитации роста микроорганизма под действием ионов марганца.

Наиболее активный рост *B. megaterium* 69,5 в LB-среде обнаруживался при концентрации Mn (II) 0,5 ммоль/л (рис. 3, а). Оптическая плотность культуральной среды увеличилась в этом варианте в 10,4 раза.

При культивировании данного штамма в LB-среде, содержащей марганец в возрастающей концентрации до 250,0 ммоль/л, наблюдалась тенденция к плавному снижению роста микроорганизма с увеличением концентрации Mn (II).

При концентрации марганца от 1,0 до 150,0 ммоль/л рост был существенным, в 1,8–7,8 раз превышая исходную оптическую плотность. При концентрации ионов марганца в среде

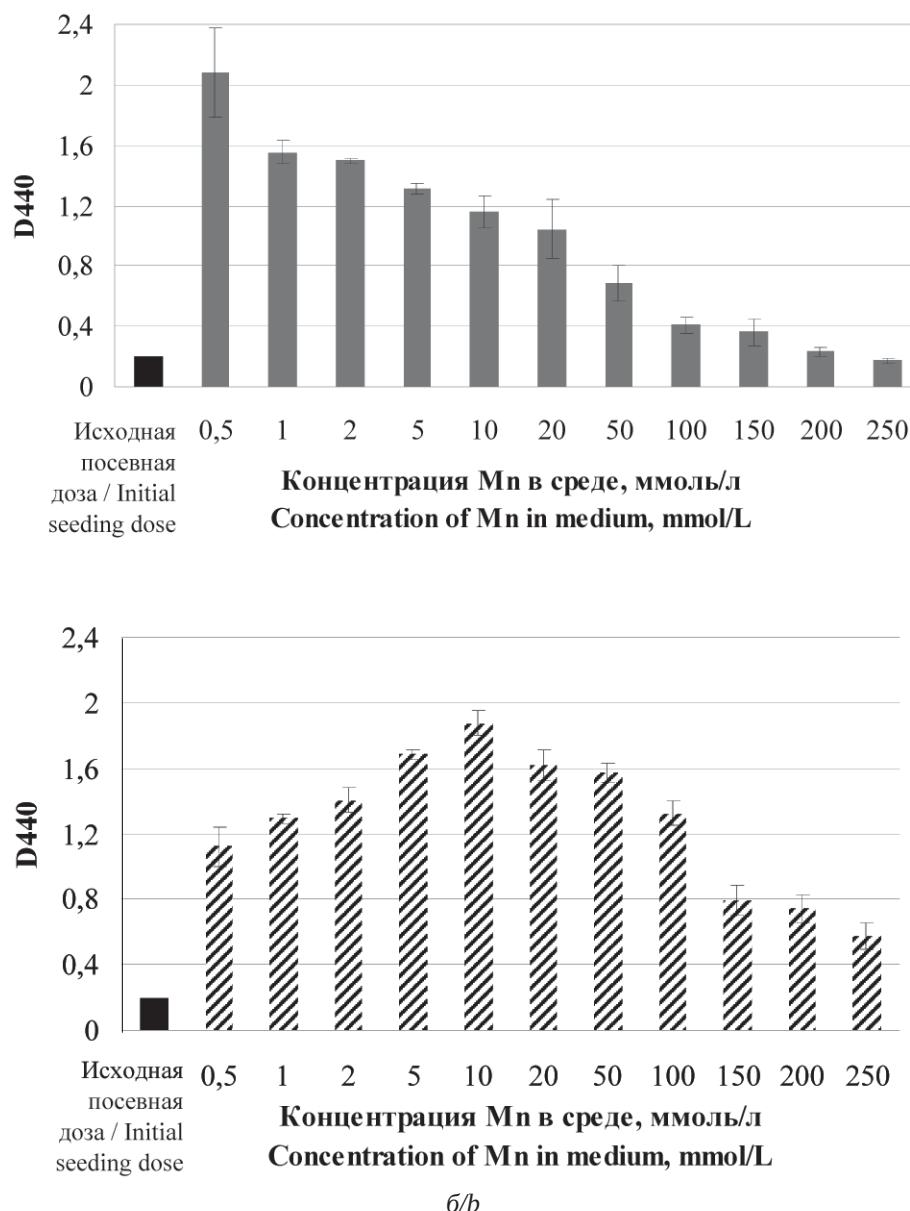


Рис. 3. Абсолютный прирост биомассы *B. megaterium* 69.5 при культивировании в жидкой среде с Mn (II): а – в LB-среде; б – в селективной среде [24, 25]

Fig. 3. Absolute biomass increase of *B. megaterium* 69.5 when cultured in a liquid medium with Mn (II): a – in LB-medium; b – in selective medium [24, 25]

200,0 и 250,0 ммоль/л развития микроорганизма не наблюдалось, значение оптической плотности культуральной среды было на уровне значения исходной посевной дозы и ниже, демонстрируя ингибирующее воздействие металла на изучаемый микроорганизм.

При культивировании *B. megaterium* 69.5 в селективной среде, как и при культивировании микробного штамма 55.2, активный рост микроорганизма наблюдался при всех изученных концентрациях Mn (II) (от 0,5 до 250,0 ммоль/л), превышая исходную оптическую плотность

в 2,9–9,4 раза, свидетельствуя об отсутствии угнетения роста микроорганизма вследствие действия ионов марганца (см. рис. 3, б). Аналогично результатам, полученным при изучении роста микробного штамма 55.2, максимальный рост *B. megaterium* 69.5 в селективной среде обнаруживался при концентрации Mn (II) 10,0 ммоль/л.

Итак, мы установили, что исследованные микроорганизмы: микробный штамм 55.2 и *B. megaterium* 69.5 проявляют устойчивость к более высоким концентрациям ионов марган-



ца (II) при культивировании в селективной среде по сравнению с выращиванием в полноценной питательной среде (LB-среде). При этом было установлено, что значения МИК Mn (II) для этих микробных штаммов в жидкой LB-среде значительно ниже, чем МИК, установленные на агаризованной LB-среде. В некоторых исследованиях были получены сходные результаты, которые исследователи связывают с механизмом устойчивости к ТМ, нередко пересекающимся с поддержанием гомеостаза у микроорганизмов [32].

Наблюдался сходный дозозависимый характер влияния ионов марганца на рост двух исследованных штаммов, культивируемых в жидкой селективной среде. В целом рост *B. megaterium* 69.5 в селективной среде с Mn (II) был более выраженным по сравнению с ростом микробного штамма 55.2.

Заключение

Итак, полученные нами результаты продемонстрировали, что 9 из 11 исследованных микробных штаммов, изолированных из мицрогоценозов высокомагнитных почв города Медногорска, приоритетными загрязнителями которого являются промывбросы с ТМ, проявили высокую устойчивость к ионам марганца (II). Такая устойчивость выделенных микроорганизмов к Mn (II) указывает на то, что подобные техногенно загрязнённые почвы могут являться природным резервуаром для направленного отбора микроорганизмов, перспективных для использования в биотехнологиях очистки воды от избыточного содержания марганца.

Сравнительный анализ уровня устойчивости к Mn (II) у исследованных микроорганизмов при их росте на плотной среде позволил выявить два бактериальных штамма (55.2 и *B. megaterium* 69.5) с максимальными значениями МТК и МИК. Результаты дальнейшего изучения роста двух отобранных микробных штаммов в жидкой среде подтвердили высокую резистентность микроорганизмов к диапазону концентраций Mn (II): от 0,5 до 250,0 мкмоль/л. Было установлено, что при концентрации марганца в среде культивирования 10 мкмоль/л наблюдается максимальный рост обоих штаммов.

Несомненно, высокоустойчивые к марганцу (II) микроорганизмы представляют научно-практический интерес, они могут послужить основой для технологии очистки природных и сточных вод от повышенного содержания ионов марганца.

Список литературы

1. Тунакова Ю. А., Галимова А. Р., Шмакова Ю. А. Качество питьевой воды доходящей до потребителя г. Казани при водоподготовке с флокулянтом поликарбилидом // Вестник Казанского технологического университета. 2012. № 19. С. 76–79.
2. Su C., Jiang Q. L., Zhang W. J. A review on heavy metal contamination in the soil worldwide: Situation, impact and remediation techniques // Environ. Skeptics and Critics. 2014. Vol. 3, № 2. P. 24–38.
3. Рябова Э. Г. Содержание тяжёлых металлов в городских водоёмах // Теоретическая и прикладная экология. 2019. № 1. С. 36–40. <https://doi.org/10.25750/1995-4301-2019-1-036-040>
4. Brown M. T., Foos B. P. Assessing children's exposures and risks to drinking water contaminants: A manganese case study // Human and Ecological Risk Assessment. 2009. Vol. 15, № 5. P. 923–947. <https://doi.org/10.1080/10807030903153030>
5. Redwan M., Elhaddad E. Assessment the seasonal variability and enrichment of toxic trace metals pollution in sediments of Damietta branch, Nile river, Egypt // Water. 2020. Vol. 12. P. 3359. <https://doi.org/10.3390/w12123359>
6. Stepanova N. V., Valeeva E. R., Ziyatdinova A. I., Formina S. F. Peculiarities of children's risk assessment on ingestion of chemicals with drinking water // Research Journal of Pharmaceutical, Biological and Chemical Sciences. 2016. Vol. 7, № 3. P. 1677.
7. Мазунина Д. Л. Негативные эффекты марганца при хроническом поступлении в организм с питьевой водой // Экология человека. 2015. № 3. С. 25–31.
8. Кузнецов А. Е., Градова Н. Б., Лушников С. В. Прикладная экбиотехнология : учебное пособие : в 2 т. Т. 1. М. : БИНОМ. Лаборатория знаний, 2010. 629 с.
9. Шаяхметова С. Г., Назаров В. Д., Шаяхметов Р. З., Яковлев В. В. Роль железобактерий при очистке воды от марганца Патраковского водозабора Краснокамского района РБ // Башкирский химический журнал. 2007. Т. 14, № 2. С. 126–130.
10. Домрачева Л. И., Скугорева С. Г., Ашихмина Т. Я., Огородникова С. Ю., Кондакова Л. В., Великоредчанина Е. О., Короткова А. В., Ковина А. Л. Использование отработанного активного ила для очистки сточных вод, загрязнённых тяжёлыми металлами // Теоретическая и прикладная экология. 2020. № 4. С. 176–184. <https://doi.org/10.25750/1995-4301-2020-4-176-184>
11. Dixit R., Wasiullah, Malaviya D., Pandiyan K., Singh U. B., Sahu A., Shukla R., Singh B. P., Rai J. P., Sharma P. K., Lade H., Paul D. Bioremediation of heavy metals from soil and aquatic environment: An overview of principles and criteria of fundamental processes // Sustainability. 2015. Vol. 7. P. 2189–2212. <https://doi.org/10.3390/su7022189>
12. Mosa K. A., Saadoun I., Kumar K., Dhankher O. P. Potential biotechnological strategies for the cleanup of heavy metals and metalloids // Front. Plant Sci. 2016. Vol. 7. P. 1–14. <https://doi.org/10.3389/fpls.2016.00303>
13. Wang J. L., Chen C. Biosorption of heavy metals by *Saccharomyces cerevisiae*: A review // Biotechnol. Adv. 2006. Vol. 24. P. 427–451. <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2006.03.001>



14. Cahyani V. R., Murase J., Ishibashi E., Asakawa S., Kimura M. Phylogenetic positions of Mn²⁺-oxidizing bacteria and fungi isolated from Mn nodules in rice field subsoils // Biol. Fertil. Soils. 2008. Vol. 45. P. 337–346. <https://doi.org/10.1007/s00374-008-0337-8>
15. De Schamphelaire L., Rabaey K., Boon N., Verstraete W., Boeckx P. Minireview: The potential of exchanged manganese redox cycling for sediment oxidation // Geomicrob. J. 2007. Vol. 24, № 7-8. P. 547–558. <https://doi.org/10.1080/01490450701670137>
16. Falamin A. A., Pinevich A. V. Isolation and characterization of a unicellular manganese-oxidizing bacterium from a freshwater lake in Northwestern Russia // Microbiology. 2006. Vol. 75. P. 180–185. <https://doi.org/10.1134/S0026261706020111>
17. Sujith P. P., Loka Bharathi P. A. Manganese oxidation by bacteria: Biogeochemical aspects // Molecular biomineratization. Progress in molecular and subcellular biology. Vol. 52 / ed. W. Müller. Berlin : Springer-Verlag, Heidelberg, Germany, 2011. P. 49–76.
18. Virpiranta H., Banasik M., Taskila S., Leiviskä T., Halttu M., Sotaniemi V., Tanskanen J. Isolation of efficient metal-binding bacteria from boreal peat soils and development of microbial biosorbents for improved nickel scavenging // Water. 2020. Vol. 12. P. 2000. <https://doi.org/10.3390/w12072000>
19. Brouwers G. J., Vijgenboom E., Corstjens P., De Vrind J. P. M., De Vrind- Jong E. W. Bacterial Mn²⁺ oxidizing systems and multicopper oxidases: an overview of mechanisms and functions // Geomicrob. J. 2000. Vol. 17. P. 1–24. <https://doi.org/10.1080/014904500270459>
20. Tebo B. M., Geszvain K., Lee S.-W. Chapter 13. The molecular geomicrobiology of bacterial manganese (II) oxidation // Geomicrobiology : Molecular and Environmental Perspective / eds. L. L. Burton, M. Mandl, A. Loy. New York : Springer, 2010. P. 285–308.
21. Шубаков А. А., Михайлова Е. А., Оводов Ю. С. Использование микроорганизмов для извлечения марганца из водных сред // Известия Коми научного центра УрО РАН. 2014. Вып. 1 (17). С. 16–18.
22. Плешакова Е. В., Решетников М. В., Неун К. Т., Шувалова Е. П. Микробиологическая и биохимическая индикация почв города Медногорска // Агрохимия. 2016. № 1. С. 66–73.
23. Pleshakova E. V., Ngun C. T., Reshetnikov M. V., Larijanov M. V. Evaluation of the ecological potential of microorganisms for purifying water with high iron content // Water. 2021. Vol. 13. P. 901. <https://doi.org/10.3390/w13070901>
24. Захарова Ю. Р., Парфенова В. В. Метод культивирования микроорганизмов, окисляющих железо и марганец в донных осадках оз. Байкал // Изв. РАН. Сер. Биол. 2007. № 3. С. 290–295.
25. Granina L. Z., Parfenova V. V., Zemskaya T. I., Zakharova Yu. R., Golobokova L. P. On iron and manganese oxidizing microorganisms in sedimentary redox cycling in lake Baikal // Berliner Palaobiol. Abhandlungen. 2003. Vol. 4. P. 121–128.
26. Sambrook J., Fritsch E. F., Maniatis T. Molecular cloning: A laboratory manual. 2nd ed. New York : Cold Spring Harbor Lab. Press, 1989. 1659 p.
27. Tennep E. Z., Шильникова В. К., Переверзева Г. И. Практикум по микробиологии. М. : Дрофа, 2004. 256 с.
28. Malik A., Ahmad M. Seasonal variation in bacterial flora of the wastewater and soil in the vicinity of industrial area // Environ. Monitor. Assess. 2002. Vol. 73. P. 263–273. <https://doi.org/10.1023/A:1013186218093>
29. Summers A. O., Silver S. Mercury resistance in a plasmid-bearing strain of *Escherichia coli* // J. Bacteriol. 1972. Vol. 112. P. 1228–1236. <https://doi.org/10.1128/JB.112.3.1228-1236.1972>
30. Безвербная И. П., Бузолева Л. С., Христофорова Н. А. Металлоустойчивые гетеротрофные бактерии в прибрежных акваториях Приморья // Биология моря. 2005. Т. 31, № 2. С. 89–93.
31. Choudhary S., Sar P. Characterization of a metal resistant *Pseudomonas* sp. isolated from uranium mine for its potential in heavy metal (Ni²⁺, Co²⁺, Cu²⁺, and Cd²⁺) sequestration // Bioresour. Technol. 2009. Vol. 100, № 9. P. 2482–2492. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2008.12.015>
32. Tayang A., Songachan L. S. Microbial bioremediation of heavy metals // Current Science. 2021. Vol. 120, № 6. P. 1013–1025. <https://doi.org/10.18520/cs/v120/i6/1013-1025>

References

1. Tunakova Iu. A., Galimova A. R., Shmakova Iu. A. The quality of drinking water reaching the consumer in Kazan during water treatment with polyacrylamide flocculant. *Vestnik Kazanskogo Tekhnologicheskogo Universiteta*, 2012, no. 19, pp. 76–79 (in Russian).
2. Su C., Jiang Q. L., Zhang W. J. A review on heavy metal contamination in the soil worldwide: Situation, impact and remediation techniques. *Environ. Skeptics and Critics*, 2014, vol. 3, no. 2, pp. 24–38.
3. Riabova E. G. The content of heavy metals in urban water bodies. *Theoretical and Applied Ecology*, 2019, no. 1, pp. 36–40 (in Russian). <https://doi.org/10.25750/1995-4301-2019-1-036-040>
4. Brown M. T., Foos B. P. Assessing children's exposures and risks to drinking water contaminants: A manganese case study. *Human and Ecological Risk Assessment*, 2009, vol. 15, no. 5, pp. 923–947. <https://doi.org/10.1080/10807030903153030>
5. Redwan M., Elhaddad E. Assessment the seasonal variability and enrichment of toxic trace metals pollution in sediments of Damietta branch, Nile river, Egypt. *Water*, 2020, vol. 12, pp. 3359. <https://doi.org/10.3390/w12123359>
6. Stepanova N. V., Valeeva E. R., Ziyatdinova A. I., Fominina S. F. Peculiarities of children's risk assessment on ingestion of chemicals with drinking water. *Research Journal of Pharmaceutical, Biological and Chemical Sciences*, 2016, vol. 7, no. 3, pp. 1677.
7. Mazunina D. L. Negative effects of manganese in chronic intake with drinking water. *Ekologiya cheloveka [Human Ecology]*, 2015, no. 3, pp. 25–31 (in Russian).
8. Kuznetsov A. E., Gradova N. B., Lushnikov S. V. *Prikladnaya ekobiotehnologiya: uchebnoe posobie: v 2 t. T. 1* [Applied Ecobiotechnology: Textbook: in 2 vols. Vol. 1]. Moscow, BINOM. Laboratoriia znanii Publ., 2010. 629 p. (in Russian).



9. Shaiakhmetova S. G., Nazarov V. D., Shaiakhmetov R. Z., Iakovlev V. V. The role of iron bacteria in the purification of water from manganese of the Patrakovskiy water intake of the Krasnokamskiy district of the Republic of Bashkortostan. *Bashkir Chemical Journal*, 2007, vol. 14, no. 2, pp. 126–130 (in Russian).
10. Domracheva L. I., Skugoreva S. G., Ashikhmina T. Ia., Ogorodnikova S. Ju., Kondakova L. V., Velikoredchaniya E. O., Korotkova A. V., Kovina A. L. The use of waste activated sludge for the treatment of wastewater contaminated with heavy metals. *Theoretical and Applied Ecology*, 2020, no. 4, pp. 176–184 (in Russian). <https://doi.org/10.25750/1995-4301-2020-4-176-184>
11. Dixit R., Wasiullah, Malaviya D., Pandiyan K., Singh U. B., Sahu A., Shukla R., Singh B. P., Rai J. P., Sharma P. K., Lade H., Paul D. Bioremediation of heavy metals from soil and aquatic environment: An overview of principles and criteria of fundamental processes. *Sustainability*, 2015, vol. 7, pp. 2189–2212. <https://doi.org/10.3390/su7022189>
12. Mosa K. A., Saadoun I., Kumar K., Dhankher O. P. Potential biotechnological strategies for the cleanup of heavy metals and metalloids. *Front. Plant Sci.*, 2016, vol. 7, pp. 1–14. <https://doi.org/10.3389/fpls.2016.00303>
13. Wang J. L., Chen C. Biosorption of heavy metals by *Saccharomyces cerevisiae*: A review. *Biotechnol. Adv.*, 2006, vol. 24, pp. 427–451. <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2006.03.001>
14. Cahyani V. R., Murase J., Ishibashi E., Asakawa S., Kimura M. Phylogenetic positions of Mn²⁺-oxidizing bacteria and fungi isolated from Mn nodules in rice field subsoils. *Biol. Fertil. Soils*, 2008, vol. 45, pp. 337–346. <https://doi.org/10.1007/s00374-008-0337-8>
15. De Schampheleire L., Rabaey K., Boon N., Verstraete W., Boeckx P. Minireview: The potential of exchanged manganese redox cycling for sediment oxidation. *Geomicrob. J.*, 2007, vol. 24, no. 7–8, pp. 547–558. <https://doi.org/10.1080/01490450701670137>
16. Falamin A. A., Pinevich A. V. Isolation and characterization of a unicellular manganese-oxidizing bacterium from a freshwater lake in Northwestern Russia. *Microbiology*, 2006, vol. 75, pp. 180–185. <https://doi.org/10.1134/S0026261706020111>
17. Sujith P. P., Loka Bharathi P. A. Manganese oxidation by bacteria: biogeochemical aspects. In: Müller W., ed. *Molecular Biominerization. Progress in Molecular and Subcellular Biology*, vol. 52. Berlin, Springer-Verlag, Heidelberg, Germany, 2011, pp. 49–76.
18. Virpiranta H., Banasik M., Taskila S., Leiviskä T., Halttu M., Sotaniemi V., Tanskanen J. Isolation of efficient metal-binding bacteria from boreal peat soils and development of microbial biosorbents for improved nickel scavenging. *Water*, 2020, vol. 12, pp. 2000. <https://doi.org/10.3390/w12072000>
19. Brouwers G. J., Vijgenboom E., Corstjens P., De Vrind J. P. M., De Vrind Jong E. W. Bacterial Mn²⁺ oxidizing systems and multicopper oxidases: An overview of mechanisms and functions. *Geomicrob. J.*, 2000, vol. 17, pp. 1–24. <https://doi.org/10.1080/014904500270459>
20. Tebo B. M., Geszvain K., Lee S.-W. Chapter 13. The molecular geomicrobiology of bacterial manganese (II) oxidation. In: Burton L. L., Mandl M., Loy A., eds. *Geomicrobiology: Molecular and Environmental Perspective*. New York, Springer, 2010, pp. 285–308.
21. Shubakov A. A., Mikhailova E. A., Ovodov Iu. S. Use of microorganisms to extract manganese from aqueous media. *Proceedings of the Komi Science Centre Ural Branch Russian Academy of Sciences*, 2014, iss. 1 (17), pp. 16–18 (in Russian).
22. Pleshakova E. V., Reshetnikov M. V., Ngun K. T., Shuvalova E. P. Microbiological and biochemical indication of soils in the city of Mednogorsk. *Agricultural Chemistry*, 2016, no. 1, pp. 66–73 (in Russian).
23. Pleshakova E. V., Ngun C. T., Reshetnikov M. V., Larionov M. V. Evaluation of the ecological potential of microorganisms for purifying water with high iron content. *Water*, 2021, vol. 13, pp. 901. <https://doi.org/10.3390/w13070901>
24. Zakharova Iu. R., Parfenova V. V. The method of cultivation of microorganisms that oxidize iron and manganese in the bottom sediments of the lake Baikal. *Izvestiya RAN. Ser. Biol.*, 2007, no. 3, pp. 290–295 (in Russian).
25. Granina L. Z., Parfenova V. V., Zemskaya T. I., Zakharova Yu. R., Golobokova L. P. On iron and manganese oxidizing microorganisms in sedimentary redox cycling in lake Baikal. *Berliner Palaobiol. Abhandlungen*, 2003, vol. 4, pp. 121–128.
26. Sambrook J., Fritsch E. F., Maniatis T. *Molecular cloning: A laboratory manual*. 2nd ed. New York, Cold Spring Harbor Lab. Press, 1989. 1659 p.
27. Tepper E. Z., Shil'nikova V. K., Pereverzeva G. I. *Praktikum po mikrobiologii* [Workshop on Microbiology]. Moscow, Drofa Publ., 2004. 256 p. (in Russian).
28. Malik A., Ahmad M. Seasonal variation in bacterial flora of the wastewater and soil in the vicinity of industrial area. *Environ. Monitor. Assess.*, 2002, vol. 73, pp. 263–273. <https://doi.org/10.1023/A:1013186218093>
29. Summers A. O., Silver S. Mercury resistance in a plasmid-bearing strain of *Escherichia coli*. *J. Bacteriol.*, 1972, vol. 112, pp. 1228–1236. <https://doi.org/10.1128/JB.112.3.1228-1236.1972>
30. Bezverbaia I. P., Buzoleva L. S., Khristoforova N. A. Metal-resistant heterotrophic bacteria in the coastal waters of Primorye. *Biologija morja*, 2005, vol. 31, no. 2, pp. 89–93 (in Russian).
31. Choudhary S., Sar P. Characterization of a metal resistant *Pseudomonas* sp. isolated from uranium mine for its potential in heavy metal (Ni²⁺, Co²⁺, Cu²⁺, and Cd²⁺) sequestration. *Bioresour. Technol.*, 2009, vol. 100, no. 9, pp. 2482–2492. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2008.12.015>
32. Tayang A., Songachan L. S. Microbial bioremediation of heavy metals. *Current Science*, 2021, vol. 120, no. 6, pp. 1013–1025. <https://doi.org/10.18520/cs/v120/i6/1013-1025>

Поступила в редакцию 14.03.2022; одобрена после рецензирования 29.03.2022; принятая к публикации 30.03.2022
The article was submitted 14.03.2022; approved after reviewing 29.03.2022; accepted for publication 30.03.2022

Известия Саратовского университета. Новая серия. Серия: Химия. Биология. Экология. 2022. Т. 22, вып. 4. С. 419–426

Izvestiya of Saratov University. Chemistry. Biology. Ecology, 2022, vol. 22, iss. 4, pp. 419–426

<https://ichbe.sgu.ru>

<https://doi.org/10.18500/1816-9775-2022-22-4-419-426>, EDN: PARRZ

Научная статья
УДК 581.192.1:635.92

Оценка содержания биологически активных веществ и химических элементов в листьях хост и ириса гибридного в зеленых насаждениях Новосибирской области



Л. Л. Седельникова¹✉, О. Л. Цандекова²

¹Центральный сибирский ботанический сад Сибирского отделения РАН, Россия, 630090, г. Новосибирск, ул. Золотодолинская, д. 101

²Федеральный исследовательский центр угля и углехимии Сибирского отделения РАН, Россия, 650065, г. Кемерово, Ленинградский просп., д. 10

Седельникова Людмила Леонидовна, доктор биологических наук, старший научный сотрудник, lusedelnikova@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0002-1122-2421>

Цандекова Оксана Леонидовна, кандидат сельскохозяйственных наук, научный сотрудник, zandekova@bk.ru, <https://orcid.org/0000-0002-9768-3084>

Аннотация. В статье впервые представлены сравнительные результаты содержания зольных веществ, серы, фенольных соединений (танинов), аскорбиновой кислоты в листьях растений *Iris hybrida*, *Hosta decorata*, *H. albomarginata*, *H. lancifolia*, культивируемых в условиях Центрального сибирского ботанического сада (ЦСБС, Академгородок) и применяемых в озеленении городской среды г. Бердска и пгт. Кольцово (Новосибирская область) в течение сезонного развития 2020 г. Выявленна специфика распределения серы, золы, танинов, аскорбиновой кислоты в листьях исследованных видов. Определено количественное содержание представленных групп веществ в листьях в период цветения объектов исследования. В условиях городской среды установлено увеличение содержания зольных веществ в листьях *I. hybrida* в 2,5–3,6 раза и *H. albomarginata*, *H. lancifolia*, *H. decorata* в 1,4–1,7 раза. Отмечена общая тенденция накопления листьями серы и золы у видов рода *Hosta*, с наибольшим значением у *H. albomarginata*, проявляющихся в зеленых насаждениях г. Бердска. В этих же условиях концентрация серы в листьях *I. hybrida* повышена в 1,3 раза по сравнению с *Hosta decorata*. Содержание аскорбиновой кислоты и танинов в листьях *H. albomarginata*, *H. lancifolia*, *H. decorata*, *I. hybrida* в 1,1–2,4 раза меньше в городской среде Бердска и Кольцово, чем у растений выращиваемых в условиях с благоприятной экологической ситуацией (ЦСБС). На основании оценки биохимических, морфометрических, ритмологических показателей исследованные виды можно расположить следующим образом в порядке убывания устойчивости в цветниках городской среды: *H. lancifolia* > *H. albomarginata* > *H. decorata* > *I. hybrida*.

Ключевые слова: *Iris hybrida*, *Hosta decorata*, *Hosta albomarginata*, *Hosta lancifolia*, лист, сера, зола, танины, аскорбиновая кислота, городская среда, Новосибирская область

Благодарности.¹Работа выполнена в рамках государственного задания Центрального сибирского ботанического сада СО РАН по проекту № AAAA-A21-121011290025-2 «Анализ биоразнообразия, сохранения и восстановления редких и ресурсных видов растений с использованием экспериментальных методов».

²Работа выполнена в рамках реализации государственного задания ФИЦ УУХ СО РАН (проект № 0286-2021-0010).

Для цитирования: Седельникова Л. Л., Цандекова О. Л. Оценка содержания биологически активных веществ и химических элементов в листьях хост и ириса гибридного в зеленых насаждениях Новосибирской области // Известия Саратовского университета. Новая серия. Серия: Химия. Биология. Экология. 2022. Т. 22, вып. 4. С. 419–426. <https://doi.org/10.18500/1816-9775-2022-22-4-419-426>, EDN: PARRZ

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

Article

Assessment of the content of biologically active substances and chemical elements in the leaves of *Hosta* and *Iris hybrida* in the landscaping of the Novosibirsk region

L. L. Sedelnikova¹✉, O. L. Tsandekova²

¹Central Siberian Botanical garden of the Siberian branch of the Russian Academy of Sciences, 101 Zolotodolinskay St., Novosibirsk 630090, Russia

²Federal Research Center for Coal and Coal Chemistry SB RAS, 10 Leningradsky Ave., Kemerovo 650065, Russia

Lyudmila L. Sedelnikova, lusedelnikova@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0002-1122-2421>

Oksana L. Tsandekova, zandekova@bk.ru, <https://orcid.org/0000-0002-9768-3084>

Abstract. The article for the first time presents the comparative results of the content of ash substances, sulfur, phenolic compounds (tannins), ascorbic acid in the leaves of plants *Iris hybrida*, *Hosta decorata*, *H. albomarginata*, *H. lancifolia*, cultivated in the Central Siberian Botanical Garden



(CSBS, Akademgorodok) and used in landscaping the urban environment of the Berdsk and Koltovo settlements (Novosibirsk region) during the seasonal development in 2020. The specificity of distribution of sulfur, ash, tannins, ascorbic acid in leaves of the studied species was revealed. The quantitative content of the presented groups of substances in the leaves during the flowering period of these objects of study has been determined. Under the conditions of urban environment, an increase in the content of ash substances in the leaves of *I. hybrida* by 2,5–3,6 times and *H. albomarginata*, *H. lancifolia*, and *H. decorata* by 1,4–1,7 times was found. The general tendency of the accumulation of sulfur and ash in leaves of the species of the genus *Hosta*, with the greatest value in *H. albomarginata* growing in green areas of Berdsk was noted. Under the same conditions, the concentration of sulfur in the leaves of *I. hybrida* increased 1,3 fold compared with *Hosta decorata*. The content of ascorbic acid and tannins in the leaves of *H. albomarginata*, *H. lancifolia*, *H. decorata*, *I. hybrida* is 1,1–2,4 times lower in the urban environment of Berdsk and Koltovo than in plants grown in conditions with a favorable environmental situation (CSBS). In terms of biochemical, habitual, and rhythmological evaluation of the indicators, the species present a comparative series in descending values: *H. lancifolia* > *H. albomarginata* > *H. decorata* > *I. hybrida*.

Keywords: *Iris hybrida*, *Hosta decorata*, *Hosta albomarginata*, *Hosta lancifolia*, leaf, sulfur, ash, tannins, ascorbic acid, urban environment, Novosibirsk region

Acknowledgements. ¹The work was carried out within the framework of the state task of the Central Siberian Botanical garden SB RAS under the project № AAAA-A21-121011290025-2 "Analysis of biodiversity, conservation and restoration of rare and resource plant species using experimental methods".

²The work was carried out as part of the implementation of the state task of the FITC UUH SB RAS (Project No. 0286-2021-0010).

For citation: Sedelnikova L. L., Tsandekova O. L. Assessment of the content of biologically active substances and chemical elements in the leaves of *Hosta* and *Iris hybrida* in the landscaping of the Novosibirsk region. *Izvestiya of Saratov University. Chemistry. Biology. Ecology*, 2022, vol. 22, iss. 4, pp. 419–426 (in Russian). <https://doi.org/10.18500/1816-9775-2022-22-4-419-426>, EDN: PARRZ

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

В озеленении городов и поселков Новосибирской области еще недостаточно используется видовой и сортовой состав многолетних цветочно-декоративных растений. Растения оказывают большое влияние на эстетическое, оздоровительное и психоэмоциональное состояние населения, являясь одновременно биоиндикаторами загрязнения городской среды. Неблагоприятная экологическая обстановка определена во многих регионах России, в том числе и Сибири [1]. Индустримальный город представляет собой центр периодического возникновения критических экологических ситуаций из-за промышленных выбросов, интенсивности движения автотранспорта, других факторов антропогенной нагрузки. В связи с этим в настоящее время возникает необходимость исследования устойчивости растений к техногенным и природным экологическим факторам. И. Ю. Усманов с соавт. [2] выделяют девять форм устойчивости, среди которых решающее значение в адаптационной перестройке растений в городской среде имеет оценка анатомических, физиологических, биохимических, габитуальных, феноритмических и др. изменений. В работах [3–8] освещена аккумулятивная роль зеленых насаждений, произрастающих в условиях антропогенного воздействия, токсических веществ. Особое внимание этим исследованиям уделяется за рубежом [9–18]. Известно, что вторичные метаболиты и химические элементы обладают многофункциональностью, оказывая влияние на рост и развитие, выполняют защитную роль, обеспечивая устойчивость

растений к различным факторам среды. Для озеленения городов Европейской России, Урала, Сибири рекомендуются представители рода *Iris* L. и *Hosta* Tratt. Однако оценка их состояния и устойчивости в урбанизированной среде не всегда определена. Сравнительное изучение декоративно лиственных растений в лесостепи Новосибирской области *ex situ* и городских условиях позволяет выявить адаптивные морфометрические и биохимические перестройки, связанные с жизнедеятельностью растений в неблагоприятных факторах среды, что является актуальным, обуславливает оригинальность, новизну и служит основанием для выполнения данной работы.

Цель работы состояла в сравнительной оценке содержания серы, золы, танинов, аскорбиновой кислоты в листьях растений *Iris hybrida*, *Hosta decorata*, *H. albomarginata*, *H. lancifolia* в условиях урбанизированной среды городов Бердска и Кольцово Новосибирской области.

Материалы и методы

Объектами изучения служили растения *Iris hybrida* hort. (сем. Iridaceae Juss., касатиковых) – Ирис гибридный сорт Sable и виды рода *Hosta* Tratt. – хоста, функия (сем. Hostaceae, хостовых), *H. decorata* Bailey – Х. декората, *H. albomarginata* (Hook.) Hyl. – Х. белоокаймленная, *H. lancifolia* (Thunb.) Engl. – Х. ланцетолистная. Это многолетние, декоративно лиственные, длительно летнекветущие, коротко-корневищные поликарпики (рис. 1). Эти виды были переданы в 2019 г. из биоресурсной научной коллекции ЦСБС СО

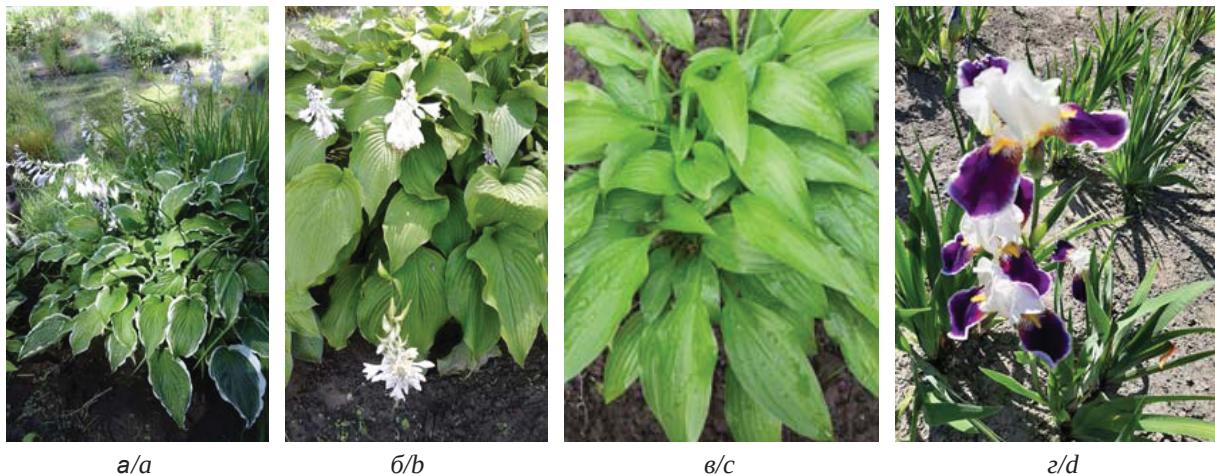


Рис. 1. *Hosta albomarginata* (а), *H. decorata* (б), *H. lancifolia* (в), *Iris hybrida* сорт Sable (г) в Центральном сибирском ботаническом саду

Fig. 1. *Hosta albomarginata* (a), *H. decorata* (b), *H. lancifolia* (c), *Iris hybrida* Sable variety (d) in the Central Siberian Botanical Garden

РАН «Коллекции живых растений в открытом и закрытом грунте», УНУ № USU 440534 на объекты озеленения пгт. Кольцово, 21 (Клиническая районная больница № 1) и г. Бердска (Центр социальной помощи семье и детям «Юнона», ул. К. Маркса, 27). Контролем служили растения с коллекционного участка лаборатории декоративных растений, расположенного в относительно благоприятных экологических условиях (Советский район, Академгородок, г. Новосибирск). Сбор растительного сырья проводили во второй декаде июля (15–16.07) 2020 г. Листья сушили и перетирали до мелкой фракции. Определение зольности (общей золы) проводили путем сухого озоления в муфельной печи при $t = 400\ldots +500^\circ\text{C}$ по ГОСТ 24027.2-80 [19]. Определение содержания общей серы проводили после мокрого озоления из одной навески (0,1 г) спектрофотометрическим методом [20]. Содержание водорастворимых фенольных соединений (танинов) определяли методом Левентала – Нейбауера

[21], аскорбиновой кислоты – титриметрическим методом с применением 2,6-дихлорфенолиндофенола натрия [22]. Аналитическая повторность опытов трехкратная из смешанной пробы. Экспериментальные данные обработаны статистически с помощью компьютерных программ Microsoft Office Excel 2007 и Statistica 10.

Результаты и их обсуждение

Исследование содержания аскорбиновой кислоты, танинов, серы, золы позволило определить каждое из них в листьях *H. decorata* (табл. 1) в период цветения. Установлено, что концентрация серы, аскорбиновой кислоты и танинов сравнительно одинаковая в контроле и пгт. Кольцово. Меньшим содержанием данных элементов (в 1,1–2,4 раза) отличались листья произрастающих растений в центральной части г. Бердска. Однако показания зольности в листьях *H. decorata* в Бердске и Кольцово в 1,4–1,5 раза выше, чем в контроле.

Таблица 1 / Table 1

Содержание золы, серы, танинов, аскорбиновой кислоты ($M \pm m$) в листьях *Hosta decorata*

в урбанизированной среде Новосибирской области

The content of ash, sulfur, tannins, ascorbic acid ($M \pm m$) in *Hosta decorata* leaves
in the urbanized environment of the Novosibirsk region

Место сбора проб / Sample collection location	Сера, % / Sulfur, %	Аскорбиновая кислота, мг/100 г / Ascorbic acid, mg/100 g	Танины, % / Tannins, %	Зола, % / Ash, %
Контроль/ Control	0,020±0,0007	8,79±0,30	2,26±0,046	8,85±0,35
Бердск / Berdsk	0,009±0,0003	6,60±0,30	1,86±0,020	13,33±0,26
Кольцово / Koltsovo	0,022±0,0006	8,73±0,32	2,67±0,054	13,11±0,34

Примечание. Различия достоверны при уровне значимости $P = 0,95$.

Note. Differences are significant at the $P = 0,95$ significance level.



Анализ показал двукратное увеличение содержания серы в листьях растений *H. albomarginata*, произрастающих в Бердске ($0,021 \pm 0,0005\%$), по сравнению с Кольцово ($0,011 \pm 0,0009\%$). Причем концентрация зольных элементов в листьях

растений этого вида в 1,2 раза выше в условиях Бердска. Однако показатели содержания танинов в листьях *H. albomarginata* в условиях Кольцово выше в 1,5 раза, а аскорбиновой кислоты в 1,6 раза, чем в Бердске (рис. 2).

