

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

# ИЗВЕСТИЯ САРАТОВСКОГО УНИВЕРСИТЕТА

Новая серия

Серия: Химия. Биология. Экология

2024

Том 24

Выпуск 1



IZVESTIYA OF SARATOV UNIVERSITY  
CHEMISTRY. BIOLOGY. ECOLOGY



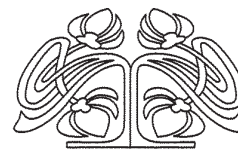
Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования  
«Саратовский национальный исследовательский государственный университет имени Н. Г. Чернышевского»

# ИЗВЕСТИЯ САРАТОВСКОГО УНИВЕРСИТЕТА

Новая серия

Серия Химия. Биология. Экология, выпуск 1

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



Научный журнал  
2024 Том 24

ISSN 1816-9775 (Print)

ISSN 2541-8971 (Online)

Издается с 2005 года

## СОДЕРЖАНИЕ

### Научный отдел

#### Химия

**Бирюков И. Р., Горло В. Д., Меняйло И. Е., Пиденко С. А., Бурмистрова Н. А.** Селективные сорбенты для микотоксинов на основе импринтированных структур полианилина 4

**Ковыршина А. А., Бакал А. А., Савельева М. С., Горячева И. Ю., Демина П. А.** Исследование зависимости физико-химических свойств флуоресцентных гибридных полимерных носителей от условий гидротермального синтеза 15

**Шевяхова А. В., Нестерова А. Ю., Ильин К. К., Черкасов Д. Г.** Фазовое поведение и растворимость компонентов двойной системы масляная кислота – полиэтиленгликоль-1500 28

**Шабловский Я. О.** Гетерофазные явления при фракционировании трития в водных системах 35

**Филипьевичева Ю. А., Сигида Е. Н., Ткаченко О. В., Бурьгин Г. Л.** Изменение химических, физико-химических и биологических свойств липополисахарида *Ochrobactrum cytisi* IPA7.2 при O-дезацелировании 44

#### Биология

**Толкачёв О. В., Малкова Е. А., Маклаков К. В., Куваева Е. И.** К совершенствованию неинвазивного метода оценки обилия мышевидных грызунов и землероек в городской среде 51

**Купряшина М. А., Пономарева Е. Г., Абдрахманова А. С.** Влияние ингибиторов фенолоксидаз на эффективность деколоризации малахитового зеленого бактериями рода *Azospirillum* 58

**Кондюрина Н. К., Федоненко Ю. П., Сигида Е. Н., Коннова С. А.** Активность липополисахарида типового штамма *Azospirillum palustre* B2 в отношении проростков пшеницы (*Triticum aestivum* L.) 67

**Пискунов В. И., Аникин В. В., Держинский Е. А.** Новый подвид выемчатокрылых молей рода *Neofriseria* (Lepidoptera, Gelechiidae) из Нижнего Поволжья (Россия) 76

#### Экология

**Исаичкин В. А., Селезнева Е. С., Белоусова З. П.** Анализ природных и антропогенных факторов, влияющих на способность *Lepidium sativum* L. адаптироваться к токсичности триазольных ксенобиотиков 84

**Дубатов В. В.** Новые сведения по распространению цикадовых (Insecta, Homoptera, Cicadinea) в Приамурье (Хабаровский край) на особо охраняемых территориях 96

**Торгашкова О. Н., Ефимова Д. И., Татьяна Е. О.** Адвентивный компонент банка семян некоторых лесных сообществ островов реки Волги 103

**Симоненков В. С., Симоненкова В. А., Гилязиева С. Р., Калякина Р. Г., Ангалт Е. М.** Влияние рекреации на радиальный прирост сосны обыкновенной 111

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

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

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

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 (категория К2, 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

**Редактор-стилист**  
Агафонов Андрей Петрович

**Верстка**  
Пермяков Алексей Сергеевич

**Технический редактор**  
Каргин Игорь Анатольевич

**Корректор**  
Малютина Елена Анатольевна

В оформлении издания использованы работы художника Соколова Дмитрия Валерьевича (13.11.1940–20.11.2023)

**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 21.03.2024.

Подписано в свет 29.03.2024.

Формат 60 × 84 1/8.

Усл. печ. л. 13,72 (14,75).

Тираж 100 экз. Заказ 17-Т

Отпечатано в типографии Саратовского университета.

**Адрес типографии:**  
410012, Саратов, Б. Казачья, 112А

© Саратовский университет, 2024



## ПРАВИЛА ДЛЯ АВТОРОВ

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

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

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

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

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

Структура подачи материала:

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

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

Требования к аннотации и библиографическому списку:

- аннотация не должна содержать сложных формул, ссылок на список литературы, по содержанию повторять название статьи, быть насыщена общими словами, не излагающими сути исследования; оптимальный объем 150–200 слов;

- в списке литературы должны быть указаны только процитированные в статье работы; ссылки на неопубликованные работы не допускаются.

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

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

Адреса для переписки с редколлегией серии: [ichbe-sgu@yandex.ru](mailto: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

**Biryukov I. R., Gorlo V. D., Menyailo I. E., Pidenko S. A., Burmistrova N. A.** Selective mycotoxines sorbent based on molecular imprinted polyaniline structures 4

**Kovyreshina A. A., Bakal A. A., Saveleva M. S., Goryacheva I. Yu., Demina P. A.** Dependence of physical-chemical properties of fluorescent hybrid polymer carriers on the conditions of hydrothermal synthesis 15

**Sheviakhova A. V., Nesterova A. Yu., Il'in K. K., Cherkasov D. G.** Phase behavior and solubility of components of the binary butyric acid – polyethylene glycol-1500 system 28

**Shablovsky Ya. O.** Heterophase phenomena of tritium fractionation in water systems 35

**Filip'echeva Yu. A., Sigida E. N., Tkachenko O. V., Burygin G. L.** Changes in the chemical, physical-chemical and biological properties of *Ochrobactrum cytisi* IPA7.2 lipopolysaccharide during O-deacylation 44

#### Biology

**Tolkachev O. V., Malkova E. A., Maklakov K. V., Kuvaeva E. I.** Proposals for improving a non-invasive method for estimating abundance of mouse-like rodents and shrews in urban areas 51

**Kupryashina M. A., Ponomareva E. G., Abdrakhmanova A. S.** The effects of phenoloxidase inhibitors on the efficacy of malachite green decolorization by *Azospirillum* bacteria 58

**Kondyurina N. K., Fedonenko Yu. P., Sigida E. N., Konnova S. A.** Effect of *Azospirillum palustre* B2 lipopolysaccharide on wheat seedlings (*Triticum aestivum* L.) 67

**Piskunov V. I., Anikin V. V., Derzhinsky Ye. A.** A new subspecies of gelechiid moths from the genus *Neofriseria* (Lepidoptera, Gelechiidae) from the Lower Volga Region (Russia) 76

#### Ecology

**Isaichkin V. A., Selezneva E. S., Belousova Z. P.** Analysis of natural and anthropogenic factors affecting the ability of *Lepidium sativum* L. to adapt to the toxicity of triazole xenobiotics 84

**Dubatolov V. V.** New information on the distribution of cicads (Insecta, Homoptera, Cicadinea) in the Amur river basin (Khabarovskii krai) in specially protected areas 96

**Torgashkova O. N., Efimova D. I., Tatianina E. O.** Adventive component of the seed bank of some forest communities of the Volga River islands 103

**Simonenkov V. S., Simonenkova V. A., Gilazieva S. R., Kalyakina R. G., Anhalt E. M.** Influence of recreation on radial growth of the common pine tree 111



**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 РАЕН (Самара, Россия)

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

Гулий Ольга Ивановна, доктор биологических наук, профессор, ведущий научный сотрудник (Саратов, Россия)

Дубатовол 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)

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

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

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

Ларионова 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; Питермарицбург, ЮАР)

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

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

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

Шанцер Иван Алексеевич, доктор биологических наук, главный научный сотрудник (Москва, Россия)

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

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

Штыков Сергей Николаевич, доктор химических наук, профессор, заслуженный деятель науки РФ, действительный член РАЕН (Саратов, Россия)

Щеголев Сергей Юрьевич, доктор химических наук, профессор (Саратов, Россия),

Юдакова Ольга Ивановна, доктор биологических наук, доцент (Саратов, Россия)

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

**Editor-in-Chief** – 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)

Nadezhda T. Berberova (Astrakhan, Russia)

Vladimir A. Bogatyrev (Saratov, Russia)

Ivan K. Garkushin (Samara, Russia)

Oleg G. Gorbunov (Moscow, Russia)

Olga I. Guliy (Saratov, Russia)

Vladimir V. Dubatolov (Novosibirsk, Russia)

Lev A. Dykman (Saratov, Russia)

Alevtina Yu. Egorova (Saratov, Russia)

Galina A. Eroshenko (Saratov, Russia)

Alexandr S. Kashin (Saratov, Russia)

Alexey Yu. Kulagin (Ufa, Russia)

Elena I. Kulish (Ufa, Russia)

Dariya A. Larionova (Ghent, Belgium)

Georgiy V. Maksimov (Moscow, Russia)

Pradyumna Kumar Mishra (Bhopal, India)

Yuliya B. Monakhova (Aachen, Germany)

Mikhail B. Mostovski (Tel Aviv, Israel;

Pietermaritzburg, South African Republic)

Michail L. Oparin (Saratov, Russia)

Natalia N. Pozdnyakova (Saratov, Russia)

Viktor V. Revin (Saransk, Russia)

Ivan A. Shanzer (Moscow, Russia)

Anna B. Shipovskaya (Saratov, Russia)

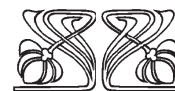
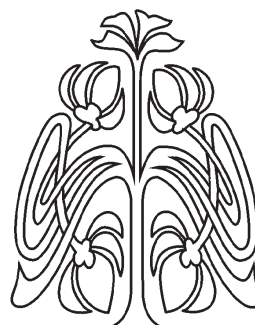
Khidmet S. Shikhaliev (Voronezh, Russia)

Sergey N. Shtykov (Saratov, Russia)

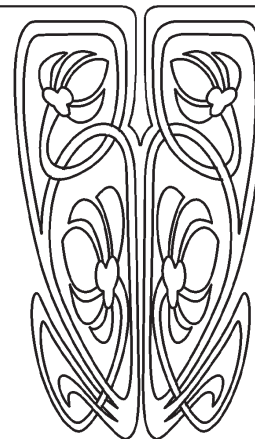
Sergey Ju. Shchyogolev (Saratov, Russia)

Olga I. Yudakova (Saratov, Russia)

Vladimir M. Zakharov (Moscow, Russia)

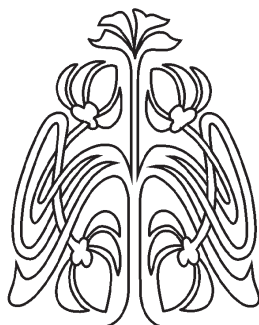


**РЕДАКЦИОННАЯ  
КОЛЛЕГИЯ**

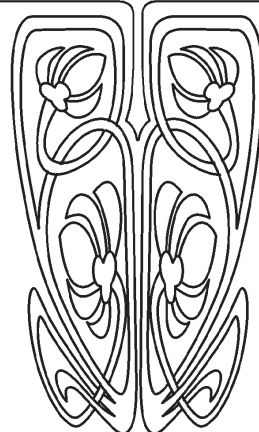




## ХИМИЯ



НАУЧНЫЙ  
ОТДЕЛ



Известия Саратовского университета. Новая серия. Серия: Химия. Биология. Экология. 2024. Т. 24, вып. 1. С. 4–14  
*Izvestiya of Saratov University. Chemistry. Biology. Ecology*, 2024, vol. 24, iss. 1, pp. 4–14  
<https://ichbe.sgu.ru> <https://doi.org/10.18500/1816-9775-2024-24-1-4-14>  
EDN: LLXYWE