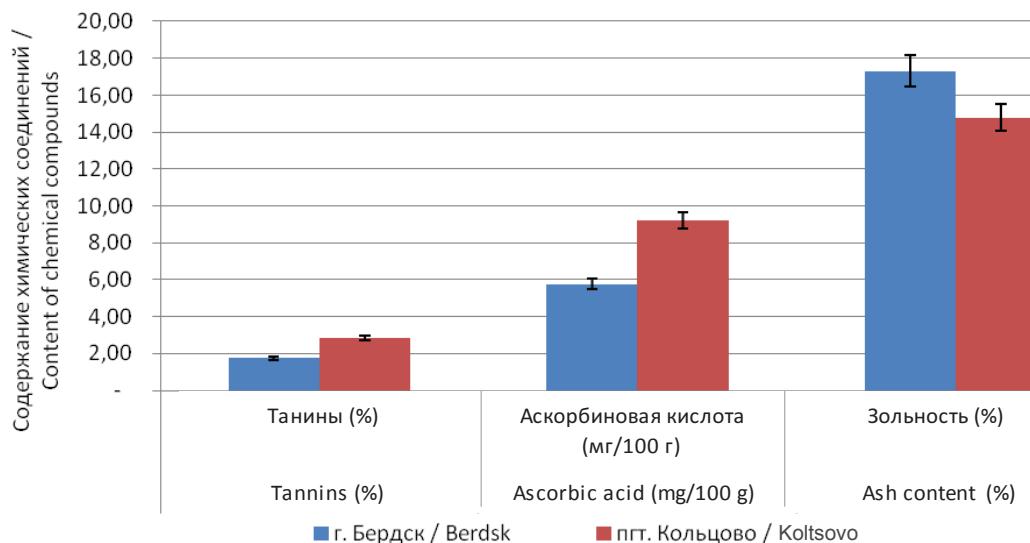


Рис. 2. Гистограмма распределения в листьях *Hosta albomarginata* химических соединений в городской среде г. Бердска и пгт. Кольцово (цвет online)

Fig. 2. Histogram of the distribution of chemical compounds in the leaves of *Hosta albomarginata* in the urban environment of Berdsk and the settlement Koltsovo (color online)

При сравнении показателей этих же химических элементов в листьях *H. lancifolia* в условиях Кольцово и контроля (ЦСБС) установлена такая же закономерность. Содержание аскорбиновой кислоты было в 1,5 раза и танинов в 1,7 раза больше в листьях растений, выращиваемых в более

экологически чистых условиях (контроль), чем в Кольцово (рис. 3). Однако накопление зольных веществ в листовом аппарате в условиях Кольцово происходило в 1,7 раза интенсивнее ($8,85 \pm 0,35\%$). Также количественное содержание серы в 1,4 раза превышало аналогичные значения в контроле.

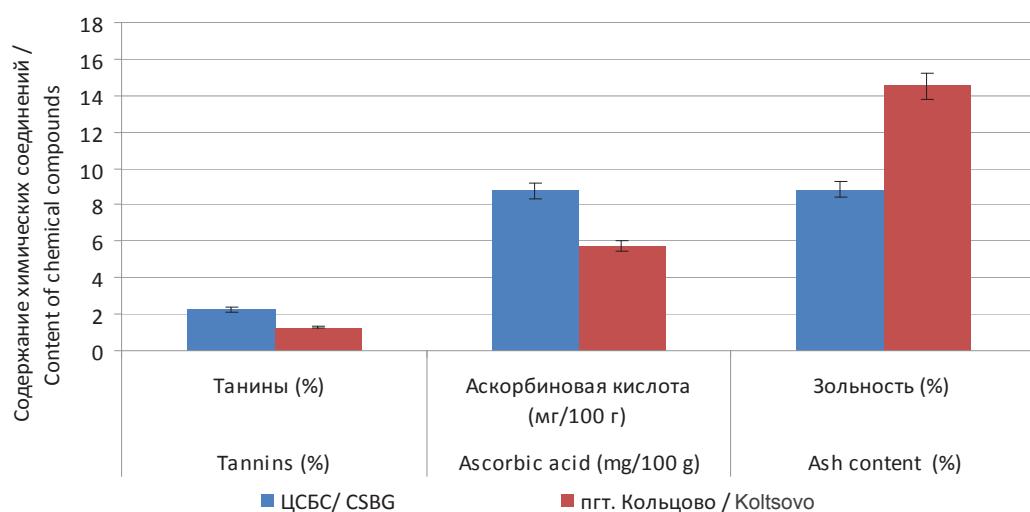


Рис. 3. Гистограмма распределения в листьях *Hosta lancifolia* химических соединений в ЦСБС и пгт. Кольцово (цвет online)

Fig. 3. Histogram of the distribution of chemical compounds in *Hosta lancifolia* leaves in CSBS and settlement Koltsovo (color online)

Исследование содержания данных веществ в листьях *I. hybrida* (табл. 2) показало, что они аккумулируют серу в 1,3 раза, а золу в 2,0 раза больше в урбанизированной среде по сравнению с контролем. Концентрация аскорбиновой кислоты, танинов в листьях *I. hybrida*, произрастающих в Бердске,

в 1,3–1,4 раза меньше, чем в контроле. В городской среде Кольцово и Бердска содержание зольности в листьях исследуемого *I. hybrida* повышена в 2,7–4 раза. Однако концентрация серы в контроле и Кольцово одинакова, тогда как аскорбиновой кислоты и танинов уменьшена в 1,3–1,4 раза.

Таблица 2 / Table 2

Содержание золы, серы, танинов, аскорбиновой кислоты ($M \pm m$) в листьях *Iris hybrida*

в условиях городской среды

The content of ash, sulfur, tannins, ascorbic acid ($M \pm m$) in *Iris hybrida* leaves in an urban environment

Место сбора проб / Sample collection location	Сера, % / Sulfur, %	Аскорбиновая кислота, мг/100 г / Ascorbic acid, mg/100 g	Танины, % / Tannins, %	Зола, % / Ash, %
Контроль / Control	0,013±0.0005	9,21±0.13	2,93±0.040	4,44±0.13
Бердск / Berdsk	0,017±0.0008	6,63±0.29	2,07±0.034	16,07±0.49
Кольцово / Koltsovo	0,130±0.0009	8,73±0.14	2,21±0.063	11,00 ±0.17

Примечание. Различия достоверны при уровне значимости $P = 0,95$.Note. Differences are significant at the $P = 0,95$ significance level.

Сравнение габитуальной и феноритмической устойчивости у исследованных видов в городской среде и контроле показало, что морфометрические показатели, а именно: высота растения, длина и ширина листа, у последних развиты значительно мощнее. Так, высота контрольных

растений *H. decorata* превышает аналогичные значения в условиях города в 2,6–3,6 раза, а количество сформированных за период вегетации листьев в 1,8–3 раза (табл. 3). Поверхность ассимиляционного аппарата больше в 1,4–2,3 раза у контрольных растений.

Таблица 3 / Table 3

Феноритмические и морфометрические показатели *Hosta decorata* в 2020 г. в условиях городской среды Новосибирской области**Phenorhythmic and morphometric parameters of *Hosta decorata* in 2020 in the urban environment of Novosibirsk Region**

Место сбора проб / Sample collection location	Дата отрастания цветения / Date of regrowth blooms	Высота, см / Height, cm	Длина : ширина листа, см / Length : sheet width, cm	Количество листьев, шт. / Number of leaves, pc
Контроль / Control	12.05±0,4 26.06±0,5	94,3±0.1	25,9±0,7 14,6±0,6	54,2±0,8
Бердск / Berdsk	05.05 ±0,4 10.07 ±0,5	26,1±0.9	18,2±0,4 9,0±0,3	30,4±0,5
Кольцово / Koltsovo	06.05±0,4 15.07±0,5	35,3±0.4	17,0±0,6 6,0±0,5	18,4 ±0,2

Примечание. Различия достоверны при уровне значимости $P = 0,95$.Note. Differences are significant at the $P = 0,95$ significance level.

Наблюдение за ритмом роста и развития исследуемых видов показало, что их отрастание в городской среде ускорено из-за быстрого схода снега в городской среде. За период с мая по июль у растений в городской среде наблюдалось замедление развития и цветение наступало позднее на 14–19 дней по сравнению со сроками в контроле. В целом, изученные виды в городской среде Бердска и Кольцово прошли все фенологические фазы развития, от отрастания

до цветения, отличались толерантностью при культивировании в миксбордерах с другими цветочно-декоративными растениями (рис. 4).

Заключение

При оценке состояния зеленых насаждений *I. hybrida*, *H. lancifolia*, *H. albomarginata*, *H. decorata* в городской среде Бердска и Кольцово впервые установлено, что они приспособлены к условиям городской среды, несмотря на то что морфоме-



а/а



б/б

Рис. 4. *Hosta decorata* и *Iris hybrida* в цветниках Бердска (а) и Кольцово (б) Новосибирской области

Fig. 4. *Hosta decorata* and *Iris hybrida* in the flower beds of Berdsk (a) and Koltsovo (b) of the Novosibirsk region

трические показатели вегетативных органов меньше контрольных растений, они проходят все фенологические фазы развития от отрастания до цветения. Фитохимический анализ показал, что синтез аскорбиновой кислоты и танинов в листьях *I. hybrida*, *H. lancifolia*, *H. albomarginata*, *H. decorata* у контрольных растений усилен и ослаблен в условиях городской среды Бердска и Кольцово. Известно, что урбанизированная среда оказывает влияние на окислительные процессы вторичных метаболитов, влияющих на толерантность клеточного аппарата у растений [2]. Таким образом, установлено, что уровень концентрации танинов и аскорбиновой кислоты в листьях растений в ответ на загрязнение городской среды понижен. Однако концентрация зольных элементов в листьях цветочно-декоративных растений в условиях городской среды значительно повышена по сравнению с контрольными растениями. Специфика количественного содержания серы и зольности в листьях отличается у изученных видов. В городской среде листья *I. hybrida*, *H. lancifolia*, *H. albomarginata*, *H. decorata* аккумулируют в 1,4–1,7 раза больше зольных элементов, таких как калий, кальций, магний, железо, марганец, цинк и др., которые, как известно, находятся в золе после удаления органических веществ из фитомассы [3]. На основании полученных результатов более напряженная экологическая ситуация среди городов складывается таким образом: Бердск > Кольцово > ЦСБС (Советский район, г. Новосибирск). Условия городской среды слу-

жат стрессовым фактором и вызывают у растений так называемый адаптационный синдром [23]. По результатам оценки биохимических, морфометрических, ритмологических показателей исследованные виды можно расположить следующим образом в порядке убывания устойчивости в цветниках городской среды: *H. lancifolia* > *H. albomarginata* > *H. decorata* > *I. hybrida*.

Список литературы

- Государственный доклад «О состоянии и об охране окружающей среды Новосибирской области в 2019 году». Новосибирск: Министерство природных ресурсов и экологии Новосибирской области, 2020. 159 с.
- Усманов И. Ю., Рахманкулова З. Ф., Кулагин А. Ю. Экологическая физиология растений. М. : Логос, 2001. 224 с.
- Кавеленова Л. М., Здемировский А. Г., Огневенко А. Я. К специфике содержания зольных веществ в листьях древесных растений в городской среде в условиях лесостепи (на примере Самары) // Химия раст. сырья. 2001. № 3. С. 85–90.
- Syso A. I., Syromlya T. I., Myadelets M. A., Cherevko A. S. Ecological and biogeochemical assessment of elemental and biochemical composition of the vegetation of anthropogenically disturbed ecosystems (based on the example of *Achillea millefolium* L.) // Contemporary Problems of Ecology. 2016. Vol. 9, № 5. P. 643–651. <https://doi.org/10.1134/S1995425516050164>
- Minkina T. M., Mandzhieva S. S., Chaplygin V. A., Bauer T. V., Zamulina I. V. Content and distribution of heavy metals in herbaceous plants under the effect of

- industrial aerosol emissions // Journal of Geochemical Exploration. 2017. Vol. 174. P. 113–120. <https://doi.org/10.1016/j.gexplo.2016.05.011>
6. Седельникова Л. Л. Оценка элементного состава кра-соднева как биоиндикатора экологического состояния урбанизированной среды // Экология и промышленность России. 2019. Т. 23, № 5. С. 62–66. <https://doi.org/10.18412/1816-0395-2019-05-62-66>
 7. Sedelnikova L. L., Tsandekova O. L. Ash content of ornamental plants in urban environment (through the example of cities of the Novosibirsk region) // Chemistry for Sustainable Development. 2020. Vol. 28. P. 412–417. <https://doi.org/10.15372/CSD2020247>
 8. Седельникова Л. Л., Цандекова О. Л. К специфике содержания химических элементов и зольности в листьях травянистых растений в условиях города Искитим Новосибирской области // Химия раст. сырья. 2021. № 1. С. 213–218. <https://doi.org/10.14258/jcprtm.2021018413>
 9. Last F. T. Effects of atmospheric sulphur compounds on natural and man-made terrestrial and aquatic ecosystems // Agriculture and Environment. 1982. Vol. 7, iss. 3–4. P. 299–387. [https://doi.org/10.1016/0304-1131\(82\)90022-4](https://doi.org/10.1016/0304-1131(82)90022-4)
 10. Honour S. L., Bell J. N., Ashenden T. W., Cape J. N., Power S. A. Responses of herbaceous plants to urban air pollution: Effects on growth, phenology and leaf surface characteristics // Environmental Pollution. 2009. Vol. 157, iss. 4. P. 1279–1286. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2008.11.049>
 11. Smirnoff N. Vitamin C. The metabolism and functions of ascorbic acid in plants // Advances in Botanical Research. 2011. Vol. 59. P. 107–177. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-385853-5.00003-9>
 12. Kim C. S., Kim K. H., Lee K. R. Phytochemical constituents of the leaves of hosta longipes // Natural Product Sciences. 2014. Vol. 20, iss. 2. P. 86–90.
 13. Wei A., Fu B., Wang Y., Zhai X., Xin X., Zhang Ch., Cao D., Zhang X. Involvement of NO and ROS in sulfur dioxide induced guard cells apoptosis in *Tagetes erecta* // Ecotoxicology and Environmental Safety. 2015. Vol. 114. P. 198–203. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2015.01.024>
 14. Dababneh M. F., Protska V. V., Kyslychenko O. A., Zhuravel I. O. The study of *Hosta lancifolia* rhizomes with roots, leaves and flowers volatile components // Der Pharma Chemica. 2016. Vol. 8, № 20. P. 214–219.
 15. Liu D., Zhao S., Guo L., Wang X. Resource evaluation and applications of *hosta* cultivars // Acta Horticulturae. 2017. Vol. 1185. P. 91–99. <https://doi.org/10.17660/Acta.Hortic.2017.1185.14>
 16. Sharma A., Shahzad B., Rehman A., Bhardwaj R., Landi M., Zheng B. Response of phenylpropanoid pathway and the role of polyphenols in plants under abiotic stress // Molecules. 2019. Vol. 24, № 13. P. 2452. <https://doi.org/10.3390/molecules24132452>
 17. Liu Y.-X., Xu W.-L., Huang P.-P., Cheng S.-W., Zhang Q.-B., Zhou Q.-X. Effects of combined Cu-Pb-Zn contaminants on Sn tolerance and accumulation in perennial flowers // Journal of Agro-Environment Science. 2021. Vol. 40, № 6. P. 1190–1197. <https://doi.org/10.11654/jaes.2020-1486>
 18. Yang L., He J. Traditional uses, phytochemistry, pharmacology and toxicological aspects of the genus *Hosta* (Liliaceae): A comprehensive review // Journal of Ethnopharmacology. 2021. Vol. 265. №. 113323. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2020.113323>
 19. ГОСТ 24027.2–80. Сырье лекарственное растительное. Методы определения влажности, содержания золы, экстрактивных и дубильных веществ, эфирного масла. М. : Изд-во стандартов, 1981. 126 с.
 20. Мочалова А. Д. Спектрометрический метод определения серы в растениях // Сельское хозяйство за рубежом. 1975. № 4. С. 17–21.
 21. Коренская И. М., Ивановская Н. П., Измалкова И. Е. Лекарственные растения и лекарственное растительное сырье, содержащие антраценпроизводные простые фенолы, лигнаны, дубильные вещества : учебное пособие для вузов. Воронеж : Воронежский государственный университет, 2007. С. 50–51.
 22. Неверова О. А. Практикум по биохимии для студентов вузов. Кемерово : КемТИПП, 2005. 69 с.
 23. Пахомова В. М. Основные положения современной теории стресса и неспецифический адаптационный синдром у растений // Цитология. 1995. Т. 37, № 1/2. С. 66–88.

References

1. Gosudarstvennyj doklad «O sostoyanii i ob ohrane okruzhayushchej sredy Novosibirskoj oblasti v 2019 godu» [State Report “On the state and environmental protection of the Novosibirsk Region in 2019”]. Novosibirsk, Ministry of Natural Resources and Ecology of the Novosibirsk Region, 2020. 159 p. (in Russian).
2. Usmanov I. Yu., Rakhmankulova Z. F., Kulagin A. Yu. Ekologicheskaya fiziologiya rastenij [Ecological Physiology of Plants]. Moscow, Logos Publ., 2001. 224 p. (in Russian).
3. Kavelenova L. M., Zdetovetsky A. G., Ognevenko A. Ya. To the specifics of the content of ash substances in the leaves of woody plants in the urban environment in the conditions of forest-steppe (on the example of Samara). Khimiya Rastitel'nogo Syr'ya, 2001, no. 3, pp. 85–90 (in Russian).
4. Syso A. I., Syromlya T. I., Myadelets M. A., Cherevko A. S. Ecological and biogeochemical assessment of elemental and biochemical composition of the vegetation of anthropogenically disturbed ecosystems (based on the example of *Achillea millefolium* L.). Contemporary Problems of Ecology, 2016, vol. 9, no. 5, pp. 643–651. <https://doi.org/10.1134/S1995425516050164>
5. Minkina T. M., Mandzhieva S. S., Chaplygin V. A., Bauer T. V., Zamulina I. V. Content and distribution of heavy metals in herbaceous plants under the effect of industrial aerosol emissions Journal of Geochemical Exploration, 2017, vol. 174, pp. 113–120. <https://doi.org/10.1016/j.gexplo.2016.05.011>
6. Sedelnikova L. L. Estimation of the elemental composition of the redwood as a bioindicator of the ecological



- condition of the urbanized environment. *Ecology and Industry of Russia*, 2019, vol. 23, no. 5, pp. 62–66 (in Russian). <https://doi.org/10.18412/1816-0395-2019-05-62-66>
7. Sedelnikova L. L., Tsandekova O. L. Ash content of ornamental plants in urban environment (through the example of cities of the Novosibirsk region). *Chemistry for Sustainable Development*, 2020, vol. 28, pp. 412–417. <https://doi.org/10.15372/CSD2020247>
8. Sedelnikova L. L., Tsandekova O. L. On the specifics of the content of chemical elements and ash content in the leaves of herbaceous plants in the conditions of the city of Iskitim, Novosibirsk region. *Khimiya Rastitel'nogo Syr'ya*, 2021, no. 1, pp. 213–218 (in Russian). <https://doi.org/10.14258/jcprm.2021018413>
9. Last F. T. Effects of atmospheric sulphur compounds on natural and man-made terrestrial and aquatic ecosystems. *Agriculture and Environment*, 1982, vol. 7, iss. 3–4, pp. 299–387. [https://doi.org/10.1016/0304-1131\(82\)90022-4](https://doi.org/10.1016/0304-1131(82)90022-4)
10. Honour S. L., Bell J. N., Ashenden T. W., Cape J. N., Power S. A. Responses of herbaceous plants to urban air pollution: Effects on growth, phenology and leaf surface characteristics. *Environmental Pollution*, 2009, vol. 157, iss. 4, pp. 1279–1286. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2008.11.049>
11. Smirnoff N., Vitamin C. The metabolism and functions of ascorbic acid in plants. *Advances in Botanical Research*, 2011, vol. 59, pp. 107–177. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-385853-5.00003-9>
12. Kim C. S., Kim K. H., Lee K. R. Phytochemical constituents of the leaves of hosta longipes. *Natural Product Sciences*, 2014, vol. 20, iss. 2, pp. 86–90.
13. Wei A., Fu B., Wang Y., Zhai X., Xin X., Zhang Ch., Cao D., Zhang X. Involvement of NO and ROS in sulfur dioxide induced guard cells apoptosis in *Tagetes erecta*. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 2015, vol. 114, pp. 198–203. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2015.01.024>
14. Dababneh M. F., Protska V. V., Kyslychenko O. A., Zhuravel I. O. The study of *Hosta lancifolia* rhizomes with roots, leaves and flowers volatile components. *Der Pharma Chemica*, 2016, vol. 8, no. 20, pp. 214–219.
15. Liu D., Zhao S., Guo L., Wang X. Resource evaluation and applications of *hosta* cultivars. *Acta Horticulturae*, 2017, vol. 1185, pp. 91–99. <https://doi.org/10.17660/ActaHortic.2017.1185.14>
16. Sharma A., Shahzad B., Rehman A., Bhardwaj R., Landi M., Zheng B. Response of phenylpropanoid pathway and the role of polyphenols in plants under abiotic stress. *Molecules*, 2019, vol. 24, no. 13, pp. 24–52. <https://doi.org/10.3390/molecules24132452>
17. Liu Y.-X., Xu W.-L., Huang P.-P., Cheng S.-W., Zhang Q.-B., Zhou Q.-X. Effects of combined Cu-Pb-Zn contaminants on Sn tolerance and accumulation in perennial flowers. *Journal of Agro-Environment Science*, 2021, vol. 40, no. 6, pp. 1190–1197. <https://doi.org/10.11654/jaes.2020-1486>
18. Yang L., He J. Traditional uses, phytochemistry, pharmacology and toxicological aspects of the genus *Hosta* (Liliaceae): A comprehensive review. *Journal of Ethnopharmacology*, 2021, vol. 265, no. 113323. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2020.113323>
19. GOST 24027.2-80. *Syr'e lekarstvennoe rastitel'noe*. Metody opredeleniya vlazhnosti, soderzhaniya zoly, ekstraktivnykh i dubil'nykh veshchestv, efirnogo masla [Medicinal vegetable raw materials. Methods for determining humidity, ash content, extractive and tannins, essential oil]. Moscow, Izd-vo standartov, 1981. 126 p. (in Russian).
20. Mochalova A. D. Spectrometric method for determination of sulfur in plants. *Agriculture Abroad*, 1975, no. 4, pp. 17–21 (in Russian).
21. Korenskaya I. M., Ivanovskaya N. P., Izmalkova I. E. *Lekarstvennye rasteniya i lekarstvennoe rastitel'noe syr'e, soderzhashchie antracenproizvodnye prostye fenoly, lignany, dubil'nye veshchestva: uchebnoe posobie dlya vuzov* [Medicinal plants and medicinal plant raw materials containing anthracene derivatives of simple phenols, lignans, tannins. Textbook for universities]. Voronezh, Voronezh State University Publ., 2007. 87 p. (in Russian).
22. Neverova O. A. *Praktikum po biohimii dlya studentov vuzov* [Workshop on biochemistry for university students]. Kemerovo, KemTIPP Publ., 2005. 69 p. (in Russian).
23. Pakhomova V. M. The main provisions of the modern theory of stress and nonspecific adaptation syndrome in plants. *Cytology*, 1995, vol. 37, no. 1/2, pp. 66–88 (in Russian).

Поступила в редакцию 04.03.2022; одобрена после рецензирования 15.03.2022; принятая к публикации 20.03.22
The article was submitted 04.03.2022; approved after reviewing 15.03.2022; accepted for publication 20.03.22

Известия Саратовского университета. Новая серия. Серия: Химия. Биология. Экология. 2022. Т. 22, вып. 4. С. 427–436

Izvestiya of Saratov University. Chemistry. Biology. Ecology, 2022, vol. 22, iss. 4, pp. 427–436

<https://ichbe.sgu.ru>

<https://doi.org/10.18500/1816-9775-2022-22-4-427-436>, EDN: PLEYXB

Научная статья
УДК 577.151

Исследование влияния солей металлов на активность ферментов фенолоксидазного комплекса бактерий рода *Azospirillum*



М. А. Купряшина^{1,2} , Е. Г. Пономарева¹

¹Институт биохимии и физиологии растений и микроорганизмов, ФИЦ «Саратовский научный центр РАН» (ИБФРМ РАН), Россия, 410049, г. Саратов, пр. Энтузиастов, д. 13

²Саратовский государственный медицинский университет имени В.И. Разумовского, Россия, 410012, г. Саратов, ул. Большая Казачья, д. 112

Купряшина Мария Александровна, кандидат биологических наук, ¹заведующий лабораторией микробиологии, ²ассистент кафедры микробиологии, вирусологии и иммунологии, kupryashina_m@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-2136-5362>

Пономарева Елена Геннадьевна, кандидат биологических наук, старший научный сотрудник лаборатории микробиологии, ponomareva_e@ibppm.ru, <https://orcid.org/0000-0003-3701-9090>

Аннотация. В последние годы особое внимание уделяется разработке технологий биоразрушения органополлютантов и поиску новых биодеструкторов. Накопление лигниноподобных соединений и синтетических красителей в окружающей среде представляет огромную опасность не только для экосистем и биоразнообразия, но и угрожает здоровью человека. Фенолоксидазы – это группа ферментов, обладающих широкой субстратной специфичностью, способных к окислению многих полифенолов и ароматических аминов, их катализитические свойства обеспечивают возможность применения в качестве агентов биоремедиации. В данной работе представлены результаты исследования влияния ионов металлов на активность ферментов фенолоксидазного комплекса азоспирилл и способность к биоредукции органополлютантов. На примере двух штаммов *Azospirillum balandianum* Sp245 и *Azospirillum brasiliense* SR80 показано, что внеклеточные лакказы, лигнин- и Mn-пероксидазы данных бактерий достаточно стабильны в присутствии исследуемых солей металлов. Отмечено снижение энзиматической активности исследуемых штаммов и угнетение эффективности биодеградации органополлютантов ионами Zn^{2+} . Установлена индукция лакказной и лигнин-пероксидазной активности ионами меди, положительно коррелирующая со способностью азоспирилл к деградации лигнина. Анализ полученных данных показал, что для ферментов азоспирилл характерны ингибиторы и индукторы, аутентичные внеклеточным фенолоксидазам как грибного, так и бактериального происхождения.

Ключевые слова: *Azospirillum*, Mn-пероксидаза, лигнин-пероксидаза, лакказа

Для цитирования: Купряшина М. А., Пономарева Е. Г. Исследование влияния солей металлов на активность ферментов фенолоксидазного комплекса бактерий рода *Azospirillum* // Известия Саратовского университета. Новая серия. Серия: Химия. Биология. Экология. 2022. Т. 22, вып. 4. С. 427–436. <https://doi.org/10.18500/1816-9775-2022-22-4-427-436>, EDN: PLEYXB

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

Article

The effect of metal salts on the activity of the phenol oxidase complex enzymes of bacteria of the genus *Azospirillum*

М. А. Купряшина^{1,2} , Е. Г. Пономарева²

¹Institute of Biochemistry and Physiology of Plants and Microorganisms, Saratov Scientific Centre of the Russian Academy of Sciences (IBPPM RAS), 13 Prospekt Entuziastov, Saratov 410049, Russia

²Saratov State Medical University named after V. I. Razumovsky, 112 Bolshaya Kazachya St., Saratov 410012, Russia

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

Elena G. Ponomareva, ponomareva_e@ibppm.ru, <https://orcid.org/0000-0003-3701-9090>

Abstract. Recently, much attention has been paid to the development of technologies for biodegradation of organopollutants and the search for promising biodestructors. The environmental accumulation of lignin-like compounds and synthetic dyes poses a huge threat not only to ecosystems and biodiversity, but also to human health. Phenol oxidases are enzymes with broad substrate specificity, with oxidizing ability towards various polyphenols and aromatic amines. Therefore the use of phenol oxydases as bioremediation agents is promising due to their unique catalytic properties. In this work we present the results of a study of the effect of metal ions on the activity of the azospirilla phenol oxidase complex. It was demonstrated that extracellular laccases of lignin- and Mn-peroxidases of strains *Azospirillum balandianum* Sp245 and *Azospirillum*



brasiliense SR80 are quite stable in the presence of the studied metal salts. The enzymatic activity decreased and the effectiveness of the organo-pollutants' biodegradation efficacy was inhibited in the presence of Zn²⁺ ions. The laccase and lignin-peroxidase activity induced by copper ions positively correlated with the ability of lignin degradation by azospirillum. Analysis of the obtained data showed that inhibitors and inducers of authentic extracellular phenol oxidases of both fungi and bacteria are typical for azospirillum enzymes.

Keywords: *Azospirillum*, Mn-peroxidase, lignin peroxidase, laccase

For citation: Kupryashina M. A., Ponomareva E. G. The effect of metal salts on the activity of the phenol oxidase complex enzymes of bacteria of the genus *Azospirillum*. *Izvestiya of Saratov University. Chemistry. Biology. Ecology*, 2022, vol. 22, iss. 4, pp. 427–436 (in Russian). <https://doi.org/10.18500/1816-9775-2022-22-4-427-436>, EDN: PLEYXB

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

Введение

В последние годы не ослабевает интерес к исследованию ферментов, входящих в фенолоксидазные и лигнинолитические комплексы грибов и бактерий, в связи с их катализитическими особенностями и возможностью широкого прикладного использования [1]. Лакказы, лигнин- и Mn-пероксидазы обладают большим потенциалом для применения в сельском хозяйстве при деградации целлюлозы, гемицеллюлозы, лигнина, а также в биоремедиации, в частности в деструкции органических загрязнителей, таких как полициклические ароматические углеводороды, хлорфенолы, промышленные красители и нитроароматические соединения [2, 3]. Актуальным остается не только поиск продуцентов данных ферментов, но и изучение физиологии их синтеза [4]. Исследования, проведенные на сегодняшний день, демонстрируют как сходства, так и различия катализитических свойств данной группы ферментов, продуцируемых различными организмами [5]. В наших предыдущих работах была обнаружена способность диазотрофов рода *Azospirillum* к продукции ряда внеклеточных фенолокисляющих ферментов. Ранее нами была установлена способность ряда штаммов бактерий родов *Azospirillum* к продукции оксидаз и пероксидаз фенолоксидазного комплекса, показано участие данных бактерий в деструкции модельных препаратов лигнина и азокрасителей [6–9].

Ионы металлов могут играть роль как катализаторов, так и ингибиторов фенолокисляющих ферментов [10, 11]. Актуальным является исследование влияния ионов металлов на ферментативную биодеградацию органополлютентов, поскольку в промышленных стоках зачастую присутствуют ионы различных металлов [12].

Цель работы – изучение влияния солей металлов на продукцию внеклеточных лакказ, Mn- и лигнин-пероксидаз азоспириллами и эффективность бактериальной биодеструкции лигнина Классона и малахитового зеленого.

Материалы и методы

В настоящей работе были использованы два штамма азотфиксирующих ассоциативных бактерий рода *Azospirillum*: *A. baldaniorum* Sp245 и *A. brasiliense* SR80, предоставленные коллекцией ризосферных микроорганизмов ИБФРМ РАН. Культивирование бактерий проводили при 37°C в колбах Эrlenmeyera (100 мл) на жидкой малатно-солевой среде. При пассаже бактериальной культуры в опытные колбы вносили CaCl₂, CuSO₄, MnSO₄, MgSO₄, NaCl, ZnSO₄, в концентрации 1, 5 и 10 мМ. В качестве модельного красителя, был выбран трифенилметановый краситель – малахитовый зеленый, рабочая концентрация 0,01 мМ. Пробы для определения лакказной, лигнин- и Mn-пероксидазной активности отбирали через 7 дней. Удельную активность ферментов определяли спектрофотометрически с использованием специфических субстратов согласно методике, описанной ранее, и выражали в единицах на 1 мг белка [9].

Степень обесцвечивания красителя оценивали через 7 суток культивирования по изменению оптической плотности раствора при длине волны 600 нм, эффективность деколоризации рассчитывали по формуле [13, 14]:

$$\%_{\text{деградации}} = 100 \times \frac{A_{\text{нач}} - A_{\text{кон}}}{A_{\text{нач}}}$$

и выражали в процентах от контроля.

Лигниндеградирующую способность бактерий оценивали с использованием нитрированного лигнина. В работе использован модельный препарата лигнина (лигнин Классона), полученный из метанолизных опилок. Определение способности ферментов к деструкции лигнина проводили в полистироловых 96-луночных планшетах, на иммуноферментном анализаторе Multiskan Ascent («Thermo Electron», China) в Центре коллективного пользования в области физико-химической биологии и нанобиотехнологии при длине волны 414 нм («Симбиоз», ИБФРМ РАН), согласно методике [9].



Эксперименты выполняли минимум в трёх повторностях в трёх независимых экспериментах, полученные данные обрабатывали с использованием статистического пакета анализа данных программы Excel Microsoft Office XP.

Результаты и их обсуждение

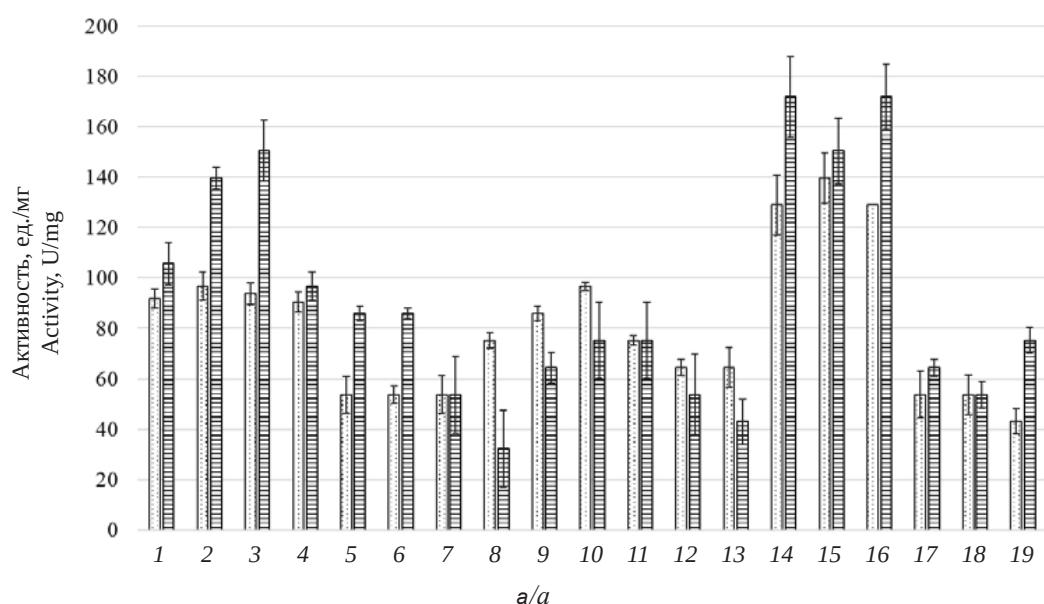
Было исследовано влияние ионов металлов на активность основных ферментов фенолоксидазного комплекса азоспирillus, а именно лакказ, лигнин- и Mn-пероксидаз, а также на способность данных бактерий к деградации лигнина Классона и малахитового зеленого. В предыдущих работах нами было показано, что штаммы *A. baldaniorum* Sp245 и *A. brasiliense* SR80 имеют высокую ферментативную активность и выраженную способность к деструкции модельных соединений лигнина и биодеколоризации синтетических красителей [8, 9].

Воздействие ионов металлов на катализические свойства ферментов многообразно и не всегда поддается четкой интерпретации. Ионы металлов участвуют в ферментативном катализе, играя важную роль во взаимодействии белка с лигандом, в результате чего могут изменяться как свойства центра связывания лиганда, так и самого каталитического центра [15]. В зависимости от типов взаимодействия ионов металлов с ферментом меняется его каталитическая активность, наибольшее значение при этом имеют ионы, участвующие в этапах биосинтеза фермента, в том числе уже на уровне трансляции. В связи с этим исследования влияния ионов металлов на ферментативную активность имеют существенное прикладное значение.

Для типичных фенолоксидаз как грибов, так и бактерий характерна стабилизация белковой глобулы в нативном состоянии за счет ионов кальция [16, 17]. Однако в нашем исследовании наблюдалось снижение активности лигнин-пероксидазы и лакказы для обоих взятых в эксперимент штаммов в присутствии CaCl_2 в среде (рис. 1). Активность Mn-пероксидазы *A. baldaniorum* Sp245 несущественно повышалась при внесении в среду культивирования 1 mM CaCl_2 , однако снижалась прямо пропорционально увеличению концентрации соли (см. рис. 1). Присутствие NaCl в среде (даже в низких концентрациях) оказывало ингибирующий эффект на ферментативный статус азоспирillus, активность всех исследуемых ферментов снижалась на 50%. Согласно данным литературы, продукция лакказ различными биообъектами ингибируется хлорид-ионами [18].

Мощными ингибиторами многих энзиматических реакций являются ионы тяжелых металлов [19, 20]. Культивирование азоспирillus в среде с ZnSO_4 в большей степени влияло на продукцию Mn-пероксидаз и лакказ, чем лигнин-пероксидаз. Mn-пероксидазная и лакказная активность *A. baldaniorum* Sp245 и *A. brasiliense* SR80 снижались на 50–90% по сравнению с контролем (см. рис. 1). Аналогичное воздействие ионов цинка на продукцию оксидаз и пероксидаз фенолоксидазного комплекса отмечалось для псевдомонад [12].

Медь, путем индукции окислительного стресса, вызывающего повреждение белков, также является ингибитором многих ферментов.



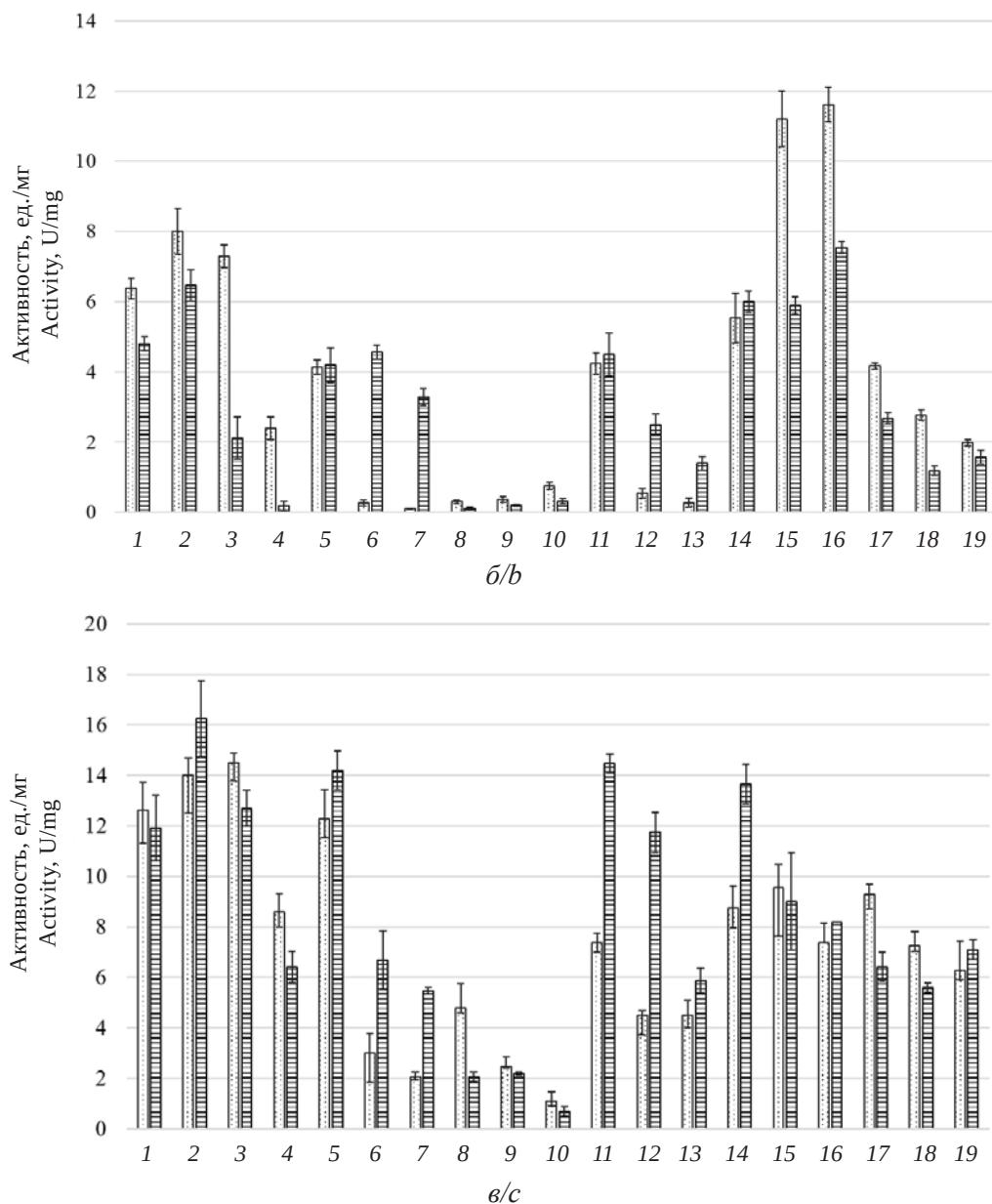


Рис. 1. Активность внеклеточной лигнин-пероксидазы (а), лакказы (б), Mn-пероксидазы (в) *A. baldaniorum* Sp245 (■) и *A. brasiliense* SR80 (▨): 1 – контроль, 2 – 1 mM MnSO₄, 3 – 5 mM MnSO₄, 4 – 10 mM MnSO₄, 5 – 1 mM CaCl₂, 6 – 5 mM CaCl₂, 7 – 10 mM CaCl₂, 8 – 1 mM ZnSO₄, 9 – 5 mM ZnSO₄, 10 – 10 mM ZnSO₄, 11 – 1 mM MgSO₄, 12 – 5 mM MgSO₄, 13 – 10 mM MgSO₄, 14 – 1 mM CuSO₄, 15 – 5 mM CuSO₄, 16 – 10 mM CuSO₄, 17 – 1 mM NaCl, 18 – 5 mM NaCl, 19 – 10 mM NaCl

Fig. 1. Activity of extracellular lignin peroxidase (a), laccase (b), Mn-peroxidase (c) *A. baldaniorum* Sp245 (■) and *A. brasiliense* SR80 (▨): 1 – control, 2 – 1 mM MnSO₄, 3 – 5 mM MnSO₄, 4 – 10 mM MnSO₄, 5 – 1 mM CaCl₂, 6 – 5 mM CaCl₂, 7 – 10 mM CaCl₂, 8 – 1 mM ZnSO₄, 9 – 5 mM ZnSO₄, 10 – 10 mM ZnSO₄, 11 – 1 mM MgSO₄, 12 – 5 mM MgSO₄, 13 – 10 mM MgSO₄, 14 – 1 mM CuSO₄, 15 – 5 mM CuSO₄, 16 – 10 mM CuSO₄, 17 – 1 mM NaCl, 18 – 5 mM NaCl, 19 – 10 mM NaCl

В то же время ионы Cu²⁺ являются кофакторами некоторых фенолоксидаз, например, в каталитическом центре голубых лакказ присутствуют четыре атома меди [21–23]. В ряде работ показано, что внесение сульфатов меди в среду

культтивирования увеличивает лакказную активность как бактерий, так и грибов [4, 20, 24–26]. Медь регулирует продукцию лакказы уже на уровне транскрипции [27]. В ходе исследования мы также отмечали увеличение лакказной

активности азоспирилл в присутствии ионов меди (см. рис. 1). В большей степени присутствие меди в среде стимулировало активность внеклеточной лакказы штамма *A. brasiliense* SR80, по сравнению с *A. baldaniorum* Sp245. Относительно мало данных о влиянии меди на продукцию пероксидаз фенолоксидазного комплекса. Так, в некоторых работах показано, что внесение сульфатов меди в среду культивирования базидиомицетов не влияет на продукцию Mn-пероксидазы и снижает активность лигнин-пероксидазы, в других, наоборот, увеличивает продукцию ферментов [20, 24, 28, 29]. Данные о воздействии ионов меди на активность пероксидаз бактериального происхождения отсутствуют. При внесении сульфата меди в среду выращивания мы отмечали увеличение лигнин-пероксидазной активности более, чем на 50% для штамма *A. baldaniorum*

Sp245, и на 80% для *A. brasiliense* SR80. В то же время ионы меди снижали Mn-пероксидазную активность, при этом отмечалась концентрационная зависимость.

Показано, что культивирование базидиомицета *Phanerochaete chrysosporium* в присутствии солей марганца стимулирует продукцию пероксидаз лигнинолитического комплекса [30]. Влияние ионов Mn^{2+} на продукцию Mn-пероксидаз идет на уровне транскрипции [31]. При анализе полученных нами данных установлена общая тенденция индукции ферментативной активности в присутствии низких концентраций марганца в среде (см. рис. 1). Высокие концентрации марганца снижали удельную активность Mn-пероксидазы *A. brasiliense* SR80 на 20%, *A. baldaniorum* Sp245 – на 50% и полностью ингибиравали лакказную активность азоспирилл (рис. 2, 3).

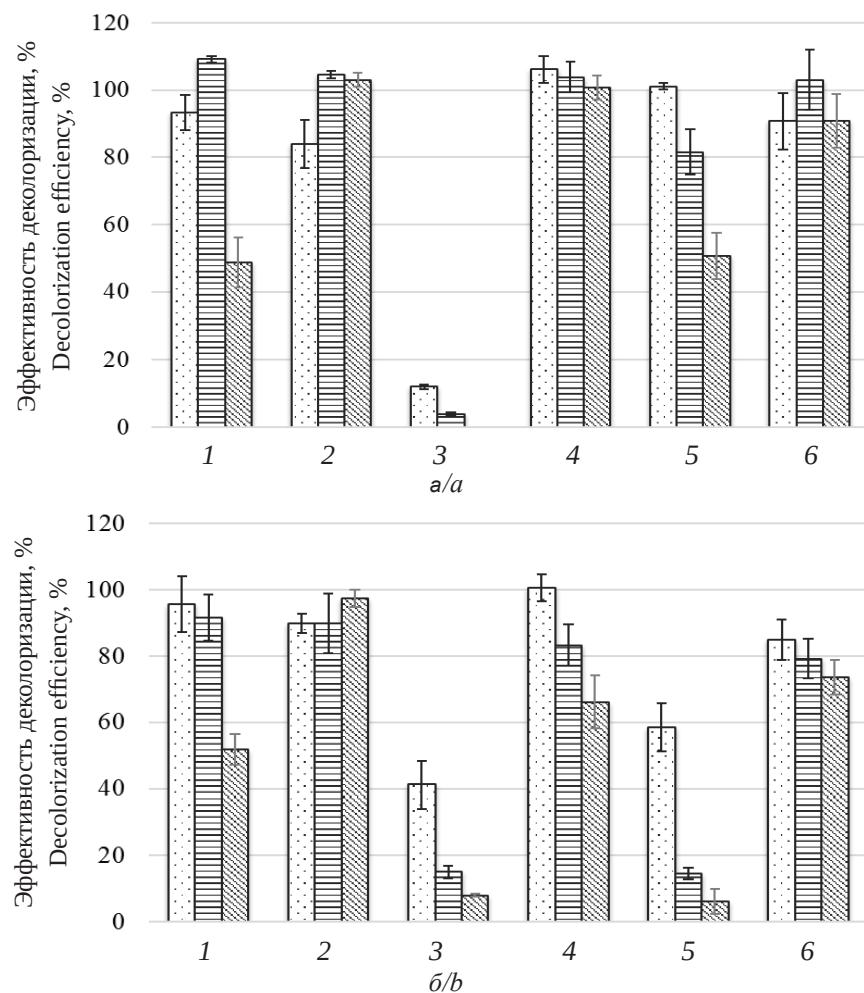


Рис. 2. Эффективность биодеградации малахитового зеленого *A. baldaniorum* Sp245 (а) и *A. brasiliense* SR80 (б) в присутствии солей металлов: 1 – $MnSO_4$, 2 – $CaCl_2$, 3 – $ZnSO_4$, 4 – $MgSO_4$, 5 – $CuSO_4$, 6 – $NaCl$ в концентрации 1 мМ (диагональные линии), 5 мМ (однотонные) и 10 мМ (контрастные)

Fig. 2. Efficiency of biodegradation of malachite green *A. baldaniorum* Sp245 (a) and *A. brasiliense* SR80 (b) in the presence of metal salts: 1 – $MnSO_4$, 2 – $CaCl_2$, 3 – $ZnSO_4$, 4 – $MgSO_4$, 5 – $CuSO_4$, 6 – $NaCl$ in concentration 1 mM (diagonal lines), 5 mM (solid black) and 10 mM (cross-hatched)

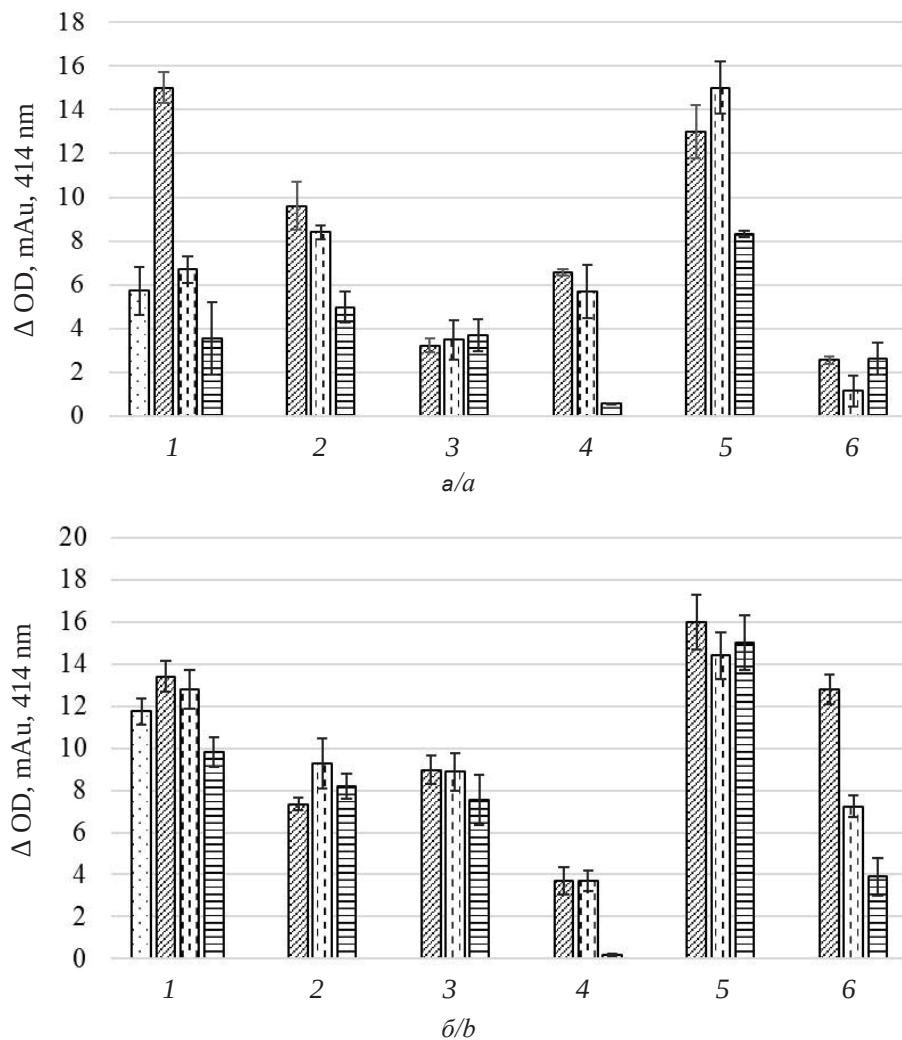


Рис. 3. Деградация модельного препарата лигнина *A. baldaniorum* (а) и *A. brasiliense* SR80 (б) в присутствии солей металлов: 1 – MnSO_4 , 2 – CaCl_2 , 3 – ZnSO_4 , 4 – MgSO_4 , 5 – CuSO_4 , 6 – NaCl в концентрации 1 мМ (▨), 5 мМ (▩) и 10 мМ (▩), контроль (▩)

Fig. 3. Degradation of the model preparation of lignin by *A. baldaniorum* Sp245 (a) and *A. brasiliense* SR80 (b) in the presence of metal salts: 1 – MnSO_4 , 2 – CaCl_2 , 3 – ZnSO_4 , 4 – MgSO_4 , 5 – CuSO_4 , 6 – NaCl , 1 mM (▨), 5 mM (▩) and 10 mM (▩), control (▩)

Внесение ионов магния в культуральную среду снижало фенолоксидазную активность взятых в эксперимент штаммов, исключением является стимуляция продукции лакказы и Mn-пероксидазы штаммом *A. baldaniorum* Sp245 при выращивании бактерий в присутствии 1 мМ MgSO_4 . Стоит отметить, что для *Pseudomonas aeruginosa* также показано снижение активности лакказ, лигнин- и Mn-пероксидаз при внесении сульфата магния в среду культивирования [12].

Далее мы проанализировали влияние ионов металлов на способность азоспирилл к деколоризации малахитового зеленого и разложению лигнина Классона. Оценку влияния ионов металлов на лигнинолитическую активность

азоспирилл проводили с помощью детекции изменения оптической плотности раствора, происходящего вследствие образования окрашенных продуктов при деструкции молекулы лигнина. В работе использован лигнин Классона, характеризующийся повышенным содержанием метоксильных групп и мономерных, димерных и олигомерных производных фенолов.

Выращивание бактерий в присутствии NaCl во всем диапазоне исследуемых концентраций не оказывало существенного влияния на процесс обесцвечивания красителя как штаммом *A. baldaniorum* Sp245, так и *A. brasiliense* SR80 (см. рис. 3), однако ингибировало лигниндеградацию. Ионы Mn^{2+} снижали эффективность



биодеградации малахитового зеленого бактериями на 50% только при высоких концентрациях. По-разному влияло присутствие ионов Mg^{2+} на способность исследуемых штаммов к обесцвечиванию малахитового зеленого, для *A. baldaniorum* Sp245 отмечалась стимуляция биодеколоризации на 10%, а для штамма *A. brasiliense* SR80 – снижение эффективности обесцвечивания красителя на 18–36%. При этом высокие концентрации магния снижали также и лигнинолитическую активность взятых в эксперимент штаммов.

Присутствие ионов Cu^{2+} в среде культивирования резко снижало обесцвечивание среды штаммом *A. brasiliense* SR80. В то время как для *A. baldaniorum* Sp245 деколоризация ингибировалась только высокими концентрациями сульфата меди. Полученные нами данные согласуются с рядом работ, в которых показано, что внесение $CuSO_4$ в среду культивирования бактерий снижает процесс биоредукции синтетических красителей [32–34]. Известно, что при внесении 0,1 mM $CuSO_4$ степень деградации синтетических красителей представителями *Halomonas* sp. снижается до 17,5%, а при 0,5 mM – ингибируется полностью [12], в то время как в нашей работе эффективность биодеградации красителя штаммом *A. baldaniorum* Sp245 снижалась при внесении 10 mM $CuSO_4$, а при использовании более низких концентраций наблюдалась стимуляция эффективности обесцвечивания. Отмечено, что присутствие в среде культивирования $CuSO_4$ повышало эффективность окисления нитрированного лигнина (см. рис. 3), что коррелирует с увеличением уровня лакказной и лигнин-пероксидазной активности (см. рис. 1).

Присутствие солей цинка в среде выращивания даже в концентрации 1 mM оказывало резкий ингибирующий эффект на способность азоспирillus к обесцвечиванию малахитового зеленого, эффективность биодеградации снижалась более чем в 8 раз (см. рис. 2). Лигнинолитическая активность взятых в эксперимент штаммов снижалась под действием ионов цинка в 2 раза.

Заключение

Таким образом, в ходе проведенной экспериментальной работы выявлено влияние ионов металлов на активность ферментов фенолоксидазного комплекса азоспирillus. При сравнении полученных сведений с данными литературы выявлено, что для фенолоксидаз азоспирillus характерны ингибиторы и индукторы, аутентичные внеклеточным ферментам фенолокси-

дазных комплексов как бактерий, так и грибов. Установлены общие закономерности индукции фенолоксидазной системы азоспирillus ионами меди и ингибирования энзиматического статуса бактерий при внесении хлорид-ионов. Показано, что ионы Zn^{2+} снижают активность лакказ и Mn-пероксидаз азоспирillus, но не влияют на лигнин-пероксидазную активность, при этом отмечается угнетение эффективности биодеградации синтетических красителей и модельных препаратов лигнина. Культивирование бактерий в среде с высоким содержанием марганца приводило к ингибированию активности всех исследуемых ферментов, однако в низких концентрациях Mn^{2+} стимулировал ферментативную активность азоспирillus. Установлена индукция лакказной и лигнин-пероксидазной активности ионами меди, положительно коррелирующая со способностью азоспирillus к деградации лигнина Классона. Полученные данные косвенно свидетельствуют о разнонаправленном действии ферментов фенолоксидазного комплекса в энзимологии разложения лигнина и деградации синтетических красителей.

На сегодняшний день в различные отрасли промышленности активно внедряются биокаталитические методы и подходы, основанные на применении бактериальных ферментативных систем. В связи с этим главными тенденциями биотехнологии являются поиск новых биокатализаторов, дизайн и исследование их свойств.

Список литературы

1. Pollegioni L., Tonin F., Rosini E. Lignin-degrading enzymes // FEBS J. 2015. Vol. 282. P. 1190–1213.
2. Rao M. A., Scelza R., Acevedo F., Diez M. C., Gianfreda L. Removal of dyes from the effluent of textile and dyestuff manufacturing industry: A review of emergin techniques with reference to biological treatment // Chemosphere. 2014. Vol. 107. P. 145–162.
3. Falade A. O., Eyisia O. A. L., Mabinya L. V., Nwodo U. U., Okoh A. I. Peroxidase production and ligninolytic potentials of freshwater bacteria *Raoultellaornithinolytica* and *Ensiferadhaerens* // Biotechnol. Report. 2017. Vol. 16. P. 2–17.
4. Falade A. O., Nwodo U. U., Iweriebor B. C., Green E., Mabinya L. V., Okoh A. I. Lignin peroxidase functionalities and prospective applications // Microbiology Open. 2017. Vol. 6. P. e00394.
5. Bugg T. D. H., Ahmad M., Hardiman E. M., Rahmanpour R. Pathways for degradation of lignin in bacteria and fungi // Nat. Prod. Rep. 2011. Vol. 28. P. 1883–1896.
6. Никитина В. Е., Ветчинкина Е. П., Пономарева Е. Г., Гоголева Ю. В. Фенолоксидазная активность бактерий рода *Azospirillum* // Микробиология. 2010. Т. 79, № 3. С. 344–351.



7. Купряшина М. А., Селиванов Н. Ю., Никитина В. Е. Выделение и очистка Mn-пероксидазы *Azospirillum brasiliense* Sp245 // Прикл. биохимия и микробиология. 2012. Т. 48, № 1. С.23–26.
8. Петров С. В., Купряшина М. А., Пономарева Е. Г., Воробьева С. А., Глинская Е. В., Никитина В. Е. Скрининг бактерий рода *Azospirillum* по способности к продукции внеклеточной лигнин-пероксидазы и деградации модельных соединений лигнина и азокрасителей // Известия Саратовского университета. Новая серия. Серия: Химия. Биология. Экология. 2017. Т. 17, вып. 2. С. 170–176.
9. Купряшина М. А., Петров С. В., Пономарева Е. Г., Никитина В. Е. Лигнинолитическая активность бактерий родов *Azospirillum* и *Niveispirillum* // Микробиология. 2015. Т. 84, № 6. С. 691–696.
10. Baldrian P. Fungal laccases – occurrence and properties // FEMS Microbiol. Rev. 2006. Vol. 30. P. 215–242.
11. Mansur M., Suarez T., Gonzalez A. Differential gene expression in the laccase gene family from basidiomycete I-62 (CETC 20197) // Appl. Environ. Microbiol. 1998. Vol. 64, № 2. P. 771–774.
12. Soni R. K., Acharya P. B., Modi H. A. Effect of some metals on growth of *Pseudomonas aeruginosa* ARSKS20 and its decolorization ability of Reactive red 35 // Intern. J. Curr. Microbiol. App. Sci. 2014. Vol. 3. P. 411–419.
13. Nidadavolu S. B., Gudikandula K., Pabba S. K., Margananti Ch. S. Decolorization of triphenyl methane dyes by *Fomitopsis feei* // Natural Science. 2013. Vol. 5. P. 30–35.
14. Joshi P. A., Mhatre K. J. Microbial efficiency to degrade carbol fuchsin and malachite green dyes // Adv. Appl. Sci. Res. 2015. Vol. 6. P. 85–88.
15. Улахович Н. А., Медяницева Э. П., Бабкина С. С., Кутырева М. П., Гамаулина А. Р. Металлы в живых организмах : учеб. пособие. Казань : Казанский университет, 2012. 102 с.
16. Sutherland G. R. J., Schick Zapanta L., Tien M., Aust S. D. Role of calcium in maintaining the heme environment of manganese peroxidase // Biochemistry. 1997. Vol. 36. P. 3654–3662.
17. Banci L., Bartalesi I., Ciofi-baffoni S., Tien M. Ufolding and pH studies on manganese peroxidase: Role of heme and calcium on secondary structure stability // Biopolymers (Biospectroscopy). 2003. Vol. 72. P. 38–47.
18. Rodriguez-Couto S., Herrera L. T. Inhibitors of Laccases: A Review // Curr. Enzyme Inhibit. 2006. Vol. 2. P. 343–352.
19. Gasser C. A., Ammann E. M., Schaffer A., Shahgaldian P., Corvini P. F. X. Production of superparamagnetic nanobiocatalysts for green chemistry applications // Appl. Microbiol. Biotechnol. 2016. Vol. 100. P. 7281–7296.
20. Vrsanska M., Voberkova S., Lange V., Moulick A., Adam V., Kopel P. Induction of laccase, lignin peroxidase and manganese peroxidase activities in white-rot fungi using copper complexes // Molecules. 2016. Vol. 21. P. 1553–1568.
21. Baldrian P. Interactions of heavy metals with white-rot fungi // Enzyme Microb. Technol. 2003. Vol. 32. P. 78–91.
22. Giardina P., Faraco V., Pezzella C., Piscitelli A., Vanhulle S., Sannia G. Laccases: A never-ending story // Cell. Mol. Life Sci. 2009. Vol. 67. P. 369–385.
23. Sadhasivam S., Savitha S., Swaminathan K., Lin F. H. Production, purification and characterization of mid-redox potential laccase from a newly isolated *Trichoderma harzianum* W11 // Process Biochem. 2008. Vol. 43. P. 736–742.
24. Shah V., Dobiasova P., Baldrian P., Nerud F., Kumar A., Seal S. Influence of iron and copper nanoparticle powder on the production of lignocellulose degrading enzymes in the fungus *Trametes versicolor* // J. Hazard. Mater. 2010. Vol. 178. P. 1141–1145.
25. Plackova M., Svobodova K., Cajthaml T. Laccase activity profiling and gene expression in PCB-degrading cultures of *Trametes versicolor* // Intern. Biodeterior. Biodegrad. 2012. Vol. 71. P. 22–28.
26. Baldrian P., Gabriel J. Copper and cadmium increase laccase activity in *Pleurotus ostreatus* // FEMS Microbiol. Lett. 2002. Vol. 206. P. 69–74.
27. Galhaup C., Wagner H., Hinterstoisser B., Haltrich D. Increased production of laccase by the wood-degrading basidiomycete *Trametes pubescens* // Enzyme Microb. Technol. 2002. Vol. 30. P. 529–536.
28. Kostadinova N., Krumova E., Boteva R., Abrashev R., Miteva-Staleva J., Spassova B., Angelova M. Effect of copper ions on the ligninolytic enzyme complex and the antioxidant enzyme activity in the white-rot fungus *Trametes trogii* 46 // Plant Biosystems. 2018. Vol. 152. P. 1128–1133. <https://doi.org/10.1080/11263504.2017.1418450>
29. Asgher M. Characterization of a novel manganese peroxidase purified from solid state culture of *Trametes versicolor* IBL-04 // Bioresources. 2011. Vol. 6. P. 4317–4330.
30. Reddy C. A., D'Souza T. M. Physiology and peroxidases of molecular biology of the lignin *Phanerochaete chrysosporium* // FEMS Microbiol. Rev. 1994. Vol. 13. P. 137–152.
31. Li D., Alic M., Brown J. A., Gold M. H. Regulation of manganese peroxidase gene transcription by hydrogen peroxide, chemical stress, and molecular oxygen // Appl. Environ. Microbiol. 1995. Vol. 61. P. 341–345.
32. Gopinath K. P., Kathiravan M. N., Srinivasan R., Sankaranarayanan S. Evaluation and elimination of inhibitory effects of salts and heavy metal ions on biodegradation of Congo red by *Pseudomonas* sp. // Mutant. Bioresource Technology. 2011. Vol. 102. P. 3687–3693.
33. Kurade M. B., Waghmode T. B., Govindwar S. P. Preferential biodegradation of structurally dissimilar dyes from a mixture by *Brevibacillus laterosporus* // Journal of Hazardous Materials. 2011. Vol. 192. P. 1746–1755.
34. Telke A. A., Kalyani D. C., Dawkar V. V., Govindwar S. P. Influence of organic and inorganic compounds on oxidoreductive decolorization of sulphurated azo dye C. I. Reactive Orange 16 // Journal of Hazardous Materials. 2009. Vol. 172. P. 298–309.



References

1. Pollegioni L., Tonin F., Rosini E. Lignin-degrading enzymes. *FEBS J.*, 2015, vol. 282, pp. 1190–1213.
2. Rao M. A., Scelza R., Acevedo F., Diez M. C., Giannfreda L. Removal of dyes from the effluent of textile and dyestuff manufacturing industry: A review of emergin techniques with reference to biological treatment. *Chemosphere*, 2014, vol. 107, pp. 145–162.
3. Falade A. O., Eyisia O. A. L., Mabinya L. V., Nwodo U. U., Okoh A. I. Peroxidase production and ligninolytic potentials of freshwater bacteria Raoultellaornithinolytica and Ensiferadhaerens. *Biotechnol. Report*, 2017, vol. 16, pp. 2–17.
4. Falade A. O., Nwodo U. U., Iweriebor B. C., Green E., Mabinya L. V., Okoh A. I. Lignin peroxidase functionalities and prospective applications. *Microbiology Open*, 2017, pp. 6:e00394.
5. Bugg T. D. H., Ahmad M., Hardiman E. M., Rahmannpour R. Pathways for degradation of lignin in bacteria and fungi. *Nat. Prod. Rep.*, 2011, vol. 28, pp. 1883–1896.
6. Nikitina V. E., Vetchinkina E. P., Ponomareva E. G., Gogoleva Yu. V. Phenol oxidase activity in bacteria of the genus *Azospirillum*. *Microbiology*, 2010, vol. 79, no. 3, pp. 327–333 (in Russian).
7. Kupryashina M. A., Selivanov N. Yu., Nikitina V. E. Isolation and purification of Mn-peroxidase from *Azospirillum brasiliense* Sp245. *Appl. Biochem. Microbiol.*, 2012, vol. 48, pp. 17–20 (in Russian).
8. Petrov S. V., Kupriashina M. A., Ponomareva E. G., Vorobieva S. A., Glinskaya E. V., Nikitina V. E. Screening of genus *Azospirillum* for their ability to produce extracellular lignin-peroxidase and the degradation of model lignin compounds and azo dyes. *Izvestiya of Saratov University. Chemistry. Biology. Ecology*, 2017, vol. 17, iss. 2, pp. 170–176 (in Russian). <https://doi.org/10.18500/1816-9775-2017-17-2-170-176>
9. 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 (in Russian).
10. Baldrian P. Fungal laccases – occurrence and properties. *FEMS Microbiol. Rev.*, 2006, vol. 30, pp. 215–242.
11. Mansur M., Suarez T., Gonzalez A. Differential gene expression in the laccase gene family from basidiomycete I-62 (CETC 20197). *Appl. Environ. Microbiol.*, 1998, vol. 64, no. 2, pp. 771–774.
12. Soni R. K., Acharya P. B., Modi H. A. Effect of some metals on growth of *Pseudomonas aeruginosa* ARSKS20 and its decolorization ability of Reactive red 35. *Intern. J. Curr. Microbiol. App. Sci.*, 2014, vol. 3, pp. 411–419.
13. Nidadavolu S. B., Gudikandula K., Pabba S. K., Maringanti Ch. S. Decolorization of triphenyl methane dyes by *Fomitopsis feei*. *Natural Science*, 2013, vol. 5, pp. 30–35.
14. Joshi P. A., Mhatre K. J. Microbial efficiency to degrade carbol fuchsins and malachite green dyes. *Adv. Appl. Sci. Res.*, 2015, vol. 6, pp. 85–88.
15. Ulakhovich N. A., Medyantseva E. P., Babkina S. S., Kutyreva M. P., Gataulina A. R. *Metally v zhivykh organizmakh: ucheb. posobiye* [Metals in Living Organisms. Textbook]. Kazan, Kazan University Publ., 2012. 102 p. (in Russian).
16. Sutherland G. R. J., Schick Zapanta L., Tien M., Aust S. D. Role of calcium in maintaining the heme environment of manganese peroxidase. *Biochemistry*, 1997, vol. 36, pp. 3654–3662.
17. Banci L., Bartalesi I., Ciofi-baffoni S., Tien M. Ufolding and pH studies on manganese peroxidase: Role of heme and calcium on secondary structure stability. *Biopolymers (Biospectroscopy)*, 2003, vol. 72, pp. 38–47.
18. Rodriguez-Couto S., Herrera L.T. Inhibitors of Laccases: A Review. *Curr. Enzyme Inhibit.*, 2006, vol. 2, pp. 343–352.
19. Gasser C. A., Ammann E. M., Schaffer A., Shahgaldian P., Corvini P. F. X. Production of superparamagnetic nanobiocatalysts for green chemistry applications. *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, 2016, vol. 100, pp. 7281–7296.
20. Vrsanska M., Voberkova S., Lange V., Moulick A., Adam V., Kopel P. Induction of laccase, lignin peroxidase and manganese peroxidase activities in white-rot fungi using copper complexes. *Molecules*, 2016, vol. 21, pp. 1553–1568.
21. Baldrian P. Interactions of heavy metals with white-rot fungi. *Enzyme Microb. Technol.*, 2003, vol. 32, pp. 78–91.
22. Giardina P., Faraco V., Pezzella C., Piscitelli A., Vanhulle S., Sannia G. Laccases: A never-ending story. *Cell. Mol. Life Sci.*, 2009, vol. 67, pp. 369–385.
23. Sadhasivam S., Savitha S., Swaminathan K., Lin F. H. Production, purification and characterization of mid-redox potential laccase from a newly isolated *Trichoderma harzianum* W1. *Process Biochem.*, 2008, vol. 43, pp. 736–742.
24. Shah V., Dobiasova P., Baldrian P., Nerud F., Kumar A., Seal S. Influence of iron and copper nanoparticle powder on the production of lignocellulose degrading enzymes in the fungus *Trametes versicolor*. *J. Hazard. Mater.*, 2010, vol. 178, pp. 1141–1145.
25. Plackova M., Svobodova K., Cajthaml T. Laccase activity profiling and gene expression in PCB-degrading cultures of *Trametes versicolor*. *Intern. Biodeterior. Biodegrad.*, 2012, vol. 71, pp. 22–28.
26. Baldrian P., Gabriel J. Copper and cadmium increase laccase activity in *Pleurotus ostreatus*. *FEMS Microbiol. Lett.*, 2002, vol. 206, pp. 69–74.
27. Galhaup C., Wagner H., Hinterstoisser B., Haltrich D. Increased production of laccase by the wood-degrading basidiomycete *Trametes pubescens*. *Enzyme Microb. Technol.*, 2002, vol. 30, pp. 529–536.
28. Kostadinova N., Krumova E., Boteva R., Abrashev R., Miteva-Staleva J., Spassova B., Angelova M. Effect of



- copper ions on the ligninolytic enzyme complex and the antioxidant enzyme activity in the white-rot fungus *Trametes trogii* 46. *Plant Biosystems*, 2018, vol. 152, pp. 1128–1133. <https://doi.org/10.1080/11263504.2017.1418450>
29. Asgher M. Characterization of a novel manganese peroxidase purified from solid state culture of *Trametes versicolor* IBL-04. *Bioresources*, 2011, vol. 6, pp. 4317–4330.
30. Reddy C. A., D’Souza T. M. Physiology and peroxidases of molecular biology of the lignin *Phanerochaete chrysosporium*. *FEMS Microbiol. Rev.*, 1994, vol. 13, pp. 137–152.
31. Li D., Alic M., Brown J. A., Gold M. H. Regulation of manganese peroxidase gene transcription by hydrogen peroxide, chemical stress, and molecular oxygen. *Appl. Environ. Microbiol.*, 1995, vol. 61, pp. 341–345.
32. Gopinath K. P., Kathiravan M. N., Srinivasan R., Sankaranarayanan S. Evaluation and elimination of inhibitory effects of salts and heavy metal ions on biodegradation of Congo red by *Pseudomonas* sp. *Mutant. Bioresource Technology*, 2011, vol. 102, pp. 3687–3693.
33. Kurade M. B., Waghmode T. B., Govindwar S. P. Preferential biodegradation of structurally dissimilar dyes from a mixture by *Brevibacillus laterosprus*. *Journal of Hazardous Materials*, 2011, vol. 192, pp. 1746–1755.
34. Telke A. A., Kalyani D. C., Dawkar V. V., Govindwar S. P. Influence of organic and inorganic compounds on oxidoreductive decolorization of sulphurated azo dye C.I. Reactive Orange 16. *Journal of Hazardous Materials*, 2009, vol. 172, pp. 298–309.

Поступила в редакцию 30.06.22; одобрена после рецензирования 01.06.22; принята к публикации 06.09.22
The article was submitted 30.06.22; approved after reviewing 01.06.22; accepted for publication 06.09.22



Известия Саратовского университета. Новая серия. Серия: Химия. Биология. Экология. 2022. Т. 22, вып. 4. С. 437–444

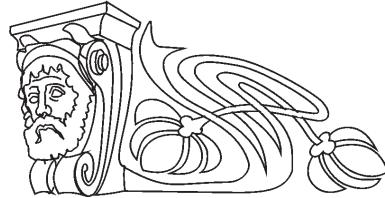
Izvestiya of Saratov University. Chemistry. Biology. Ecology, 2022, vol. 22, iss. 4, pp. 437–444

<https://ichbe.sgu.ru>

<https://doi.org/10.18500/1816-9775-2022-22-4-437-444>, EDN: PNLSMX

УДК 582.929.4:631.529 (477.75)

Особенности биологии развития *Orthosiphon aristatus* (Lamiaceae) в условиях интродукции на Южном берегу Крыма



С. В. Шевченко , А. А. Коростылев, О. М. Шевчук

Никитский ботанический сад – Национальный научный центр РАН, Россия, 298648, г. Ялта, пгт. Никита, Никитский спуск, д. 52

Шевченко Светлана Васильевна, доктор биологических наук, профессор, главный научный сотрудник лаборатории биохимии, физиологии и репродуктивной биологии растений, shevchenko_nbs@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0001-2345-6789>

Коростылев Андрей Андреевич, младший научный сотрудник лаборатории ароматических и лекарственных растений, andkor92@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-0000-7582>

Шевчук Оксана Михайловна, доктор биологических наук, главный научный сотрудник лаборатории ароматических и лекарственных растений, oksana_shevchuk1970@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-3811-3161>

Аннотация. В работе представлены результаты изучения особенностей биологии *Orthosiphon aristatus* (Blume) Miq. (ортосифона остистого) в условиях открытого и защищенного грунта Южного берега Крыма. Выявлены особенности цветения, строения мужских и женских генеративных структур. Установлено, что при выращивании в открытом грунте на фоне регулярного искусственного орошения активный рост и развитие *Orthosiphon aristatus* наблюдается при минимальной температуре воздуха не ниже +15 °C и температуре поверхности почвы не ниже +10 °C. Массовое цветение приходится на 2–3-ю декаду августа. В это время температура воздуха составляет +25 °C. В среднем продолжительность цветения одного растения составляет 25–40 дней. В строении цветка *O. aristatus* наблюдается явление геркогамии, способствующее перекрестному опылению. Спорогенная ткань в микроспорангии представлена одним, очень редко двумя, рядами крупных клеток с четко выраженным ядром и ядрышком. Пыльцевые зерна 3-клеточные, большая их часть стерильна. Семязачаток *O. aristatus* анатропный, унителмальный, медионуцеллярный, проводящий пучок доходит до халазы, четко выражен интегументальный тапетум. Созревание мужских и женских гамет не совпадает по времени, мужские гаметы опережают женские, т.е. наблюдается протандрия. Конец цветения *O. aristatus* приходится на конец сентября – начало октября. В сентябре в условиях теплицы возможно незначительное семяобразование.

Ключевые слова: интродукция, *Orthosiphon aristatus*, Южный берег Крыма, Lamiaceae, генеративные структуры

Благодарности. Авторы выражают благодарность коллегам из Пятигорского ботанического сада за предоставленный растительный материал. Работа выполнена в рамках государственного задания (№ 0829-2019-0039) Никитского ботанического сада – Национального научного центра РАН.

Для цитирования: Шевченко С. В., Коростылев А. А., Шевчук О. М. Особенности биологии развития *Orthosiphon aristatus* (Lamiaceae) в условиях интродукции на Южном берегу Крыма // Известия Саратовского университета. Новая серия. Серия: Химия. Биология. Экология. 2022. Т. 22, вып. 4. С. 437–444. <https://doi.org/10.18500/1816-9775-2022-22-4-437-444>, EDN: PNLSMX

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

Article

Features of the developmental biology of *Orthosiphon aristatus* (Lamiaceae) under the conditions of introduction on the Southern coast of the Crimea

S. V. Shevchenko , A. A. Korostylev, O. M. Shevchuk

The Nikita Botanical Gardens – National Scientific Center of the RAS, 52 Nikitsky spusk, Nikita, Yalta 298648, Russia

Svetlana V. Shevchenko, shevchenko_nbs@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0001-2345-6789>

Andrey A. Korostylev, andkor92@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-0000-7582>

Oksana M. Shevchuk, oksana_shevchuk1970@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-3811-3161>

Abstract. The paper presents the results of the study of the biological features of *Orthosiphon aristatus* (Blume) Miq. (awned orthosiphon) in open ground conditions on the Southern Coast of the Crimea and in a greenhouse. Features of flowering, structure of male and female generative structures are revealed. It has been established that when grown in open ground against the background of regular artificial irrigation, active growth and development of *Orthosiphon aristatus* is observed at a minimum air temperature not lower than +15 °C and a soil surface temperature not lower than +10 °C. Mass flowering falls on the 2nd–3rd decade of August. At this time, the air temperature is +25 °C. On average, the duration



of flowering of one plant is 25–40 days. In the structure of the flower of *O. aristatus*, the phenomenon of hercogamy is observed, which promotes cross-pollination. Sporogenous tissue in microsporangium is represented by one, very rarely two, rows of large cells with a clearly defined nucleus and nucleolus. Pollen grains are 3-celled, most of them are sterile. The ovule of *O. aristatus* is anatropic, unigynous and media-nucellar, the vascular bundle reaches chalaza and the integumental tapetum is clearly expressed. The maturation of male and female gametes does not coincide in time, protandry is observed. The end of flowering of *O. aristatus* falls at the end of September – the beginning of October. In September, in protected ground conditions, slight seed formation is possible.

Keywords: introduction, *Orthosiphon aristatus*, Southern coast of the Crimea, Lamiaceae, generative structures

Acknowledgements: The authors express their gratitude to colleagues from the Pyatigorsk Botanical Garden for the plant material provided. The present study was carried out within the framework of the institutional research project (n. 0829-2019-0039) of the Nikita Botanical Gardens – National Scientific Center of the Russian Academy of Sciences.

For citation: Shevchenko S. V., Korostylev A. A., Shevchuk O. M. Features of the developmental biology of *Orthosiphon aristatus* (Lamiaceae) under the conditions of introduction on the Southern coast of the Crimea. *Izvestiya of Saratov University. Chemistry. Biology. Ecology*, 2022, vol. 22, iss. 4, pp. 437–444 (in Russian). <https://doi.org/10.18500/1816-9775-2022-22-4-437-444>, EDN: PNLSMX

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

Введение

Одна из актуальных на сегодняшний день проблем – это сохранение и увеличение биологического разнообразия, основным направлением решения которой является интродукция растений и расширение их ареала. В связи с наблюдаемым в настоящее время изменением климата особенно актуально введение в культуру декоративных, эфиромасличных и лекарственных растений. Очень перспективным в этом отношении является семейство Lamiaceae, к которому относится множество ценных растений с разнообразными возможностями использования. Одно из таких ценных лекарственных растений – это *Orthosiphon aristatus* (Blume) Miq. (ортосифон остистый), которое широко применяется при лечении атеросклероза и гипертонической болезни, сопровождающихся нарушениями функции почек и печени. Рекомендуется совместное применение почечного чая с сердечными гликозидами при сердечно-сосудистой недостаточности. Настой почечного чая малотоксичен, обладает большой широтой терапевтического действия и при длительном применении не вызывает побочных эффектов. Кроме того, растение весьма декоративно в период цветения, что позволяет применять его в садово-парковом хозяйстве. В связи с этим актуальным является выявление особенностей формирования генеративных структур, плодо- и семяобразования, и как следствие, определение оптимального способа размножения для последующего культивирования этого ценного растения в условиях Южного берега Крыма (ЮБК).