Научная статья  
УДК 543.068.8:543.426:543.062:577.182.99

### Селективные сорбенты для микотоксинов на основе импринтированных структур полианилина

И. Р. Бирюков, В. Д. Горло, И. Е. Меняйло, С. А. Пиденко, Н. А. Бурмистрова 

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

Бирюков Ильнур Рушанович, магистр Института химии, [biryukov\\_ilnur@mail.ru](mailto:biryukov_ilnur@mail.ru), <https://orcid.org/0000-0002-1977-2807>

Горло Виктория Дмитриевна, бакалавр Института химии, [victoriya.gorlo@yandex.ru](mailto:victoriya.gorlo@yandex.ru)

Меняйло Илья Евгеньевич, бакалавр Института химии, [menyilo.ilya1997@gmail.com](mailto:menyilo.ilya1997@gmail.com)

Пиденко Сергей Анатольевич, кандидат химических наук, доцент кафедры общей и неорганической химии Института химии, [sapidenko@gmail.com](mailto:sapidenko@gmail.com), <https://orcid.org/0000-0002-9087-4582>

Бурмистрова Наталия Анатольевна, доктор химических наук, профессор кафедры общей и неорганической химии Института химии, [naburmistrova@mail.ru](mailto:naburmistrova@mail.ru), <https://orcid.org/0000-0001-8137-1599>

**Аннотация.** Постоянное увеличение загрязнения сельскохозяйственной продукции микотоксинами делает актуальным разработку новых методов их сорбции, выделения и определения. Молекулярный импринтинг является перспективным методом распознавания и выделения целевых молекул на основе механизма специфической сорбции. Рассмотрена возможность получения и практического использования специфических к микотоксинам селективных сорбентов на основе импринтированных структур полианилина, с использованием структурного аналога микотоксина зеараленона – 4-гидроксикумарина. Проведён выбор оптимального носителя для получения молекулярно-импринтированных полимеров. Изучена эффективность и специфичность сорбции 4-гидроксикумарина из модельных растворов, а также показана практическая возможность сорбции и извлечения зеараленона из искусственно загрязнённого экстракта пшеницы.

**Ключевые слова:** полианилин, микотоксины, зеараленон, специфические сорбенты, молекулярно-импринтированные полимеры, 4-гидроксикумарин

**Благодарности.** Работа выполнена при финансовой поддержке РФФ (проект № 22-16-00102).

**Для цитирования:** Бирюков И. Р., Горло В. Д., Меняйло И. Е., Пиденко С. А., Бурмистрова Н. А. Селективные сорбенты для микотоксинов на основе импринтированных структур полианилина // Известия Саратовского университета. Новая серия. Серия: Химия. Биология. Экология. 2024. Т. 24, вып. 1. С. 4–14. <https://doi.org/10.18500/1816-9775-2024-24-1-4-14>, EDN: LLXYWE

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



Article

## Selective mycotoxins sorbent based on molecular imprinted polyaniline structures

I. R. Biryukov, V. D. Gorlo, I. E. Menyailo, S. A. Pidenko, N. A. Burmistrova ✉

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

Ilnur R. Biryukov, biryukov\_ilnur@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-1977-2807>

Victoria D. Gorlo, victoriya.gorlo@yandex.ru

Ilya E. Menyailo, menyilo.ilya1997@gmail.com

Sergey A. Pidenko, sapidenko@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0002-9087-4582>

Natalia A. Burmistrova, naburmistrova@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0001-8137-1599>

**Abstract.** The constant increase in contamination of agricultural products with mycotoxins makes it urgent to develop new methods for their sorption, isolation, and determination. Molecular imprinting is a promising method for recognizing and isolating target molecules based on specific sorption mechanism. The work considers the possibility of obtaining and practical use of mycotoxin-specific selective sorbents based on imprinted polyaniline structures using a structural analogue of the mycotoxin zearalenone – 4-hydroxycoumarin. The optimal carrier for the synthesis of molecularly imprinted polymers has been selected. The specificity of 4-hydroxycoumarin sorption from model solutions has been studied. The practical possibility of sorption and extraction of ZEA from an artificially contaminated wheat extract has been demonstrated.

**Keywords:** polyaniline, mycotoxins, zearalenone, specific sorbents, molecularly imprinted polymers, 4-hydroxycoumarin

**Acknowledgements.** This work was supported by the Russian Science Foundation (project no. 22-16-00102).

**For citation:** Biryukov I. R., Gorlo V. D., Menyailo I. E., Pidenko S. A., Burmistrova N. A. Selective mycotoxins sorbent based on molecular imprinted polyaniline structures. *Izvestiya of Saratov University. Chemistry. Biology. Ecology*, 2024, vol. 24, iss. 1, pp. 4–14 (in Russian). <https://doi.org/10.18500/1816-9775-2024-24-1-4-14>, EDN: LLXYWE

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

## Введение

Плесневые грибы поражают основные для сельского хозяйства культуры, в том числе злаковые, вызывая их загрязнение первичными и вторичными метаболитами своей жизнедеятельности, к которым относятся микотоксины [1]. Многочисленные виды *Fusarium* вызывают загрязнение злаков зearаленоном (ЗЕА) – нестероидным эстрогенным микотоксином [2]. Актуальность совершенствования методов экстракции и определения ЗЕА обусловлена его высокой токсичностью (ЛД<sub>50</sub> для мышей = 500 мг/кг [3]), а также его распространённостью среди злаковых культур, произрастающих на территории Российской Федерации [4, 5]. В странах Евразийского экономического союза (ЕАЭС) предельно допустимым уровнем содержания ЗЕА в злаковых культурах является 1,0 мг/кг [6, 7].

Наибольшее распространение для определения ЗЕА получили коммерческие иммунохимические тест-системы и различные виды жидкостной хроматографии [8, 9]. Несмотря на неоспоримые преимущества таких систем, их практическое применение в рутинных определениях в значительной степени ограничивается высокой стоимостью и необходимостью проведения трудоемких процедур пробоподготовки.

Наиболее простым методом выделения ЗЕА является твердофазная экстракция (ТФЭ). Для сорбции и выделения ЗЕА перспективно использование селективных сорбентов, полученных техникой молекулярного импринтинга. В этом случае в составе сорбента образуется структура молекулярно-импринтированного полимера (МИП), характеризующегося наличием сайтов связывания, комплементарных структуре целевой молекулы [10].

По своей структуре и свойствам МИП и сорбенты на их основе представляют собой природоподобные рецепторы, преимуществами которых являются простота эксплуатации, возможность повторного использования, низкая стоимость и возможность применения в достаточно агрессивных средах [11, 12]. К недостаткам МИП сорбентов относятся неравномерность распределения сайтов связывания в полимерной матрице, сложность очистки полимерной структуры от молекул шаблона и возможное разрушение сайтов связывания в процессе очистки [13].

Указанные недостатки могут быть в значительной степени преодолены с использованием подхода поверхностного молекулярного импринтинга, при котором специфические сайты связывания локализованы на поверхности сорбента, тем самым увеличивая эффективность элюирования и сорбции молекулы-шаблона



[14]. Широкое распространение получило применение диоксида кремния в качестве носителей МИП сорбентов для поверхностного импринтинга [15]. Частицы диоксида кремния ( $\text{SiO}_2$ ) химически стабильны, коммерчески доступны, характеризуются высокой удельной площадью поверхности [14]. Поверхность диоксида кремния содержит силанольные группы, позволяющие проводить модификацию и прививку функциональных мономеров [15].

Значительный интерес представляет возможность использования проводящих полимеров для реализации различных тест-систем за счет создания полимерной матрицы МИП и возможности регистрации аналитического сигнала как электрическими, так и оптическими методами. Среди различных проводящих полисопряженных полимеров одним из наиболее изученных и интересных является полианилин (ПАНИ). ПАНИ безвреден для окружающей среды, стабилен в течение длительного времени, прекурсоры для его синтеза коммерчески доступны. Благодаря механизму молекулярной самосборки ПАНИ склонен к образованию надмолекулярных структур с высокоразвитой поверхностью [16].

МИП на основе ПАНИ (ПАНИ МИП), специфичные к низко- и высокомолекулярным анали-

там успешно получены на поверхностях частиц  $\text{SiO}_2$ , микропланшетов и мультикапилляров [17], [16]. При этом для получения практически значимых тест-систем привлекательными являются микропланшеты, поверхность которых может быть использована в качестве носителя для проведения поверхностного молекулярного импринтинга [16]. Для получения МИП сорбентов на поверхности носителей полимеризацию анилина проводят в присутствии различных окислителей, среди которых наиболее распространенным является пероксидисульфат аммония (рис. 1). Образование ассоциата функциональный мономер анилина–молекула шаблона происходит за счет водородных связей [18]. В работе [19] авторами показана возможность применения ПАНИ для получения МИП, специфичных к афлатоксину В1 и фумонизину В1 на поверхности стеклянных электродов, покрытых слоем оксидами индия-олова. При этом в качестве молекулы шаблона использованы микотоксины, что является нежелательным из-за их токсичности и высокой стоимости. Авторами работы [20] установлено, что такие микотоксины, как молекулы шаблона могут быть заменены на менее токсичные структурные аналоги. В случае ЗЕА такими молекулами являются производные кумарина, варфарин и кверцетин [21, 22].

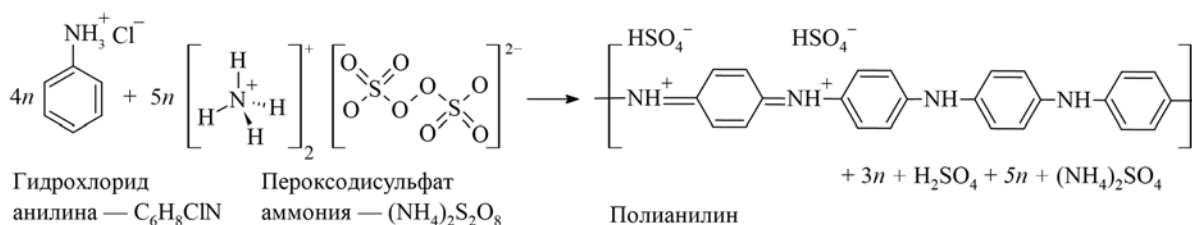


Рис. 1. Схема химической окислительной полимеризации гидрохлорида анилина

Fig. 1. Scheme of chemical oxidative polymerization of aniline hydrochloride

Целью настоящей работы являлось получение селективного к ЗЕА сорбента на основе ПАНИ МИП на различных подложках: (1) на поверхности  $\text{SiO}_2$  ( $\text{SiO}_2$ @ПАНИ МИП) в качестве сорбента ЗЕА в кормах для животных, (2) на поверхности микропланшета (ПАНИ МИП) для тест-определения ЗЕА. В качестве молекулы шаблона использовали 4-гидроксикумарин (4-ГК).

## Материалы и методы

**Аппаратура.** Оптическую плотность растворов измеряли на спектрофотометре «Shimadzu UV-1800» (Shimadzu, Япония), ИК-спектры

регистрировали на ИК-фурье-спектрометре FT-801 (Симекс, Россия). Модифицированные МИП поверхности носителей исследовали на сканирующем электронном микроскопе Tescan MIRA II LMU (Tescan, Чехия).

**Реактивы.** Использовали гидрохлорид анилина, пероксидисульфат аммония, 4-ГК (Merck, Германия). Для приготовления растворов использованы: бидистиллированная вода (БД), ацетонитрил (о.с.ч.), кислота уксусная (ледяная, х.ч. Реахим, Россия), этанол (97,6%) и карбонатный буфер (pH 9,5, ПанЭко, Россия).

**Материалы.** В работе использовали Аэросил™ 200 ( $\text{SiO}_2$ , Evonik, Германия), поли-



стирольный 96-луночный несорбирующий микропланшет (Биосервис, Россия) и фритту (Frits-3mL, 20 UM, Varian).