Материалы и методы

Orthosiphon aristatus (Blume) Miq. (ортосифон остистый) – представитель рода *Orthosiphon* подсемейства Ocimoideae (базиликовые) семейства Lamiaceae (губоцветные). По информации базы данных The Plant List синонимом данного вида

является *Orthosiphon stamineus* Benth (ортосифон тычиночный). *O. aristatus* – это вечнозеленый, ветвистый полукустарник, произрастает в естественных условиях Северной Австралии, Южном Китае и Юго-Восточной Азии, на территории СНГ возможно его культивирование в Средней Азии, Грузии и в Крыму. Листья у *O. aristatus* содержат гликозид ортоцифонин, алкалоиды, эфирное и жирные масла, винную и лимонную кислоты, следы танина и др. соединения. Для получения лекарственных препаратов используются листья и флеша (верхушечные облиственные побеги). Исследования проводились в период с 2019 по 2021 гг. на опытном участке лаборатории ароматических и лекарственных растений ФГБУН «Никитский ботанический сад – Национальный научный центр РАН» (НБС). Укорененные черенки ортоцифона остистого высаживали в открытый грунт и в теплицу. Растения культивировали на почвосмеси, в равных частях состоящей из чернозема, торфа и песка. Фенологические наблюдения проводили согласно методическим указаниям интродукционных исследований, разработанных в отделе новых ароматических и лекарственных растений НБС [1]. Особенности цветения изучали согласно методическим рекомендациям Голубева, Волокитина и Пономарева [2–4]. Растительный материал фиксировали растворами Карнума и FAA. Для изучения мужских и женских генеративных структур готовили постоянные препараты по общепринятым методикам [5–7], парафиновые срезы готовили с помощью ротационного полуавтоматического микротома RMD-3000 (Россия). Окрашивали их метиловым зеленым и пиронином [8], а также гематоксилином по разработанной в Ботаническом институте им. В. Л. Комарова (БИН) методике [9] с подкраской аллиановым синим. Анализ препаратов проводили с помощью микроскопа AxioScope A.1



(Carl Zeiss). Микрофотографии получены с помощью системы анализа изображения Axio CamERc 5s (Carl Zeiss).

Результаты и их обсуждение

Естественно *Orthosiphon aristatus* произрастает в области от тропической Азии до тропической Австралии, встречается на опушках, вдоль ручьев и водоемов, не поднимаясь выше 500 м над уровнем океана. Характерными особенностями естественных мест произрастания является отсутствие резких колебаний температуры воздуха и почвы, в течение 9 месяцев идут дожди, их выпадает до 1500–2500 мм в год и как результат этого – высокая относительная влажность воздуха и почвы [10].

В местах естественного произрастания *O. aristatus* достигает 70–120 см высоты, на Южном берегу Крыма культивируется как однолетнее растение, и высота его доходит до 50–65 см (рис. 1).

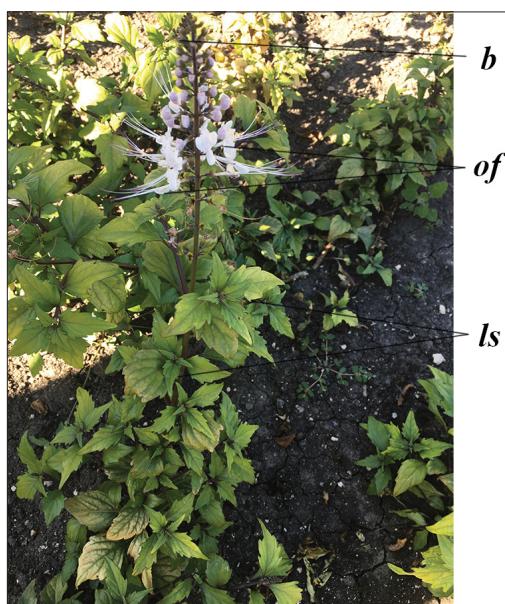


Рис. 1. Общий вид растения *Orthosiphon aristatus* (*b* – бутоны, *of* – раскрытие цветков, *ls* – боковые побеги)

Fig. 1. General view of the plant *Orthosiphon aristatus* (*b* – buds, *of* – open flowers, *ls* – lateral shoots)

Взрослое растение имеет мочковатую корневую систему, ветвистые четырехгранные в нижней части темно-фиолетовые стебли, которые в верхней части зеленые. Листья короткочерешковые, супротивные, с оттянутой верхушкой, клиновидным основанием и крупными зубцами по краю. Цветки бледно-лиловые или бледно-фиолетовые, образуют верхушечные кистевидные

соцветия, в соцветии располагаются двумя супротивными полумутовками, каждая из которых имеет по 2–4 цветка. При каждой мутовке имеются мелкие жесткие прицветники. Закладка и развитие цветков на побеге акропетальное (рис. 2, *a*), и на верхушке побега находятся самые молодые бутоны и цветки (рис. 2, *b*). Во время цветения растение очень декоративно (см. рис. 1 и 2, *b*).

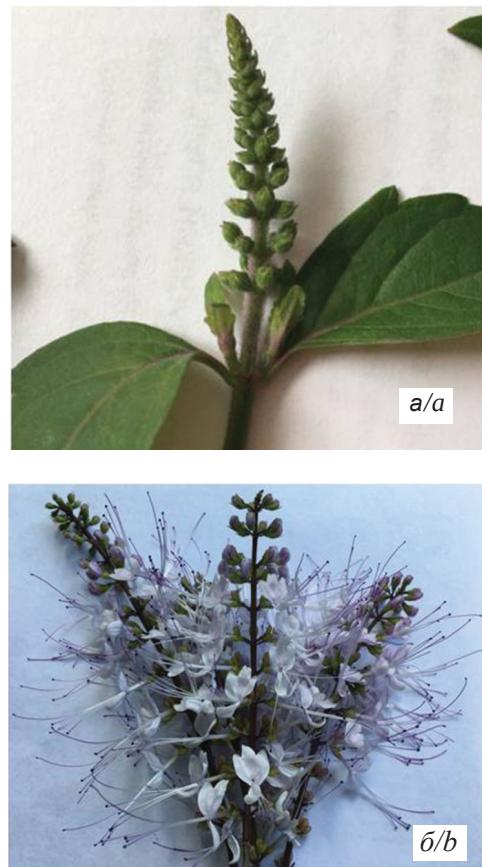


Рис. 2. Фрагменты побегов *Orthosiphon aristatus* на разных стадиях развития

Fig. 2. Fragments of the *Orthosiphon aristatus* shoots at different stages of development

Для получения полноценных генеративных особей в открытом грунте укорененные черенки длиной 15–20 см высаживали в 1–2-й декаде мая, когда минимальная температура воздуха не опускается ниже +10° С, а температура поверхности почвы – не ниже +5° С. Активный рост растений наблюдается уже спустя месяц после посадки. В это время минимальная температура воздуха достигает отметки не ниже +15° С, а минимальная температура на поверхности почвы не опускается ниже +10° С. В теплое время года (с апреля по октябрь) на ЮБК, в сравнении с естественным ареалом вида, наблюдается недостаток атмосфер-



ных осадков для нормального роста и развития растений, в связи с чем возникает потребность в искусственном их орошении. С момента высадки растений в открытый грунт до массового цветения проходит 77–82 дня. Первые бутоны появляются в третьей декаде июля, а спустя 2 недели наблюдается начало цветения. К слову, в естественных местах обитания начало цветения наблюдается на 29–38-й день или примерно через 4–5 недель после посадки [11]. Массовое цветение приходится на 2–3-ю декаду августа. В среднем продолжительность цветения одного растения составляет 25–40 дней. На ЮБК *O. aristatus* формирует соцветие длиной от 7 до 15 см, при этом длительность цветения одного соцветия составляет 8–15 дней, а одного цветка – 2–5 дней. Продолжительность цветения одного цветка и соцветия примерно совпадает с таковыми в условиях Ташкентского оазиса [12].

Цветок *O. aristatus* зигоморфный, чашечка колокольчатая, двугубая, верхняя губа округлая, плоская, нижняя – с четырьмя шиловидными зубцами (рис. 3). Венчик тоже двугубый, с тонкой, прямой трубкой, нижняя губа цельная, немного вогнутая, верхняя – широкая трехлопастная, средняя лопасть с небольшой выемкой (см. рис. 2, б; 4, а). Практически все части цветка покрыты эфиромасличными 4- и 8-клеточными железками.



Рис. 3. Чашечка цветка *Orthosiphon aristatus* (ulc – верхняя губа чашечки, llc – нижняя губа чашечки)

Fig. 3. Calyx of the *Orthosiphon aristatus* (ulc – upper lip of the calyx, llc – lower lip of the calyx)

Как и у многих видов семейства Lamiaceae [13, 14], андроцей четырехчленный, двусильный, представлен четырьмя тычинками с длинными, далеко выступающими из венчика тычиночными нитями, прикрепленными к трубке венчика, две тычинки короче двух других. Завязь верхняя, четырехраздельная, пестик состоит из двух плодолистиков, имеет длинный нитевидный гинобазический столбик, отходящий от основания, а не от верхушки завязи, и двулопастное рыльце (см. рис. 4, б).

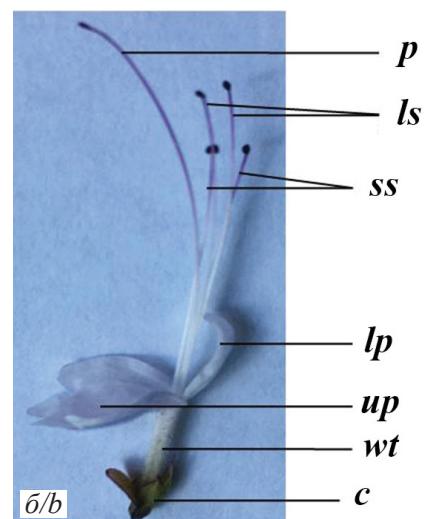


Рис. 4. Фрагменты цветущих побегов *Orthosiphon aristatus* (up – верхний лепесток цветка, lp – нижний лепесток, c – чашечка, ulc – верхняя губа чашечки, llc – нижняя губа чашечки, p – пестик, ls – длинные тычинки, ss – короткие тычинки, wt – трубка венчика)

Fig. 4. Fragments of flowering shoots of the *Orthosiphon aristatus* (up – upper petal of the flower, lp – lower petal, c – calyx, ulc – upper lip of the calyx, llc – lower lip of the calyx, p – pistil, ls – long stamens, ss – short stamens, wt – whisk tube)

Стенка микроспорангия развивается центробежно, и развитая состоит из эпидермиса, эндотекции, одного, изредка двух средних слоев и тапетума, состоящего из радиально вытянутых клеток. Спорогенная ткань представлена одним, очень редко двумя, рядами крупных клеток с четко выраженным ядром и ядрышком (рис. 5).

Стенка микроспорангия зрелого пыльника *O. aristatus* представлена деструктивными сплющенными остатками клеток эпидермиса, покрытого кутикулой, и фиброзным эндотекцием. Фиброзные утолщения особенно четко выражены на стенках, направленных к центру микроспорангия.

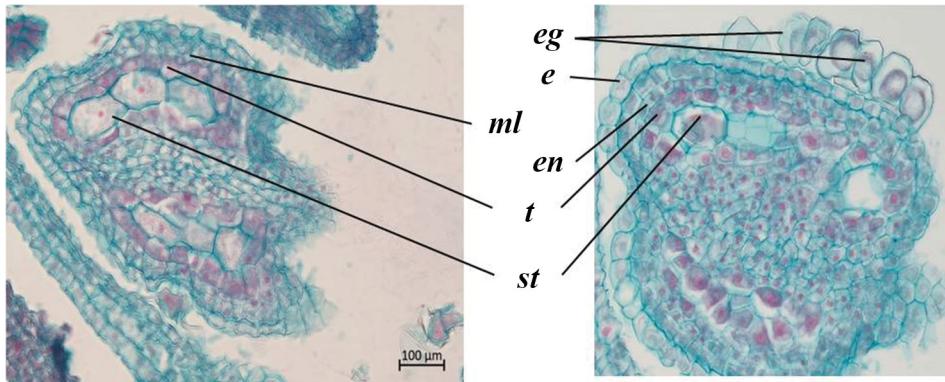


Рис. 5. Поперечные срезы пыльников *Orthosiphon aristatus*: eg – эфиромасличные железки, e – эпидермис, en – эндотеций, ml – средний слой, t – тапетум, st – спорогенная ткань
Fig. 5. Cross sections of the *Orthosiphon aristatus* anthers: eg – essential oil glands, e – epidermis, en – endothecium, ml – middle layer, t – tapetum, st – sporogenous tissue

Зрелая морфологически нормальная пыльца шестиборозднопоровая, с сетчатой экзиной, 3-клеточная, в массе пыльцы иногда встречаются и 2-клеточные пыльцевые зерна. Генеративная клетка крупная, стреловидная, спермии овальные. Оболочка пыльцевого зерна довольно толстая, шиповатая. Следует отметить, что в основном пыльцевые зерна стерильные и только единичные нормальные (рис. 6).

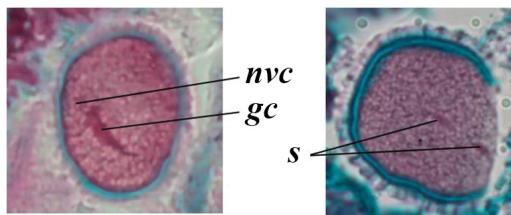


Рис. 6. Пыльцевые зерна *Orthosiphon aristatus*: nvc – ядро вегетативной клетки, gc – генеративная клетка, sp – спермы
Fig. 6. Pollen grains of the *Orthosiphon aristatus*: nvc – the nucleus of the vegetative cell, gc – generative cell, sp – sperms

Семязачаток *O. aristatus* анатропный, унитегмальный, медионукеллярный, проводящий пучок доходит до халазы, четко выражен интегументальный тапетум.

Археспорий одно- или двуклеточный, в результате деления образует первичные париетальную и спорогенную клетки (рис. 7). Спорогенная клетка дифференцируется в мегаспороцит, в котором в результате мейоза формируется тетрада мегаспор.

Тетрада мегаспор чаще всего линейная, но иногда встречаются и Т-образные тетрады.

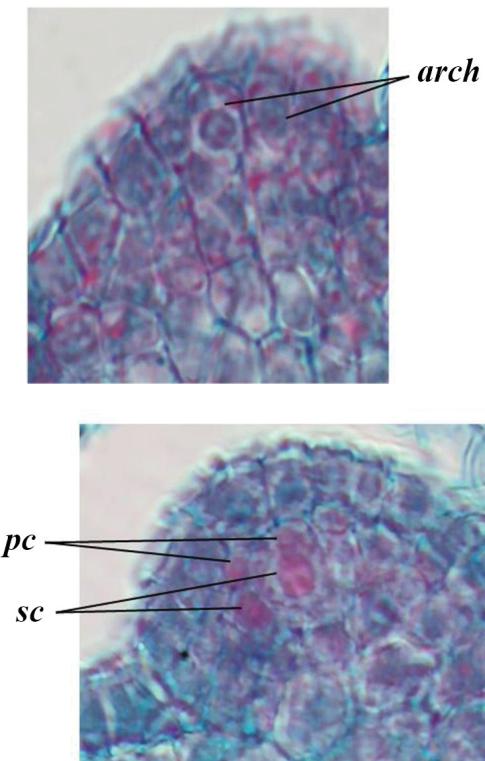
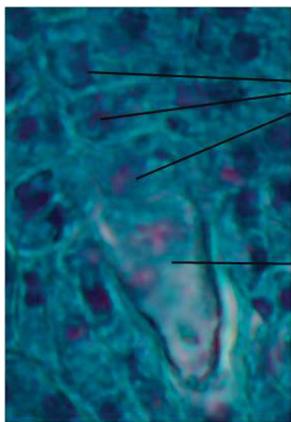


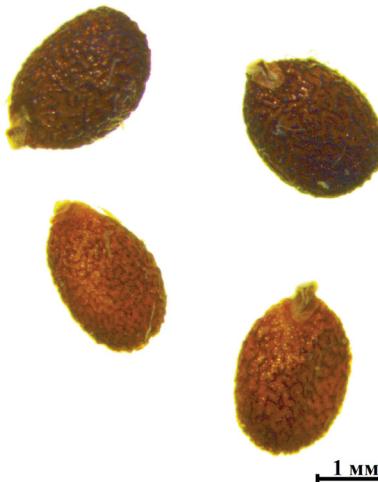
Рис. 7. Дифференциация и деление археспория *Orthosiphon aristatus*: arch – археспорий, pc – париетальные клетки, sc – спорогенные клетки
Fig. 7. Differentiation and division of the archesporium *Orthosiphon aristatus*: arch – archesporium, pc – parietal cells, sc – sporogenous cells

Функционирующей обычно является халазальная мегаспора (рис. 8), формирующая зародышевый мешок Polygonum-типа, в строении которого довольно четко выделяются 3 зоны: зауженные микропилярная и халазальная и округлая центральная.



m

bes



1 MM

Рис. 8. Три мегаспоры и двуядерный зародышевый мешок *Orthosiphon aristatus*:
m – мегаспоры, *bes* – двуядерный зародышевый мешок

Fig. 8. Three megasporangia and a binuclear embryo sac of the *Orthosiphon aristatus*:
m – megasporangia; *bes* – binuclear embryo sac

Полярные ядра обычно сливаются до оплодотворения.

Следует заметить, что у *O. aristatus* ярко выражено явление протандрии – в то время, когда в микроспорангии уже полностью сформирована стенка, в семязачатке только дифференцирован археспорий; когда в микроспорангии мы наблюдаем двухлеточные пыльцевые зерна, в семязачатке – деление археспория; когда в микроспорангиях идет дифференцирующий митоз, в это время в семязачатке сформирована тетрада мегаспор.

Конец цветения *O. aristatus* приходится на конец сентября – начало октября, когда минимальные среднесуточные температуры воздуха опускаются ниже +15° С. Последующее понижение температуры приводит сначала к приостановке роста и развития растений, а затем к их гибели.

По мере цветения при выращивании в теплице на единичных соцветиях в их нижней части могут образовываться плоды. Плод состоит из 1–4 орешков, заключенных в неопадающую чашечку. Цвет молодых незрелых семян варьирует от бледно-зеленого до белого, в то время как цвет зрелых семян может изменяться от красновато-коричневого до темно-коричневого (рис. 9).

При выращивании *O. aristatus* на Южном берегу Крыма в открытом грунте полноценные плоды завязываются чрезвычайно редко и до созревания опадают. Весьма незначительное их количество может формироваться в закрытом грунте при среднесуточной температуре воздуха +25° С.

Рис. 9. Общий вид зрелых семян *Orthosiphon aristatus*

Fig. 9. General view of mature seeds *Orthosiphon aristatus*

Заключение

Анализируя полученные результаты изучения развития *O. aristatus* при выращивании в условиях Южного берега Крыма, следует подчеркнуть, что данный вид можно выращивать, используя в качестве посадочного материала черенки, так как полноценных семян он образует лишь незначительное количество. Поскольку гидротермические условия ЮБК отличаются выраженной климатической сезонностью, довольно низкими температурами в осенне-зимний период и недостаточным количеством осадков, формирование мужских и женских генеративных структур, процессы опыления и последующего оплодотворения проходят с нарушениями, и в конечном итоге значительно ограничивают образование полноценных плодов и семян.

Что касается особенностей формирования генеративных структур, то по основным чертам они подобны другим представителям семейства Lamiaceae: формирование стенки микроспорангия центробежное, и сформированная она включает эпидерму, эндотеций, средний слой и тапетум. Спорогенная ткань однослочная, морфологически нормальная зрелая пыльца, в основном, трехклеточная. Однако большая часть пыльцевых зерен стерильна. Пестик состоит из двух плодолистиков, разделенных перегородками, что приводит к образованию завязи с четырьмя гнездами. Завязь верхняя, столбик гинобазический, с нерасходящимися лопастями рыльца, длинный, выходит за пределы цветка. Зародышевый мешок моноспорический, Polygonum-типа.

Необходимо также подчеркнуть, что в строении цветка *O. aristatus* наблюдается явление геркогамии, а также неодновременное созревание мужских и женских гамет, и в отличие от естественных мест произрастания длительность цветения особи довольно коротка, наличие насекомых-опылителей сомнительно, все это лимитирует эффективное опыление, последующее оплодотворение и формирование плодов и семян.

Кроме того, важными лимитирующими факторами полноценного плодо- и семяобразования *O. aristatus* на ЮБК является сезонная смена времен года, особенно сильно выраженные летняя засуха и относительно низкие температуры в осенне-зимний период, которые не исключают использование вида в качестве источника лекарственного сырья, но только как однолетнего растения с применением в виде сырья листьев и облистенных верхних частей побегов (флешей). Благодаря своему декоративному виду в период цветения *O. aristatus* также может использоваться в садово-парковом хозяйстве.

Список литературы

1. Исиков В. П., Работягов В. Д., Хлыпенко Л. А., Логвиненко И. Е., Логвиненко Л. А., Кутько С. П., Бакова Н. Н., Марко Н. В. 2009. Интродукция и селекция ароматических и лекарственных культур: методологические и методические аспекты. Ялта : Никитский ботанический сад, 110 с.
2. Пономарев А. Н. Изучение цветения и опыления растений // Полевая геоботаника : в 5 т. М. : Изд-во АН СССР, 1960. Т. 2. С. 9–19.
3. Голубев В. Н., Волокитин Ю. С. Методические рекомендации по изучению антэкологических особенностей цветковых растений. Функционально-экологические принципы организации репродуктивной структуры. Ялта : ГНБС, 1986. 38 с.
4. Пономарев А. Н., Демьянова Е. И. Антэкология // Эмбриология цветковых растений. Терминология и концепции. СПб. : Мир и семья, 2000. С. 72–73.
5. Ромейс Б. Микроскопическая техника. М. : Изд-во иностранной литературы, 1954. 718 с.
6. Шевченко С. В., Ругузов И. А., Ефремова Л. М. Методика окраски постоянных препаратов метиловым зеленым и пиронином // Бюл. Гос. Никит. бот. сада. 1986. Вып. 60. С. 99–101.
7. Паушева З. П. Практикум по цитологии растений. М. : Колос, 1990. 283 с.
8. Шевченко С. В., Чеботарь А. А. Особенности эмбриологии маслины европейской (*Olea europaea*) // Цитолого-эмбриологические исследования высших растений. Ялта : ГНБС, 1992. С. 52–61.
9. Жинкина Н. А., Воронова О. Н. 2000. К методике окраски эмбриологических препаратов // Бот. журн. Т. 85, № 6. С. 168–171.
10. Syukur C. Characterization of cat's whiskers plant (*Orthosiphon*) on different growing environment // News Res. Dev. Ind. Plant. 2008. Vol. 14. P. 29–31.
11. Febjislami Shalati, Kurniawati Ani, Melati Maya, Wahyu Yudiwanti. Morphological characters, flowering and seed germination of the Indonesian medicinal plant *Orthosiphon aristatus* // Biodiversitas Journal of Biological Diversity. 2019. Vol. 20. P. 328–337. <https://doi.org/10.13057/biodiv/d200204>
12. Самир Сайед Сайед Эль-Ганайни. Биология почечного чая (*Orthosiphon stamineus* Benth) в условиях Ташкентского оазиса: автореф. дис. ... канд. биол. наук. Ташкент, 1995. 25 с.
13. Камелина О. П. Семейство Lamiaceae // Сравнительная эмбриология цветковых растений. Davidiaeae – Asteraceae. Л. : Наука, Ленинградское изд-ние, 1987. С. 225–236.
14. Ярославцева А. Д. Репродуктивная биология некоторых видов семейства Lamiaceae Lindley: автореф. дис. ... канд. биол. наук. Ялта, 2009. 21 с.

References

1. Isikov V. P., Rabotyagov V. D., Khlypenko L. A., Logvinenko I. E., Logvinenko L. A., Kutko S. P., Bakova N. N., Marko N. V. *Introduksiya i selektsiya aromaticheskikh i lekarstvennykh kultur: metodologicheskie i metodicheskie aspekty* [Introduction and Selection of Aromatic and Medicinal Crops: Methodological and Methodical Aspects]. Yalta, Nikita Botanical Gardens Publ., 2009. 110 p. (in Russian).
2. Ponomarev A. N. Study of flowering and pollination of plants. *Field Geobotany*: in 5 vols. Moscow, Izd-vo AN SSSR, 1960, vol. 2, pp. 9–19 (in Russian).
3. Golubev V. N., Volokitin Yu. S. *Metodologicheskie rekomendacii po izucheniju antekologicheskikh oso-bennostey cvetkovych rastenij. Funkcionalno-ecologicheskie principy organizacii reproductivnoy struktury* [Methodological recommendations for the study of antecological features of flowering plants. Functional and ecological principles of the organization of the reproductive structure]. Yalta, GNBC, 1986. 38 p. (in Russian).
4. Ponomarev A. N., Demyanova E. I. Anteology. In: *Embriologiya tsvetkovykh rastenij. Terminologiya i kontseptsii* [Embryology of Flowering Plants. Terminology and Concepts]. St. Petersburg, Mir and semya Publ., 2000, pp. 72–73 (in Russian).
5. Romeis B. *Mikroskopicheskaya tekhnika* [Microscopic Technique]. Moscow, Izd-vo Inostranoy literatury, 1954. 718 p. (in Russian).
6. Shevchenko S. V., Ruguzov I. A., Efremova L. M. The technique of coloring permanent preparations with



- methyl green and pyronine. *Bulletin of the State Nizhny Botanical Garden*, 1986, iss. 60, pp. 99–101 (in Russian).
7. Pausheva Z. P. *Praktikum po tsitologii rasteniy* [Workshop on Plant Cytology]. Moscow, Kolos Publ., 1990. 283 p. (in Russian).
 8. Shevchenko S. V., Chebotar A. A. Features of the embryology of the European olive (*Olea europaea*). In: *Tsitologo-embriologicheskiye issledovaniya vysshikh rasteniy* [Cytological and Embryological Studies of Higher Plants]. Yalta, Nikita Botanical Garden Publ., 1992, pp. 52–61 (in Russian).
 9. Zhinkina N. A., Voronova O. N. On staining technique of embryological slides. *Botanicheskii Zhurnal*, 2000, vol. 85, no. 6, pp. 168–171 (in Russian).
 10. Syukur C. Characterization of cat's whiskers plant (*Orthosiphon*) on different growing environment. *News Res. Dev. Ind. Plant.*, 2008, vol. 14, pp. 29–31.
 11. Febjislami Shalati, Kurniawati Ani, Melati Maya, Wahyu Yudiwanti. Morphological characters, flowering and seed germination of the Indonesian medicinal plant *Orthosiphon aristatus*. *Biodiversitas Journal of Biological Diversity*, 2019, vol. 20, pp. 328–337. <https://doi.org/10.13057/biodiv/d200204>
 12. Sameer Syed Syed Al-Ganaini. *Biology of Orthosiphon stamineus in the conditions of Tashkent oasis*. Thesis Diss. Cand. Sci. (Biol.). Tashkent, 1995. 25 p. (in Russian).
 13. Kamelina O. P. Family Lamiaceae. In: *Sravnitel'naya embriobiologiya tsvetkovykh rasteniy* [Comparative Embryology of Flowering Plants. Davidiaceae – Asteraceae]. Leningrad, Nauka, Leningradskoe otdelenie Publ., 1987, pp. 225–236 (in Russian).
 14. Yaroslavtseva A. D. *Reproductive Biology of Some Species of the Lamiaceae Lindley family*. Thesis Diss. Cand. Sci. (Biol.). Yalta, 2009. 21 p. (in Russian).

Поступила в редакцию 20.07.22; одобрена после рецензирования 24.07.22; принята к публикации 25.07.22
The article was submitted 20.07.22; approved after reviewing 24.07.22; accepted for publication 25.07.22



Известия Саратовского университета. Новая серия. Серия: Химия. Биология. Экология. 2022. Т. 22, вып. 4. С. 445–454

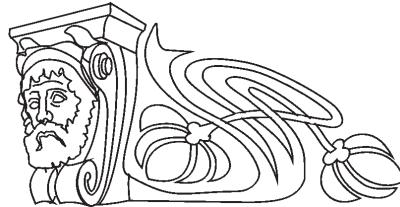
Izvestiya of Saratov University. Chemistry. Biology. Ecology, 2022, vol. 22, iss. 4, pp. 445–454

<https://ichbe.sgu.ru>

<https://doi.org/10.18500/1816-9775-2022-22-4-445-454>, EDN: UTPGJS

Научная статья
УДК 576.08.572.22

Оптимизация методики получения протопластов кукурузы и их нативность после электропорации



Ю. В. Красова^{1,2}, В. В. Фадеев^{1,2}, Е. М. Моисеева², Ю. С. Гусев^{1,2}✉, М. И. Чумаков²

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

²Институт биохимии и физиологии растений и микроорганизмов, ФИЦ «Саратовский научный центр РАН» (ИБФРМ РАН), Россия, 410049, г. Саратов, пр. Энтузиастов, д. 13

Красова Юлия Викторовна, ¹инженер учебно-научной лаборатории биотехнологии и репродуктивной биологии; ²младший научный сотрудник лаборатории биоинженерии, krasova.yuv@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0002-1461-7613>

Фадеев Владимир Васильевич, ¹инженер учебно-научной лаборатории биотехнологии и репродуктивной биологии, ²младший научный сотрудник лаборатории биоинженерии, vvf2593@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0002-9725-3439>

Моисеева Елизавета Михайловна, кандидат биологических наук, старший научный сотрудник лаборатории биоинженерии, em-moiseeva@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0001-9234-4000>

Гусев Юрий Сергеевич, кандидат биологических наук, ¹ведущий биолог учебно-научной лаборатории биотехнологии и репродуктивной биологии, ²старший научный сотрудник лаборатории биоинженерии, gusev_yu@ibppm.ru, <https://orcid.org/0000-0001-7379-484X>

Чумаков Михаил Иосифович, доктор биологических наук, заведующий лабораторией биоинженерии, chumakov_m@ibppm.ru, <https://orcid.org/0000-0002-6396-2851>

Аннотация. Приведены результаты оптимизации методики изоляции протопластов из эпидермальных клеток корней кукурузы (*Zea mays L.*) линии Коричневый маркер (КМ), в ходе которой были проведены скрининговые исследования по подбору состава и концентрации ферментов, соотношения времени ферментативной обработки растительного материала и объема ферментной смеси, концентрации осмотического агента, режима центрифугирования и размера пор фильтра, применяемого при очистке супензии протопластов. Выявлено, что оптимальное время для макерации корневой ткани массой ~ 150 мг – 150 минут. Выход интактных протопластов составил ~ 4,4 ± 0,2 × 10⁵ кл/мл при следующих концентрациях ферментов и осмотического стабилизатора: целлюлаза – 17,4, пектолаза – 1,2, гемицеллюлаза – 0,07, D-маннит – 9,3%. Концентрация протопластов была в 23 раза выше ($p < 0,05$) при обработке растительной ткани в объеме 800 мкл ферментной смеси по сравнению с 200 мкл при равных концентрациях ферментов и осмотического стабилизатора. Установлено, что фильтрация 800 мкл супензии протопластов через фильтр с размерами пор 15×15 мкм увеличивает в 3,3 раза выход протопластов при концентрации ферментов: целлюлаза – 8,7, пектолаза – 0,6, гемицеллюлаза 0,035% по сравнению с фильтром с размерами пор 15×39 мкм. Дробное центрифugирование без предварительной фильтрации раствора и метод флотации не увеличивали количество протопластов при очистке супензии от дебриса. В рамках исследования была проведена оценка остаточного количества протопластов и определена их сохранность после инкубации в течение ~ 20 ч при +3 °C. После электропорации наблюдалось достоверное ($p < 0,05$) уменьшение количества протопластов в 2 раза.

Ключевые слова: протопласти, кукуруза, электропорация, нативность протопластов

Благодарности. Работа выполнена при финансовой поддержке гранта Президента МК-4527.2022.1.4 и Программы фундаментальных исследований Государственных академий наук на 2021–2023 годы (№ 121031700141-7).

Для цитирования: Красова Ю. В., Фадеев В. В., Моисеева Е. М., Гусев Ю. С., Чумаков М. И. Оптимизация методики получения протопластов кукурузы и их нативность после электропорации // Известия Саратовского университета. Новая серия. Серия: Химия. Биология. Экология. 2022. Т. 22, вып. 4. С. 445–454. <https://doi.org/10.18500/1816-9775-2022-22-4-445-454>, EDN: UTPGJS

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

Article

Optimization of the technique for maize protoplast isolation and their nativity after electroporation

Yu. V. Krasova^{1,2}, V. V. Fadeev^{1,2}, Ye. M. Moiseeva², Yu. S. Gusev^{1,2}✉, M. I. Chumakov²

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

²Institute of Biochemistry and Physiology of Plants and Microorganisms, Saratov Scientific Centre of the Russian Academy of Sciences (IBPPM RAS), 13 Prospekt Entuziastov, Saratov 410049, Russia



Yuliya V. Krasova, krasova.yuv@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0002-1461-7613>

Vladimir V. Fadeev, vvf2593@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0002-9725-3439>

Yelizaveta M. Moiseeva, em-moiseeva@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0001-9234-4000>

Yury S. Gusev, gusev_yu@ibppm.ru, <https://orcid.org/0000-0001-7379-484X>

Mikhail I. Chumakov, chumakov_m@ibppm.ru, <https://orcid.org/0000-0002-6396-2851>

Abstract. We optimize the composition and concentration of the enzymes, the time for enzymatic treatment and the volume of the enzyme mixture. We also optimized the concentration osmotic of agent, the centrifugation mode, and filter pore size for protoplasts isolating from epidermal cells of maize roots (*Zea mays* L.) of the Brown Marker (BM) line. It was found that 150 minutes is the optimal time for 150 mg root tissue maceration. The yield of intact protoplasts was $\sim 4.4 \pm 0.2 \times 10^5$ cells/mL at the following concentrations of enzymes and osmotic stabilizer: cellulase – 17.4, pectolase – 1.2, hemicellulase – 0.07, D-mannitol – 9.3%. The the concentration of protoplasts was to 23 times higher ($p < 0.05$) in 800 μl , compared with 200 μl of the enzyme mixture with equal concentrations of enzymes and osmotic stabilizer. It was found that filtration of 800 μl protoplast suspension through a filter with a pore size of 15 \times 15 microns increases the yield of protoplasts up to 3.3 times, compared with a filter with a pore size of 15 \times 39. Fractional centrifugation without preliminary filtration of the solution and the flotation method did not produce an increase in the yield of protoplasts. The residual number and protoplast wholeness after ~ 20 hours at $+3^\circ\text{C}$ incubation was evaluated. The protoplast number decreased up to 2 times ($p < 0.05$) after electroporation.

Keywords: maize, protoplasts isolation, electroporation, protoplast nativity

Acknowledgements: This work was supported from the President of the Russian Federation for state support of young Russian scientists – PhDs (No. grant. MK-4527.2022.1.4) and by the 2021–2023 Basic Research Program of the State Academies of Sciences (No. 121031700141-7).

For citation: Krasova Yu. V., Fadeev V. V., Moiseeva Ye. M., Gusev Yu. S., Chumakov M. I. Optimization of the technique for obtaining maize protoplasts and their nativity after electroporation. *Izvestiya of Saratov University. Chemistry. Biology. Ecology*, 2022, vol. 22, iss. 4, pp. 445–454 (in Russian). <https://doi.org/10.18500/1816-9775-2022-22-4-445-454>, EDN: UTPGJS

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

Введение

На современном этапе развития биотехнологии изолированные протопласти растительных клеток широко используются для научных исследований и в биотехнологических процессах [1]. В протопласти можно относительно легко вводить не только чужеродную ДНК/РНК [2], но и компоненты большего размера, например, хлоропласти [3], антитела [4] и малые молекулы [5], что может существенно повысить эффективность получения новых форм сельскохозяйственных культур. В связи с этим возникает необходимость получения протопластов клеток растений с неповрежденными органеллами, сохраненными функциями плазматической мембранны и процессами метаболизма, что делает актуальными как подбор реагентов и режимов обработки исходного растительного материала, так и оценку нативности получаемых протопластов.

Выбор растительного материала может оказывать решающее влияние на количество, размер, жизнеспособность и способность к регенерации выделенных протопластов. В литературе есть данные о получении протопластов из различных частей растения – листьев, корней, семядолей, гипокотиля, лепестков, черешков, пыльцевых зерен, плодов, а также из каллусных и сусpenзионных культур (на поздней стадии логарифмического роста, когда клеточные стенки легче поддаются деструкции), клеток водорослей, клубеньков бобовых растений, растительных опухолей различного происхождения [6, 7].

Показано, что при выделении протопластов облепихи (*Hippophae rhamnoides* L.) оптимальным является использование в качестве исходного материала каллусной массы, что обеспечивает высокую жизнеспособность интактных клеток и быстрое восстановление клеточной стенки в осмотически нейтральной среде [8].

Существует два основных способа получения протопластов клеток – механический (впервые применил Клеркер в 1892 г. [цит. по 9] при выделении протопластов клеток листа телореза *Stratiotes aloides*), когда у плазмомированных клеток надрезается клеточная стенка и протопласти выходят в среду, и принципиально отличающийся – энзиматический способ получения протопластов (Коккинг, в 1960 г. применил целлюлазу, выделенную из гриба *Myrothecium verrucaria* [10]), при котором клеточная стенка удаляется с помощью ферментов. Ферментативные методы получения протопластов имеют определенные преимущества по сравнению с механическими, такие как возможность единовременного получения большого количества протопластов, отсутствие высокого осмотического давления на формирующиеся протопласти, низкая степень повреждения клеток, сравнительная быстрота метода [11]. В литературе наиболее часто можно встретить описание смешанных (механическо-энзиматических) способов изоляции протопластов, сочетающих в себе ферментативное разрушение клеточной стенки с предварительным измельчением растительной ткани. Для удаления



клеточной стенки используются ферменты трех типов – целлюлазы, гемицеллюлазы и пектиназы. Действие этих ферментов состоит в деструкции основных компонентов клеточной стенки, обеспечивающих ее механическую прочность. Как правило, это препараты зарубежного производства – onozuka R10 (Япония), cellulysin (Швейцария), macerozyme R10 (США), helicase (Франция) или отечественные препараты – ксиланигрин и ксиланаза [12]. Однако в ряде случаев применение пектолитических и целлюлолитических ферментов может не дать положительного результата из-за наличия в клеточных стенках компонентов, не подвергающихся разрушению под действием классических ферментных препаратов. Поэтому подбор ферментов проводят на основании сведений об особенностях тканей и данных, имеющихся в литературе для тканей подобного типа.

Оптимально подобранная концентрация ферментов, pH среды, а также время экспозиции измельченной растительной ткани на среде с ферментами и площадь поверхности фрагмента растительного материала, подвергающейся обработке ферментами, значительно влияют на выход протопластов [13].

Предполагается, что значительные повреждения протопластов при механическо-энзиматическом способе изоляции достигаются не только за счет механических воздействий при измельчении растительной ткани, но и вследствие выделения полифенольных продуктов жизнедеятельности и распада компонентов клеток. Снижению эффекта негативного воздействия веществ, выделяемых клетками в процессе высвобождения протопластов, способствует добавление дитиотреитола (DTT), гидролизата казеина, поливинилпирролидона, бычьего сывороточного альбумина (BSA) и цистеина в среду на различных этапах изоляции и культивирования *in vitro* [8, 13–15]. Показано, что включение в ферментные препараты 0,05% раствора BSA и 0,5 mM раствора DTT улучшает выход протопластов из корней кукурузы примерно на 80% [13], а присутствие BSA улучшает выход протопластов также из ткани листьев кукурузы [14]. Предварительная обработка ткани корней кукурузы в 20 mM растворе цистеина существенно улучшает выход изолированных протопластов, предположительно предотвращая ингибирование ферментов, разрушающих клеточную стенку [15]. В то же время существуют противоречивые данные, доказывающие, что предварительная обработка цистеином малоэффективна в отношении увеличения выхода

протопластов из клеток корней кукурузы, что может быть связано с включением в раствор, содержащий ферменты, BSA и DTT в качестве протекторов [13].

Важным фактором, обеспечивающим максимальный выход протопластов, является правильный подбор концентрации D-маннита, выступающего в качестве осмотического стабилизатора, предотвращающего лизис или плазмолиз протопластов [1]. Стабильности протопластов также способствуют высокие концентрации двухвалентных ионов, действующих на мембранные системы клетки (Ca^{2+} , Mg^{2+}). Использование тиосульфата натрия в качестве антиоксиданта предотвращает повреждение здоровых протопластов гидролитическими ферментами, которые экскретируются поврежденными или лизированными во время выделения клетками [8, 16, 17].

Температурные условия изолирования протопластов могут варьировать в довольно широких пределах и их подбор осуществляется в индивидуальном порядке для определенного вида растительного материала. Снижение температуры инкубации растительной ткани мезофилла листа катарантуса розового (*Catharanthus roseus* L.) в ферментной смеси до 10 °C приводит к заметному возрастанию выхода протопластов, что может быть связано с уменьшением интенсивности деструктивных процессов. В случае чувствительных систем выделение протопластов также проводят при пониженной температуре (8–15° C) [18]. Инкубация ткани листьев табака (*Nicotiana tabacum*) в среде ферментного препарата при 28–30° C [19] и мезофильных тканей листа озимой пшеницы при 50° C в условиях термостата [12] также приводит к максимальному количеству изолированных протопластов. Показано, что большинство протопластов являются стабильными при комнатной температуре (23–28° C) [7].

Таким образом, условия для получения жизнеспособных протопластов растительных клеток со сниженным уровнем повреждения весьма индивидуальны для различных тканей и в каждом случае необходима предварительная работа по их оптимизации [20]. Достоверную оценку жизнеспособности растительных клеток и протопластов дает изучение их способности к регенерации клеточной стенки, делению и последующему органогенезу. Также доступен ряд экспресс-методов, которые позволяют оценить процент жизнеспособных протопластов в суспензии. Эти методы основываются на регистрации метаболической активности, а также



целостности и нативности плазматической мембранны клеток и протопластов [3]. В литературе описаны различного рода витальные красители, часто применяемые для выявления сохранения биохимических процессов и изменяющие свои оптические свойства в результате химических модификаций их структуры. Жизнеспособность выделенных протопластов может быть исследована добавлением красителя Эванса синего, флуоресцина диацетата и нейтрального красного, накапливающегося в вакуолях, акридинового оранжевого, пропидий йодида [3, 13, 21].

Для оценки количества жизнеспособных протопластов также используется метод, основанный на разделении протопластов во время их осаждения в 30% растворе глюкозы в связи с различной плотностью (жизнеспособные протопласти имеют меньшую плотность, чем разрушенные и дебрис), в результате чего интактные клетки формируют компактную зону на поверхности раствора [16]. Показателем жизнеспособности протопластов также является способность к набуханию в гипотонических средах. С помощью метода деплазмолиза в средах со сниженной концентрацией осмотического компонента можно не только определить жизнеспособность протопластов, но и оценить степень повреждения плазмалеммы, в то время как применение витальных красителей не всегда возможно и в ряде случаев дает противоречивые результаты (фрагменты разрушенных клеток могут окрашиваться даже более интенсивно, чем нативные протопласти) [3].

Показано, что протопласти остаются жизнеспособными после трансфекции, что делает возможным их дальнейшее культивирование и размножение растительных тканей [22]. В литературе присутствуют данные об успешном редактировании геномов различных растений, таких как табак, арабидопсис, салат, рис [23], виноград, яблоня [24], картофель [25], пшеница [26], соя и табак [27].

В рамках исследования временной экспрессии генов, получения стабильной трансформации и изучения клеточной физиологии как прокариотических, так и эукариотических (в том числе растительных) организмов широкое применение находит метод электропорации [28–31]. В 1988 г. были получены первые полноценные трансгенные растения кукурузы из изолированных протопластов супензионной культуры эмбриогенных клеток кукурузы инбредной линии A188, успешно трансформированных методом электропорации [32].

В основе метода электропорации лежит воздействие на клетку электрического поля высокой интенсивности, которое временно дестабилизирует мембрану и приводит к образованию пор, при этом мембрана становится проницаема для экзогенных молекул, присутствующих в реакционной среде. В литературе есть данные о гибели около 50% обрабатываемых клеток в результате неравномерной интенсивности воздействующего электрического поля [31]. При этом трансформации подвергаются от 30 до 70% выживших клеток [33] и количество трансформированных клеток находится в зависимости от таких параметров, как напряжение, подаваемое на электрод, напряженность электрического поля, размеры кюветы и время импульса [34]. В связи с этим подбор параметров и условий проведения электропорации может дать приоритетные данные о возможности повышения эффективности геномного редактирования живых организмов.

Материалы и методы

Материалом для исследования послужили растения кукурузы (*Zea mays L.*) линии Коричневый маркер (КМ), созданной Чейзом [35] и полученной из Национального зернового центра имени П. П. Лукьяненко (Краснодар, Россия). Протопласти выделяли из эпидермальных клеток корней кукурузы в два этапа по методике [36] с нашими модификациями. На первом этапе зерновки (~175 шт.) стерилизовали в 250 мл «Белизны» (действующее вещество – гипохлорит натрия) в стеклянном стакане с периодическим встряхиванием в течение 8 минут. Семена 5-кратно промывали эквивалентным объемом (250 мл) воды и помещали на лист смоченной водой фильтровальной бумаги, распределяли в ряд по краю длинной стороны бумаги, сверху накрывали листом бумаги. Листы бумаги сворачивали в рулон и обвязывали лентой чуть ниже уровня семян, на уровне нижней части бумаги. Каждый рулон заворачивали в слой фольги для предотвращения попадания на корни прямых солнечных лучей и помещали в пластиковый контейнер, наполненный водой до уровня $\frac{1}{4}$ высоты рулона (7 рулонов по ~25 зерен). Зерновки инкубировали в течение 5 суток при 24° С при интенсивности освещенности 4400 лк (продолжительность светового дня – 16 ч). На 6-е сутки наблюдали хорошо развитые первичные, вторичные и придаточные корни.

На втором этапе производили измельчение корневой ткани с помощью скальпеля для облегчения доступа смеси ферментов к клеткам



корня и получения протопластов в растворе ферментной смеси. Первичные корни длиной 4–5 мм (~ 150 мг) переносили в пробирку Eppendorf (0,6 мл), содержащую 200 мкл раствора для предварительной обработки (сorbit D (+) (Реахим, Россия (ч)), 2,9%; L-цистейн (Диаэм, Россия), 0,03%, и инкубировали при комнатной температуре в течение 45 мин.

После обработки раствор удаляли пипеткой, избегая повреждения ткани корней, корни промывали дистиллированной водой, помещали на чашку Петри, содержащую 200, 800 мкл раствора для ферментной обработки (маннитол D (-) (Реахим, Россия (ч)), 7,3%; 2-morpholin-4-ylethanesulfonic acid (MES) (Helicon, Россия), 0,4%; KCl (Реахим, Россия (ч)) 0,06%, CaCl₂ (Реахим, Россия) 0,04%; BSA (Serva, Германия), 0,00004%, pH раствора – 5,7; целлюлаза из *Trichoderma viride* 1,8 ед/мг (Serva, Германия), 8,7%; 17,4%; пектолаза из *Rhizopus* sp. 0,456 ед/мг (Sigma, США), 0,6%; 1,2%; гемицеллюлаза из *Aspergillus niger* 1,5 ед/мг (Sigma, США), 0,035%; 0,07%) и разрезали скальпелем на сегменты ~ 1 мм, затем переносили в стеклянную пробирку 5 мл и инкубировали под наклоном при покачивании 60 об/мин (временной интервал – от 90 мин до ~ 20 ч). Предварительно проводили скрининговые исследования для поиска оптимальных концентраций ферментов и осмотического агента для наибольшего выхода жизнеспособных клеток.

После инкубации среду несколько раз перемешивали до помутнения. Раствор, содержащий корни и протопласти, фильтровали через нейлоновые фильтры с размерами пор 15 × 15 мкм, 15 × 39 мкм. Также применяли дробное центрифugирование без предварительной фильтрации раствора с протопластами по схеме: центрифugирование 300 g в течение 5 мин далее центрифugирование супернатанта 500 g в течение 3 мин.

С целью очистки раствора протопластов от клеточных обломков был применен метод флотации, основанный на более низкой плотности протопластов, чем плотность органелл или остатков клеточных стенок. После фильтрации раствор, содержащий протопласти, центрифугировали (500 g в течение 3 мин), осадок ресусспендировали в 100 мкл раствора для отмычки: маннитол D (-) (Реахим, Россия), 7,3%, 8,3%, 9,3%, 10,3%, 11,3%; MES (Helicon, Россия), 0,4%; KCl (Реахим, Россия (ч)), 0,15%; CaCl₂ (Реахим, Россия), 0,11%; BSA (Serva, Германия), 0,00001%; pH раствора 5,7. Далее отфильтрованный раствор насылаивали

(пипеткой по стенке, не смешивая с раствором маннитола) поверх 200 мкл 20% раствора маннитола и центрифугировали (300 g в течение 3 мин). Пипеткой на 200 мкл отбирали интерфазу, расположенную между слоем раствора маннитола и слоем отмычного раствора.

Подсчет протопластов проводили на микроскопе DM 2500 (Leica, Германия) при увеличении 100 – 400× на камере Горяева по 16 большим ($S = 0,16 \text{ mm}^2$) квадратам, включающим 256 малых квадратов, расположенным по диагонали (учитывали протопласти, расположенные либо полностью внутри квадрата, либо на верхней и правой границах квадрата). При подсчете использовали формулу [37]:

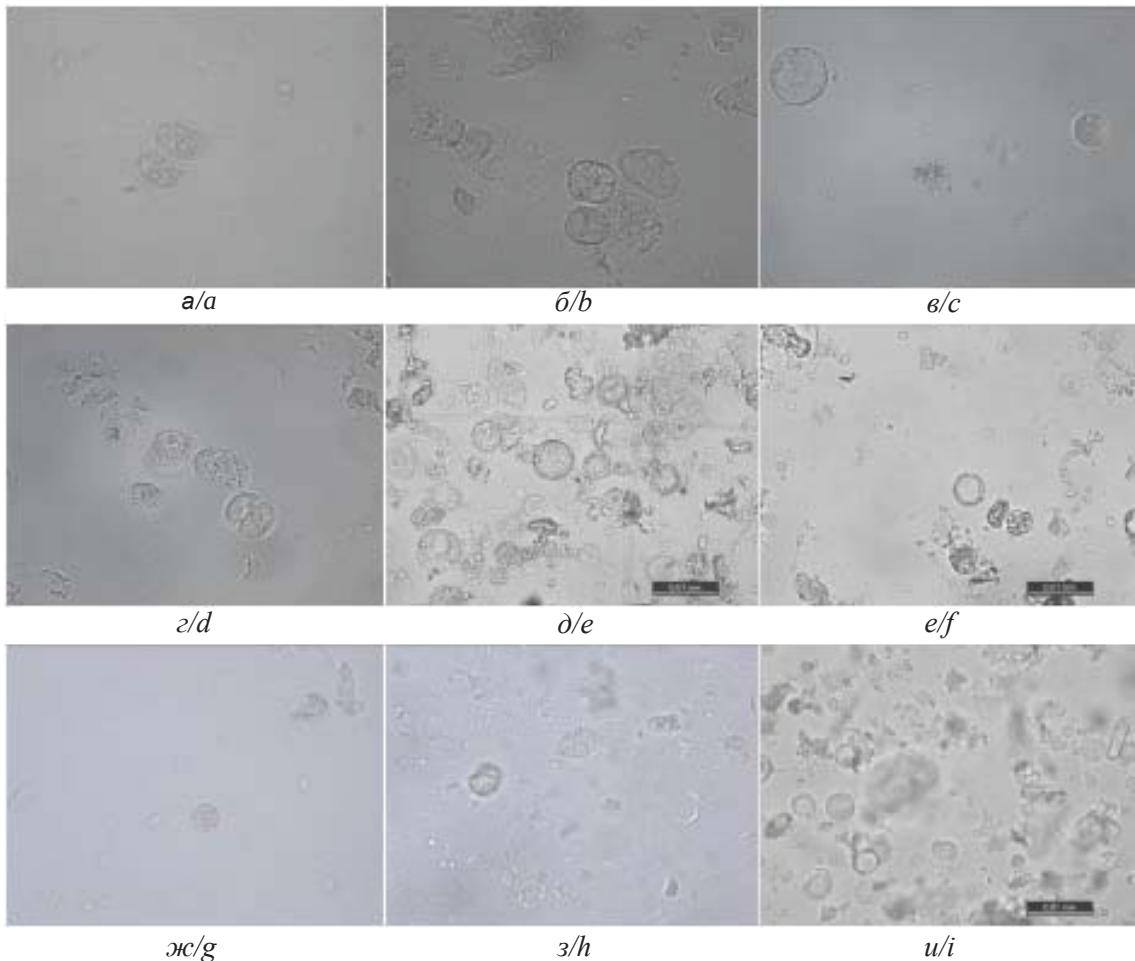
$$N = a \times 10^3 / h \times S,$$

где N – искомое количество протопластов в 1 мл суспензии, a – среднее количество клеток в квадрате сетки, 10^3 – коэффициент перевода [cm^3] в [mm^3], h – глубина камеры, мм, S – площадь квадрата сетки, mm^2 .

Электропорацию протопластов проводили с помощью электропоратора MicroPulser (Bio-Rad, США) в кювете с шириной зазора между электродами 5 мм. Кювету предварительно охлаждали на льду, 150 мкл суспензии протопластов помещали в кювету и подвергали электропорации при напряжении 250 В и времени импульса 5 мс (0,5 кВ/см). После электропорации кювету переносили на лед, отбирали 20 мкл и проводили оценку количества протопластов на микроскопе DM 2500 (Leica, Германия) при помощи камеры Горяева. Оставшееся количество суспензии протопластов инкубировали в течение ночи при температуре + 3°C для проведения оценки остаточного количества протопластов. Статистическую обработку результатов осуществляли с использованием программ Microsoft Office Excel 2010.

Результаты и их обсуждение

Существенным моментом, обеспечивающим выделение максимального количества протопластов, является правильное сочетание ферментов, разрушающих клеточную стенку растений, а также поддержание клетки в состоянии плазмолиза путем создания повышенного осмотического давления снаружи клетки. На степень мацерации растительной ткани также в значительной степени влияет время ферментативной обработки. Зависимость количества изолированных клеток от длительности обработки была исследована во временном интервале 90–180 мин (рисунок, а–г).



Протопласти, полученные после ферментативной обработки в течение 90 мин (а), 120 мин (б), 150 мин (в), 180 мин (г); протопласти, полученные после ферментативной обработки в течение 150 мин в объеме 800 мкл ферментативного раствора с концентрацией ферментов 1 ($3,6 \times 10^5$ кл/мл) (д), в объеме 200 мкл ферментативного раствора с концентрацией ферментов 1 ($15,6 \times 10^3$ кл/мл) (е); протопласти, обнаруженные в осадке после ферментативной обработки в течение 150 мин и первого раунда дробного центрифугирования 300 g × 5 мин (ж); протопласти, обнаруженные в интерфазе после ферментативной обработки в течение 150 мин и второго раунда дробного центрифугирования с 20% раствором маннитола 300 g × 3 мин (з); протопласти (800 мкл ферментативного раствора, конц. 2) после инкубации при +3 °C в течение ночи ($3,4 \times 10^5$ кл/мл) (и). Микроскопия выполнена на микроскопе DM 2500 (Leica, Германия) при увеличении 400×

Figure. Protoplasts obtained after enzymatic treatment during 90 min (a), 120 min (b), 150 min (c), 180 min (d); protoplasts obtained after enzymatic treatment during 150 min in 800 μ L of an enzymatic solution with an enzyme concentration No.1 ($3,6 \times 10^5$ cell/mL) (e), in 200 μ L of an enzymatic solution with an enzyme concentration No. 1 ($15,6 \times 10^3$ cell/mL) (f); protoplasts found in sediment after enzymatic treatment during 150 min and the first centrifugation (300 g for 5 min) (g); protoplasts found in the interphase after enzymatic treatment during 150 min and the second centrifugation with 20% mannitol solution (300 g for 3 min) (h); protoplasts (800 μ L of enzyme solution, conc. 2) after overnight incubation at +3 °C ($3,4 \times 10^5$ cells/mL) (i). Microscopy was performed at DM 2500 microscope (Leica, Germany) with a 400× magnification

Показано, что оптимальное время для мацерации корневой ткани кукурузы (*Zea mays L.*) линии КМ массой ~ 150 мг составляет 150 мин., при этом максимальный выход протопластов эпидермальных клеток достигается при концентрации осмотического стабилизатора – 9,3% (D-маннит).

Объем смеси, в котором происходит процесс ферментации, также оказывал существенное влияние на выход протопластов. В варианте объема 800 мкл наблюдали концентрацию протопластов достоверно ($p < 0,05$) в 23 раза выше относительно варианта 200 мкл при прочих равных условиях (см. рисунок,



д–е). В таблице приведены данные по выходу протопластов в зависимости от концентрации ферментов, объема ферментной смеси

и размера пор фильтра (время экспозиции корневой ткани при ферментной обработке – 150 мин).

Выход протопластов (кл/мл) в зависимости от концентрации ферментов, объема ферментной смеси и типа фильтра

Table. Yield of protoplasts (cells/mL) depending on the concentration of enzymes, the volume of the enzyme mixture and the type of filter

Концентрация ферментов в составе ферментной смеси, % / The concentration of enzymes in the composition of the enzyme mixture, %	Выход протопластов при ферментной обработке корневой ткани, 10 ³ кл/мл Yield of protoplasts during enzymatic treatment of root tissue, 10 ³ cells/mL			
	Объем ферментативной смеси, мкл / Enzyme mixture volume, µl			
	200 мкл / 200 µl		800 мкл / 800 µl	
	15×15	15×39	15×15	15×39
Целлюлаза / Cellulase – 8,7, Пектолаза / Pectolase – 0,6, Гемицеллюлаза / Hemicellulase – 0,035	15,6 ± 6,5	HO / ND	360 ± 30	110 ± 10
Целлюлаза / Cellulase – 17,4, Пектолаза / Pectolase – 1,2, Гемицеллюлаза / Hemicellulase – 0,07	51 ± 10	63 ± 10	HO / ND	440 ± 20

Примечание. HO – не определяли.

Note. ND – did not define.

Концентрация ферментов, рассчитанная согласно методике [36] на объем ферментативной смеси 200 мкл (целлюлаза – 17,4%, пектолаза – 1,2%, гемицеллюлаза – 0,07% (конц. 2)), дает в 3–4 раз больше выход протопластов по сравнению с вдвое сниженной концентрацией (целлюлаза – 8,7%, пектолаза – 0,6%, гемицеллюлаза – 0,035% (конц. 1)) (см. таблицу). Следует отметить, что среди выделенных протопластов присутствовало множество клеток с поврежденной клеточной стенкой, не поддающихся деплазмолизу.

В работе были также применены различные фильтры при очистке суспензии протопластов от немацерированной ткани и дебриса (размеры пор – 15 × 15, 15 × 39). Установлено, что при фильтрации 800 мкл суспензии протопластов использование фильтра с размерами пор 15 × 15 мкм увеличивает выход протопластов в 3,3 раза, по сравнению с фильтром с размерами пор 15 × 39 мкм.

С целью очистки раствора протопластов от клеточных обломков наряду с фильтрами с размерами пор 15 × 15 и 15 × 39 мкм было применено дробное центрифugирование без предварительной фильтрации. При этом предполагалось, что непереваренная ткань и дебрис остаются в супернатанте после второго раунда центрифugирования, а протопласти выпадают в осадок. Тем не менее, протопласти уходили в осадок уже

при первом центрифугировании (см. рисунок, ж). Апробирован метод флотации, основанный на более низкой плотности протопластов, чем плотность органелл или остатков клеточных стенок. Протопласти были обнаружены в осадке после первого раунда центрифугирования и в интерфазе после центрифугирования с 20 % раствором маннитола (с тем же количеством клеточных обломков, которое было до флотации) (см. рисунок, з).

Микроскопическая оценка в камере Горяева остаточного количества протопластов, полученных после ферментной обработки в 800 мкл ферментного раствора с повышенной концентрацией ферментов (конц. 2), показала сохранность клеток после инкубации при +3 °C в течение ~20 ч (см. рисунок, и). Остаточное количество протопластов после проведения электропорации достоверно ($p < 0,05$) снижалось в 1,7 раза до $\sim 1,2 \pm 0,1 \times 10^5$ кл/мл (при исходной концентрации протопластов в суспензии $\sim 2 \pm 0,2 \times 10^5$ кл/мл).

Заключение

При оптимизации методики получения протопластов эпидермальных клеток корней кукурузы (*Zea mays L.*) линии КМ были проведены скрининговые исследования по подбору состава и концентрации ферментов, соотношения времени ферментативной обработки расти-



тельного материала и объема ферментной смеси, концентрации осмотического агента, режима центрифугирования и размера пор фильтра, применяемого при очистке суспензии протопластов. Выход интактных протопластов составил $\sim 4,4 \times 10^5$ кл/мл (концентрация ферментов и осмотического стабилизатора: целлюлаза – 17,4%, пектолаза – 1,2%, гемицеллюлаза – 0,07%, D-маннит – 9,3%; объем ферментативной смеси – 800 мкл; размеры пор фильтра – 15 × 39 мкм). Концентрация протопластов наблюдалась в 23 раза выше ($p < 0,05$) при обработке растительной ткани в объеме 800 мкл ферментной смеси по сравнению с 200 мкл при равных концентрациях ферментов и осмотического стабилизатора. Оценка остаточного количества протопластов показала сохранность клеток после инкубации в течение ~ 20 ч при +3° С. После проведения электропорации количество протопластов достоверно уменьшалось в 2 раза ($p < 0,05$).

Список литературы

1. Davey M. R., Anthony P., Patel D., Power J. B. Plant protoplasts: isolation, culture and plant regeneration // Plant Cell Culture: Essential Methods. New York : Wiley-Blackwell, 2010. P. 153–173.
2. Bailey-Serres J., Dawe R. K. Both 5' and 3' sequences of maize *adh1* mRNA are required for enhanced translation under low-oxygen conditions // Plant Physiol. 1996. Vol. 112. P. 685–695. <https://doi.org/10.1104/pp.112.2.685>
3. Кудряшов А. П., Шапчиц М. П. Оценка нативности протопластов и клеток растений // Труды Белорусского государственного университета: научный журнал. 2009. Т. 4, № 2. С. 1–6.
4. Maccarrone M., Veldink G. A., Agro A. F., Vliegenthart J. F. G. Lentil root protoplasts, a transient expression system suitable for coelectroporation of monoclonal antibodies and plasmid molecules // Biochem. Biophys. Acta. (BBA). 1995. Vol. 1243. P. 136–142. [https://doi.org/10.1016/0304-4165\(94\)00124-G](https://doi.org/10.1016/0304-4165(94)00124-G)
5. Jang J.-C., Sheen J. Sugar sensing in higher plants // Plant Cell. 1994. Vol. 6. P. 1665–1679. <https://doi.org/10.1105/tpc.6.11.1665>
6. Ziv M., Altman A. Tissue culture General Principles // Encyclopedia of Applied Plant Sciences Elsevier Science Ltd. 2003. P. 1341–1353. <https://doi.org/10.1016/B0-12-227050-9/00213-1>
7. Reed K. M., Bargmann B. O. R. Protoplast regeneration and its use in new plant breeding technologies // Frontiers in Genome Editing. 2021. Vol. 3. P. 1–26. <https://doi.org/10.3389/fgeed.2021.734951>
8. Скапцов М. В., Смирнов С. В., Кузев М. Г. Получение протопластов облепихи (*Hippophae rhamnoides* L.) // Turczaninowia. 2013. Т. 16, № 3. С. 152–156. <https://doi.org/10.14258/turczaninowia.16.3.20>
9. Papadakis A., Reustle G., Roubelakis-Angelakis K. A. Protoplast technology in grapevine // Molecular Biology & Biotechnology of the Grapevine. Springer, Dordrecht, 2001. Ch. 14. P. 353–392. https://doi.org/10.1007/978-94-017-2308-4_14
10. Cocking E. A. Method for the isolation of plant protoplasts and vacuoles // Nature. 1960. Vol. 187. P. 962–963.
11. Bhojwani S. S., Razdan M. K. Protoplast isolation and culture // Studies in Plant Science. 1996. Vol. 5, ch. 12. P. 337–372.
12. Кузнецова Е. А., Парамонов И. Н., Зомитев В. Ю. Оценка использования ферментов целлюлазного комплекса при получении протопластов растений // Технология и товароведение инновационных пищевых продуктов. 2013. № 5. С. 9–12.
13. Gronwald J. W., Leonard R. T. Isolation and transport properties of protoplasts from cortical cells of corn roots // Plant Physiology. 1982. Vol. 70, № 5. P. 1391–1395.
14. Perlin D. S., Spanswick R. M. Labeling and isolation of plasma membranes from corn leaf protoplasts // Plant Physiology. 1980. Vol. 65, № 6. P. 1053–1057.
15. Senn A., Pilet P. E. Isolation and some morphological properties of maize root protoplasts // Zeitschrift für Pflanzenphysiologie. 1980. Bd. 100, № 4. S. 299–310.
16. Скапцов М. В., Кузев М. Г. Получение мезофильных протопластов *Rumex aquaticus* и *Rumex acetosa* сорт «широколистный» // Проблемы ботаники Южной Сибири и Монголии. 2011. № 10. С. 170–173.
17. Ochatt S. J., Caso O. H. Shoot regeneration from leaf mesophyll protoplasts of wild pear (*Pyrus communis* var. *pyraster* L.) // Journal of Plant Physiology. 1986. Vol. 122, № 3. P. 243–249. [https://doi.org/10.1016/S0176-1617\(86\)80123-7](https://doi.org/10.1016/S0176-1617(86)80123-7)
18. Молчан О. В., Ромашко С. Н., Кенькова М. А., Юрин В. М. Иммобилизация протопластов мезофилла листа *Catharanthus roseus* // Известия Национальной академии наук Беларуси. Серия биологических наук. 2010. № 4. С. 45–49.
19. Rao K. S., Prakash A. H. A simple method for the isolation of plant protoplasts // Journal of Biosciences. 1995. Vol. 20. P. 645–655. <https://doi.org/10.1007/BF02703304>
20. Evans D. A., Bravo J. E. Plant protoplast isolation and culture // Intern. Rev. Cytol. Suppl. 2013. Vol. 16. P. 33–53.
21. Прилепский А. Ю., Дроздов А. С., Богатырев В. А., Староверов С. А. Методы работы с клеточными культурами и определение токсичности наноматериалов. СПб. : Университет ИТМО, 2019. 43 с.
22. Kanchiswamy C. N. DNA-free genome editing methods for targeted crop improvement // Plant Cell Rep. 2016. Vol. 35. P. 1469–1474.
23. Woo J. W., Kim J., Kwon S. I., Corvalán C., Cho S. W., Kim H., Kim S.-G., Kim S.-T., Choe S., Kim J.-S. DNA-free genome editing in plants with preassembled CRISPR-Cas9 ribonucleoproteins // Nat. Biotechnol. 2015. Vol. 33. P. 1162–1164. <https://doi.org/10.1038/nbt.3389>
24. Malnoy M., Viola R., Jung M. H., Koo O.-J., Kim S., Kim J.-S., Velasco R., Kanchiswamy C. N. DNA-free



- genetically edited grapevine and apple protoplast using Crispr/Cas9 ribonucleoproteins // *Frontiers Plant Sci.* 2016. Vol. 7, № 1904. P. 1–9. <https://doi.org/10.3389/fpls.2016.01904>
25. Andersson M., Turesson H., Olsson N., Fält A.-S., Ohlsson P., Gonzalez M. N., Samuelsson M., Hofvander P. Genome editing in potato via CRISPR-Cas9 ribonucleoprotein delivery // *Physiol. Plant.* 2018. Vol. 164, № 4. P. 378–384. <https://doi.org/10.1111/ppl.12731>
 26. Liang Z., Chen K., Gao C. Biolistic delivery of CRISPR/Cas9 with ribonucleoprotein complex in wheat // *Methods Mol. Biol.* 2019. Vol. 1917. P. 327–335. https://doi.org/10.1007/978-1-4939-8991-1_24
 27. Kim H., Kim S. T., Ryu J., Kang B.-C., Kim J.-S., Kim S.-G. CRISPR/Cpf1-mediated DNA-free plant genome editing // *Nat. Commun.* 2017. Vol. 8, № 14406. P. 1–7. <https://doi.org/10.1038/ncomms14406>
 28. Данилова С. А. Методы генетической трансформации зерновых культур // *Физиология растений*. 2007. Т. 54, № 5. С. 645–658.
 29. Чесноков Ю. В. Проблемы генетической трансформации растений. Методические подходы (обзор) // *Сельскохозяйственная биология*. 2004. Т. 39, № 1. С. 26–40.
 30. Fromm M., Taylor L. P., Walbot V. Expression of genes transferred into monocot and dicot plant cells by electroporation // *Proceedings of the National Academy of Sciences USA*. 1985. Vol. 82, № 17. P. 5824–5828.
 31. Bates G. W. Plant transformation via protoplast electroporation // *Plant Cell Culture Protocols*. 1999. Vol. 111. P. 359–366. <https://doi.org/10.1385/1-59259-583-9:359>
 32. Rhodes C. A., Pierce D. A., Mettler I. J., Mascarenhas D., Detmer J. J. Genetically transformed maize plants from protoplasts // *Science*. 1988. Vol. 240, № 4849. P. 204–207. <https://doi.org/10.1126/science.283294>
 33. Gomez-Cano L., Yang F., Grotewold E. Isolation and efficient maize protoplast transformation // *Bio-protocol*. 2019. P. e3346–e3346. <https://doi.org/10.21769/BioProtoc.3346>
 34. Lyznik L. A., Kamo K. K., Grimes H. D., Ryan R., Chang K.-L. Hodges T. K. Stable transformation of maize: The impact of feeder cells on protoplast growth and transformation efficiency // *Plant Cell Reports*. 1989. Vol. 8. P. 292–295. <https://doi.org/10.1007/BF00274133>
 35. Chase S. S. Monoploids and monoploid-derivatives of maize (*Zea mays* L.) // *The Botanical Review*. 1969. Vol. 35, № 2. P. 117–168. <https://doi.org/10.1007/BF02858912>
 36. Ortiz-Ramírez C., Arevalo E. D., Xu X., Jackson D. P., Birnbaum K. D. An efficient cell sorting protocol for maize protoplasts // *Current Protocols in Plant Biology*. 2018. Vol. 3, № 3. P. e20072. <https://doi.org/10.1002/cppb.20072>
 37. Пескова Н. Н., Балалаева И. В., Брилкина А. А., Шилягина Н. Ю., Масленникова А. В., Мысягин С. А. Оценка жизнеспособности клеток *in vitro*: учеб.-метод. пособие. Нижний Новгород : Нижегородский госуниверситет, 2020. 25 с.

References

1. Davey M. R., Anthony P., Patel D., Power J. B. Plant protoplasts: isolation, culture and plant regeneration. In: *Plant Cell Culture: Essential Methods*. New York, Wiley-Blackwell, 2010, pp. 153–173.
2. Bailey-Serres J., Dawe R. K. Both 5' and 3' sequences of maize adh1 mRNA are required for enhanced translation under low-oxygen conditions. *Plant Physiol.*, 1996, vol. 112, pp. 685–695. <https://doi.org/10.1104/pp.112.2.685>
3. Kudriashov A. P., Shapchits M. P. Assessment of the nativeness of protoplasts and plant cells. *Proceedings of the Belarusian State University: Scientific journal*, 2009, vol.4, no. 2, pp. 1–6 (in Russian).
4. Maccarrone M., Veldink G. A., Agro A. F., Vliegenthart J. F. G. Lentil root protoplasts, a transient expression system suitable for coelectroporation of monoclonal antibodies and plasmid molecules. *Biochem. Biophys. Acta (BBA)*, 1995, vol. 1243, pp. 136–142. [https://doi.org/10.1016/0304-4165\(94\)00124-G](https://doi.org/10.1016/0304-4165(94)00124-G)
5. Jang J.-C., Sheen J. Sugar sensing in higher plants. *Plant Cell*, 1994, vol. 6, pp. 1665–1679. <https://doi.org/10.1105/tpc.6.11.1665>
6. Ziv M., Altman A. Tissue culture General Principles. In: *Encyclopedia of Applied Plant Sciences Elsevier Science Ltd.*, 2003, pp. 1341–1353. <https://doi.org/10.1016/B0-12-227050-9/00213-1>
7. Reed K. M., Bargmann B. O. R. Protoplast regeneration and its use in new plant breeding technologies. *Frontiers in Genome Editing*, 2021, vol. 3, pp. 1–26. <https://doi.org/10.3389/fgeed.2021.734951>
8. Skaptsov M. V., Smirnov S. V., Kutsev M. G. Obtaining sea buckthorn protoplasts (*Hippophae rhamnoides* L.). *Turczaninowia*, 2013, vol. 16, no. 3, pp. 152–156 (in Russian). <https://doi.org/10.14258/turczaninowia.16.3.20>
9. Papadakis A., Reustle G., Roubelakis-Angelakis K. A. Protoplast technology in grapevine. In: *Molecular Biology & Biotechnology of the Grapevine*. Springer, Dordrecht, 2001, ch. 14, pp. 353–392. https://doi.org/10.1007/978-94-017-2308-4_14
10. Cocking E. A. Method for the isolation of plant protoplasts and vacuoles. *Nature*, 1960, vol. 187, pp. 962–963.
11. Bhojwani S. S., Razdan M. K. Protoplast isolation and culture. *Studies in Plant Science*, 1996, vol. 5, ch. 12, pp. 337–372.
12. Kuznetsova E. A., Paramonov I. N., Zomitev V. Iu. Evaluation of the use of cellulase complex enzymes in the production of plant protoplasts. *Technology and Merchandising of Innovative Food Products*, 2013, no. 5, pp. 9–12 (in Russian).
13. Gronwald J. W., Leonard R. T. Isolation and transport properties of protoplasts from cortical cells of corn roots. *Plant Physiology*, 1982, vol. 70, no. 5, pp. 1391–1395.
14. Perlin D. S., Spanswick R. M. Labeling and isolation of plasma membranes from corn leaf protoplasts. *Plant Physiology*, 1980, vol. 65, no. 6, pp. 1053–1057.
15. Senn A., Pilet P. E. Isolation and some morphological properties of maize root protoplasts. *Zeitschrift für Pflanzenphysiologie*, 1980, vol. 100, no. 4, pp. 299–310.



16. Skaptsov M. V., Kutsev M. G. Obtaining mesophilic protoplasts of *Rumex aquaticus* and *Rumex acetosa* variety "broad-leaved". *Problems of Botany of Southern Siberia and Mongolia*, 2011, no. 10, pp. 170–173 (in Russian).
17. Ochatt S. J., Caso O. H. Shoot regeneration from leaf mesophyll protoplasts of wild pear (*Pyrus communis* var. *pyraster* L.). *Journal of Plant Physiology*, 1986, vol. 122, no. 3, pp. 243–249. [https://doi.org/10.1016/S0176-1617\(86\)80123-7](https://doi.org/10.1016/S0176-1617(86)80123-7)
18. Molchan O. V., Romashko S. N., Ken'kova M. A., Iurin V. M. Immobilization of protoplasts of the mesophyll of the *Catharanthus roseus* leaf. *Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus. Biological Sciences*, 2010, no. 4, pp. 45–49 (in Russian).
19. Rao K. S., Prakash A. H. A simple method for the isolation of plant protoplasts. *Journal of Biosciences*, 1995, vol. 20, pp. 645–655. <https://doi.org/10.1007/BF02703304>
20. Evans D. A., Bravo J. E. Plant protoplast isolation and culture. *Intern. Rev. Cytol. Suppl.*, 2013, vol. 16, pp. 33–53.
21. Prilepskii A. Iu., Drozdov A. S., Bogatyrev V. A., Staroverov S. A. *Metody raboty s kletochnymi kul'turami i opredelenie toksichnosti nanomaterialov* [Methods of working with cell cultures and determination of toxicity of nanomaterials]. St. Petersburg, Universitet ITMO Publ., 2019. 43 p. (in Russian).
22. Kanchiswamy C. N. DNA-free genome editing methods for targeted crop improvement. *Plant Cell Rep.*, 2016, vol. 35, pp. 1469–1474.
23. Woo J. W., Kim J., Kwon S. I., Corvalán C., Cho S. W., Kim H., Kim S.-G., Kim S.-T., Choe S., Kim J.-S. DNA-free genome editing in plants with preassembled CRISPR-Cas9 ribonucleoproteins. *Nat. Biotechnol.*, 2015, vol. 33, pp. 1162–1164. <https://doi.org/10.1038/nbt.3389>
24. Malnoy M., Viola R., Jung M. H., Koo O.-J., Kim S., Kim J.-S., Velasco R., Kanchiswamy C. N. DNA-free genetically edited grapevine and apple protoplast using Crispr/Cas9 ribonucleoproteins. *Frontiers Plant Sci.*, 2016, vol. 7, no. 1904, pp. 1–9. <https://doi.org/10.3389/fpls.2016.01904>
25. Andersson M., Turesson H., Olsson N., Fält A.-S., Ohlsson P., Gonzalez M. N., Samuelsson M., Hofvander P. Genome editing in potato via CRISPR-Cas9 ribonucleoprotein delivery. *Physiol. Plant*, 2018, vol. 164, no. 4, pp. 378–384. <https://doi.org/10.1111/ppl.12731>
26. Liang Z., Chen K., Gao C. Biolistic delivery of CRISPR/Cas9 with ribonucleoprotein complex in wheat. *Methods Mol. Biol.*, 2019, vol. 1917, pp. 327–335. https://doi.org/10.1007/978-1-4939-8991-1_24
27. Kim H., Kim S. T., Ryu J., Kang B.-C., Kim J.-S., Kim S.-G. CRISPR/Cpf1-mediated DNA-free plant genome editing. *Nat. Commun.*, 2017, vol. 8, no. 14406, pp. 1–7. <https://doi.org/10.1038/ncomms14406>
28. Danilova S. A. Methods of genetic transformation of grain crops. *Plant Physiology*, 2007, vol. 54, no. 5, pp. 645–658 (in Russian).
29. Chesnokov Iu. V. Problems of genetic transformation of plants. Methodological approaches (review). *Agricultural Biology*, 2004, vol. 39, no. 1, pp. 26–40 (in Russian).
30. Fromm M., Taylor L. P., Walbot V. Expression of genes transferred into monocot and dicot plant cells by electroporation. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA*, 1985, vol. 82, no. 17, pp. 5824–5828.
31. Bates G. W. Plant transformation via protoplast electroporation. *Plant Cell Culture Protocols*, 1999, vol. 111, pp. 359–366. <https://doi.org/10.1385/1-59259-583-9:359>
32. Rhodes C. A., Pierce D. A., Mettler I. J., Mascarenhas D., Detmer J. J. Genetically transformed maize plants from protoplasts. *Science*, 1988, vol. 240, no. 4849, pp. 204–207. <https://doi.org/10.1126/science.283294>
33. Gomez-Cano L., Yang F., Grotewold E. Isolation and efficient maize protoplast transformation. *Bio-protocol*, 2019, pp. e3346–e3346. <https://doi.org/10.21769/Bio-Protoc.3346>
34. Lyznik L. A., Kamo K. K., Grimes H. D., Ryan R., Chang K.-L. Hodges T. K. Stable transformation of maize: The impact of feeder cells on protoplast growth and transformation efficiency. *Plant Cell Reports*, 1989, vol. 8, pp. 292–295. <https://doi.org/10.1007/BF00274133>
35. Chase S. S. Monoploids and monoploid-derivatives of maize (*Zea mays* L.). *The Botanical Review*, 1969, vol. 35, no. 2, pp. 117–168. <https://doi.org/10.1007/BF02858912>
36. Ortiz-Ramírez C., Arevalo E. D., Xu X., Jackson D. P., Birnbaum K. D. An efficient cell sorting protocol for maize protoplasts. *Current Protocols in Plant Biology*, 2018, vol. 3, no. 3, pp. e20072. <https://doi.org/10.1002/cppb.20072>
37. Peskova N. N., Balalaeva I. V., Brilkina A. A., Shiliagina N. Iu., Maslennikova A. V., Mysyagin S. A. *Otsenka zhiznesposobnosti kletok in vitro: ucheb.-metod. posobie*. [Cell Viability Assessment *in vitro*: educat. and method. manual]. Nizhny Novgorod, Lobachevsky State University of Nizhny Novgorod Publ., 2020. 25 p. (in Russian).

Поступила в редакцию 03.08.22; одобрена после рецензирования 10.08.22; принята к публикации 11.08.22
The article was submitted 03.08.22; approved after reviewing 10.08.22; accepted for publication 11.08.22



Известия Саратовского университета. Новая серия. Серия: Химия. Биология. Экология. 2022. Т. 22, вып. 4. С. 455–459

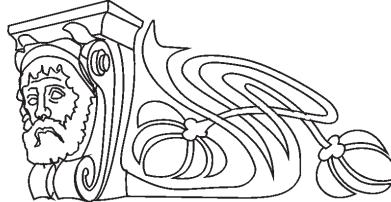
Izvestiya of Saratov University. Chemistry. Biology. Ecology, 2022, vol. 22, iss. 4, pp. 455–459

<https://ichbe.sgu.ru>

<https://doi.org/10.18500/1816-9775-2022-22-4-455-459>, EDN: WCPHBN

Научная статья
УДК 581.9(479)

Образцы тимьянов (*Thymus*, Lamiaceae) из центральной части Российского Кавказа, хранящиеся в Гербарии Института экологии Волжского бассейна РАН (PVB)



В. М. Васюков¹✉, М. И. Никельшпарг²

¹Самарский федеральный исследовательский центр РАН, Институт экологии Волжского бассейна РАН, Россия, 445003, Самарская обл., г. Тольятти, ул. Комзина, д. 10

²Саратовский национальный исследовательский государственный университет имени Н. Г. Чернышевского, Россия, 410012, г. Саратов, ул. Астраханская, д. 83

Васюков Владимир Михайлович, кандидат биологических наук, заведующий лабораторией проблем фиторазнообразия и фитоценологии, vvasjukov@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0002-2688-1673>

Никельшпарг Матвей Ильич, студент биологического факультета, matveynikel@yandex.ru

Аннотация. В результате ревизии гербарных образцов тимьянов (*Thymus*, Lamiaceae), собранных в центральной части Российского Кавказа (Кабардино-Балкарская Республика, Карачаево-Черкесская Республика, Республика Северная Осетия-Алания, Ставропольский край) и переданных в Гербарий Института экологии Волжского бассейна РАН (PVB) определено 17 видов рода *Thymus*: *T. buschianus* Klokov et Des.-Shost., *T. caucasicus* Willd. ex Ronniger, *T. daghestanicus* Klokov et Des.-Shost., *T. elisabethae* Klokov et Des.-Shost., *T. latissimus* Klokov, *T. lipskyi* Klokov et Des.-Shost., *T. mashukensis* Klokov, *T. menitskyi* Vasjukov, *T. nummularius* M. Bieb., *T. osseticus* Vasjukov, *T. pastoralis* Iljin ex Klokov, *T. pseudonummularius* Klokov et Des.-Shost., *T. pseudopulegioides* Klokov et Des.-Shost., *T. rariflorus* K. Koch, *T. teberdensis* Klokov, *T. terekensis* Klokov, *T. transcaucasicus* Ronniger.