**ПАНИ МИП на поверхности микропланшета.** Получение ПАНИ МИП на поверхности микропланшета проводили по двухстадийной методике [16] с незначительными изменениями (рис. 2). На первом этапе проводили синтез удерживающего слоя ПАНИ. Для это в лунки микропланшета последовательно вносили растворы гидрохлорида анилина (1 М, 100 мкл/лунка) и пероксодисульфата аммония (1,25 М, 100 мкл/лунка) в 0,2 М HCl. Полученную смесь инкубировали (25 °С) в течение 90 с до образования слоя ПАНИ. Модифицированную поверхность лунок промывали раствором аскор-

биновой кислоты (5,7 мМ, БД, 300 мкл/лунка) и БД (3×, 300 мкл/лунка) для удаления непрореагировавших остатков окислителя. На втором этапе проводили импринтинг структур ПАНИ в присутствии молекулы шаблона. Для этого в раствор гидрохлорида анилина (15,4 мМ, 6 мМ HCl) вносили 4-ГК (154 мкМ) и инкубировали (25°С) в течение 30 мин. После чего в лунки последовательно вносили раствор ассоциата (100 мкл/лунка) и пероксодисульфата аммония (17,5 мМ, 6 мМ HCl), инкубировали (25°С, 90 мин) и удаляли реакционную смесь из лунок. Получение неимпринтированных структур ПАНИ на поверхности лунок микропланшета проводили аналогично, за исключением стадии образования ассоциата.

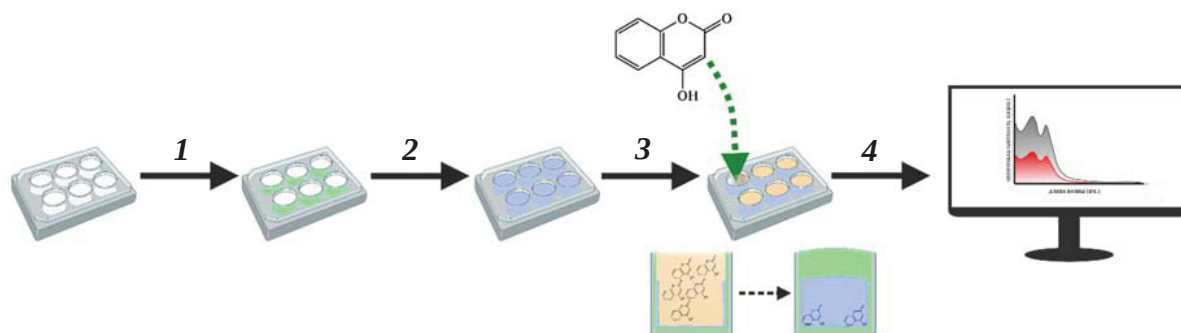


Рис. 2. Твердофазная экстракция на ПАНИ МИП: 1 – синтез удерживающего слоя ПАНИ; 2 – получение анти-4-ГК МИП на поверхности микропланшета; 3 – внесение модельного раствора 4-ГК (5 мкг/мл, БД) в модифицированные лунки, проведение твердофазной экстракции; 4 – регистрация спектров поглощения надосажденной жидкости

Fig. 2. PANI MIP solid-phase extraction: 1 – synthesis of the PANI retention layer, 2 – modification of microplate by PANI MIP, 3 – addition of a model solution of 4-HC (5 µg/mL, BW) to modified wells, solid-phase extraction, 4 – recording absorption spectra of the supernatant

Очистку сайтов связывания МИП проводили в несколько этапов. Сначала раствором аскорбиновой кислоты (0,57 мМ, БД, 2×, 300 мкл/лунка) удаляли непрореагировавшие остатки окислителя, после чего смесью этанол : уксусная кислота (90:10% об., 10×, 300 мкл/лунка) проводили статическую экстракцию 4-ГК. Контроль удаления молекул шаблона из полимерной матрицы проводили регистрацией спектров поглощения (250–400 нм) смеси после инкубации. После достижения минимальных постоянных значений оптической плотности (280 нм, 0,02) смеси лунки микропланшета промывали БД (3×, 300 мкл/лунка) и использовали для твердофазной экстракции 4-ГК из модельного раствора.

**Получение SiO<sub>2</sub>@ПАНИ МИП.** Для получения селективного сорбента на основе SiO<sub>2</sub> использована модифицированная методика

[23] (рис. 3). Навеску SiO<sub>2</sub> (66,7 мг) и раствор 4-ГК (20 мМ, 3,2 мг/мл, БД) добавляли в раствор гидрохлорида анилина (110 мМ, БД) и инкубировали (1 ч, 25 °С). После чего в смесь с помощью шприцевого насоса (0,5 мл/ч, 8ч, 25°С) вносили раствор пероксидисульфата аммония (55 мМ, БД) при перемешивании. Полученную смесь инкубировали при постоянном перемешивании (16 ч, 25°С). Модифицированные ПАНИ МИП частицы SiO<sub>2</sub> фильтровали и высушивали в вакууме при нагревании (50°С). Получение неимпринтированных структур ПАНИ на поверхности SiO<sub>2</sub> проведено аналогично, без добавления молекулы шаблона.

Удаление молекул шаблона проводили смесью этанол : уксусная кислота (90:10% об.) с использованием статической, динамической и циклической непрерывной экстракции. В случае статической экстракции порошок



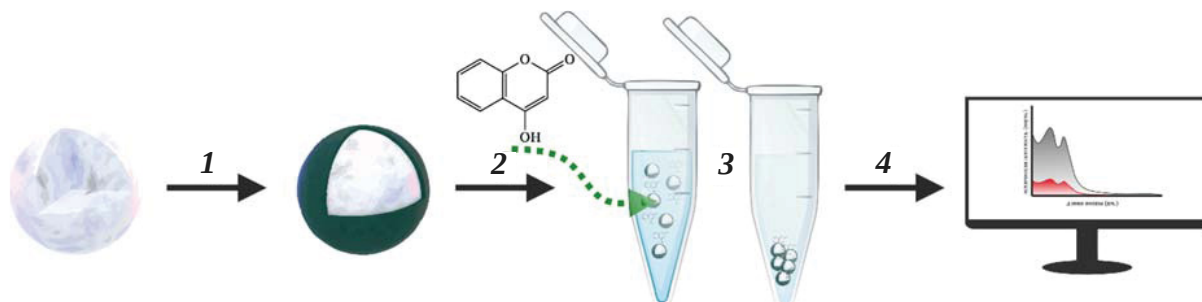


Рис. 3. Твердофазная экстракция на SiO<sub>2</sub>@ПАНИ МИП: 1 – получение ПАНИ МИП на поверхности частиц SiO<sub>2</sub>; 2, 3 – внесение сорбента в модельных растворов 4-ГК (БД) и проведение твердофазной экстракции; 4 – регистрация спектров поглощения надосадочной жидкости

Fig. 3. SiO<sub>2</sub>@PANI MIP solid-phase extraction: 1 – PANI MIP forming on the of SiO<sub>2</sub> particles; 2, 3 – adding sorbent to 4-HC (BW) model solution; 4 – solid-phase extraction, recording spectra supernatant absorption

SiO<sub>2</sub>@ПАНИ МИП вносили в пластиковую пробирку, заполняли указанной смесью (40 мл) и инкубировали (30 мин, 25 °С) при примешивании на горизонтальном шейкере. После чего частицы SiO<sub>2</sub>@ПАНИ МИП осаждали центрифугированием (6000×g, 5 мин), надосадочную жидкость отбирали и регистрировали спектры поглощения (250–400 нм). Для проведения динамической экстракции порошок SiO<sub>2</sub>@ПАНИ МИП вносили в стеклянную колонку с установленной стекловолоконной фриттой. Колонку заполняли указанной смесью, проводили элюирование 4-ГК при постоянном объеме смеси, отбирая фракции (2 мл) и регистрируя спектры поглощения (250–400 нм). Циклическая экстракция проводилась с использованием аппарата Сокслета. Порошок SiO<sub>2</sub>@ПАНИ МИП засыпали в бумажный патрон и устанавливали в экстрактор. Смесь нагревали до кипения и после заполнения экстракционной камеры смесью отбирали фракцию растворителя и регистрировали спектры поглощения (250–400 нм). Процедуры повторяли до полного удаления молекул шаблона. Очищенные частицы SiO<sub>2</sub>@ПАНИ высушивали (50°С, вакуум) и использовали для твердофазной экстракции 5,7-диметоксикумарина (5,7-ДМК), кумарина, кверцетина из модельных растворов и ЗЕА из экстракта пшеницы.

**Сорбционные характеристики МИП.** Для оценки эффективности и специфичности сорбции на МИП проводили расчет степени извлечения (Извлечение (%) =  $\frac{A_{\text{МИП(НИП)}}}{A_{\text{АНАЛИТ}}}$ ) и импринтинг фактора (ИФ (отн. ед.) =  $\frac{A_{\text{НИП}}}{A_{\text{МИП}}}$ ).

**Подготовка экстракта пшеницы.** Навеску молотого зерна пшеницы (1 г) экстрагиро-

вали в 5 мл смеси ацетонитрил/вода (70:30) в течение 15 мин на горизонтальном шейкере (25°С). Полученный раствор центрифугировали (4000×g, 20 мин), надосадочную жидкость разводили в четыре раза фосфатно-солевым буфером (ФСБ) (конечное разведение составляло 1/20).

### Результаты и их обсуждение

**Анализ поверхностных характеристик МИП сорбентов.** Исследование поверхности ПАНИ МИП и SiO<sub>2</sub>@ПАНИ МИП проводилось методом сканирующей электронной микроскопии (СЭМ). На рис. 4, 1 представлены СЭМ-изображения селективного сорбента на основе SiO<sub>2</sub>, модифицированного ПАНИ МИП, и поверхности лунок микропланшета после получения ПАНИ МИП.

Установлено, что после проведения модификации SiO<sub>2</sub> диаметр частиц находится в диапазоне от 60 до 100 нм, границы отдельных частиц четко определены, что свидетельствует о незначительной степени их агломерации в процессе импринтинга. На поверхности лунок микропланшета (рис. 4) находится удерживающий слой ПАНИ, сформированный наночастицами ~30 нм и супрамолекулярные структуры ПАНИ МИП. Отсутствие структур нанопроволок после получения МИП связано с отсутствием буферного эффекта белковых молекул при проведении импринтинга [16] и приводит к высокому уровню неспецифической сорбции.

Результаты ИК-спектроскопии образцов, представленные на рис. 4, 2, свидетельствуют, что в спектрах присутствуют основные полосы 1600 и 1493 см<sup>-1</sup>, которые соответствуют ко-

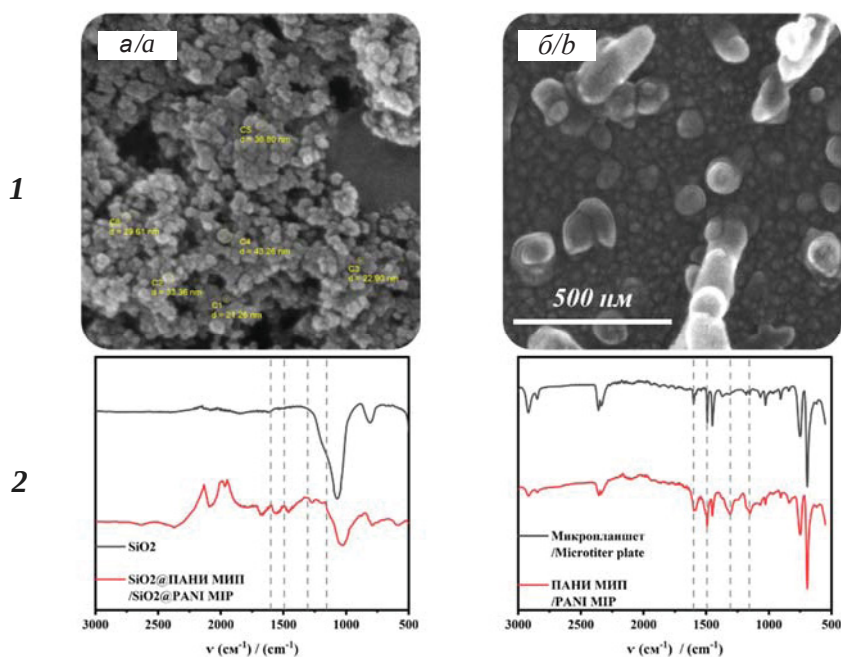


Рис. 4. СЭМ-изображения (1) и ИК-фурье-спектры (2) модифицированных ПАНИ МИП частиц  $\text{SiO}_2$  (а) и поверхности микропланшета (б)

Fig. 4. SEM images (1) and FT-IR spectra (2) of PANI MIP-modified  $\text{SiO}_2$  particles (a) and microplate surface (b)

лебаниям хиноидного ( $\text{N}=\text{Q}=\text{N}$ ) и бензольного ( $\text{N}-\text{B}-\text{N}$ ) колец [24], полоса  $1306 \text{ cm}^{-1}$  относится к колебаниям связи  $\text{C}-\text{N}$ , а полоса поглощения  $1155 \text{ cm}^{-1}$  в спектре, по-видимому, связана с колебаниями фрагмента  $\text{B}-\text{NH}^+-\text{Q}$ . Для всех представленных спектров интенсивность бензольной компоненты немного больше, чем у хиноидной. Наличие обеих полос указывает на частично окисленное состояние полианилина во всех образцах, что соответствует эмералдиновой форме ПАНИ.

**Выбор метода очистки ПАНИ МИП от 4-ГК.** Проведено сравнительное изучение методов очистки ПАНИ МИП от молекул шаблонов. Результаты представлены проекциями спектров поглощения надосадочных жидкостей и фракций после проведения экстракции 4-ГК из матрицы ПАНИ МИП (рис. 5). В случае микропланшета практически полное ( $\sim 95\%$ ) удаление молекул шаблона достигается при проведении не менее 10 стадий (2,5 мл) статической экстракции. Эффективное извлечение ( $\sim 96\%$ ) 4-ГК из сорбента  $\text{SiO}_2@$ МИП ПАНИ методом статической экстракции происходит за 16 стадий (600 мл). Использование метода динамической экстракции позволяет сократить объем используемого элюента до 250 мл и достичь максимальной

степени очистки ( $\sim 98\%$ ). Использование метода циклической экстракции с объемом элюента 250 мл и отбором фракции (45 мл) в течение 90 мин после отбора 7 фракций позволило достичь степени извлечения 4-ГК в  $\sim 92\%$ .

**Сорбционные характеристики ПАНИ МИП и  $\text{SiO}_2@$ ПАНИ МИП.** Проведено сравнение сорбционных свойств ПАНИ МИП, полученных на поверхности микропланшета и частиц  $\text{SiO}_2$  (рис. 6). Эффективность извлечения 4-ГК из модельного раствора оценивали по изменению оптической плотности. Степень извлечения 4-ГК (15 мкг, БД) на модифицированную ПАНИ МИП поверхность лунок микропланшета составила 28,0% (ИФ = 1,3). Низкие значения степени и специфичности извлечения обусловлены отсутствием структур типа нанопроволок при получении ПАНИ МИП, приводящим к образованию меньшего количества сайтов связывания.

Проведено изучение влияния метода очистки  $\text{SiO}_2@$ ПАНИ МИП на эффективность и специфичность извлечения 4-ГК из модельного раствора (30 мкг, БД). Степень извлечения уменьшалась в ряду: статическая (95%), циклическая (78%) и динамическая экстракция (62%). При этом максимальная специфичность (ИФ = 2,4) достигнута для образцов, очищенных методом

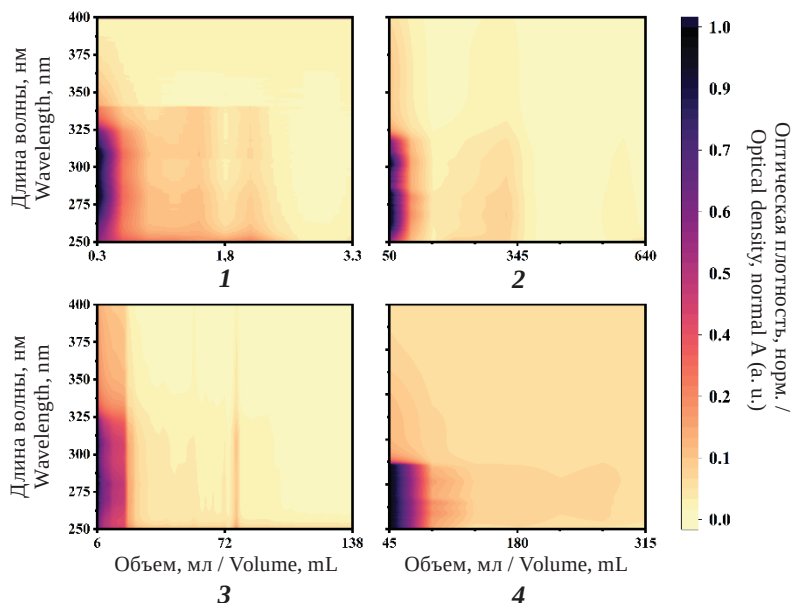


Рис. 5. Влияние объёма элюента на проекции спектров поглощения фракций, полученных при очистке сайтов связывания анти-4-ГК МИП на поверхности микропланшета (1) и частиц SiO<sub>2</sub> (2, 3, 4). Удаление молекул шаблона статической (1, 2), динамической (3) и непрерывной циклической экстракцией (4)

Fig. 5. The influence of the eluent volume to absorption spectra of the fraction during the purification of the MIP formed at the microplate (1) and SiO<sub>2</sub> particles (2, 3, 4). Removal of template molecules by static (1, 2), dynamic (3) and continuous cyclic extraction (4)

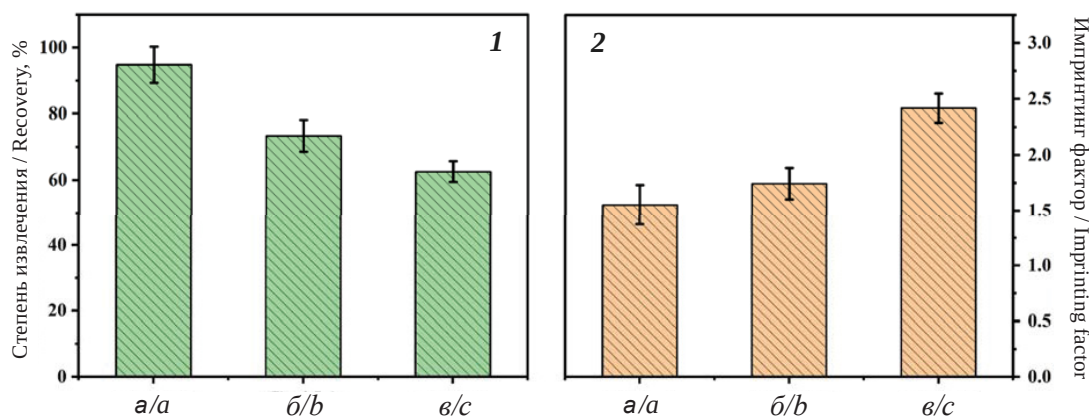


Рис. 6. Влияние метода очистки МИП (статическая (а), динамическая (б) и непрерывной циклическая экстракция (в)) на степень (1) и селективность (2) извлечения 4-ГК (30 мкг/мл) с использованием SiO<sub>2</sub>@ПАНИ МИП (10 мг)

Fig. 6. The influence of the MIP purification by static (a), dynamic (b) and continuous cyclic extraction (c) to efficiency (1) and selectivity (2) of 4-NA solid state extraction (5 µg/mL) by SiO<sub>2</sub>@PANI MIP (10 mg)

динамической экстракции. Предположительно данный эффект связан с наименьшей деградацией сайтов связывания при проведении элюации.

**Влияние pH.** Показано, что кислотность среды (рис. 7) значительно влияет на степень

извлечения 4-ГК из модельного раствора (15 мкг). Степень извлечения увеличивается с возрастанием pH, достигая максимума при pH ~ 6 (92%). В то же время максимальная специфичность сорбции достигнута при pH ~ 9 (ИФ = 3,1). Данный эффект может быть объяс-

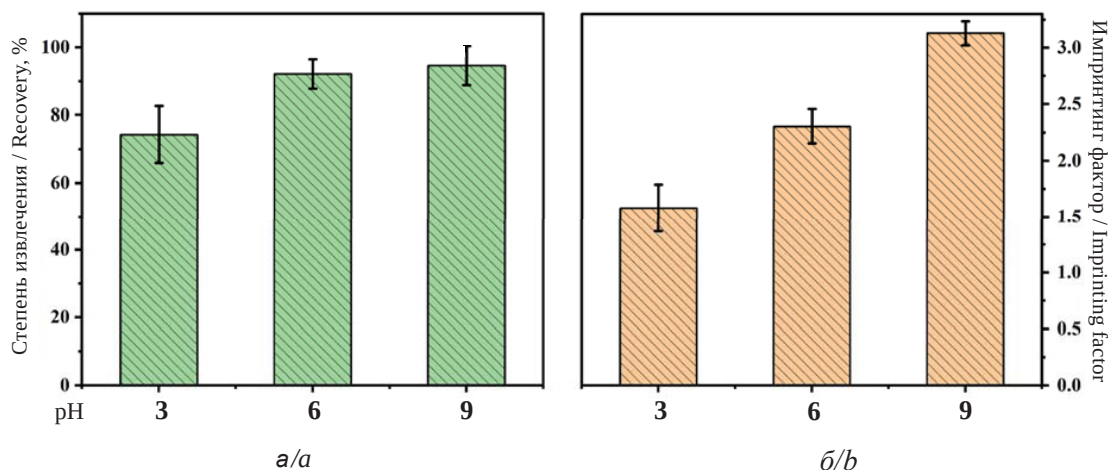


Рис. 7. Влияние pH на степень (а) и специфичность (б) извлечения 4-ГК (30 мкг/мл) с использованием SiO<sub>2</sub>@ПАНИ МИП (10 мг)

Fig. 7. The effect of pH to efficiency (a) and specificity (b) of 4-GC (5 µg/mL) solid state extraction by SiO<sub>2</sub>@PANI MIP (10 mg)

нён нейтрализацией частично положительно заряженной поверхности ПАНИ отрицательно заряженными гидроксил ионами, что снижает неспецифическую электростатическую сорбцию.

Селективность SiO<sub>2</sub>@ПАНИ МИП к близким по структуре молекулам. Установлено, что полученные SiO<sub>2</sub>@ПАНИ МИП способны к специфической сорбции структурных аналогов 4-ГК (рис. 8, а). Это связано с тем, что физическая сорбция основана на гидрофобных, электростатических, водородных и ван-дер-ваальсовых

силах, возникающих между целевой молекулой и сайтом связывания МИП. При этом возможно специфическое связывание не только близких структурных аналогов молекулы шаблона, но и веществ, имеющих в своем составе схожие комбинации структурных элементов и функциональных групп.

Для оценки специфичности (см. рис. 8, б) полученного SiO<sub>2</sub>@ПАНИ МИП к ЗЕА проводили экстракцию микотоксина из искусственно загрязнённого экстракта пшеницы.