Ключевые слова: Lamiaceae, *Thymus*, Гербарий Института экологии Волжского бассейна РАН (PVB), Кабардино-Балкарская Республика, Карачаево-Черкесская Республика, Республика Северная Осетия-Алания, Ставропольский край

Благодарности: Исследования выполнены в рамках государственного задания Министерства науки и высшего образования Российской Федерации: тема Института экологии Волжского бассейна РАН «Структура, динамика и устойчивое развитие экосистем Волжского бассейна», регистрационный номер 1021060107217-0-1.6.19.

Для цитирования: Васюков В. М., Никельшпарг М. И. Образцы тимьянов (*Thymus*, Lamiaceae) из центральной части Российского Кавказа, хранящиеся в Гербарии Института экологии Волжского бассейна РАН (PVB) // Известия Саратовского университета. Новая серия. Серия: Химия. Биология. Экология. 2022. Т. 22, вып. 4. С. 455–459. <https://doi.org/10.18500/1816-9775-2022-22-4-455-459>, EDN: WCPHBN
Статья опубликована на условиях лицензии Creative Commons Attribution 4.0 International (CC-BY 4.0)

Article

Samples of *Thymus* (Lamiaceae) from the central part of the Russian Caucasus, stored in the Herbarium of the Institute of Ecology of the Volga river basin of the Russian Academy of Science (PVB)

V. M. Vasjukov¹✉, M. I. Nikelshparg²

¹Samara Federal Research Scientific Center of RAS, Institute of Ecology of the Volga river basin of RAS, 10 Komzin St., Togliatti, Samara region 445003, Russia

²Saratov State University, 83 Astrakhanskaya St., Saratov 410012, Russia

Vladimir M. Vasjukov, vvasjukov@yandex.ru, [http://orcid.org/0000-0002-2688-1673](https://orcid.org/0000-0002-2688-1673)

Matvey I. Nikelshparg, matveynikel@yandex.ru

Abstract. As a result of the revision of herbarium samples of *Thymus* (Lamiaceae) collected in the central part of the Russian Caucasus (Kabardino-Balkarian Republic, Karachay-Cherkess Republic, Republic of North Ossetia-Alania, Stavropol Territory) and transferred to the Herbarium of the Institute of Ecology of the Volga river basin of the Russian Academy of Sciences (PVB), 17 species of the genus *Thymus* were identified: *T. buschianus* Klokov et Des.-Shost., *T. caucasicus* Willd. ex Ronniger, *T. daghestanicus* Klokov et Des.-Shost., *T. elisabethae* Klokov et Des.-Shost., *T. latissimus* Klokov, *T. lipskyi* Klokov et Des.-Shost., *T. mashukensis* Klokov, *T. menitskyi* Vasjukov, *T. nummularius* M. Bieb., *T. osseticus* Vasjukov, *T. pastoralis* Iljin ex Klokov, *T. pseudonummularius* Klokov et Des.-Shost., *T. pseudopulegioides* Klokov et Des.-Shost., *T. rariflorus* K. Koch, *T. teberdensis* Klokov, *T. terekensis* Klokov, *T. transcaucasicus* Ronniger.



Keywords: Lamiaceae, *Thymus*, Herbarium of the Institute of Ecology of the Volga river basin of the Russian Academy of Sciences (PVB), Russian Caucasus, Kabardino-Balkarian Republic, Karachay-Cherkess Republic, Republic of North Ossetia-Alania, Stavropol Territory

Acknowledgments: Research was carried out within the framework of the state assignment of the Ministry of Science and Higher Education of the Russian Federation: topic of the Institute of Ecology of the Volga river basin of the Russian Academy of Sciences «Structure, dynamics and sustainable development of ecosystems of the Volga Basin» No. 1021060107217-0-1.6.19.

For citation: Vasjukov V. M., Nikelshparg M. I. Samples of *Thymus* (Lamiaceae) from the central part of the Russian Caucasus, stored in the Herbarium of the Institute of Ecology of the Volga river basin of the Russian Academy of Sciences (PVB). *Izvestiya of Saratov University. Chemistry. Biology. Ecology*, 2022, vol. 22, iss. 4, pp. 455–459 (in Russian). <https://doi.org/10.18500/1816-9775-2022-22-4-455-459>, EDN: WCPHBN

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

Введение

Род *Thymus* L. – одна из самых сложных групп Lamiaceae с точки зрения систематики и диагностики.

По нашим данным, во флоре Российского Кавказа насчитывается 33 морфологически, экологически и географически дифференцированных вида рода *Thymus* [1–6]. Большое и оригинальное видовое разнообразие тимьянов Кавказа обусловлено достаточно древним видообразовательным процессом адаптивного характера по горно-пустынному и неморальному географическим типам.

Материалы и методы

В результате ревизии около 100 гербарных образцов тимьянов (*Thymus*), собранных в 2015–2017 гг. в центральной части Российского Кавказа (Кабардино-Балкарская Республика, Карачаево-Черкесская Республика, Ставропольский край) и переданных в Гербарий Института экологии Волжского бассейна РАН (PVB) определено 17 видов, дополняющих представления о составе и распространении отдельных таксонов [1–6].

Ниже приведены сведения об этих гербарных образцах, которые все собрал М. И. Никельшпарг и определил В. М. Васюков.

Результаты и их обсуждение

1. *Thymus buschianus* Klokov et Des.-Shost. (Тимьян Буша):

– Россия, Карачаево-Черкесская Республика, Малокарачаевский р-н, окрестности плато Бермамыт, 2 км от плато в сторону Долины Нарзанов, на южном склоне, 1920 м над ур. м., 28.VII.2015, М. Никельшпарг.

– Россия, Карачаево-Черкесская Республика, Малокарачаевский р-н, окрестности плато Бермамыт, 1 км от плато в сторону Долины Нарзанов, на южном склоне, на камнях, 1898 м над ур. м., 28.VII.2015, М. Никельшпарг.

Общее распространение: Главный Кавказский хребет.

2. *Thymus caucasicus* Willd. ex Ronniger (Тимьян кавказский):

– Россия, Карачаево-Черкесская Республика, Зеленчукский р-н, окр. с. Архыз, южные и юго-восточные склоны в долине реки Малая Дукка, по тропе от коша до слияния Малой Дукки и Дукки, 22.VIII.2017, М. Никельшпарг (2 экз.).

Общее распространение: Главный Кавказский хребет.

3. *Thymus daghestanicus* Klokov et Des.-Shost. (Тимьян дагестанский):

– Россия, Кабардино-Балкарская Республика, Зольский р-н, южный склон в окрестностях Долины Нарзанов, 30.VII.2015, М. Никельшпарг (3 экз.).

– Россия, Кабардино-Балкарская Республика, Зольский р-н, Северное Приэльбрусье, урочище Джилы-Су, близ водопада Султан, 23.VII.2015, М. Никельшпарг.

– Россия, Карачаево-Черкесская Республика, Зеленчукский район, пос. Нижний Архыз, Специальная астрофизическая обсерватория РАН, 26.VIII.2016, М. Никельшпарг.

– Россия, Кабардино-Балкарская Республика, Зольский р-н, Приэльбрусье, по южному склону вблизи водопада Султан и вдоль тропы на Серебряный источник, 30.VI.2017, М. Никельшпарг.

– Россия, Кабардино-Балкарская Республика, Былым, окр. Былымского озера, 29.VI.2018, М. Никельшпарг.

Общее распространение: Скалистый хребет и горы Дагестана (Российский Кавказ).

4. *Thymus elisabethae* Klokov et Des.-Shost. (Тимьян Елизаветы):

– Россия, Кабардино-Балкарская Республика, Баксанское ущелье, 30.VI.2018, М. Никельшпарг.

– Россия, Кабардино-Балкарская Республика, окр. г. Тырныауз, 29.VI.2018, М. Никельшпарг (2 экз.).

Эндемик Скалистого хребта (Российский Кавказ).

5. *Thymus latissimus* Klokov (Тимьян широчайший):

– Россия, Кабардино-Балкарская Республика, Эльбрусский р-н, окр. с. Эльбрус, При-



эльбрусье, ущелье Адыл-Су, на крутом южном склоне около действующей пушки, 27.VI.2017, М. Никельшпарг (4 экз.).

– Россия, Кабардино-Балкарская Республика, окр. Эльбруса, 28.VI.2018, М. Никельшпарг.

– Россия, Кабардино-Балкарская Республика, окр. г. Тырныауз, у озера, 29.VI.2018, М. Никельшпарг.

Эндемик Скалистого хребта (Российский Кавказ).

6. *Thymus lipskyi* Klokov et Des.-Shost. (Тимьян Липского):

– Россия, Кабардино-Балкарская Республика, Эльбрусский район, ущелье Адыл-Су, 15.VI.2016, М. Никельшпарг (2 экз.).

– Россия, Кабардино-Балкарская Республика, перевал с Бымыма на Чегем, Актопрак, 1400 м над ур.м., 30.VI.2018, М. Никельшпарг.

Общее распространение: западная часть Главного Кавказского хребта.

7. *Thymus mashukensis* Klokov (Тимьян машукский):

– Россия, Кабардино-Балкарская Республика, окр. с. Верхняя Балкарья, Черекское ущелье, 16.VI.2016, М. Никельшпарг.

Эндемик Северного и Восточного Кавказа (Российский Кавказ).

8. *Thymus menitskyi* Vasjukov (Тимьян Меницкого):

– Россия, Ставропольский край, г.о. Кисловодск, парк, 31.VI.2017, М. Никельшпарг.

– Россия, Кабардино-Балкарская Республика, Эльбрусский р-н, по дороге из г. Тырныауз на гору в пос. Эльбрус, 12.VI.2016, М. Никельшпарг.

– Россия, Кабардино-Балкарская Республика, Эльбрусский район, ущелье Адыл-Су, 19.VI.2016, М. Никельшпарг (2 экз.).

– Россия, Ставропольский край, г.о. Кисловодск, между пос. Индустря и границей с Карачаево-Черкесской Республикой, вдоль дороги из Кисловодска на Джилы-Су, Кабардинский хребет, 30.VI.2017, М. Никельшпарг (4 экз.).

– Россия, Кабардино-Балкарская Республика, окр. г. Тырныауз, 29.VI.2018, М. Никельшпарг (3 экз.).

Эндемик Российского Кавказа.

9. *Thymus nummularius* M. Bieb. (Тимьян монетный):

– Россия, Карачаево-Черкесская Республика, Малокарачаевский р-н, окрестности плато Бермамыт, 1 км от плато в сторону Долины Нарзанов, на южном склоне, 28.VII.2015, М. Никельшпарг (4 экз.).

– Россия, Кабардино-Балкарская Республика, Зольский р-н, Кавказские минеральные воды,

Долина Нарзанов, предгорья Скалистого хребта Большого Кавказа, долина реки Хасаут (невдалеке от ее впадения в Малку, бассейн реки Терек), 1300 м над ур. м., 21.VII.2015, М. Никельшпарг.

– Россия, Карачаево-Черкесская Республика, пос. Архыз, река Малая Дукка, на южных склонах, 26.VIII.2016, М. Никельшпарг.

– Россия, Кабардино-Балкарская Республика, окр. Эльбруса, 28.VI.2018, М. Никельшпарг.

– Россия, Кабардино-Балкарская Республика, Баксанское ущелье, 30.VI.2018, М. Никельшпарг.

– Россия, Кабардино-Балкарская Республика, перевал с Бымыма на Чегем, Актопрак, 1400 м над ур.м., 30.VI.2018, М. Никельшпарг.

– Россия, Карачаево-Черкесская Республика, Теберда, Мухинское ущелье, 22.VIII.2016, М. Никельшпарг.

Общее распространение: Главный Кавказский хребет.

10. *Thymus osseticus* Vasjukov (Тимьян осетинский):

– Россия, Республика Северная Осетия-Алания, Цейское ущелье, южный склон, 1600 м над ур.м., 04.VII.2018, М. Никельшпарг (2 экз.).

Эндемик Цейского ущелья (Российский Кавказ).

11. *Thymus pastoralis* Iljin ex Klokov (Тимьян пастуший):

– Россия, Ставропольский край, г.о. Кисловодск, пос. Индустря, по дороге на Джилы-Су, место отдыха Бараны, 30.VII.2015, М. Никельшпарг (2 экз.).

– Россия, Карачаево-Черкесская Республика, Зеленчукский р-н, с. Архыз, у входа в пещеру недалеко от села по левому берегу реки Архыз, 1510 м над ур. м., 29.VII.2015, М. Никельшпарг (2 экз.).

– Россия, Кабардино-Балкарская Республика, Зольский р-н, Кавказские минеральные воды, Долина Нарзанов, предгорья Скалистого хребта Большого Кавказа, долина реки Хасаут (невдалеке от ее впадения в Малку, бассейн реки Терек), 2020 м над ур. м., 21.VII.2015, М. Никельшпарг.

– Россия, Карачаево-Черкесская Республика, РФ, пос. Архыз, река Малая Дукка, 22.VIII.2016, М. Никельшпарг.

– Россия, Ставропольский край, г.о. Кисловодск, парк, 31.VI.2017, М. Никельшпарг (6 экз.).

– Россия, Карачаево-Черкесская Республика, Зеленчукский р-н, окр. с. Архыз, место слияния рек Малой Дукки и Дукки (рядом с источником нарзана), 22.VIII.2017, М. Никельшпарг.

Эндемик Скалистого и Пастбищного хребтов, северные предгорья (Российский Кавказ).



12. *Thymus pseudonummularius* Klokov et Des.-Shost. (Тимьян ложномонетный):

– Россия, Кабардино-Балкарская Республика, Зольский р-н, южный склон горы Шатджатмаз, рядом с астрономической станцией Пулковской обсерватории, Долина Нарзанов, 2000 м над ур. м., 30.VII.2015, М. Никельшпарг.

– Россия, Карачаево-Черкесская Республика, Зеленчукский район, пос. Нижний Архыз, Специальная астрофизическая обсерватория РАН, 26.VIII.2016, М. Никельшпарг.

– Россия, Карачаево-Черкесская Республика, Зеленчукский р-н, окр. с. Архыз, Баритовый водопад, в расщелинах скал на южной стороне близ водопада, 25.VIII.2017, М. Никельшпарг.

– Россия, Кабардино-Балкарская Республика, Чегемское ущелье, парадром, 30.VI.2018, М. Никельшпарг.

– Россия, Кабардино-Балкарская Республика, Эльбрус, водопад Девичьи косы, 26.VI.2018, М. Никельшпарг (2 экз.).

– Россия, Карачаево-Черкесская Республика, Домбай, ледник Алибек на Турьем озере, юго-западный склон, 25.VIII.2018, М. Никельшпарг.

Эндемик западной части Главного Кавказского хребта (Российский Кавказ).

13. *Thymus pseudopulegioides* Klokov et Des.-Shost. (Тимьян ложноблошиный):

– Россия, Ставропольский край, г.о. Кисловодск, пос. Индустроля, по дороге на Джилы-Су, место отдыха Бараны, 30.VII.2015, М. Никельшпарг (2 экз.).

– Россия, Кабардино-Балкарская Республика, Зольский р-н, южный склон горы Шатджатмаз, рядом с астрономической станцией Пулковской обсерватории, Долина Нарзанов, 2020 м над ур. м., 30.VII.2015, М. Никельшпарг.

– Россия, Карачаево-Черкесская Республика, пос. Архыз, Софийские водопады, 21.VIII.2016, М. Никельшпарг.

– Россия, Карачаево-Черкесская Республика, Зеленчукский район, пос. Нижний Архыз, Специальная астрофизическая обсерватория РАН, 26.VIII.2016, М. Никельшпарг.

– Россия, Карачаево-Черкесская Республика, Зеленчукский р-н, окр. с. Архыз, Софийские озера, на юго-восточном склоне близ перевала Иргиз, 2800 м над ур. м., 27.VIII.2017, М. Никельшпарг.

– Россия, Карачаево-Черкесская Республика, Зеленчукский р-н, с. Архыз, Специальная астрофизическая обсерватория РАН, склоны горы Пастухова, 2100 м над ур. м., 27.VIII.2017, М. Никельшпарг.

– Россия, Кабардино-Балкарская Республика, Чегемское ущелье, парадром, 30.VI.2018, М. Никельшпарг.

– Россия, Кабардино-Балкарская Республика, Эльбрус, водопад Девичьи косы, 26.VI.2018, М. Никельшпарг.

Общее распространение: Главный Кавказский хребет.

14. *Thymus rariflorus* K. Koch (Тимьян редкоцветковый):

– Россия, Кабардино-Балкарская Республика, Эльбрусский р-н, Приэльбрусье, южный склон горы Чегет, первая станция канатной дороги, вдоль тропы на озеро, 27.VI.2017, М. Никельшпарг.

Общее распространение: горы Малого Кавказа и северной части Малой Азии.

15. *Thymus teberdensis* Klokov (Тимьян тебердинский):

– Россия, Кабардино-Балкарская Республика, Эльбрусский район, ущелье Адыл-Су, 19.VI.2016, М. Никельшпарг.

Эндемик Российского Кавказа.

16. *Thymus terekensis* Klokov (Тимьян тerekский):

– Россия, Кабардино-Балкарская Республика, Баксанское ущелье, 30.VI.2018, М. Никельшпарг (3 экз.).

– Россия, Кабардино-Балкарская Республика, окр. Эльбруса, 30.VI.2018, М. Никельшпарг.

Эндемик Скалистого хребта (Российский Кавказ).

17. *Thymus transcaucasicus* Ronniger (Тимьян закавказский):

– Россия, Карачаево-Черкесская Республика, Мухинское озеро, южный склон, 3100 м над ур. м., 22.VIII.2018, М. Никельшпарг.

Общее распространение: восточная часть Большого Кавказа, Малый Кавказ.

Заключение

В результате ревизии гербарных образцов тимьянов (*Thymus*, Lamiaceae), собранных в центральной части Российского Кавказа (Кабардино-Балкарская Республика, Карачаево-Черкесская Республика, Республика Северная Осетия-Алания, Ставропольский край) и переданных в Гербарий Института экологии Волжского бассейна РАН (ПВБ), определено 17 видов рода *Thymus*.

Список литературы

1. Васюков В. М. Обзор рода *Thymus* (Lamiaceae) Российского Кавказа // Ботанический журнал. 2022. Т. 107, № 5. С. 453–465. <https://doi.org/10.31857/S000681362205009X>



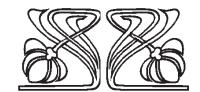
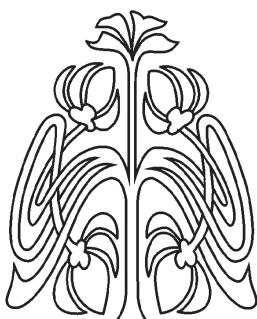
2. Галушкин А. И. Флора Северного Кавказа. Определитель. Ростов н/Д : Ростовский университет, 1980. Т. 3. 328 с.
3. Клоков М. В. Род Тимьян – *Thymus* L. // Флора СССР. под ред. Б. К. Шишкина. Т. 21. М. ; Л. : Изд-во АН СССР, 1954. С. 470–590.
4. Клоков М. В. Рассообразование в роде тимьянов – *Thymus* L. на территории Советского Союза. Киев : Наукова Думка, 1973. 190 с.
5. Меницкий Ю. Л. Обзор видов рода *Thymus* L. (Lamiaceae) флоры Кавказа // Новости систематики высших растений. 1986. Т. 23. С. 117–142.
6. Тер-Хачатурова С. Я. Род *Thymus* L. – Тимьян, Чебрец // Флора Кавказа / под ред. А. А. Гроссгейма. Т. 7. 2-е изд. Л. : Наука, Ленингр. отд-ние, 1967. С. 415–431.
2. Galushko A. I. *Flora Severnogo Kavkaza. Opredelitel* [Flora of the North Caucasus. Keys]. Rostov-on-Don, Rostov University Publ., 1980, vol. 3. 328 p. (in Russian).
3. Klokov M. V. *Thymus* L. In: *Flora SSSR. Pod red. B. K. Schischkina. T. 21* [Schischkin B. K., ed. Flora of USSR. Vol. 21]. Moscow, Leningrad, Izd-vo AN USSR, 1954, pp. 470–590 (in Russian).
4. Klokov M. V. *Rasoobrazovaniye v rode tim'yanov – Thymus L. na territorii Sovetskogo Soyuza* [Race formation in genus *Thymus* L. on the territory of the Soviet Union]. Kiev, Naukova Dumka Publ., 1973. 190 p. (in Russian).
5. Menitsky Yu. L. Review of species of the genus *Thymus* L. (Lamiaceae) flora of the Caucasus. *Novosti sistematiki vysshikh rasteniy*, 1986, vol. 23, pp. 117–142 (in Russian).
6. Ter-Khachaturova S. Ya. Genus *Thymus* L. In: *Flora Kavkaza. Pod red. A. A. Grossheima. T. 7* [Grossheim A. A., ed. Flora of the Caucasus. 2nd ed. Vol. 7]. Leningrad, Nauka, Leningradskoye otdeleniye Publ., 1967, pp. 415–431 (in Russian).

References

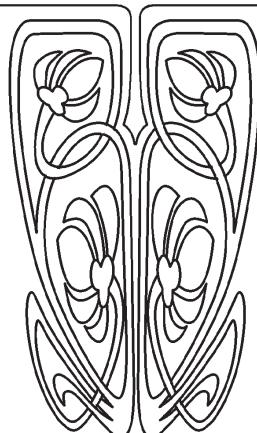
1. Vasjukov V. M. Review of the genus *Thymus* (Lamiaceae) of the Russian Caucasus. *Botanicheskii Zhurnal*, 2022, vol. 107, no. 5, pp. 453–465 (in Russian). <https://doi.org/10.31857/S000681362205009X>

Поступила в редакцию 21.05.22; одобрена после рецензирования 25.05.22; принята к публикации 30.05.22
The article was submitted 21.05.22; approved after reviewing 25.05.22; accepted for publication 30.05.22

ЭКОЛОГИЯ



НАУЧНЫЙ ОТДЕЛ



Известия Саратовского университета. Новая серия. Серия: Химия. Биология. Экология. 2022. Т. 22, вып. 4. С. 460–473

Izvestiya of Saratov University. Chemistry. Biology. Ecology, 2022, vol. 22, iss. 4, pp. 460–473
<https://ichbe.sgu.ru> <https://doi.org/10.18500/1816-9775-2022-22-4-460-473>
EDN: PPNDPQ

Научная статья
УДК 582.572.3+58.002+58.009

Морфологическая изменчивость популяций *Colchicum laetum* Steven (*Colchidaceae*) в Нижнем Поволжье и на прилегающих территориях

А. В. Богослов [✉], А. С. Пархоменко, А. О. Кондратьева,
И. В. Шилова, А. Д. Орлова, А. С. Кашин

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>

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>

Кондратьева Анна Олеговна, ведущий биолог лаборатории микроклонального размножения растений УНЦ «Ботанический сад», popova.ao@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0001-5000-8914>

Шилова Ирина Васильевна, кандидат биологических наук, доцент, ведущий биолог отдела биологии и экологии растений УНЦ «Ботанический сад», schiva1952@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0002-9828-4229>

Орлова Анастасия Дмитриевна, бакалавр кафедры генетики, nastya.orlowa2014@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0003-4225-1409>

Кашин Александр Степанович, доктор биологических наук, профессор кафедры генетики, kashinas2@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0002-2342-2172>

Аннотация. Приведены данные морфологической изменчивости 13 популяций редкого для Российской Федерации вида *Colchicum laetum* Steven на территории Волгоградской области, Республики Калмыкии и Ставропольского края. Отмечена сильная морфологическая изменчивость популяций на территории регионов как на внутри-, так и на межпопуляционном уровне. Судя по всему, гетерогенность окружающей среды в пространстве, как значительном, так и локальном, хорошо ощущается растениями популяций, которые по-разному приспосабливаются к этой неоднородности. Однако выявленное изменение морфологических параметров *C. laetum* вдоль градиента географических координат указывает на то, что, прежде всего, погодно-климатические факторы определяют у данного вида изменчивость морфологических параметров.

Ключевые слова: *Colchicum laetum*, редкий вид, популяция, морфологическая изменчивость

Для цитирования: Богослов А. В., Пархоменко А. С., Кондратьева А. О., Шилова И. В., Орлова А. Д., Кашин А. С. Морфологическая изменчивость популяций *Colchicum laetum* Steven (*Colchidaceae*) в Нижнем Поволжье и на прилегающих территориях // Известия Саратовского университета. Новая серия. Серия: Химия. Биология. Экология. 2022. Т. 22, вып. 4. С. 460–473. <https://doi.org/10.18500/1816-9775-2022-22-4-460-473>, EDN: PPNDPQ

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



Article

Morphological variability of *Colchicum laetum* Steven (Colchidaceae) populations in the Lower Volga region and surrounding territories

A. V. Bogoslov , A. S. Parkhomenko, A. O. Kondratieva, I. V. Shilova, A. D. Orlowa, A. S. Kashin

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

Artem V. Bogoslov, dandelioncave@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-2248-1285>

Alena S. Parkhomenko, parkhomenko_as@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-9948-7298>

Anna O. Kondratieva, popova.ao@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0001-5000-8914>

Irina V. Shilova, schiva1952@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0002-9828-4229>

Anastasiya D. Orlowa, nastyा.орlowa2014@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0003-4225-1409>

Alexandr S. Kashin, kashinas2@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0002-2342-2172>

Abstract. Data on morphological variability of 13 populations of the species *Colchicum laetum* Steven, rare for the Russian Federation, in the territory of the Volgograd region, the Republic of Kalmykia and the Stavropol Territory are presented. A strong morphological variability of populations on the territory of the regions was noted both at the intra- and interpopulation level. Apparently, the heterogeneity of the environment in space, both significant and local, is well felt by plants of populations that adapt to this heterogeneity in different ways. However, the revealed change in the morphological parameters of *C. laetum* along the gradient of geographic coordinates indicates that, above all, weather and climatic factors determine the variability of morphological parameters in this species.

Keywords: *Colchicum laetum*, rare species, population, morphological variability

For citation: Bogoslov A. V., Parkhomenko A. S., Kondratieva A. O., Shilova I. V., Orlowa A. D., Kashin A. S. Morphological variability of *Colchicum laetum* Steven (Colchidaceae) populations in the Lower Volga region and surrounding territories. *Izvestiya of Saratov University. Chemistry. Biology. Ecology*, 2022, vol. 22, iss. 4, pp. 460–473 (in Russian). <https://doi.org/10.18500/1816-9775-2022-22-4-460-473>, EDN: PPNDPQ

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

Введение

Изучение внутривидовой изменчивости редких растений имеет неоспоримое значение в популяционной экологии, поскольку позволяет оценить уровень фенотипической изменчивости, а также установить границы популяций, что в конечном итоге способствует сохранению генофонда редких видов на уровне популяций. При этом основой любой природоохранной деятельности должен выступать долгосрочно продуманный мониторинг, основанный на сборе необходимой информации касательно общего морфологического состояния растений [1–3].

Colchicum laetum Steven – редкий вид. Эндемик России – встречается в степях Северного Кавказа, Нижнего Дона и Нижнего Поволжья. Осенний клубнелуковичный эфемероид, поликарпик, цветущий в сентябре. Листья развиваются весной, сначала узкие, потом разрастаются. Листья в числе 3–4, собраны в розетку, от линейных до широколанцетных, 6–12 мм шириной, нижние – туповатые, верхние – острые. Цветки в числе 1–3, бледно-лиловые или розовые, доли околоцветника эллиптические, остробулавые, (3) 3,5–4 (5) см длиной, в основании сросшиеся в очень длинную и узкую трубку. Столбики тонкие, нитевидные (рис. 1). Плод – коробочка 12–25 мм длиной. Семена очень мелкие, многочисленные [4, 5].

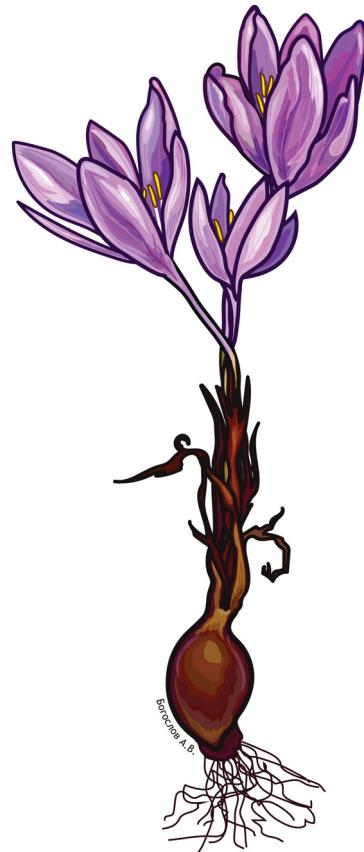


Рис. 1. Внешний вид цветущего генеративного растения *Colchicum laetum*

Fig. 1. Appearance of a flowering generative plant *Colchicum laetum*



Растения *C. laetum* обитают в жаркой сухой степи и полупустыне Нижнего Поволжья на тяжелых солонцовых почвах скучных природных пастбищ с изреженной растительностью. Будет важным отметить, что даже скромные требования к условиям обитания не гарантируют сохранности этого растения в настоящем времени и ближайшем будущем [6].

Материалы и методы

Морфологическую изменчивость количественных признаков растений выявляли на

протяжении весеннего сезона 2021–2022 гг. в 13 популяциях *C. laetum* из Волгоградской области, Республики Калмыкия и Ставропольского края (рис. 2, табл. 1). Морфологические характеристики, с целью поддержания единства оценки, учитывались только у растений генеративного состояния [7]. В каждой популяции снимались морфометрические показатели с 30 растений. Если в популяции количество генеративных особей было меньше 30, то производились промеры имеющегося количества растений. Всего в анализе задействовано 380 образцов.

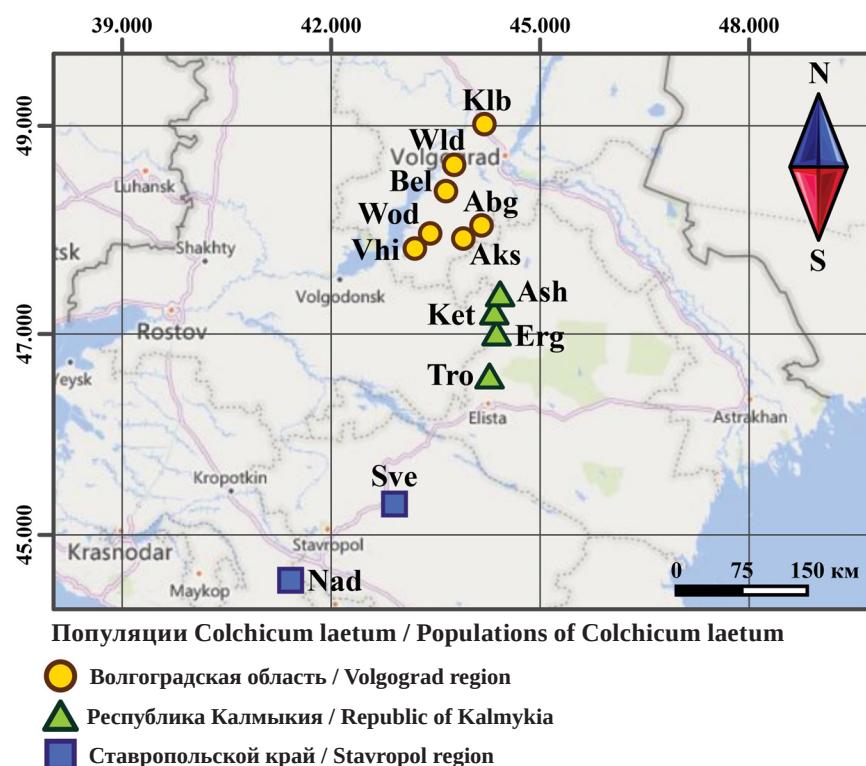


Рис. 2. Местоположение изученных популяций *Colchicum laetum* в Волгоградской области, Республике Калмыкия и Ставропольском крае

Fig. 2. Location of the studied populations of *Colchicum laetum* in the Volgograd region, the Republic of Kalmykia and the Stavropol region

Измеряли шесть количественных показателей: высоту растения, число листьев, длину листа, ширину листа, длину коробочки, количество коробочек (рис. 3). Часть указанных показателей промерялась при исследовании другого редкого для Российской Федерации вида – *Colchicum bulbocodium* subsp. *versicolor* (KerGawl.) K. Perss. [8]. Они показали свою высокую информационную ёмкость при исследовании межпопуляционной изменчивости данного вида.

Для всей генеральной совокупности растений популяций рассчитывались минимум-максимум морфометрического показателя и его 95% доверительный интервал, а также коэффициент вари-

ации. Анализ межпопуляционной изменчивости морфологических показателей проводили также с использованием описательной статистики – минимум и максимум морфометрического показателя и его 95% доверительный интервал. Также были построены диаграммы размаха (среднее арифметическое, его ошибка и стандартное отклонение) для всех популяций, включенных в анализ.

Уровень варьирования признаков оценивался по шкале, предложенной Мамаевым и Чуйко [9]: коэффициент вариации (Cv) меньше 7% – изменчивость признака очень низкая, 7–15% – низкая, 16–25% – средняя, 26–35% – повышенная, 36–50% – высокая, больше 50% – очень высокая.

Таблица 1 / Table 1

Географическое местоположение исследованных популяций *Colchicum laetum*
Geographical location of the studied populations of *Colchicum laetum*

ID	Координаты / Coordinates		Географическое расположение / Geographical location
	Широта / Latitude	Долгота / Longitude	
Klb	49,01559	44,19995	Волгоградская обл., Городищенский р-н, окр. с. Котлубань / Volgograd region, Gorodishchensky district, Kotluban village
Wld	48,63137	43,76526	Волгоградская обл., Калачёвский р-н, окр. п. Волгодонской / Volgograd region, Kalachevsky district, Volgodonskoy village
Bel	48,38049	43,64795	Волгоградская обл., Калачёвский р-н, окр. х. Белоглинский / Volgograd region, Kalachevsky district, Beloglinsky village
Vhi	47,83031	43,20133	Волгоградская обл., Котельниковский р-н, окр. х. Верхнеяблочный / Volgograd region, Kotelnikovsky district, Verkhneyablochny village
Wod	47,97566	43,42131	Волгоградская обл., Октябрьский р-н, окр. х. Водянский / Volgograd region, Oktyabrsky district, Vodiansky village
Aks	47,92638	43,89695	Волгоградская обл., Октябрьский р-н, окр. с. Аксай / Volgograd region, Oktyabrsky district, Aksay village
Abg	48,05287	44,15841	Волгоградская обл., Октябрьский р-н, окр. с. Абганерово / Volgograd region, Oktyabrsky district, Abganerovo village
Erg	46,987033	44,373567	Республика Калмыкия, Кетченеровский р-н, окр.п. Ергенинский / Republic of Kalmykia, Ketchenerovsky, Ergeninsky village
Ket	47,17955	44,34176	Республика Калмыкия, Кетченеровский р-н, окр. п. Кетченеры / Republic of Kalmykia, Ketchenerovsky district, Ketchener village
Ash	47,36396	44,42502	Республика Калмыкия, Сарпинский р-н, окр. п. Аршань-Зельмень / Republic of Kalmykia, Sarpinsky district, Arshan-Zelmen village
Tro	46,557867	44,2731	Республика Калмыкия, Целинный р-н, окр. с. Троицкое / Republic of Kalmykia, Tselinny district, Troitskoye village
Nad	44,53664	41,41764	Ставропольский край, Кочубеевский р-н, окр. с. Надзорное / Stavropol region, Kochubeevsky District, Nadzornoe village
Sve	45,31200	42,90948	Ставропольский край, Петровский р-н, окр. г. Светлограда / Stavropol region, Petrovsky District, Svetlograd town

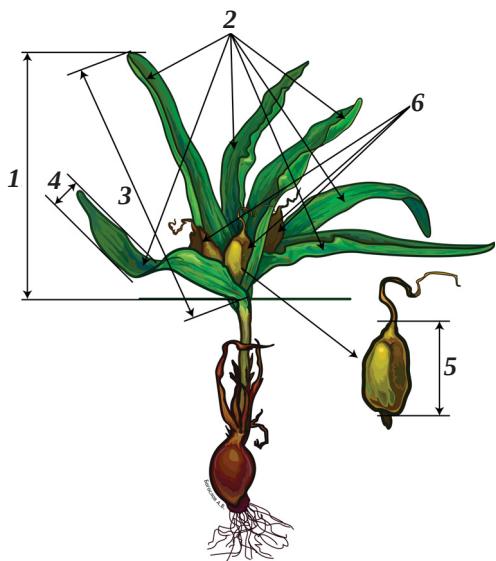


Рис. 3. Измеренные морфометрические параметры *Colchicum laetum*: 1 – высота растения, см; 2 – число листьев, шт.; 3 – длина листа, см; 4 – ширина листа, мм; 5 – длина кобоочки, мм; 6 – число коробочек, шт.

Fig. 3. Measured morphometric parameters of *Colchicum laetum*: 1 – plant height, cm; 2 – number of leaves, pcs; 3 – leaf length, cm; 4 – leaf width, mm; 5 – bulb length, mm; 6 – number of flowers, pcs

Ординация проводилась методами главных компонент (PCA) на основе матрицы корреляций [10, 11], – с использованием всей выборки, – и неметрического многомерного шкалирования (NMDS) [12], – с использованием средних значений признаков популяционных выборок с наложением векторов, характеризующих географические координаты местоположения популяций [13]. Кроме того, были рассчитаны непараметрические коэффициенты корреляции Спирмена [14]. При этом в случае, если коэффициенты корреляции для пар переменных были > 0.90, один признак из пары исключался из анализа главных компонент [15–18]. Корреляции признаков представлены в виде плеяды Терентьева [19]. Для градации силы связи использована шкала Чеддока [20]. Перед проведением анализа главных компонент данные подвергались процедуре стандартизации, а имеющиеся немногочисленные пропуски данных были заменены средним значением по генеральной совокупности отдельных признаков [21–24].

Для расчётов и визуализации результатов использовались программы «Statistica 10.0» [25] и «Past 3.26» [26].



Результаты и их обсуждение

Из табл. 2 следует, что растения в среднем достигают высоты 13–14 см, однако встречаются и более высокие. Например, в популяции Nad высота отдельных особей достигала 20 и более см. Максимальная высота растения (26, 20 см) отмечена именно в этой популяции. В среднем у растений было по 4–5 листьев, однако встречались отдельные экземпляры с большим коли-

чеством листьев. Максимальное число листьев (10 шт.) обнаружено в популяции Bel. Длина листа варьировала в пределах от 11,7 до 12,3 см, ширина листа – от 11,0 до 11,7 см. Длина коробочки у растений исследованных популяций укладывалась преимущественно в диапазон 25,0–26,5 мм. В среднем на одно растение приходилось от одной до двух коробочек, при максимальном их числе равном 5.

Таблица 2 / Table 2

Основные статистики измеренных морфометрических параметров по всей генеральной совокупности особей популяций *Colchicum laetum*

The main statistics of the measured morphometric parameters for the entire population of individuals of *Colchicum laetum* populations

Параметр / Parameter	мин-(95% доверительный интервал)-макс / min-(95% confidence interval) -max	Коэффициент вариации / Coefficient variations	Уровень варьирования / Level of variation
Высота растения, см / Plant height, cm	3,50–(13,24–13,98)–26,20	27,00	Повышенный / Increased
Число листьев, шт. / Number of leaves, pcs	4,78–(4,78–4,98)–10,00	19,62	Средний / Medium
Длина листа, см / Leaf length, cm	3,50–(11,71–12,29)–19,10	23,96	Средний / Medium
Ширина листа, мм / Leaf width, cm	4,82–(10,99–11,68)–25,27	30,56	Повышенный / Increased
Длина коробочки, мм / Boll length, mm	6,61–(24,96–26,52)–53,96	28,62	Повышенный / Increased
Кол-во коробочек, шт. / Number of bolls, pcs	0,00–(1,49–1,68)–5,00	59,17	Очень высокий / Very high

Уровень варьирования признаков отмечен от среднего до очень высокого. Для двух признаков (число листьев, длина листа) был характерен средний, для трёх (высота растения, ширина листа и длина коробочки) – повышенный уровень варьирования. Один признак (количество коробочек) отличался очень высоким уровнем варьирования.

В большинстве случаев доверительные интервалы параметров на межпопуляционном уровне перекрывались (табл. 3). Диаграммы размаха (рис. 4) показывают, что одни популяции по ряду параметров заметно превышали другие, в то же самое время уступая последним по другим параметрам. По высоте растений наиболее низкорослыми оказались популяция Ash из Республики Калмыкии и Wld, Bel, Abg из Волгоградской обл. Наиболее высокие растения обнаружены в ставропольской популяции Nad и волгоградской Erg (см. табл. 3, рис. 4). По данному параметру и по длине листовой пластинки различия между популяциями наиболее наглядны, а дисперсии этих признаков в различных популяциях заметно различаются.

По числу листьев, приходящихся на одно растение, популяции были наиболее сходными.

Доверительные интервалы признака между всеми популяциями в той или иной степени перекрываются. В большинстве случаев в различных популяциях более или менее равны и дисперсии признака. Минимальное число листьев в большинстве случаев равнялось четырём, в то время как максимальное значение достигало уровня 6–10 (см. табл. 3, рис. 4).

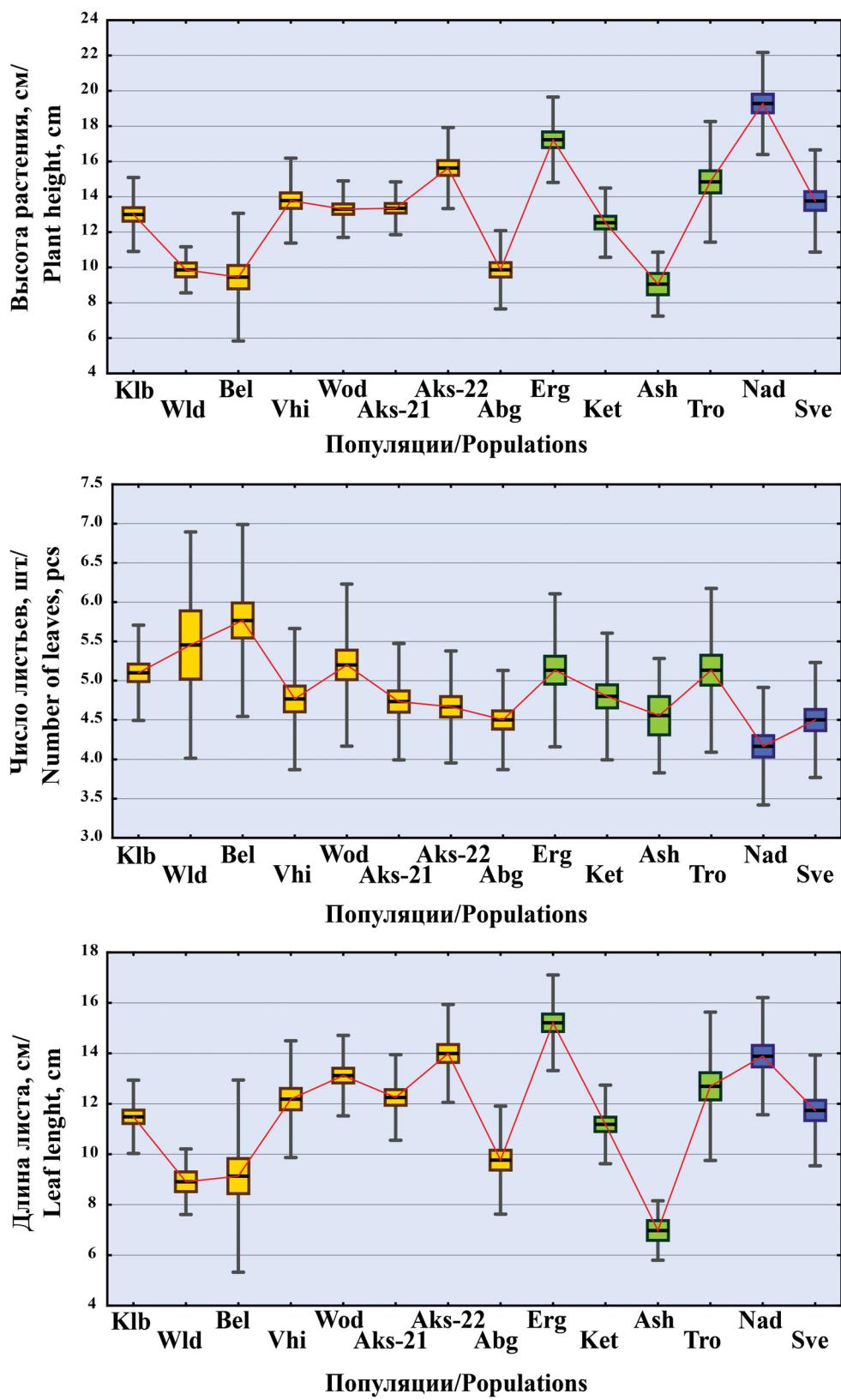
Наиболее короткие листья, так же как и в случае с параметром высоты растения, характерны для популяции Ash из Республики Калмыкии, Wld, Bel, Abg из Волгоградской обл. Наиболее длинные листья отмечены в ставропольской популяции Nad и волгоградской Erg. При этом дисперсии по этому параметру в популяциях сильно разнятся. В частности, наибольший размах признака характерен для популяции из Волгоградской обл. Bel, для которой отмечено минимальное значение длины листовой пластинки среди всех представленных популяций (3,50), а для калмыцкой популяции Ash отмечен наименьший разброс признака. При этом среди всех популяций данная отличалась самыми короткими листьями – около 6–8 см (см. табл. 3, рис. 4).



Таблица 3 / Table 3

Описательная статистика морфометрических параметров растений *Colchicum laetum*
Descriptive statistics of morphometric parameters of *Colchicum laetum* plants

ID	Год / Year	Высота растения, см / Plant height, cm	Число листьев, шт. / Number of leaves, pcs	Длина листа, см / Leaf length, cm	Ширина листа, мм / Leaf width, cm	Длина коробочки, мм / Boll length, cm	Кол-во коробочек, шт. / Number of bolls, pcs
Klb	2021	9,00-(12,22-13,78)-17,50	4,00-(4,87-5,33)-6,00	8,50-(10,94-12,03)-14,00	8,48-(10,68-12,18)-15,31	6,61-(13,09-16,61)-25,96	0,00-(0,88-1,39)-3,00
Wld	2021	8,00-(8,99-10,74)-12,00	4,00-(4,49-6,42)-8,00	7,50-(8,04-9,78)-11,00	8,51-(11,27-14,57)-16,79	7,95-(13,99-30,22)-28,73	0,00-(0,40-2,51)-4,00
Bel	2021	3,50-(8,10-10,80)-17,00	4,00-(5,31-6,22)-10,00	3,50-(7,71-10,56)-17,00	7,64-(14,05-17,30)-25,27	9,93-(23,19-29,67)-53,96	0,00-(2,21-3,05)-5,00
Vhi	2021	10,00-(12,89-14,68)-20,00	4,00-(4,43-5,10)-8,00	7,50-(11,32-13,05)-18,50	5,06-(8,85-11,10)-16,30	9,78-(23,73-29,04)-38,83	0,00-(1,07-1,60)-3,00
Wod	2021	10,50-(12,70-13,90)-16,00	3,00-(4,82-5,58)-8,00	9,50-(12,52-13,71)-16,00	7,89-(11,09-12,81)-16,96	20,66-(28,81-33,85)-41,46	0,00-(1,74-2,39)-4,00
Aks	2021	10,50-(12,79-13,91)-15,50	3,00-(4,46-5,01)-6,00	9,50-(11,62-12,88)-15,50	5,64-(10,66-13,39)-22,03	6,78-(22,36-29,35)-52,45	0,00-(0,98-1,69)-5,00
Aks	2022	11,20-(14,77-16,49)-21,60	4,00-(4,40-4,93)-6,00	9,60-(13,27-14,72)-19,00	5,69-(11,32-13,94)-20,40	21,01-(28,97-33,27)-47,50	1,00-(1,67-2,33)-4,00
Abg	2021	4,00-(9,04-10,69)-13,50	4,00-(4,26-4,74)-6,00	4,00-(8,97-10,57)-13,00	5,85-(8,51-10,25)-13,96	14,90-(20,33-23,66)-36,23	1,00-(1,38-1,75)-2,00
Erg	2022	10,50-(16,33-18,13)-21,40	4,00-(4,77-5,50)-7,00	10,00-(14,50-15,92)-18,10	7,20-(10,57-12,81)-18,98	10,30-(24,72-31,03)-46,01	0,00-(1,40-2,20)-4,00
Ket	2022	9,00-(11,80-13,27)-16,60	4,00-(4,50-5,10)-7,00	8,20-(10,60-11,77)-15,20	6,26-(8,32-9,96)-16,11	11,44-(24,40-27,84)-32,37	1,00-(1,18-1,55)-2,00
Ash	2022	7,00-(7,67-10,45)-13,00	4,00-(4,00-5,11)-6,00	5,00-(6,07-7,88)-8,30	4,82-(5,56-8,70)-9,84	18,27-(23,27-30,93)-33,34	Всегда 1
Tro	2022	8,50-(13,57-16,12)-25,40	4,00-(4,74-5,52)-8,00	7,90-(11,60-13,79)-19,10	5,50-(9,63-12,18)-20,75	17,19-(24,89-29,31)-38,87	0,00-(0,94-1,59)-4,00
Nad	2022	12,40-(18,20-20,36)-26,20	3,00-(3,89-4,45)-6,00	7,50-(13,02-14,75)-18,20	6,70-(10,37-12,79)-20,16	9,36-(21,88-26,64)-35,03	0,00-(0,77-1,30)-2,00
Sve	2022	9,50-(12,68-14,84)-20,10	4,00-(4,23-4,77)-6,00	9,00-(10,92-12,56)-17,00	5,45-(9,24-11,40)-17,32	15,13-(23,12-26,43)-31,66	1,00-(1,46-2,01)-4,00



Среднее арифметическое ± ошибка среднего /
Mean ± mean error



Стандартное отклонение /
Standard deviation

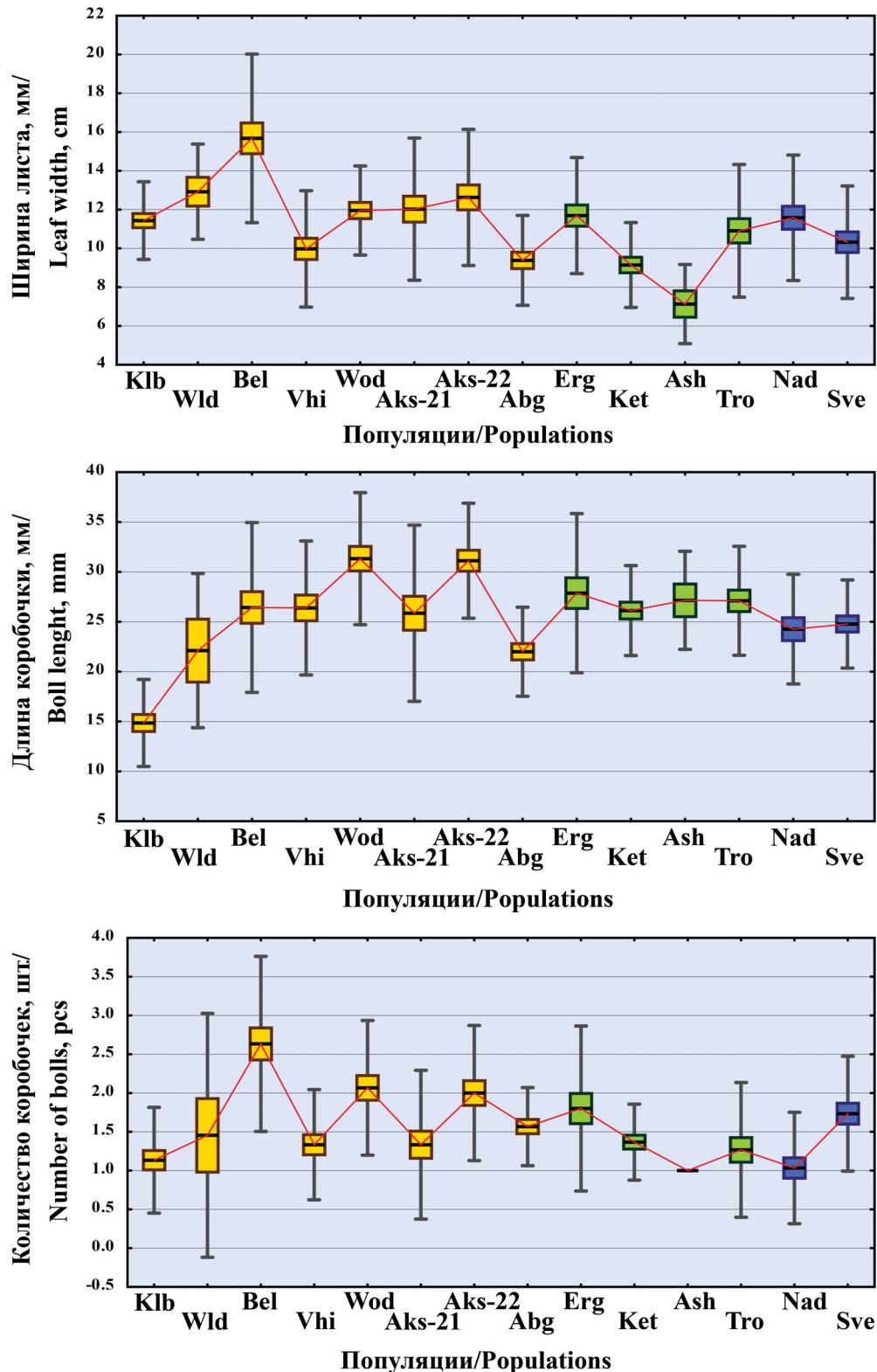


Рис. 4. Диаграммы размаха количественных признаков *Colchicum laetum*. По оси ординат – морфометрические признаки, по оси абсцисс – популяции. Жёлтым цветом показаны популяции из Волгоградской обл., зелёным – Республики Калмыкии, синим – из Ставропольского края (цвет онлайн)

Fig. 4. Diagrams of the range of quantitative characteristics of *Colchicum laetum*. The ordinate axis shows morphometric characteristics, the abscissa axis shows populations. Populations from the Volgograd region are shown in yellow, the Republic of Kalmykia in green, and the Stavropol region in blue (color online)



Доверительные интервалы ширины листовой пластиинки между популяциями также в той или иной степени перекрываются. При этом максимальные по ширине листья характерны для популяции из Волгоградской обл. Bel, а минимальные – для популяции из Республики Калмыкии Ash. В то же время для указанных популяций отмечались одни из самых коротких листьев среди всех популяций. Наибольшая дисперсия по этому параметру, так же как и в случае длины листовой пластиинки, отмечена в популяции Bel, наименьшая – в популяции Ash (см. табл. 3, рис. 4).

По длине коробочки большинство представленных популяций более или менее близки между собой. Минимальным значением по этому параметру отличалась наиболее северная популяция из Волгоградской обл. – Klb.

Количество коробочек в исследованных популяциях варьировало в диапазоне от 0 до 5. В большинстве случаев на одно растение приходилось 1–2 коробочки. В популяции из Республики Калмыкии Ash число коробочек у всех измеренных растений равнялось одному. Дисперсии остальных популяций по этому признаку заметно различаются.

Для большинства признаков, согласно коэффициенту корреляции Спирмена и шкале Чеддока, свойственны слабые и умеренные связи

(рис. 5). При этом параметры высоты растения и количества коробочек, а также высоты растения и числа листьев оказались практически не связаны между собой ($r_s < 0,1$). Для двух признаков, – высоты растения и длины листа, отмечена сильная связь ($r_s = 0,89$). Однако последнее числовое значение не превышает 0,90, что указывает на то, что все представленные морфометрические параметры можно использовать для анализа главных компонент.

Ординация методом главных компонент (рис. 6, a) демонстрирует довольно слабое разделение имеющихся точек, отвечающих образцам тех или иных популяций. При этом разброс точек значителен как вдоль первой, так и вдоль второй главной компоненты. Максимальный разброс характерен для точек популяций из Республики Калмыкии. Преимущественно к нижней части области ординации приурочено большинство точек популяций из Ставропольского края; преимущественно к верхней части области ординации – большинство точек, отвечающих особям популяций из Республики Калмыкии. Срединное положение, между облаками рассеяния популяций из Республики Калмыкии и Ставропольского края, занимает облако рассеяния, образованное точками-образцами популяций из Волгоградской области.

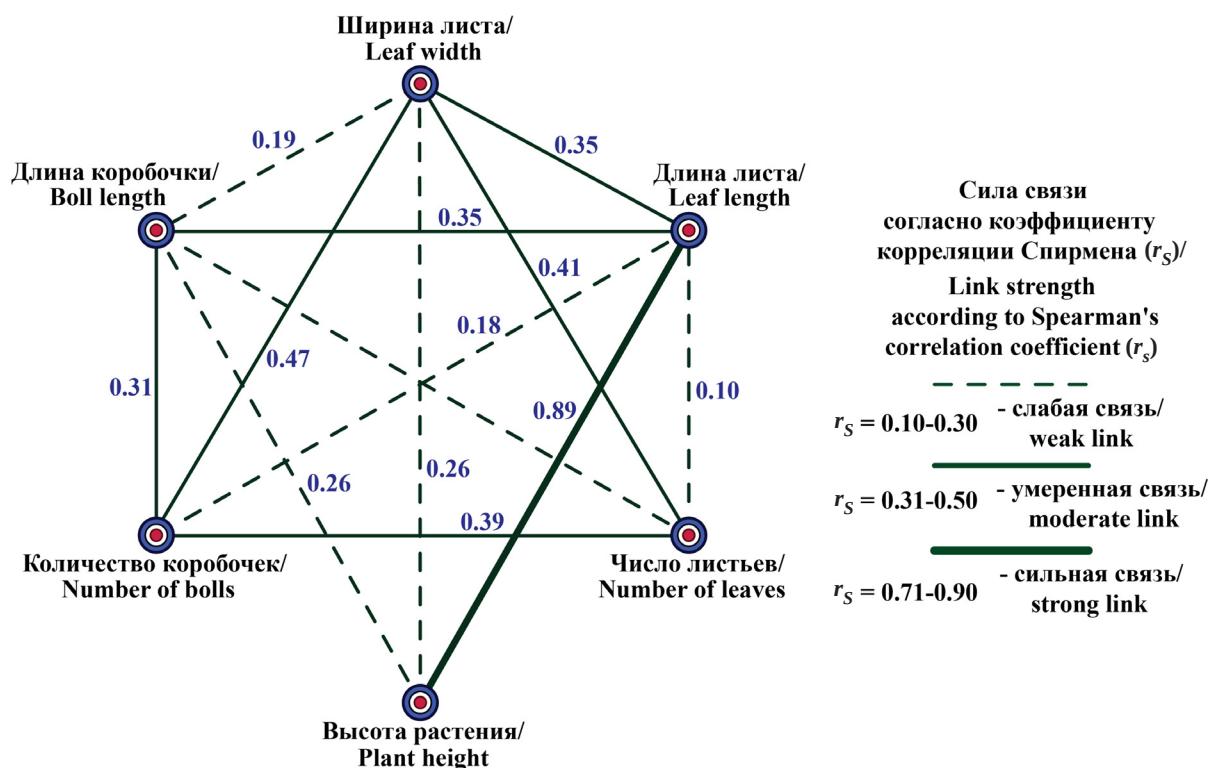


Рис. 5. Корреляции измеренных количественных признаков *Colchicum laetum*
Fig. 5. Correlations of measured quantitative characteristics of *Colchicum laetum*

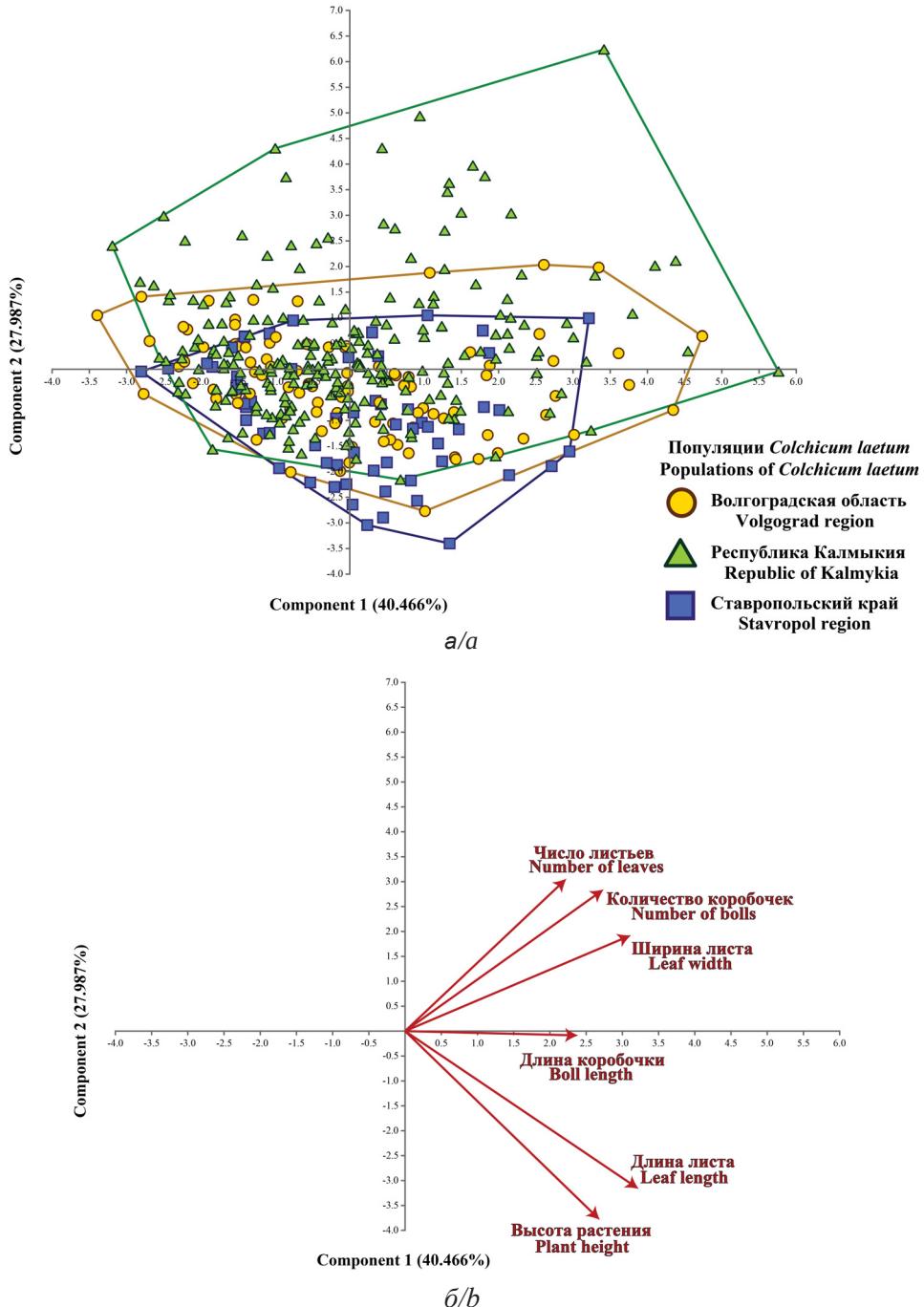


Рис. 6. Ординация методом главных компонент: распределение точек, отвечающих образцам популяций *Colchicum laetum* в пространстве главных компонент (а); корреляции между морфометрическими параметрами и главными компонентами (б)

Fig. 6. Ordination by principal component method: distribution of points corresponding to samples of *Colchicum laetum* populations in the space of principal components (a); correlations between morphometric parameters and principal components (b)

Максимальная по модулю корреляция ($\geq 0,70$) с первой компонентной (PC1) отмечена для двух признаков – длины и ширины листа. Максимальная корреляция ($\geq 0,70$) со второй компонентной (PC2) отмечена для высоты растения (см. рис. 6, б, табл. 4). Разброс точек

вдоль горизонтали, – первой компоненты, – в большей мере сопряжен с изменением размерных показателей листа, а разброс вдоль вертикали, – второй компоненты, – в большей мере объясняется изменением параметра высоты растений.



Таблица 4 / Table 4

Результаты анализа главных компонент для морфометрических параметров популяций *Colchicum laetum*
Results of principal component analysis for morphometric parameters of *Colchicum laetum* populations

№	Параметр / Parameter	PC 1	PC 2
1	Высота растения, см / Plant height, cm	0,62	-0,73
2	Число листьев, шт. / Number of leaves, pcs	0,51	0,59
3	Длина листа, см / Leaf length	0,74	-0,61
4	Ширина листа, мм / Leaf width, mm	0,72	0,37
5	Длина коробочки, мм / Boll length	0,55	-0,02
6	Кол-во коробочек, шт. / Number of bolls, pcs	0,63	0,55
Статистика главных компонент / Principal Component Statistics			
Собственное число / Eigenvalue		2,43	1,68
Дисперсия, % / Variance, %		40,47	27,99

Примечание. Полужирным выделены значения $\geq 0,70$. PC1 и PC2 – первая и вторая главные компоненты.
Note. Values $\geq 0,70$ are in bold. PC1 and PC2 are the first and second principal components.

Ординация методом неметрического многомерного шкалирования с наложением векторов географических координат также демонстрирует сильный разброс точек, характеризующих совокупность средних значений измеренных параметров в той или иной популяции (рис. 7).

Тем не менее, распределение средних значений групповых выборок в основном соответствует распределению их в пространстве главных компонент. В частности, большинство точек, отвечающих популяциям из Республики Калмыкия, приурочено в верхней части области ординации,

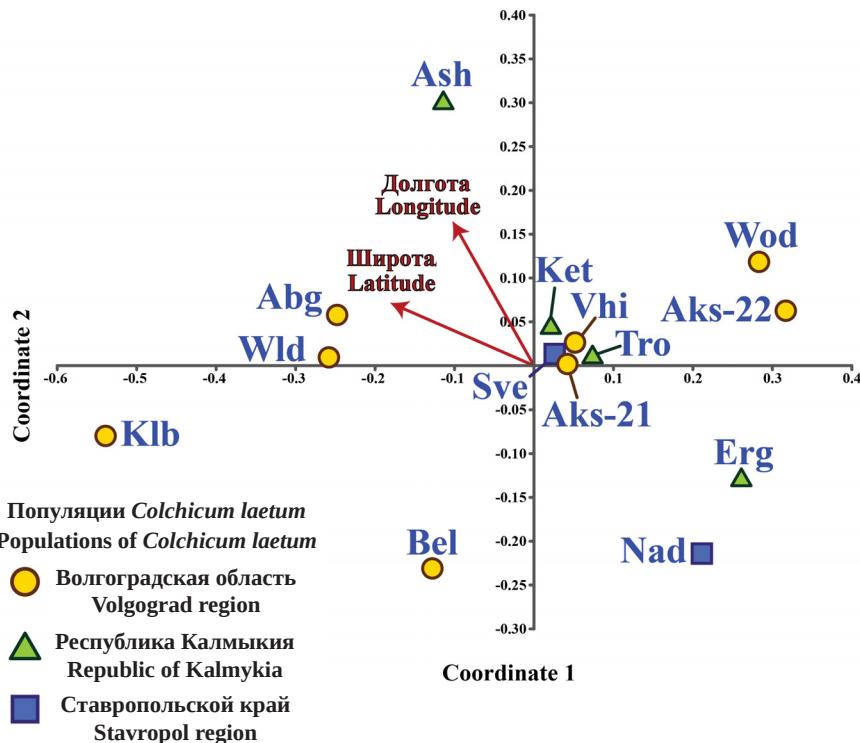


Рис. 7. Ординация популяций *Colchicum laetum* методом неметрического многомерного шкалирования по средним значениям морфометрических параметров

Fig. 7. Ordination of populations of *Colchicum laetum* by the method of non-metric multidimensional scaling according to the average values of morphometric parameters



в то время как точки популяций Ставропольского края тяготеют к середине области ординации и её нижней части, а большинство точек популяций Волгоградской обл. более или менее равномерно распределены в середине области ординации вдоль первой оси неметрического многомерного шкалирования.

Отмечены положительные корреляции первой оси неметрического шкалирования с направлением «север–юг», т.е. с долготой, и второй оси – с направлением «запад–восток», т.е. с широтой. Следовательно, имеет место изменение морфологических параметров *C. laetum* вдоль градиента географических координат.

Заключение

Таким образом, установлена высокая степень внутри- и межпопуляционной изменчивости растений популяций *C. laetum* на территории Волгоградской области, Республики Калмыкии и Ставропольского края. Даже в тех случаях, когда популяции расположены на территории одного региона или пространственно близко относительно друг друга, их размерное морфологическое состояние, точнее различие в нём, хорошо заметно. Судя по всему, гетерогенность окружающей среды в пространстве, как значительном, так и локальном, хорошо ощущается растениями популяций, которые по-разному приспосабливаются к этой неоднородности. Однако выявленное изменение морфологических параметров *C. laetum* вдоль градиента географических координат указывает на то, что прежде всего погодно-климатические факторы определяют у данного вида изменчивость морфологических параметров.

Список литературы

1. Богослов А. В., Кащин 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>
2. Крюкова А. В., Абрамова Л. М. Влияние экологических факторов на изменчивость морфометрических параметров редкого вида *Iris pumila* L. // Известия Саратовского университета. Новая серия. Серия: Химия. Биология. Экология. 2021. Т. 18, вып. 2. С. 232–236. <https://doi.org/10.18500/1816-9775-2018-2-232-236>
3. Крюкова А. В., Абрамова Л. М., Мустафина А. Н. К биологии и экологии редких видов ирисов в степях Южного Урала // Самарская Лука: проблемы региональной и глобальной экологии. 2018. Т. 27, № 4, ч. 1. С. 271–275. <https://doi.org/10.24411/2073-1035-2018-10126>
4. Красная книга Российской Федерации (растения и грибы). М. : Т-во науч. изд. КМК, 2008. 855 с.
5. Красная книга Волгоградской области: в 2 т. 2-е изд., перераб. и доп. Т. 2. Растения и другие организмы. Воронеж : ООО «Издат-Принт», 2017. 268 с.
6. Буянкин 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>
7. Sharma S. K., Pandit M. K. A morphometric analysis and taxonomic study of *Panax bipinnatifidus* Seem. (Araliaceae) species complex from Sikkim Himalaya, India // Plant Syst. Evol. 2011. Vol. 297. P. 87–98. <https://doi.org/10.1007/s00606-011-0501-8>
8. Богослов А. В., Кащин А. С., Пархоменко А. С., Куликова Л. В., Шилова И. В., Князева А. К. Виталитетная структура популяций *Colchicum bulbocodium* subsp. *versicolor* (Colchicaceae, Liliopsida) в условиях Нижнего Поволжья // Поволжский экологический журнал. 2021. № 2. С. 127–145. <https://doi.org/10.35885/1684-7318-2021-2-127-145>
9. Мамаев С. А., Чуйко Н. М. Индивидуальная изменчивость признаков листьев у дикорастущих видов костянки // Индивидуальная эколого-географическая изменчивость растений. Свердловск : УрНЦ АН СССР, 1975. С. 114–118.
10. Jolliffe I. T. Principal Component Analysis. New York : Springer, 2002. 487 p.
11. Zuur A. F., Ieno E. N., Elphick C. S. A protocol for data exploration to avoid common statistical problems // Methods Ecol. Evol. 2009. Vol. 1. P. 3–14. <https://doi.org/10.1111/j.2041-210x.2009.00001.x>
12. Шитиков В. К., Зинченко Т. Д. Многомерный статистический анализ экологических сообществ (обзор) // Теоретическая и прикладная экология. 2019. № 1. С. 5–11. <https://doi.org/10.25750/1995-4301-2019-1-005-011>
13. Кащин А. С., Пархоменко А. С., Абрамова Л. М., Кондратьева А. О., Богослов А. В., Шилова И. В., Крюкова А. В. Морфологическая изменчивость *Iris pumila* (Iridaceae) // Ботанический журнал. 2022. Т. 107, № 2. С. 180–197. <https://doi.org/10.31857/S0006813622020065>
14. Zar J. H. Biostatistical analysis. New Jersey : Prentice Hall, 2010. 944 p.
15. Maia F. R., Goldenberg R. Morphometric analysis and the distinction between *Tibouchina hatschbachii* and *T. marumbiensis*: Morphological differentiation driven from the past // Plant Syst. Evol. 2019. Vol. 305. P. 169–180. <https://doi.org/10.1007/s00606-018-1560-x>
16. Nobis M., Klichowska E., Nowak A., Gudkova P. D., Rola K. Multivariate morphometric analysis of the *Stipa turkestanica* group (Poaceae: Stipa sect. Stipa) // Plant. Syst. Evol. 2016. Vol. 302. P. 137–153. <https://doi.org/10.1007/s00606-015-1243-9>



17. Ocampo Pérez J., Coppens d'Eyeckenbrugge G. Morphological characterization in the genus *Passiflora* L.: An approach to understanding its complex variability // Plant Syst. Evol. 2017. Vol. 303. P. 531–558. <https://doi.org/10.1007/s00606-017-1390-2>
18. Španiel S., Zozomová-Lihová J., Marhold K. Revised taxonomic treatment of the *Alyssum montanum*-*A. repens* complex in the Balkans: A multivariate morphometric analysis // Plant Syst. Evol. 2017. Vol. 303. P. 1413–1442. <https://doi.org/10.1007/s00606-017-1468-x>
19. Новаковский А. Б. Обзор современных программных средств, используемых для анализа геоботанических данных // Растительность России. 2006. № 9. С. 86–95.
20. Щербань С. А., Мельник А. В. Размерно-весовые и биохимические характеристики соматического роста молоди черноморских видов двустворчатых моллюсков *Anadara kagoshimensis* и *Flexopecten glaber ponticus* // Экосистемы. 2020. № 22. С. 97–104.
21. Biye E. H. Cron G. V., Balkwill K. Morphometric delimitation of *Gnetum* species in Africa // Plant Syst. Evol. 2016. Vol. 302. P. 1067–1082. <https://doi.org/10.1007/s00606-016-1317-3>
22. Cruz-Lustre G., Batista J. A. N., Radins J. A., Gonzalez A., Borba E. L. Morphometric analysis of the *Habenaria parviflora* complex (Orchidaceae) // Plant Syst. Evol. 2020. Vol. 306. URL: <https://doi.org/10.1007/s00606-020-01634-2> (дата обращения: 15.03.2022).
23. Finot V. L., Soreng R. J., Giussani L. M., Munoz R. G. A multivariate morphometric delimitation of species boundaries in the South American genus *Nicoriaepoa* (Poaceae: Pooideae: Poeae) // Plant Syst. Evol. 2018. Vol. 304. P. 679–697. <https://doi.org/10.1007/s00606-018-1499-y>
24. Torrecilla P., Acedo C., Marques I., Díaz-Pérez A. J., López-Rodríguez J. Á., Mirones V., Sus A., Llamas F., Alonso A., Pérez-Collazos E., Viruel J., Sahuquillo Sancho M. D., Komac B., Manso J. A., Segarra-Moragues J. G., Draper D., Villar L., Catalán P. Morphometric and molecular variation in concert: Taxonomy and genetics of the reticulate Pyrenean and Iberian alpine spiny fescues (*Festuca eskia* complex Poaceae) // Bot. J. Linn. Soc. 2013. Vol. 173. P. 676–706. <https://doi.org/10.1111/boj.12103>
25. STATISTICA (data analysis software system). URL: <http://www.statsoft.com> (дата обращения: 15.03.2022).
26. Hammer Ø., Harper D. A. T., Ryan P. D. PAST: Paleontological statistics software package for education and data analysis // Palaeontol. Electron. Vol. 4, № 1. P. 1–9.
2. Kryukova A. V., Abramova L. M. The Influence of ecological factors on variability of morphometric parameters of rare species *Iris pumila* L. *Izvestiya of Saratov University. Chemistry. Biology. Ecology*, 2018, vol. 18, iss. 2, pp. 232–236 (in Russian). <https://doi.org/10.18500/1816-9775-2018-18-2-232-236>
3. Kryukova A. V., Abramova L. M., Mustafina A. N. To the biology and ecology of rare species of *Iris* genus in the steppe of South Urals. *Samarskaya Luka: Problems of Regional and Global Ecology*, 2018, vol. 27, no. 4, pt. 1, pp. 271–275 (in Russian). <https://doi.org/10.24411/2073-1035-2018-10126>
4. *Krasnaya kniga Rossiyskoy Federatsii (rasteniya i griby)* [Red Book of the Russian Federation (plants and mushrooms)]. Moscow, KMK Scientific Press Ltd., 2008. 855 p. (in Russian).
5. *Krasnaya kniga Volgogradskoy oblasti: v 2 t. 2-ye izd., pererab. i dop. T. 2. Rasteniya i drugiye organizmy.* [Red Book of the Volgograd region: in 2 vols., 2nd ed., revised. and additional. Vol. 2. Plants and Other Organisms]. Voronezh, Izdat-Print Publ., 2017. 268 p. (in Russian).
6. 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>
7. Sharma S. K., Pandit M. K. A morphometric analysis and taxonomic study of *Panax bipinnatifidus* Seem. (Araliaceae) species complex from Sikkim Himalaya, India. *Plant Syst. Evol.*, 2011, vol. 297, pp. 87–98. <https://doi.org/10.1007/s00606-011-0501-8>
8. Bogoslov A. V., Kashin A. S., Parkhomenko A. S., Kulikova L. V., Shilova I. V., Knjazeva A. K. Vitality structure of *Colchicum bulbocodium* subsp. *versicolor* (Colchicaceae, Liliopsida) populations in the Lower Volga region. *Povelzhskiy Journal of Ecology*, 2021, no. 2, pp. 127–145 (in Russian). <https://doi.org/10.35885/1684-7318-2021-2-127-145>
9. Mamaev S. A., Chuiko N. M. Individual variability of leaf traits in wild-growing species of stone bramble. In: *Individual'naya ekologo-geograficheskaya izmenchivost' rasteniy* [Individual Ecological and Geographical Variability of Plants]. Sverdlovsk, UrNTs AN SSSR Publ., 1975, pp. 114–118 (in Russian).
10. Jolliffe I. T. *Principal Component Analysis*. New York, Springer, 2002. 487 p.
11. Zuur A. F., Ieno E. N., Elphick C. S. A protocol for data exploration to avoid common statistical problems. *Methods Ecol. Evol.*, 2009, vol. 1, pp. 3–14. <https://doi.org/10.1111/j.2041-210x.2009.00001.x>
12. Shitikov V. K., Zinchenko T. D. Multivariate statistical analysis of ecological communities (review). *Theoretical and Applied Ecology*, 2019, no. 1, pp. 5–11 (in Russian). <https://doi.org/10.25750/1995-4301-2019-1-005-011>
13. Kashin A. S., Parkhomenko A. S., Abramova L. M., Kondratyeva A. O., Bogoslov A. V., Shilova I. V., Kryukova A. V. Morphological variability of *Iris pumila* (Iridaceae) in the Lower Volga region and the

Reference

1. 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 (in Russian). <https://doi.org/10.18500/1816-9775-2021-21-3-328-334>

- South Urals. *Botanicheskii Zhurnal*, 2022, vol. 107, no. 1, pp. 180–197 (in Russian). <https://doi.org/10.31857/S0006813622020065>
14. Zar J. H. *Biostatistical analysis*. New Jersey, Prentice Hall, 2010. 944 p.
 15. Maia F. R., Goldenberg R. Morphometric analysis and the distinction between *Tibouchina hatschbachii* and *T. marumbiensis*: Morphological differentiation driven from the past. *Plant Syst. Evol.*, 2019, vol. 305, pp. 169–180. <https://doi.org/10.1007/s00606-018-1560-x>
 16. Nobis M., Klichowska E., Nowak A., Gudkova P. D., Rola K. Multivariate morphometric analysis of the *Stipa turkestanica* group (Poaceae: Stipa sect. Stipa). *Plant Syst. Evol.*, 2016, vol. 302, pp. 137–153. <https://doi.org/10.1007/s00606-015-1243-9>
 17. Ocampo Pérez J., Coppens d'Eeckenbrugge G. Morphological characterization in the genus *Passiflora* L.: An approach to understanding its complex variability. *Plant Syst. Evol.*, 2017, vol. 303, pp. 531–558. <https://doi.org/10.1007/s00606-017-1390-2>
 18. Španiel S., Zozomová-Lihová J., Marhold K. Revised taxonomic treatment of the *Alyssum montanum-A. repens* complex in the Balkans: a multivariate morphometric analysis. *Plant Syst. Evol.*, 2017, vol. 303, pp. 1413–1442. <https://doi.org/10.1007/s00606-017-1468-x>
 19. Novakovskiy A. B. A review of the modern programs for the geobotanical analysis. *Vegetation of Russia*, 2006, no. 9, pp. 86–95 (in Russian). <https://doi.org/10.31111/vegrus/2006.09.86>
 20. Shcherban S. A., Melnic A. V. Size-weight and biochemical characteristics of somatic growth of young Black Sea bivalvia mollusks *Anadara kagoshimensis* and *Flexopecten glaber ponticus*. *Ekosistemy*, 2020, no. 22, pp. 97–104 (in Russian).
 21. Biye E. H., Cron G. V., Balkwill K. Morphometric delimitation of *Gnetum* species in Africa. *Plant Syst. Evol.*, 2016, vol. 302, pp. 1067–1082. <https://doi.org/10.1007/s00606-016-1317-3>
 22. Cruz-Lustre G., Batista J. A. N., Radins J. A., Gonzalez A., Borba E. L. Morphometric analysis of the *Habenaria parviflora* complex (Orchidaceae). *Plant Syst. Evol.*, 2020, vol. 306. Available at: <https://doi.org/10.1007/s00606-020-01634-2> (accessed 15 March 2022).
 23. Finot V. L., Soreng R. J., Giussani L. M., Munoz R. G. A multivariate morphometric delimitation of species boundaries in the South American genus *Nicoriaepoa* (Poaceae: Pooideae: Poeae). *Plant Syst. Evol.*, 2018, vol. 304, pp. 679–697. <https://doi.org/10.1007/s00606-018-1499-y>
 24. Torrecilla P., Acedo C., Marques I., Díaz-Pérez A. J., López-Rodríguez J. Á., Mirones V., Sus A., Llamas F., Alonso A., Pérez-Collazos E., Viruel J., Sahuquillo Sancho M. D., Komac B., Manso J. A., Segarra-Moragues J. G., Draper D., Villar L., Catalán P. Morphometric and molecular variation in concert: Taxonomy and genetics of the reticulate Pyrenean and Iberian alpine spiny fescues (*Festuca eskia* complex Poaceae). *Bot. J. Linn. Soc.*, 2013, vol. 173, pp. 676–706. <https://doi.org/10.1111/boj.12103>
 25. *STATISTICA (data analysis software system)*. Available at: <http://www.statssoft.com> (accessed 15 March 2022).
 26. Hammer Ø., Harper D. A. T., Ryan P. D. PAST: Paleontological statistics software package for education and data analysis. *Palaeontol. Electron.*, vol. 4, no. 1, pp. 1–9.