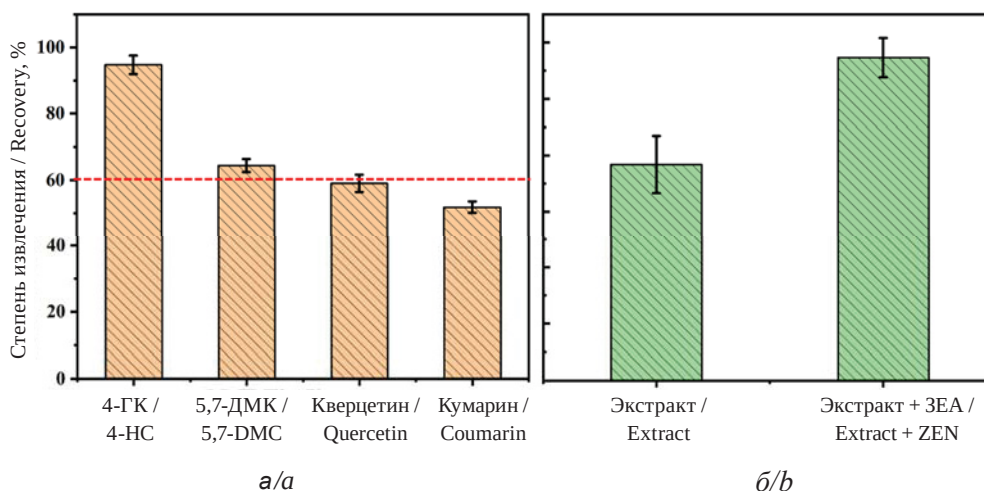


Рис. 8. Степень извлечения структурно близких соединений из модельных растворов (а) и ЗЕА из экстракта пшеницы (б) до и после внесения ЗЕА (10 мкг/мл) с использованием SiO<sub>2</sub>@ПАНИ МИП (10 мг)

Fig. 8. The extraction efficiency of structurally similar compounds from model solutions (a) and ZEA from wheat extract (b) before and after artificial contamination by ZEA (100 µg/ml) by SiO<sub>2</sub>@PANI MIP (10 mg)



В выбранных условиях (рН 9) степень извлечения 5,7-диметоксикумарина составила 65,0%, кверцетина 55,0%, кумарина 51,2% соответственно. Уменьшение эффективности извлечения может быть объяснено различиями в строении молекул. Изучение сорбции ЗЕА из образца экстракта пшеницы и экстракта пшеницы, искусственно загрязнённого ЗЕА (10 мкг/мл), демонстрирует степень извлечения 38 и 57% соответственно. Данный эффект связан со значительным содержанием в экстракте соединений кумаринового ряда, которые снижают специфическую сорбцию ЗЕА.

### Заключение

Показана возможность получения и практического использования специфических к микотоксинам селективных сорбентов на основе импринтированных структур ПАНИ, полученных с использованием в качестве молекулы шаблона структурного аналога микотоксина ЗЕА – 4-ГК. Характеристики полученных селективных сорбентов изучены в форматах микропланшета и модифицированного SiO<sub>2</sub>. Показана возможность замены ЗЕА на менее токсичные молекулы шаблоны. Полученные сорбенты продемонстрировали импринтинг-фактор на уровне 3,1 и степень извлечения ЗЕА из модельного загрязнённого образца экстракта зерна пшеницы на уровне 58%.

### Список литературы

1. Richard J. L. Some major mycotoxins and their mycotoxicoses—An overview // *Int. J. Food Microbiol.* 2007. Vol. 119, № 1–2. P. 3–10. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2007.07.019>
2. Hueza I. M., Raspantini P. C. F., Raspantini L. E. R., Latorre A. O., Górniak S. L. Zearalenone, an estrogenic mycotoxin, is an immunotoxic compound // *Toxins.* 2014. Vol. 6, № 3. P. 1080–1095. <https://doi.org/10.3390/toxins6031080>
3. Hidy P. H., Baldwin R. S., Greasham R. L., Keith C. L., McMullen J. R. Zearalenone and some derivatives: Production and biological activities // *Adv. Appl. Microbiol.* 1977. Vol. 22. P. 59–82. [https://doi.org/10.1016/S0065-2164\(08\)70160-6](https://doi.org/10.1016/S0065-2164(08)70160-6)
4. Gromadzka K., Waśkiewicz A., Goliński P., Świetlik J. Occurrence of estrogenic mycotoxin – Zearalenone in aqueous environmental samples with various NOM content // *Water Res.* 2009. Vol. 43, № 4. P. 1051–1059. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2008.11.042>
5. Vasseghian Y., Dragoi E. N., Moradi M., Khaneghah A. M. A review on graphene-based electrochemical sensor for mycotoxins detection // *Food Chem. Toxicol.* 2021. Vol. 148. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2020.111931>
6. Технический регламент Таможенного союза «О безопасности зерна» (ТР ТС 015/2011). 2011. URL: <https://eec.eaeunion.org/comission/department/deptexreg/tr/bezpozerna.php> (дата обращения: 03.09.2023).
7. Kwaśniewska K., Gadzała-Kopciuch R., Cendrowski K. Analytical procedure for the determination of zearalenone in environmental and biological samples // *Crit. Rev. Anal. Chem.* 2015. Vol. 45, № 2. P. 119–130. <https://doi.org/10.1080/10408347.2014.896731>
8. Sun Y., Hu X., Zhang Y., Yang J., Wang F., Wang Y., Deng R., Zhang G. Development of an immunochromatographic strip test for the rapid detection of zearalenone in corn // *J. Agric. Food Chem.* 2014. Vol. 62, № 46. P. 11116–11121. <https://doi.org/10.1021/jf503092j>
9. Zhou T., Che G., Ding L., Sun D., Li Y. Recent progress of selective adsorbents: From preparation to complex sample pretreatment // *TrAC.* 2019. Vol. 121. <https://doi.org/10.1016/j.trac.2019.115678>
10. Mehdinia A., Ahmadifar M., Aziz-Zanjani M. O., Jabbari A., Hashtroudi M. S. Selective adsorption of 2,4-dinitrophenol on molecularly imprinted nanocomposites of mesoporous silica SBA-15/polyaniline // *Analyst.* 2012. Vol. 137, № 18. P. 4368–4374. <https://doi.org/10.1039/C2AN16244J>
11. Luo J., Huang J., Wu Y., Sun J., Wei W., Liu X. Synthesis of hydrophilic and conductive molecularly imprinted polyaniline particles for the sensitive and selective protein detection // *Biosens. Bioelectron.* 2017. Vol. 94. P. 39–46. <https://doi.org/10.1016/j.bios.2017.02.035>
12. Yao J., Ma Y., Liu J., Liu S., Pan J. Janus-like boronate affinity magnetic molecularly imprinted nanobottles for specific adsorption and fast separation of luteolin // *Chem. Eng. J.* 2019. Vol. 356. P. 436–444. <https://doi.org/10.1016/j.cej.2018.09.003>
13. Dong C., Shi H., Han Y., Yang Y., Wang R., Men J. Molecularly imprinted polymers by the surface imprinting technique // *Eur. Polym. J.* 2021. Vol. 145. Article number 110023. <https://doi.org/10.1016/j.eurpolymj.2020.110231>
14. Janczura M., Luliński P., Sobiech M. Imprinting technology for effective sorbent fabrication: Current state-of-art and future prospects // *Materials.* 2021. Vol. 14, № 8. Article number 1850. <https://doi.org/10.3390/ma14081850>
15. Pidenko P. S., Pidenko S. A., Skibina Y. S., Zacharevich A. M., Drozd D. D., Goryacheva I. Y., Burmistrova N. A. Molecularly imprinted polyaniline for detection of horseradish peroxidase // *Anal. Bioanal. Chem.* 2020. Vol. 412, № 24. P. 6509–6517. <https://doi.org/10.1007/s00216-020-02689-3>
16. Bi X., Liu Z. Facile preparation of glycoprotein-imprinted 96-well microplates for enzyme-linked immunosorbent assay by boronate affinity-based oriented surface imprinting // *Anal. Chem.* 2014. Vol. 86, № 1. P. 959–966. <https://doi.org/10.1021/ac403736y>



17. Malhotra B. D., Chaubey A., Singh S. P. Prospects of conducting polymers in biosensors // *Anal. Chim. Acta*. 2006. Vol. 578, № 1. P. 59–74. <https://doi.org/10.1016/j.aca.2006.04.055>
18. Singh A. K., Lakshmi G. B. V. S., Fernandes M., Sarkar T., Gulati P., Singh R. P., Solanki P. R. A simple detection platform based on molecularly imprinted polymer for AFB1 and FuB1 mycotoxins // *Microchem. J.* 2021. Vol. 171. Article number 106730. <https://doi.org/10.1016/j.microc.2021.106730>
19. Liang G., Zhai H., Huang L., Tan X., Zhou Q., Yu X., Lin H. Synthesis of carbon quantum dots-doped dummy molecularly imprinted polymer monolithic column for selective enrichment and analysis of aflatoxin B1 in peanut // *J. Pharm. Biomed. Anal.* 2018. Vol. 149. P. 258–264. <https://doi.org/10.1016/j.jpba.2017.11.012>
20. Huang Z., He J., Li Y., Wu C., You L., Wei H., Li K., Zhang S. Preparation of dummy molecularly imprinted polymers for extraction of Zearalenone in grain samples // *J. Chromatogr. A.* 2019. Vol. 1602. P. 11–18. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2019.05.022>
21. Piovesana S., Capriotti A. L., Cavaliere C., Sparnacci K., Gianotti V., Laus M., Antonoli D., Laganà A. Magnetic molecularly imprinted multishell particles for zearalenone recognition // *Polymer*. 2020. Vol. 188. Article number 122102. <https://doi.org/10.1016/j.polymer.2019.122102>
22. Zuo H., Lin Y., Ma X., Feng Y., Luo Q. Preparation of a novel restricted access material combined to core-shell magnetic molecularly imprinted polymers for determination of dimethyl phthalate in soils // *Soil Sediment. Contam.* 2019. Vol. 28, № 6. P. 529–546. <https://doi.org/10.1080/15320383.2019.1633272>
23. Baibarac M., Baltog I., Lefrant S., Mevellec J. Y., Chauvet O. Polyaniline and carbon nanotubes based composites containing whole units and fragments of nanotubes // *Chem. Mater.* 2003. Vol. 15, № 21. P. 4149–4156. <https://doi.org/10.1021/cm021287x>
24. Шматко В. А., Мясоедова Т. Н., Яловега Г. Э. Электронная структура полианилина, модифицированного солями меди и циркония // *Оптика и спектроскопия*. 2020. Т. 128, № 5. С. 617–622. <https://doi.org/10.21883/OS.2020.05.49319.328-19>
1. Richard J. L. Some major mycotoxins and their mycotoxicoses—An overview. *Int. J. Food Microbiol.*, 2007, vol. 119, no. 1–2, pp. 3–10. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2007.07.019>
2. Huez A. I. M., Raspantini P. C. F., Raspantini L. E. R., Latorre A. O., Górniak S. L. Zearalenone, an estrogenic mycotoxin, is an immunotoxic compound. *Toxins*, 2014, vol. 6, no. 3, pp. 1080–1095. <https://doi.org/10.3390/toxins6031080>
3. Hidy P. H., Baldwin R. S., Greasham R. L., Keith C. L., McMullen J. R. Zearalenone and some derivatives: Production and biological activities. *Adv. Appl. Microbiol.*, 1977, vol. 22, pp. 59–82. [https://doi.org/10.1016/S0065-2164\(08\)70160-6](https://doi.org/10.1016/S0065-2164(08)70160-6)
4. Gromadzka K., Waśkiewicz A., Goliński P., Świetlik J. Occurrence of estrogenic mycotoxin – Zearalenone in aqueous environmental samples with various NOM content. *Water Res.*, 2009, vol. 43, no. 4, pp. 1051–1059. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2008.11.042>
5. Vasseghian Y., Dragoi E. N., Moradi M., Khaneghah A. M. A review on graphene-based electrochemical sensor for mycotoxins detection. *Food Chem. Toxicol.*, 2021, vol. 148. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2020.111931>
6. *Technical Regulations of the Customs Union “On Grain Safety” (TR TS 015/2011)*. 2011 (in Russian). Available at: <https://eec.eaeunion.org/commission/department/deptexreg/tr/bezpoZerna.php> (accessed September 3, 2023).
7. Kwaśniewska K., Gadzała-Kopciuch R., Cendrowski K. Analytical procedure for the determination of zearalenone in environmental and biological samples. *Crit. Rev. Anal. Chem.*, 2015, vol. 45, no. 2, pp. 119–130. <https://doi.org/10.1080/10408347.2014.896731>
8. Sun Y., Hu X., Zhang Y., Yang J., Wang F., Wang Y., Deng R., Zhang G. Development of an immunochromatographic strip test for the rapid detection of zearalenone in corn. *J. Agric. Food Chem.*, 2014, vol. 62, no. 46, pp. 11116–11121. <https://doi.org/10.1021/jf503092j>
9. Zhou T., Che G., Ding L., Sun D., Li Y. Recent progress of selective adsorbents: From preparation to complex sample pretreatment. *TrAC*, 2019, vol. 121. <https://doi.org/10.1016/j.trac.2019.115678>
10. Mehdinia A., Ahmadifar M., Aziz-Zanjani M. O., Jabbari A., Hashtroudi M. S. Selective adsorption of 2,4-dinitrophenol on molecularly imprinted nanocomposites of mesoporous silica SBA-15/polyaniline. *Analyst*, 2012, vol. 137, no. 18, pp. 4368–4374. <https://doi.org/10.1039/C2AN16244J>
11. Luo J., Huang J., Wu Y., Sun J., Wei W., Liu X. Synthesis of hydrophilic and conductive molecularly imprinted polyaniline particles for the sensitive and selective protein detection. *Biosens. Bioelectron.*, 2017, vol. 94, pp. 39–46. <https://doi.org/10.1016/j.bios.2017.02.035>
12. Yao J., Ma Y., Liu J., Liu S., Pan J. Janus-like boronate affinity magnetic molecularly imprinted nanobottles for specific adsorption and fast separation of luteolin. *Chem. Eng. J.*, 2019, vol. 356, pp. 436–444. <https://doi.org/10.1016/j.cej.2018.09.003>
13. Dong C., Shi H., Han Y., Yang Y., Wang R., Men J. Molecularly imprinted polymers by the surface imprinting technique. *Eur. Polym. J.*, 2021, vol. 145, article number 110023. <https://doi.org/10.1016/j.eurpolymj.2020.110231>
14. Janczura M., Luliński P., Sobiech M. Imprinting technology for effective sorbent fabrication: Current state-of-art and future prospects. *Materials*, 2021, vol. 14, no. 8, article number 1850. <https://doi.org/10.3390/ma14081850>