Поступила в редакцию 17.06.22; одобрена после рецензирования 25.06.22; принята к публикации 30.06.22
The article was submitted 17.06.22; approved after reviewing 25.06.22; accepted for publication 30.06.22



Известия Саратовского университета. Новая серия. Серия: Химия. Биология. Экология. 2022. Т. 22, вып. 4. С. 474–480

Izvestiya of Saratov University. Chemistry. Biology. Ecology, 2022, vol. 22, iss. 4, pp. 474–480

<https://ichbe.sgu.ru>

<https://doi.org/10.18500/1816-9775-2022-22-4-474-480>, EDN: WULHHP

Научная статья

УДК 595.76:574.38

Мицетофильные жесткокрылые (*Insecta: Coleoptera*), связанные с ксилотрофными грибами селитебных зон г. Саратова



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, аспирант биологического факультета, maa9898@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0001-9158-773X>

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. Целью данной работы было установление состава сообщества жесткокрылых, связанных с ксилотрофными грибами на территории селитебных зон города Саратова отличных от естественных лесных экосистем региона. Сборы жесткокрылых (имаго и личинки) проводились в весенне-летний период 2017–2020 гг. с плодовых тел разных ксилотрофных базидиомицетов с лиственных пород деревьев селитебных участков в Волжском, Кировском, Фрунзенском, Октябрьском и Заводском районах города. При сборе материала были использованы различные методы: ручной сбор, метод флотации и навесные ловушки. Жесткокрылые были обнаружены в 129 плодовых тела 7 видов базидиомицетов. С плодовых тел собрано 986 экз. жуков, принадлежащих к 29 видам из 8 семейств. Основу сообщества составили представители семейств Staphylinidae (41.3 %), Tenebrionidae (17.2%), Erotylidae (10,3%), Mycetophagidae (6.8%) и Ciidae (10.3%). Наиболее часто на плодовых телях грибов встречались: *Anotylus nitidulus* (Gravenhorst, 1802) и *Gyrophaena joyi* Wendeler, 1924 (Staphylinidae), *Diaperis boleti* (Linnaeus, 1758), *Eledona agricola* (Herbst, 1783) (Tenebrionidae), *Cis comptus* Gyllenhal, 1827 (Ciidae), *Mycetophagus quadripustulatus* (Linnaeus, 1760) (Mycetophagidae), *Dacne bipustulata* (Thunberg, 1781) и *D. pontica* (Bedel, 1868) (Erotylidae). Установлено, что с ксилотрофными грибами связаны три основные трофические группы жесткокрылых, среди которых более 76% составили специализированные мицетобионты – облигатные мицетофаги, для которых грибы являются единственным или преобладающим источником пищи. Свыше 21% пришлось на долю миксомицетофагов и всего 3% видового состава приходится на третью группу – хищников.

Ключевые слова: фауна, жуки, мицетофилы, базидиомицеты, городская среда

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

Для цитирования: Миронова А. А., Сажнев А. С., Аникин В. В. Мицетофильные жесткокрылые (*Insecta: Coleoptera*), связанные с ксилотрофными грибами селитебных зон г. Саратова // Известия Саратовского университета. Новая серия. Серия: Химия. Биология. Экология. 2022. Т. 22, вып. 4. С. 474–480. <https://doi.org/10.18500/1816-9775-2022-22-4-474-480>, EDN: WULHHP

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

Article

Mycetophilic beetles (*Insecta: Coleoptera*) associated with xylotrophic fungi in residential areas of Saratov city

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

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>

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

Abstract. The purpose of this work was to establish the composition of the community of beetles associated with xylotrophic fungi on the territory of the Saratov city landscapes which differs from the natural forest regional ecosystems. Collections of coleoptera (imagoes and larvae) were carried out in the spring-summer period 2017–2020 from fruiting bodies of various xylotrophic basidiomycetes from deciduous tree species of



the city areas in the Volzhsky, Kirovsky, Frunzensky, Oktyabrsky and Zavodsky districts of the town. When collecting the material, various methods were used: manual collection, flotation method and mounted traps. Beetles were found on 129 fruiting bodies of 7 species of xylotrophic fungi. 986 beetles' specimens of 29 species from 8 families were collected on fruiting bodies of various xylotrophic fungi. The mycetophilic beetles' community is based on Staphylinidae (41.3%), Tenebrionidae (17.2%), Erotylidae (10.3%), Mycetophagidae (6.8%) and Ciidae (10.3%). The most typical for xylotrophic fungi were eight beetles' species: *Anitylus nitidulus* (Gravenhorst, 1802), *Gyrophaena joyi* Wendeler, 1924 (Staphylinidae), *Diaperis bolete* (Linnaeus, 1758), *Eledona agricola* (Herbst, 1783) (Tenebrionidae), *Cis comptus* Gyllenhal, 1827 (Ciidae), *Mycetophagus quadripustulatus* (Linnaeus, 1760) (Mycetophagidae), *Dacne bipustulata* (Thunberg, 1781) and *D. pontica* (Bedel, 1868) (Erotylidae). It has been established that three main trophic groups of Coleoptera are associated with xylotrophic fungi, among which more than 76% were specialized mycetobionts – obligate mycetophagans, for which fungi are the only or predominant food source. Over 21% accounted for the share of mixophagans and only 3% of the species complex falls on the third group – predators (zoophagous).

Keywords: fauna, beetles, mycetophiles, Basidiomycetes, urban environment

Acknowledgements. The autors express their sincere gratitude to Associate Professor of the Department of Botany and Ecology of Saratov State University Oleg V. Kostetsky for checking the definition of basidiomycetes.

For citation: Mironova A. A., Sazhnev A. S., Anikin V. V. Mycetophilic beetles (*Insecta: Coleoptera*) associated with xylotrophic fungi in residential areas of Saratov city. *Izvestiya of Saratov University. Chemistry. Biology. Ecology*, 2022, vol. 22, iss. 4, pp. 474–480 (in Russian). <https://doi.org/10.18500/1816-9775-2022-22-4-474-480>, EDN: WULHHP

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

Введение

Любое энтомологическое исследование, направленное на изучение региональной фауны насекомых, и в последующем составление кадастра видов должны в обязательном порядке включать в себя изучение населения грибов [1]. В грибах обитают представители различных отрядов насекомых, среди которых наибольшее количество видов приходится на жесткокрылых (*Coleoptera*). По данным Л. Беника [2], в Центральной Европе на грибах встречается более 1100 видов жесткокрылых. Для России и сопредельных территорий известно около 2000 видов жуков, связанных с грибами [3]. Грибы являются ключевой группой для популяций, консортивно связанных с ними видов жесткокрылых.

Взаимоотношения жесткокрылых и ксилотрофных грибов многогранны и могут характеризоваться как зависимостью жука от гриба, так и наоборот [2]. В настоящее время эти взаимодействия находятся в центре внимания ученых биологических отраслей науки [4–10], но в городских ландшафтах Поволжья такие исследования ранее не проводились. Предполагается, что состав сообщества жесткокрылых, связанных с ксилотрофными грибами на территории селитебных зон, отличается от естественных лесных экосистем, что и стало предметом нашего исследования, проведенного на примере г. Саратов. Характерная особенность крупных городов – мозаичный характер их природных комплексов и/или зеленых насаждений. Это, в свою очередь, определяет «островной» характер распределения подходящих местообитаний для мицетофильных жесткокрылых в городе. К селитебным зонам мы отнесли: лесопарки, искусственные и естественные древесные и древесно-кустарниковые биотопы,

расположенные на территории города, аллеи и парки, а также застроенные природные участки.

Важно еще раз отметить, что урбоэкосистемы – это искусственные природно-антропогенные комплексы, которые заметно отличаются от естественных самоподдерживающихся экосистем, в частности нарушенными биохимическими циклами внутри них, наличием большого количества неестественных отходов, которые не утилизируются биотой, что может приводить к уменьшению видового богатства и/или элиминации ксилотрофных базидиомицетов, следовательно, негативно влиять на разнообразие мицетофильных жесткокрылых.

Материалы и методы

Сборы жесткокрылых (имаго и личинки) проводили в весенне-летний период 2017–2020 гг. с плодовых тел разных ксилотрофных базидиомицетов селитебных зон г. Саратов: Волжский р-н (ул. Московская, парк «Липки»), Кировский р-н (ул. Астраханская, ул. Рахова), Фрунзенский р-н (ул. Шелковичная, ул. Новоузенская), Октябрьский р-н (ул. Зарубина), Заводской р-н (ул. Чернышевского) (рис. 1). Исследованиями были охвачены территории, на которых произрастали лиственные породы деревьев.

Имаго и личинок жуков собирали с поверхности и из толщи плодовых тел базидиомицетов (*Basidiomycota*). Жесткокрылые были обнаружены в 129 плодовых телах 7 видов грибов. Всего было собрано 986 экз., принадлежащих к 29 видам из 8 семейств.

Для сбора материала использовали различные методы: ручной сбор, метод флотации и навесные ловушки. Описание методики сбора приводится в ряде предыдущих статей авторов [11–13].

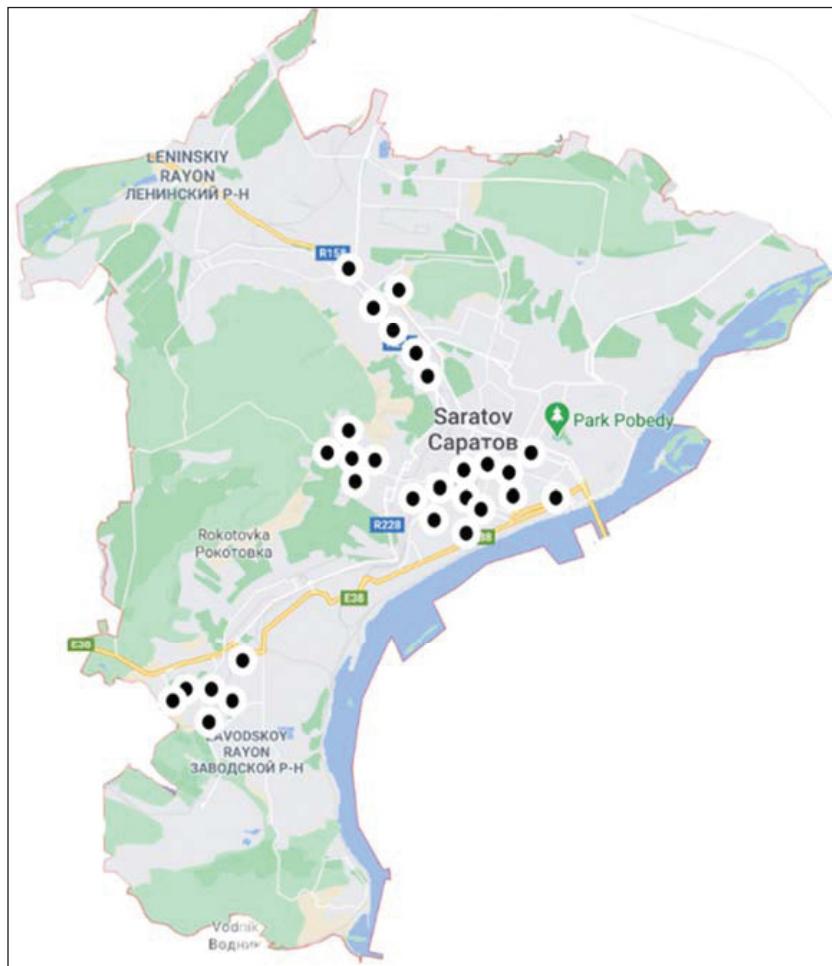


Рис. 1. Места сбора плодовых тел ксилотрофных грибов
Fig. 1. A sampling points of fruiting bodies of xylotrophic fungi

Результаты и их обсуждение

На селитебных территориях города Саратова были собраны плодовые тела 7 видов ксилотрофных грибов, 73% из которых были заселены жестокрылыми. Наиболее частыми в сборах базидиомицетами оказались *Cerioporus squamosus* (Huds.) Quelet, *Fomes fomentarius* (L.) Fr. и *Laetiporus sulphureus* (Bull.) Murrill, в связи с чем они имеют наиболее разнообразные по составу видов колеоптерокомплексы (таблица). При пересчете на 1 пробу с плодовых тел этих видов грибов было собрано в среднем 0,6–0,8 видов жесткокрылых. Плодовые тела этих видов встречаются на деревьях и пнях у дорог, в аллеях и около жилых домов.

В итоге исследования колеоптерокомплекс плодовых тел трутовика чешуйчатого (*Cerioporus squamosus*) составил 25 видов жесткокрылых из 8 семейств. Бесспорным доминантом по видовому разнообразию является семейство *Staphylinidae*, включающее 12 видов. Из данного семейства

было встречено 8 родов: *Acrotona*, *Atheta*, *Bisnius*, *Gyrophaena*, *Lordithon*, *Omalium*, *Scaphisoma* и *Sepedophilus*. Самым многочисленным по количеству видов оказался мицетофильный род *Gyrophaena* (4 вида). Рода *Atheta* и *Scaphisoma* были представлены 2 видами каждый, виды остальных родов присутствовали в сборах единично (не более 5 экз.). Наиболее частыми в сборах оказались виды стафилинид: *Anotylus nitidulus* (Gravenhorst, 1802) (26 экз.), *Gyrophaena lucidula* Erichson, 1837 (25 экз.) и *Gyrophaena joyi* Wendeler, 1924 (67 экз.).

Семейство *Tenebrionidae* представлено в сборах 3 видами: *Diaperis boleti* (Linnaeus, 1758), *Eledona agricola* (Herbst, 1783) и *Pentaphyllus chrysomeloides* (Hellwig, 1792). Первые два представителя имеют численное превосходство – 41% от всех видов сообществ жесткокрылых изученных грибов. Сравнительно многочисленны представители специализированных мицетобионтов из семейств *Ciidae* (*Cis comptus* Gyllenhal, 1827,



Распределение жуков по заселяемым ими грибам
Table. Distribution of beetles by the fungi they inhabit

Жесткокрылые / Coleoptera	Грибы / Fungi						
	1	2	3	4	5	6	7
<i>Acrotona fungi</i> (Gravenhorst, 1806)	—	+	—	—	—	—	—
<i>Anisotoma glabra</i> (Kugelann, 1794)	—	+	—	—	—	—	—
<i>Anisotoma humeralis</i> (Fabricius, 1792)	—	+	+	—	—	—	—
<i>Anotylus nitidulus</i> (Gravenhorst, 1802)	—	+	+	—	+	—	—
<i>Atheta obliterata</i> (Erichson, 1839)	—	+	—	—	—	—	—
<i>Bisnius sordidus</i> (Gravenhorst, 1802)	—	+	—	—	—	—	—
<i>Cis comptus</i> Gyllenhal, 1827	+	+	—	—	—	+	—
<i>Cis rugulosus</i> Mellie, 1848	—	—	+	—	—	—	—
<i>Cylloides ater</i> (Herbst, 1792)	—	+	—	—	—	—	—
<i>Corticeus bicolor</i> (Olivier, 1790)	—	+	—	—	—	—	—
<i>Dacne bipustulata</i> (Thunberg, 1781)	+	+	+	—	+	+	+
<i>Dacne pontica</i> (Bedel, 1868)	—	+	+	—	+	—	—
<i>Diaperis boleti</i> (Linnaeus, 1758)	—	+	+	—	+	+	+
<i>Eledona agricola</i> (Herbst, 1783)	—	+	+	—	+	—	—
<i>Gnathoncus nannetensis</i> (Marseul, 1862)	—	+	—	—	—	—	—
<i>Gyrophaena bimaculata</i> Thomson, 1867	—	+	—	—	—	—	—
<i>Gyrophaena joyi</i> Wendeler, 1924	—	+	—	+	—	—	—
<i>Gyrophaena lucidula</i> Erichson, 1837	—	+	—	—	—	—	—
<i>Gyrophaena strictula</i> Erichson, 1839	—	+	—	—	—	—	—
<i>Lordithon thoracicus</i> (Fabricius, 1777)	—	+	—	—	—	—	—
<i>Mycetophagus piceus</i> (Fabricius, 1777)	—	+	—	—	+	—	—
<i>Mycetophagus quadripustulatus</i> (Linnaeus, 1760)	+	+	+	—	+	+	+
<i>Octotemnus glabriculus</i> (Gyllenhal, 1827)	—	—	+	—	—	—	—
<i>Omalium rivulare</i> (Paykull, 1789)	—	+	—	—	—	—	—
<i>Orchesia micans</i> (Panzer, 1793)	—	—	+	—	—	—	—
<i>Pentaphyllus chrysomeloides</i> (Rossi, 1792)	—	+	—	—	+	—	—
<i>Scaphisoma agaricinum</i> (Linnaeus, 1758)	—	+	—	—	+	—	—
<i>Scaphisoma boreale</i> Lundblad, 1952	—	+	+	—	—	—	—
<i>Triplax lepida</i> (Faldermann, 1837)	—	+	—	—	—	—	—
Бсро / Total	3	26	11	1	9	4	3

Обозначения / Designations: 1 – *Bjerkandera fumosa*, 2 – *Cerioporus squamosus*, 3 – *Fomes fomentarius*, 4 – *Kuehneromyces mutabilis*, 5 – *Laetiporus sulphureus*, 6 – *Phaeolus schweinitzii*, 7 – *Volvariella bombycina*.

C. rugulosus, Mellie, 1848, *Octotemnus glabriculus* (Gyllenhal, 1827), Erotylidae (*Dacne bipustulata* (Thunberg, 1781), *D. pontica* (Bedel, 1868), *Triplax lepida* (Faldermann, 1837)) и Mycetophagidae (*Mycetophagus piceus* (Fabricius, 1777), *M. quadripustulatus* (Linnaeus, 1760)). Остальные семейства представлены единично.

Мицетофильные сообщества жесткокрылых трутовика настоящего (*Fomes fomentarius*) включают представителей 6 семейств: Ciidae (*Cis rugulosus* и *Octotemnus glabriculus*), Erotylidae (*Dacne bipustulata* и *D. pontica*), Leiodidae (*Anisotoma humeralis* (Fabricius, 1792)), Mycetophagidae (*Mycetophagus quadripustulatus*), Staphylinidae



(*Anotylus nitidulus*, *Scaphisoma boreale* Lundblad, 1952) и Tenebrionidae (*Diaperis boleti*, *Eledona agricola*, *Orchesia micans* (Panzer, 1793)) (рис. 2). Чаще всего были встречены жуки *Dacne pontica* (29%) и *Eledona agricola* (25%).

Для серно-желтого трутовика (*Laetiporus sulphureus*) отмечены представители 4 семейств: Erotylidae (*Dacne bipustulata* и *D. pontica*), Mycetophagidae (*Mycetophagus piceus* и *M. quadripustu-*

latus), Staphylinidae (*Anotylus nitidulus*, *Scaphisoma agaricinum* (Linnaeus, 1758)) и Tenebrionidae (*Dacne boleti*, *Eledona agricola* (наиболее част в сборах – 44%), *Pentaphyllus chrysomeloides* (Rossi, 1792)).

Грибы *Bjerkandera fumosa* (Pers.) P. Karst., *Kuehneromyces mutabilis* (Schaeff.), *Phaeolus schweinitzii* (Fr.), *Volvariella bombycine* (Schaeff.) отмечаются как редко встречающиеся на территории города (см. рис. 2).

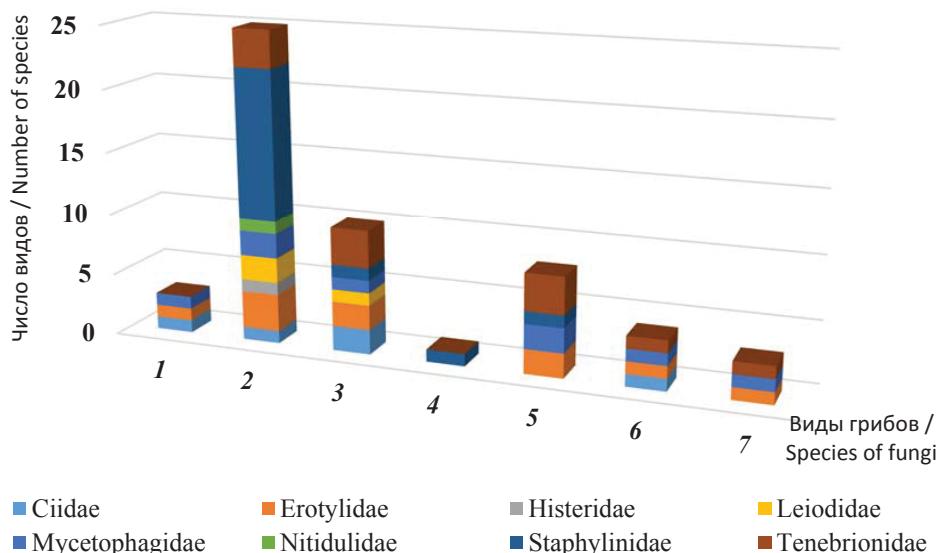


Рис. 2. Основные семейства жесткокрылых, отмеченные на плодовых телах ксилотрофных базидиомицетов: 1 – *Bjerkandera fumosa*, 2 – *Cerioporus squamosus*, 3 – *Fomes fomentarius*, 4 – *Kuehneromyces mutabilis*, 5 – *Laetiporus sulphureus*, 6 – *Phaeolus schweinitzii*, 7 – *Volvariella bombycine* (цвет онлайн)

Fig. 2. The main families of coleoptera, marked on the fruit bodies of xylotrophic basidiomycetes: 1 – *Bjerkandera fumosa*, 2 – *Cerioporus squamosus*, 3 – *Fomes fomentarius*, 4 – *Kuehneromyces mutabilis*, 5 – *Laetiporus sulphureus*, 6 – *Phaeolus schweinitzii*, 7 – *Volvariella bombycine* (color online)

Таким образом, в плодовых телах грибов селитебных зон города Саратова обитают представители 8 семейств жесткокрылых. Основу сообщества составляют Staphylinidae, Tenebrionidae, Erotylidae, Mycetophagidae и Ciidae. Наиболее типичными обитателями грибов оказались *Anotylus nitidulus*, *Gyrophaena joyi* (Staphylinidae), *Diaperis boleti*, *Eledona agricola* (Tenebrionidae), *Cis comptus* (Ciidae), *Mycetophagus quadripustulatus* (Mycetophagidae), *Dacne bipustulata*, *D. pontica* (Erotylidae).

С учётом особенностей биологии и пищевой специализации в исследованных мицетофильных сообществах жесткокрылых ксилотрофных базидиомицетов выделены следующие трофические группировки видов жуков: облигатные мицетофаги, миксофаги и хищники (зоофаги) [14–16] (рис. 3).

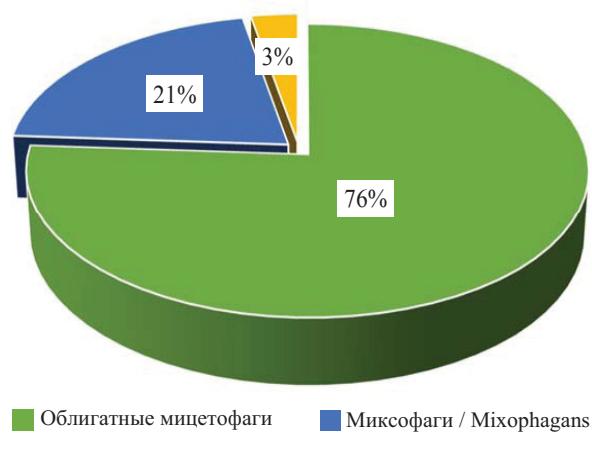


Рис. 3. Трофическая специализация мицетофильных жесткокрылых (цвет онлайн)
Fig. 3. Trophic specialization of mycetophilic beetles (color online)



К облигатным мицетофагам (76%) отнесены виды, питающиеся исключительно грибами независимо от того, в какой среде они обитают [1]. Среди них в сборах присутствуют типичные мицетофаги (в широком смысле) (*Gyrophaena* spp., *Scaphisoma agaricinum* (Linnaeus, 1758), *S. boreale* Lundblad, 1952 (Staphylinidae), *Cylloides ater* (Herbst, 1792) (Nitidulidae), *Orchesia micans* (Panzer, 1793)) и мицетосапрофаги (*Cis comptus*, *C. rugulosus*, *Octotemnus glabriculus* (Gyllenhal, 1827) (Ciidae), *Diaperis boleti*, *Pentaphyllus testaceus* (Tenebrionidae) *Anisotoma glabra* (Kugelann, 1794), *A. humeralis* (Fabricius, 1792) (Leiodidae) *Mycetophagus piceus*, *M. quadripustulatus* (Mycetophagidae), *Dacne bipustulata*, *D. pontica* (Erotylidae)). Миксофаги (21%), такие как *Atheta oblitera* (Erichson, 1839), *A. crassicornis* (Fabricius, 1792) (Staphylinidae), совмещают различные типы питания. Относительно легкая доступность личинок мицетофильных жуков предусматривает наличие хищников (3%) (*Corticeus bicolor* (Olivier, 1790) (Tenebrionidae)), проникающих в плодовые тела через ходы личинок и имаго мицетобионтов.

Выводы

Состав мицетофильных сообществ ксилотрофных базидиомицетов на территории селитебных зон г. Саратова включает 29 видов жесткокрылых из 8 семейств. Наибольшее количество видов (12) пришлось на семейство Staphylinidae. Жуки *Dacne bipustulata*, *Mycetophagus quadripustulatus* были найдены на всех встречающихся базидиомицетах за исключением *Kuehneromyces mutabilis*, который был обнаружен в единственном экземпляре и не может в полной мере отобразить облик ассоциированного с этим видом мицетофильного сообщества жесткокрылых. Основная доля экземпляров в сборах принадлежит мицетофагам *Dacne boleti* (31%), *D. pontica* (25%) и *Eledona agricola* (13%).

В сравнении с естественными биотопами г. Саратова и Саратовской области видовое разнообразие мицетофильных жесткокрылых селитебных ландшафтов значительно уступает первым, так, только на плодовых телах *Cerioporos squamosus* в неантропогенных биотопах отмечено обитание 43 видов жесткокрылых [17], а на *Fomes fomentarius* – 23 видов [18].

С ксилотрофными грибами связаны три основные трофические группы жесткокрылых. В наших исследованиях более 76% из них составили специализированные мицетобионты – облигатные мицетофаги, для которых грибы являются единственным или преобладающим источником пищи; свыше 21% пришлось на долю миксомицетофагов, и всего 3% – на долю хищников.

Список литературы

1. Красуцкий Б. В. Жесткокрылые-мицетобионты (*Coleoptera*) основных дереворазрушающих грибов лесостепного Зауралья // Энтомологическое обозрение. 1996. Т. 75, вып. 2. С. 274–277.
2. Benick L. Pilzkafer und Kaferpilz. Okologische und statistische Untersuchungen // Acta Zoologica Fennica. 1952. Bd. 70. 250 S.
3. Красуцкий Б. В. Мицетофильные жесткокрылые Урала и Зауралья. Т. 2. Система «Грибы – насекомые». Челябинск : Урал. отд-ние Рус. энтомол. о-ва, 2005. 213 с.
4. Muller R. Bemerkenswerte Kaferarten und Bodenpilzen // Deutsche Entomologische Zeitschrift. 1973. Bd. 83, № 3. S. 265–274.
5. Scheerpeltz O., Hofler K. Kafer und Pilze. Verlag fur Jugend und Volk, Vienna, 1948. 351 S.
6. Crowson R. A. An Ecological Triangle: Beetles, Fungi and Trees // The Biology of the Coleoptera. London : Academic Press, 1981. P. 559–583.
7. Компанцев А. В. Комплексы жесткокрылых, связанных с основными дереворазрушающими грибами в лесах Костромской области. М. : Наука, 1984. 191 с.
8. Яковлев Е. Б. Данные по экологии наиболее массовых разрушителей плодовых тел грибов в Карелии // Проблемы комплексного использования древесины и охраны природы : тезисы докл. конф. молодых ученых. Петрозаводск : Карел. филиал АН СССР, 1982. С. 82–84.
9. Кривошеина Н. П. Формы взаимосвязей насекомых-ксилобионтов и ксилотрофных грибов // Бюллетень Московского общества испытателей природы. Отдел биологический. 1991. Т. 96, № 6. С. 37–47.
10. Халидов А. Б. Насекомые – разрушители грибов. Казань : Изд-во КГУ, 1984. 152 с.
11. Сажнев А. С., Миронова А. А. Материалы к фауне мицетофильных жесткокрылых Саратовской области // Энтомологические и паразитологические исследования в Поволжье. 2018. Вып. 15. С. 37–41.
12. Сажнев А. С., Миронова А. А. Жесткокрылые (*Insecta: Coleoptera*) в составе микроконсорций разных видов базидиомицетов (*Fungi*) на территории Саратовской области // Труды Мордовского государственного природного заповедника имени П. Г. Смидовича. 2019. Вып. 23. С. 135–144.
13. Сажнев А. С., Миронова А. А., Аниkin В. В. Предварительные данные по фауне мицетофильных жесткокрылых (*Insecta, Coleoptera*) Саратовской области // Известия Саратовского университета. Новая серия. Серия: Химия. Биология. Экология. 2018. Т. 18, вып. 3. С. 336–340. <https://doi.org/10.18500/1816-9775-2018-18-3-336-340>
14. Щигель Д. С. Жесткокрылые – обитатели трутовых грибов европейской части России: автореф. дис. ... канд. биол. наук. М., 2003. 21 с.
15. Красуцкий Б. В. Жесткокрылые (*Coleoptera, Insecta*), связанные с настоящим трутовиком *Fomes fomentarius* (L.: Fr.) Fr. (*Basidiomycetes, Aphyllophorales*) в лесах Урала и Зауралья // Проблемы биомонито-



- ринга естественных ландшафтов на Урале и в Северном Казахстане. Кустанай : КГУ, 1997. С. 27–55.
16. Красуцкий Б. В. Жестокрылые (Coleoptera, Insecta) в мицетофильных сообществах дереворазрушающих грибов (Basidiomycetes, Fungi) лесостепного Зауралья // Беспозвоночные животные Южного Зауралья и сопредельных территорий. Курган, 1998. С. 205–208.
17. Сажнев А. С., Миронова А. А. Мицетофильные жестокрылые (Coleoptera) микоконсорций базидиальных грибов (Fungi: Basidiomycota) Саратовской области. Итоги изучения (2017–2020) // Труды Мордовского государственного природного заповедника имени П. Г. Смидовича. 2021. Вып. 26. С. 193–204.
18. Миронова А. А., Сажнев А. С., Аникин В. В. Фаунистический комплекс мицетофильных жестокрылых (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>
- of the conference of young scientists]. Petrozavodsk, Karelian philial AN SSSR Publ., 1981, pp. 82–84 (in Russian).
9. Krivosheina N. P. Forms of interrelations of insects-xylobionts and xylo-trophic fungi. *Bulletin of Moscow Society of Naturalists. Biological series*, 1991, vol. 96, no. 6, pp. 37–47 (in Russian).
10. Khalidov A. B. *Nasekomye – razrushiteli gribov* [Insects-destructors of fungi]. Kazan', Kazansky State University Press, 1984. 152 p. (in Russian).
11. Sazhnev A. S., Mironova A. A. Coleopterans (Insecta: Coleoptera) in myco-consortiums of Basidiomycetes (Fungi) in the Saratov Province (Russia). *Entomological and Parasitological Investigations in the Povolzh'e Region*, 2018, iss. 15, pp. 37–41 (in Russian).
12. Sazhnev A. S., Mironova A. A. Coleoptera (Insecta: Coleoptera) as a part of mycoconsortions of different species of basidiomycetes (Fungi) on the territory of the Saratov region. *Proceedings of the P. G. Smidovich Mordovian State Nature Reserve*, 2019, iss. 23, pp. 135–144 (in Russian).
13. Sazhnev A. S., Mironova A. A., Anikin V. V. Preliminary data on the fauna of mycetophilic coleoptera (Insecta, Coleoptera) Saratov region. *Izvestiya of Saratov University. Chemistry. Biology. Ecology*, 2018, vol. 18, iss. 3, pp. 336–340 (in Russian). <https://doi.org/10.18500/1816-9775-2018-18-3-336-340>
14. Shchigel D. S. *Coleoptera-inhabitants of the tinder mushrooms of the European part of Russia*. Thesis Diss. Cand. Sci. (Biol.). Moscow, 2003. 21 p. (in Russian).
15. Krasutsky B. V. Coleoptera (Coleoptera, Insecta) associated with the real tinder *Fomes fomentarius* (L.: Fr.) Fr. (Basidiomycetes, Aphyllophorales) in the forests of the Urals and Trans-Urals. In: *Problemy biomonitoringa estestvennykh landshaftov na Urale i v Severnom Kazakhstane* [Problems of biomonitoring of natural landscapes in the Urals and Northern Kazakhstan]. Kustanai, KGU Publ., 1997, pp. 27–55 (in Russian).
16. Krasutsky B. V. Coleoptera (Coleoptera, Insecta) in mycetophilic communities of wood-destroying fungi (Basidiomycetes, Fungi) of the forest-steppe Trans-Urals. In: *Bespozvonochnyye zhivotnye Yuzhnogo Zaural'ya i sopredel'nykh territoriy* [Invertebrates of the Southern Trans-Urals and Adjacent Territories]. Kurgan, 1998, pp. 205–208 (in Russian).
17. Sazhnev A. S., Mironova A. A. Fungivorous beetles (Coleoptera) in mycoconsortiums of basidiomycetes (Fungi: Basidiomycota) in Saratov oblast the results of the study (2017–2020). *Proceedings of the P. G. Smidovich Mordovian State Nature Reserve*, 2021, iss. 26, pp. 193–204 (in Russian).
18. Mironova A. A., Sazhnev A. S., Anikin V. V. Article 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 (in Russian). <https://doi.org/10.18500/1816-9775-2021-21-3-280-285>

References

1. Krasutsky B. V. Coleoptera-mycetobionts (Coleoptera) of the main wood-destroying fungi of the forest-steppe Trans-Urals. *Entomological Review*, 1996, vol. 75, iss. 2, pp. 274–277 (in Russian).
2. Benick L. Pilzkafer und Kaferpilz. Okologische und statistische Untersuchungen. *Acta Zoologica Fennica*, 1952, vol. 70. 250 S.
3. Krasutsky B. V. *Mitsetofil'nyye zhestkokrylyye Urala i Zaural'ya. T. 2. Sistema "Griby – nasekomyye"* [Fungivorous Coleoptera of Ural and Trans-Ural. Vol. 2. "Fungi – Insects" System]. Chelyabinsk, Ural Branch of the Russian Entomological Society, 2005. 213 p. (in Russian).
4. Muller R. Bemerkenswerte Kaferarten und Bodenpilzen. *Deutsche Entomologische Zeitschrift*, 1973, vol. 83, no. 3, pp. 265–274.
5. Scheerpeltz O., Hofler K. *Kafer und Pilze*. Verlag fur Jugend und Volk, Vienna, 1948. 351 S.
6. Crowson R. A. An Ecological Triangle: Beetles, Fungi and Trees. In: *The Biology of the Coleoptera*. London, Academic Press, 1981, pp. 559–583.
7. Kompantsev A. V. *Kompleksy zhestkokrylykh, svyazannyykh s osnovnymi drevorazrushayushchimi gribami v lesakh Kostromskoĭ oblasti* [Complexes of coleoptera associated with the main tree-destroying fungi in the forests of the Kostroma region]. Moscow, Nauka Publ., 1984. 191 p. (in Russian).
8. Yakovlev E. B. Data on the ecology of the most massive destroyers of fruit bodies of fungi in Karelia. In: *Problemy kompleksnogo ispol'zovaniya drevesiny i okhrany prirody : tezisy dokl. konf. molodykh uchenykh* [Problems of Complex Use of Wood and Nature Protection: Abstract of the conference of young scientists]. Petrozavodsk, Karelian philial AN SSSR Publ., 1981, pp. 82–84 (in Russian).
9. Krivosheina N. P. Forms of interrelations of insects-xylobionts and xylo-trophic fungi. *Bulletin of Moscow Society of Naturalists. Biological series*, 1991, vol. 96, no. 6, pp. 37–47 (in Russian).
10. Khalidov A. B. *Nasekomye – razrushiteli gribov* [Insects-destructors of fungi]. Kazan', Kazansky State University Press, 1984. 152 p. (in Russian).
11. Sazhnev A. S., Mironova A. A. Coleopterans (Insecta: Coleoptera) in myco-consortiums of Basidiomycetes (Fungi) in the Saratov Province (Russia). *Entomological and Parasitological Investigations in the Povolzh'e Region*, 2018, iss. 15, pp. 37–41 (in Russian).
12. Sazhnev A. S., Mironova A. A. Coleoptera (Insecta: Coleoptera) as a part of mycoconsortions of different species of basidiomycetes (Fungi) on the territory of the Saratov region. *Proceedings of the P. G. Smidovich Mordovian State Nature Reserve*, 2019, iss. 23, pp. 135–144 (in Russian).
13. Sazhnev A. S., Mironova A. A., Anikin V. V. Preliminary data on the fauna of mycetophilic coleoptera (Insecta, Coleoptera) Saratov region. *Izvestiya of Saratov University. Chemistry. Biology. Ecology*, 2018, vol. 18, iss. 3, pp. 336–340 (in Russian). <https://doi.org/10.18500/1816-9775-2018-18-3-336-340>
14. Shchigel D. S. *Coleoptera-inhabitants of the tinder mushrooms of the European part of Russia*. Thesis Diss. Cand. Sci. (Biol.). Moscow, 2003. 21 p. (in Russian).
15. Krasutsky B. V. Coleoptera (Coleoptera, Insecta) associated with the real tinder *Fomes fomentarius* (L.: Fr.) Fr. (Basidiomycetes, Aphyllophorales) in the forests of the Urals and Trans-Urals. In: *Problemy biomonitoringa estestvennykh landshaftov na Urale i v Severnom Kazakhstane* [Problems of biomonitoring of natural landscapes in the Urals and Northern Kazakhstan]. Kustanai, KGU Publ., 1997, pp. 27–55 (in Russian).
16. Krasutsky B. V. Coleoptera (Coleoptera, Insecta) in mycetophilic communities of wood-destroying fungi (Basidiomycetes, Fungi) of the forest-steppe Trans-Urals. In: *Bespozvonochnyye zhivotnye Yuzhnogo Zaural'ya i sopredel'nykh territoriy* [Invertebrates of the Southern Trans-Urals and Adjacent Territories]. Kurgan, 1998, pp. 205–208 (in Russian).
17. Sazhnev A. S., Mironova A. A. Fungivorous beetles (Coleoptera) in mycoconsortiums of basidiomycetes (Fungi: Basidiomycota) in Saratov oblast the results of the study (2017–2020). *Proceedings of the P. G. Smidovich Mordovian State Nature Reserve*, 2021, iss. 26, pp. 193–204 (in Russian).
18. Mironova A. A., Sazhnev A. S., Anikin V. V. Article 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 (in Russian). <https://doi.org/10.18500/1816-9775-2021-21-3-280-285>

Поступила в редакцию 03.08.22; одобрена после рецензирования 15.10.22; принята к публикации 20.10.22
The article was submitted 03.08.22; approved after reviewing 15.10.22; accepted for publication 20.10.22