## References



15. Pidenko P. S., Pidenko S. A., Skibina Y. S., Zacharevich A. M., Drozd D. D., Goryacheva I. Y., Burmistrova N. A. Molecularly imprinted polyaniline for detection of horseradish peroxidase. *Anal. Bioanal. Chem.*, 2020, vol. 412, no. 24, pp. 6509–6517. <https://doi.org/10.1007/s00216-020-02689-3>
16. Bi X., Liu Z. Facile preparation of glycoprotein-imprinted 96-well microplates for enzyme-linked immunosorbent assay by boronate affinity-based oriented surface imprinting. *Anal. Chem.*, 2014, vol. 86, no. 1, pp. 959–966. <https://doi.org/10.1021/ac403736y>
17. Malhotra B.D., Chaubey A., Singh S.P. Prospects of conducting polymers in biosensors. *Anal. Chim. Acta*, 2006, vol. 578, no. 1, pp. 59–74. <https://doi.org/10.1016/j.aca.2006.04.055>
18. Singh A. K., Lakshmi G. B. V. S., Fernandes M., Sarkar T., Gulati P., Singh R. P., Solanki P. R. A simple detection platform based on molecularly imprinted polymer for AFB1 and FuB1 mycotoxins. *Microchem. J.*, 2021, vol. 171, article number 106730. <https://doi.org/10.1016/j.microc.2021.106730>
19. Liang G., Zhai H., Huang L., Tan X., Zhou Q., Yu X., Lin H. Synthesis of carbon quantum dots-doped dummy molecularly imprinted polymer monolithic column for selective enrichment and analysis of aflatoxin B1 in peanut. *J. Pharm. Biomed. Anal.*, 2018, vol. 149, pp. 258–264. <https://doi.org/10.1016/j.jpba.2017.11.012>
20. Huang Z., He J., Li Y., Wu C., You L., Wei H., Li K., Zhang S. Preparation of dummy molecularly imprinted polymers for extraction of Zearalenone in grain samples. *J. Chromatogr. A*, 2019, vol. 1602, pp. 11–18. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2019.05.022>
21. Piovesana S., Capriotti A. L., Cavaliere C., Sparnacci K., Gianotti V., Laus M., Antonioli D., Laganà A. Magnetic molecularly imprinted multishell particles for zearalenone recognition. *Polymer*, 2020, vol. 188, article number 122102. <https://doi.org/10.1016/j.polymer.2019.122102>
22. Zuo H., Lin Y., Ma X., Feng Y., Luo Q. Preparation of a novel restricted access material combined to core-shell magnetic molecularly imprinted polymers for determination of dimethyl phthalate in soils. *Soil Sediment. Contam.*, 2019, vol. 28, no. 6, pp. 529–546. <https://doi.org/10.1080/15320383.2019.1633272>
23. Baibarac M., Baltog I., Lefrant S., Mevellec J. Y., Chauvet O. polyaniline and carbon nanotubes based composites containing whole units and fragments of nanotubes. *Chem. Mater.*, 2003, vol. 15, no. 21, pp. 4149–4156.
24. Shmatko V. A., Myasoedova T. N., Yalovega G. E. Electronic structure of polyaniline modified by copper and zirconium salts. *Optics and Spectroscopy*, 2020, vol. 128, no. 5, pp. 610–615 (in Russian). <https://doi.org/10.21883/OS.2020.05.49319.328-19>

Поступила в редакцию 28.11.2023; одобрена после рецензирования 04.12.2023; принята к публикации 07.12.2023  
The article was submitted 28.11.2023; approved after reviewing 04.12.2023; accepted for publication 07.12.2023



Известия Саратовского университета. Новая серия. Серия: Химия. Биология. Экология. 2024. Т. 24, вып. 1. С. 15–27  
*Izvestiya of Saratov University. Chemistry. Biology. Ecology*, 2024, vol. 24, iss. 1, pp. 15–27  
<https://ichbe.sgu.ru>

<https://doi.org/10.18500/1816-9775-2024-24-1-15-27>, EDN: NWNRES

Научная статья  
УДК 544

## Исследование зависимости физико-химических свойств флуоресцентных гибридных полимерных носителей от условий гидротермального синтеза



А. А. Ковыршина✉, А. А. Бакал, М. С. Савельева, И. Ю. Горячева, П. А. Демина

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

Ковыршина Анастасия Алексеевна, студент кафедры общей и неорганической химии Института химии, [a.kovirshina@yandex.ru](mailto:a.kovirshina@yandex.ru), <https://orcid.org/0009-0001-5406-6828>

Бакал Артём Алексеевич, аспирант кафедры общей и неорганической химии Института химии, [artembakal95@gmail.com](mailto:artembakal95@gmail.com), <https://orcid.org/0000-0002-3260-4744>

Савельева Мария Сергеевна, младший научный сотрудник лаборатории «Дистанционно управляемые системы для тераностики» Научно-го медицинского центра, [mssaveleva@yandex.ru](mailto:mssaveleva@yandex.ru), <https://orcid.org/0000-0003-2021-0462>

Горячева Ирина Юрьевна, доктор химических наук, профессор кафедры общей и неорганической химии, директор Института химии, [goryachevai@mail.ru](mailto:goryachevai@mail.ru), <https://orcid.org/0000-0003-1781-6180>

Демина Полина Анатольевна, кандидат химических наук, старший научный сотрудник лаборатории «Дистанционно управляемые системы для тераностики» Научно-го медицинского центра, [polina.a.demina@list.ru](mailto:polina.a.demina@list.ru), <https://orcid.org/0000-0002-9203-582X>

**Аннотация.** В настоящее время поиск новых видов носителей для низкомолекулярных веществ, а также разработка оптимальных методов для эффективной инкапсуляции этих веществ являются важными задачами современной химии и фармакологии. Однако в данной сфере все еще имеются ограничения, среди которых одно из наиболее существенных – это отсутствие оптимального носителя, способного стабильно удерживать низкомолекулярное вещество. В качестве эффективного кандидата для этих целей представлены гибридные полимерные структуры, полученные методом гидротермального синтеза *in situ*. В качестве модельного низкомолекулярного вещества для инкапсуляции в структуры был использован флуоресцентный краситель родамин Б. Полученные гибридные полимерные структуры продемонстрировали хорошую стабильность при их хранении в водной среде в течение 336 ч с высвобождением низкомолекулярного красителя родамина Б не более 2%. Кроме того, было исследовано влияние условий получения гибридных носителей (включая состав носителей (толщина полимерной оболочки и наличие ядра карбоната кальция) и температуру синтеза) на их физико-химические характеристики. Таким образом, был выявлен оптимальный подход к получению флуоресцентных гибридных полимерных носителей с набором желаемых свойств. В частности, было показано, что для получения стабильного гибридного полимерного носителя с яркой флуоресценцией оптимальными условиями получения являются температура гидротермального синтеза 180°C и отсутствие ядра внутри полиэлектролитной оболочки. Результаты, представленные в данном исследовании, могут быть использованы для создания функциональных платформ и систем, обладающих регулируемыми флуоресцентными свойствами и возможностью доставки низкомолекулярных веществ.

**Ключевые слова:** гидротермальный синтез, низкомолекулярные красители, инкапсуляция, структуры ядро–оболочка, кинетика высвобождения

**Благодарности:** Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ (проект № 22-23-00313, <https://rscf.ru/project/22-23-00313/>).

**Для цитирования:** Ковыршина А. А., Бакал А. А., Савельева М. С., Горячева И. Ю., Демина П. А. Исследование зависимости физико-химических свойств флуоресцентных гибридных полимерных носителей от условий гидротермального синтеза // Известия Саратовского университета. Новая серия. Серия: Химия. Биология. Экология. 2024. Т. 24, вып. 1. С. 15–27. <https://doi.org/10.18500/1816-9775-2024-24-1-15-27>, EDN: NWNRES

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

Article

**Dependence of physical-chemical properties of fluorescent hybrid polymer carriers on the conditions of hydrothermal synthesis**

A. A. Kovyrshina✉, A. A. Bakal, M. S. Saveleva, I. Yu. Goryacheva, P. A. Demina

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





Anastasia A. Kovyrshina, a.kovyrshina@yandex.ru, <https://orcid.org/0009-0001-5406-6828>

Artem A. Bakal, artembakal95@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0002-3260-4744>

Mariia S. Saveleva, mssaveleva@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0003-2021-0462>

Irina Yu. Goryacheva, goryachevaiy@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0003-1781-6180>

Polina A. Demina, polina.a.demina@list.ru, <https://orcid.org/0000-0002-9203-582X>

**Abstract.** Currently, the search for new types of carriers for low-molecular weight substances, as well as the development of optimal methods for the effective encapsulation of these substances are important tasks of modern chemistry and pharmacology. However, there are still limitations in this area, among which one of the most significant is the lack of the optimal carrier capable of stably retaining a low-molecular weight substance. The work presents hybrid polymer structures obtained by *in situ* hydrothermal synthesis as an effective candidate for these purposes. The fluorescent dye rhodamine B has been used as a model low-molecular weight substance for encapsulation into the structures. The resulting hybrid polymer structures demonstrated good stability when stored in an aqueous environment for 336 h with the release of the low-molecular weight dye rhodamine B no more than 2%. In addition, the influence of the conditions for obtaining hybrid carriers (including the composition of the carriers (thickness of the polymer shell and the presence of a calcium carbonate core) and synthesis temperature) on their physical-chemical characteristics has been studied. Thus, the optimal approach for obtaining fluorescent hybrid polymer carriers with a set of desired properties has been revealed. In particular, it has been shown that the optimal production conditions are hydrothermal synthesis temperature of 180 °C and the absence of CaCO<sub>3</sub> core inside the polyelectrolyte shell which allow us to obtain a stable hybrid polymer carrier with bright fluorescence. The results presented in this study can be used to create functional platforms and systems with tunable fluorescent properties and the ability to deliver low-molecular weight substances.

**Keywords:** hydrothermal synthesis, low-molecular-weight dyes, encapsulation, core-shell structures, release kinetics

**Acknowledgments:** This work was supported by the Russian Science Foundation (project no. 22-23-00313, <https://www.rscf.ru/en/project/22-23-00313/>).

**For citation:** Kovyrshina A. A., Bakal A. A., Saveleva M. S., Goryacheva I. Yu., Demina P. A. Dependence of physical-chemical properties of fluorescent hybrid polymer carriers on the conditions of hydrothermal synthesis. *Izvestiya of Saratov University. Chemistry. Biology. Ecology*, 2024, vol. 24, iss. 1, pp. 15–27 (in Russian). <https://doi.org/10.18500/1816-9775-2024-24-1-15-27>, EDN: NWNRES

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

## Введение

Инкапсуляция низкомолекулярных веществ в различные носители является одной из важных задач современной химии, однако широкое применение таких носителей ограничено рядом недостатков [1]. Процесс инкапсуляции является комплексным и осложнен наличием таких побочных эффектов, как низкая эффективность загрузки, диффузия инкапсулянта в среду и ограниченный круг носителей, способных эффективно предотвратить спонтанное высвобождение веществ в среду [2–4]. В качестве матриц-носителей низкомолекулярных веществ используют полимерные наночастицы [5], различного рода эмульсии [6–9], структуры «ядро–оболочка» [10, 11], массивы так называемых «чемберов» [12, 13], а также цеолитные структуры [14].

Полимерные микрокапсулы представляют собой универсальный носитель [15], позволяющий инкапсулировать широкий спектр веществ [16–22]. Простота получения, легко изменяемые и управляемые свойства – главные преимущества данных систем [23]. Основными физико-химическими свойствами являются их механические свойства и поведение в растворах при изменении внешних условий. Один из ключевых параметров – проницаемость оболочек микрокапсул, которая

и определяет условия иммобилизации веществ и их высвобождение в среду. Известно, что проницаемость полиэлектролитной оболочки зависит от состава и толщины самой оболочки [24], заряда диффундирующих соединений, а также таких факторов окружающей среды, как температура, pH и ионная сила раствора, полярность растворителя [25–29]. Поскольку инкапсуляция низкомолекулярных веществ требует оптимизации подходов к загрузке и стабилизации этих веществ, то варьирование состава и параметров получения полимерных носителей позволит создать носители с контролируемыми свойствами и способные выполнить требуемые задачи.

Ранее был разработан тип гибридных термообработанных полимерных носителей, содержащих низкомолекулярный флуоресцентный краситель родамин Б, которые прекрасно себя зарекомендовали в качестве фотоперекрывающих клеточных меток [30–32]. Варьирование параметров процесса получения флуоресцентных меток поможет оптимизировать протокол получения, а также улучшить свойства разрабатываемых систем. Поэтому целью данной работы было изучение влияния состава гибридных полимерных носителей и температуры гидротермального синтеза на структуру и стабильность разрабатываемых систем.



## Материалы и методы

Полиаллиламин гидрохлорид (РАН,  $M_w = 17.5$  kDa), полистиролсульфонат натрия (PSS,  $M_w = 70$  kDa), натриевая соль декстрана сульфата (DS,  $M_w = 40$  kDa), родамин Б (RhB), кальция хлорид дигидрат, натрия карбонат, соляная кислота и натрия хлорид производства Sigma.

Для приготовления растворов использовалась деионизованная вода (ДВ) с удельным сопротивлением более  $18.2$  МОм  $\text{см}^{-1}$ , полученная на системе очистки воды Milli-Q Direct 8 (Millipore).

### Формирование гибридных полимерных носителей гидротермальным методом

Микрочастицы карбоната кальция со структурной модификацией ватерита, выступающие в качестве ядра, были синтезированы путем смешивания растворов солей хлорида кальция и карбоната натрия [16]. Для этого равные объемы (2 мл) эквимольных солей (0.33 М) смешивались при интенсивном перемешивании. Затем на сформированные частицы  $\text{CaCO}_3$  (40 мг) методом последовательной адсорбции наносились слои полиэлектролитов РАН и PSS (2 мл, 1 мг/мл в 0.15 М или 0.5 М NaCl) при перемешивании на вертикальном ротаторе в течение 15 мин. Между нанесениями полиэлектролитов проводились процедуры центрифугирования (900 г, 1 мин) и промывки ДВ. После формирования гибридных структур с полимерной оболочкой состава  $(\text{РАН}/\text{PSS})_4$  (ПЭ, РЕ) часть образцов обрабатывали соляной кислотой (0.2 М), в результате чего ватеритное ядро растворялось и формировались полые микрокапсулы состава  $(\text{РАН}/\text{PSS})_4$ . Затем полученные структуры как полые, так и ядро/оболочка, инкубировались в водном растворе DS (1 мл, 2 мг/мл) в течение 1 ч, центрифугировались и затем диспергировались в водном растворе красителя RhB (2 мл, 0.5 мг/мл). Суспензию переносили в автоклав высокого давления. После 3 ч гидротермального синтеза при температурах 100, 150, 180 и 200 °С полученные образцы тщательно промывали ДВ, пока надосадочная жидкость не стала бесцветной.

В результате были получены образцы гидротермально обработанных гибридных полимерных носителей различного состава, характеристики которых представлены в таблице.

## Характеристики гидротермально обработанных гибридных полимерных носителей

Table. Characteristics of hydrothermally treated hybrid polymer carriers

Реагент / Reagent			Название образца / Sample name
$\text{CaCO}_3$	0.15 M NaCl	0.5 M NaCl	
–	+	–	ПЭ(0.15; t) РЕ(0.15; t)
+	+	–	$\text{CaCO}_3$ /ПЭ(0.15; t) $\text{CaCO}_3$ /РЕ(0.15; t)
–	–	+	ПЭ(0.5; t) РЕ(0.5; t)
+	–	+	$\text{CaCO}_3$ /ПЭ(0.5; t) $\text{CaCO}_3$ /РЕ(0.5; t)

Примечание. ПЭ – полиэлектролитная оболочка состава  $(\text{РАН}/\text{PSS})_4$ ; t здесь и далее при описании указывает температуру гидротермального синтеза (100, 150, 180 или 200 °С).

Note. PE – polyelectrolyte shell of composition  $(\text{РАН}/\text{PSS})_4$ ; t hereinafter in the description indicates the hydrothermal synthesis temperature (100, 150, 180 or 200 °С).

### Характеризация гидротермально обработанных гибридных полимерных носителей

Сканирующая электронная микроскопия (СЭМ) проводилась с использованием MIRA II LMU (TESCAN, Чехия). Для этого каплю водной суспензии образца помещали на кремниевую пластину и оставляли до полного высыхания. Затем наносили тонкий слой золота (толщина около 5 нм) с помощью установки вакуумного напыления Emitech K350 (Emitech Ltd, Англия). Изображения СЭМ были проанализированы с использованием программного обеспечения ImageJ [33], для каждого типа образца выборка составляла 100 частиц.

Спектры поглощения и флуоресценции записывались с помощью спектрометра Shimadzu UV-1800 (Shimadzu, Япония) и мультифункционального флуориметра Cary Eclipse (Agilent Technologies, Австралия) соответственно.

Стабильность полученных гидротермально обработанных гибридных полимерных носителей проводили в ДВ. Для этого  $25 \times 10^6$  частиц заливали 2 мл ДВ, инкубировали в течение определенного времени, затем центрифугировали, отбирали супернатанты и повторно заливали 2 мл ДВ. Все супернатанты собирались для дальнейшего измерения опти-



ческой плотности. Количество вышедшего из носителей красителя (в %) было рассчитано как отношение изменения массы красителя в супернатантах к исходной массе красителя.

### Результаты и их обсуждение

Формирование гибридных полимерных носителей является многостадийным процессом. Схема получения представлена на рис. 1.

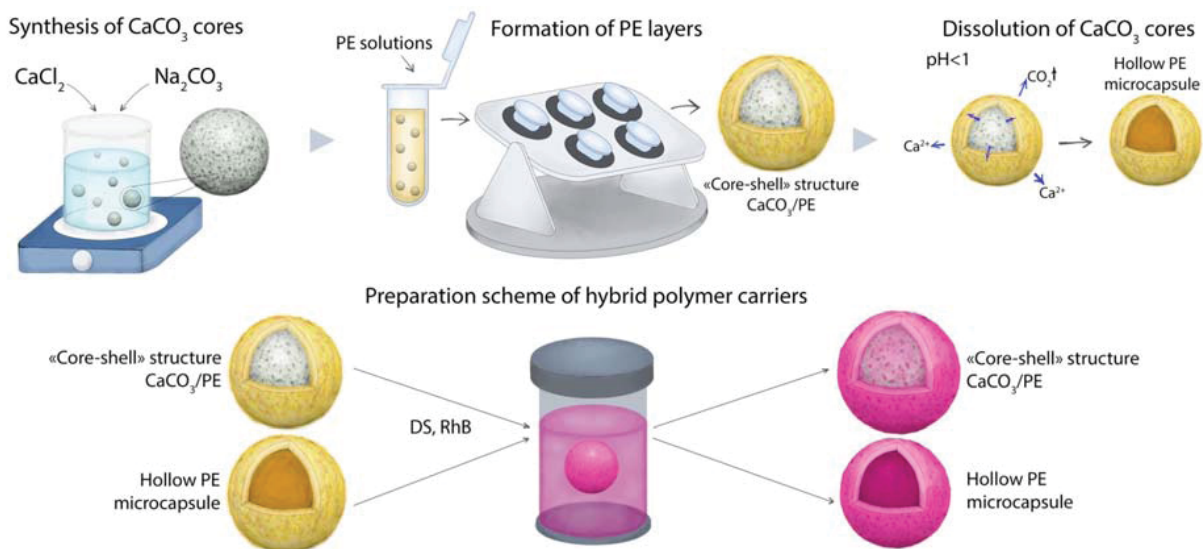


Рис. 1. Схема формирования гибридных полимерных носителей  
Fig. 1. Preparation scheme of hybrid polymer carriers

### Формирование микрочастиц карбоната кальция

На первом этапе получали сферические пористые микрочастицы карбоната кальция. Из анализа СЭМ-изображений (рис. 2, а) видно, что

сформированные частицы имеют сферическую форму, которая соответствует структурной модификации ватерита [34], а средний размер полученных частиц лежит в диапазоне  $2.05 \pm 0.54$  мкм (см. рис. 2, б).

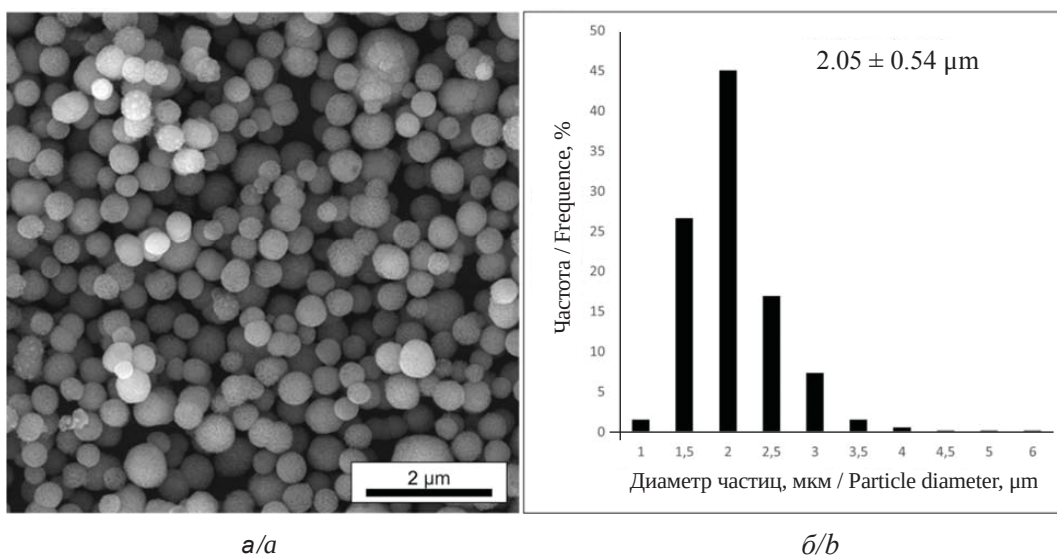


Рис. 2. СЭМ-изображение частиц карбоната кальция: а – со структурой ватерита; б – распределение частиц по размерам

Fig. 2. SEM-image of calcium carbonate particles: a – with a vaterite structure; b – particle size distribution



### Формирование гибридных полимерных носителей

На втором этапе методом последовательной адсорбции полиэлектролитов формировали оболочку на микрочастицах  $\text{CaCO}_3$ . Для этого микрочастицы поочередно инкубировали в водных растворах PАН и PSS с различной ионной силой (0.15 и 0.5 М NaCl). После формирования структур  $\text{CaCO}_3/\text{PE}(0.15)$  и  $\text{CaCO}_3/\text{PE}(0.5)$  «ядро–оболочка» для части образца проводили растворение ватеритного ядра, и для дальнейшей работы использовали полые оболочки (микрокапсулы PE(0.15) и PE(0.5)).

Полученные структуры «ядро–оболочка» и микрокапсулы далее использовали в качестве прекурсора для формирования гибридных полимерных носителей. Для этого структуры поочередно инкубировали в водном растворе DSS, а затем в водном растворе флуоресцентного красителя RhB, в котором далее проводили гидротермальный синтез. Варьирование температуры проводили с целью изучения влияния температуры на процесс формирования носителей.

Поскольку подобные разрабатываемым структуры ранее уже были апробированы в качестве фотоконвертируемых меток для трекинга клеток [30–32], то задача усиления эффективности фотоконверсии является целесообразной. Ранее предполагалось, что в основе этого процесса лежит фотохимическое разложение красителя RhB под действием лазерного облучения, фотокатализируемое углеродными структурами [31, 35]. Введение в систему дополнительных источников углеродных структур, таких как DS, может привести к увеличению содержания углерода и тем самым усилить фотоконверсию. Известно, что такие структуры на основе DS обладают хорошими фотокалитическими свойствами [36]; кроме того, этот полимер имеет высокий отрицательный заряд в водной среде, что может препятствовать агрегации флуоресцентных маркеров при гидротермальном синтезе.

В результате была получена серия образцов, отличающихся составом и условиями получения. Характеристические СЭМ-изображения полимерных носителей и средний размер частиц представлены на рис. 3.

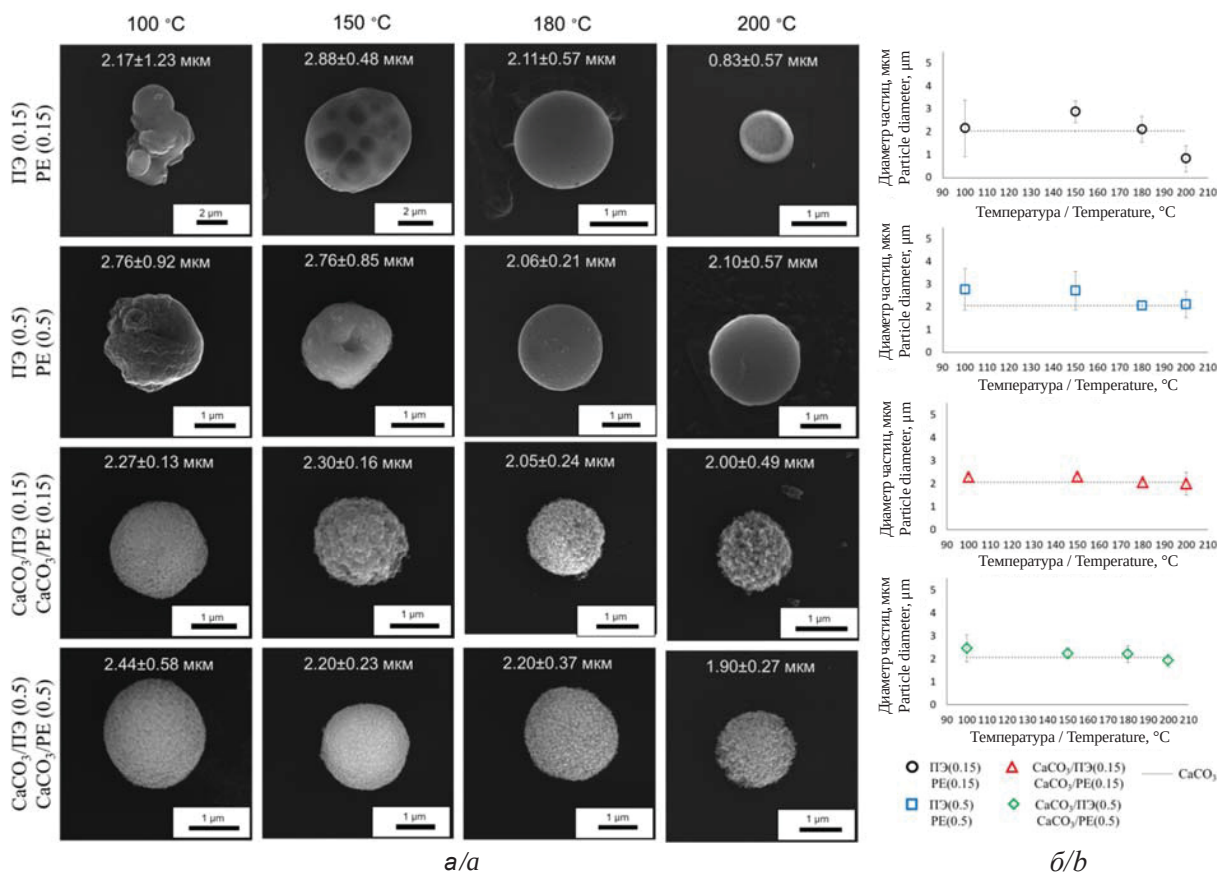


Рис. 3. Характеристические СЭМ-изображения полимерных носителей: а – полученных при различных температурах; б – зависимости диаметра носителей от температуры гидротермального синтеза  
 Fig. 3. Characteristic SEM-images of polymer carriers: a – obtained at different temperatures; b – the dependence of the carriers diameter on the hydrothermal synthesis temperature



У образцов серии PE(0.15; 100), PE(0.15, 150), PE(0.5; 100) и PE(0.5; 150) форма частиц несферическая (см. рис. 3, а), а также наблюдается большой разброс по размерам частиц (см. рис. 3, б). Данный факт делает полученные носители не пригодными для дальнейшего использования в качестве флуоресцентных меток. Образец PE(0.15; 200) имеет средний размер частиц менее 1 мкм, что затрудняет применение данных носителей в клеточном трекинге и мечении.

Среди представленных полых структур по форме и размеру оптимальными были признаны образцы, полученные при 180° С для обеих молярностей солей, а также образец PE(0.5; 200).

Известно, что толщина формируемой на теплоте полимерной оболочки зависит от величины ионной силы раствора полимера [37, 38]. Чем тоньше оболочка, тем она больше подвержена деформации при воздействии высоких температур [25, 39, 40], что и наблюдалось в случае ПЭ микрокапсул, полученных при 200° С.

Морфология сформированных структур «ядро–оболочка» при 100°С полностью повторяет форму исходного карбоната, при этом оболочка практически не видна. Это можно объяснить тем, что при данной температуре полиэлектролитная оболочка недостаточно де-

формировалась и может оставаться проницаема для низкомолекулярного красителя [39], что не дает эффективной инкапсуляции.

При увеличении температуры гидротермального синтеза поверхность носителей становится более шероховатой, причем чем ниже ионная сила полиэлектролита, тем быстрее изменяется поверхность носителя. Так, образец CaCO<sub>3</sub>/PE(0.15; 200) демонстрирует более развитую поверхность, чем образец CaCO<sub>3</sub>/PE(0.5; 200). Следовательно, более плотная полиэлектролитная оболочка защищает ватеритное ядро от разрушения при высоких температурах и давлении.

Следует отметить, что средний размер структур «ядро–оболочка» статистически не отличается от размера исходных частиц ватерита (см. рис. 3, б).

#### Определение содержания флуоресцентного красителя в гибридных полимерных носителях

Поскольку исследуемые носители потенциально могут быть использованы в качестве меток для трекинга индивидуальных клеток, то они должны обладать яркой и стабильной флуоресценцией. Поэтому было определено содержание флуоресцентного красителя RhB в  $25 \times 10^6$  частицах для каждой серии образцов (рис. 4).

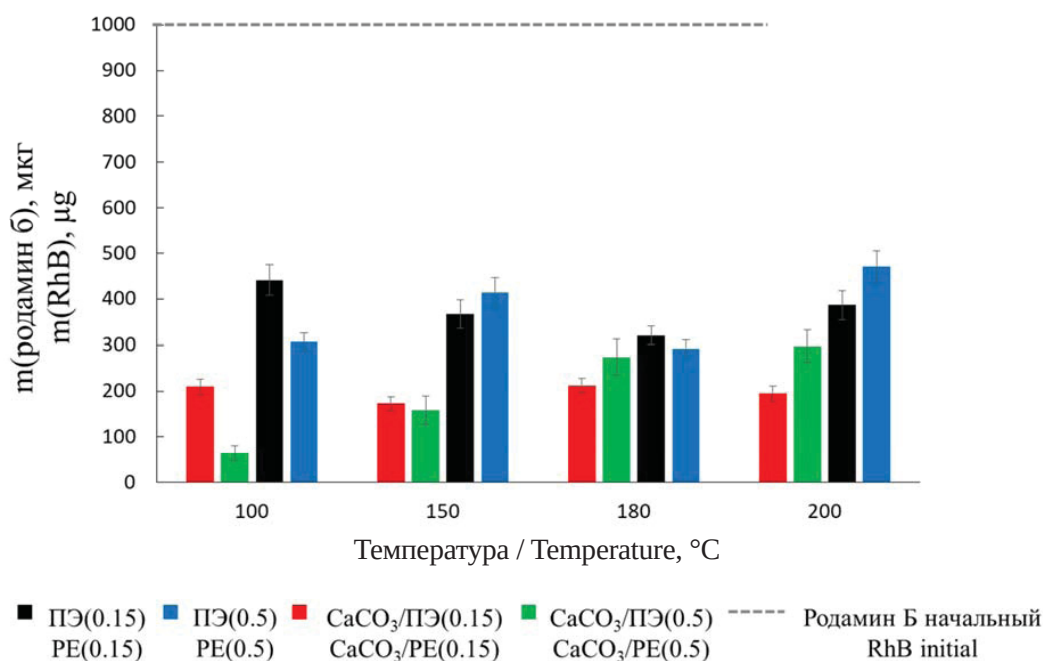


Рис. 4. Гистограмма распределения содержания красителя RhB в термообработанных полимерных носителях в зависимости от температуры гидротермального синтеза и исходное содержание RhB в реакционной смеси (цвет онлайн)

Fig. 4. Histogram of the RhB dye content distribution in thermally treated polymer carriers depending on the temperature of hydrothermal synthesis, and initial RhB content in reaction mixture (color online)



Из рис. 4 видно, что содержание красителя RhV в структурах «ядро–оболочка» ниже по сравнению с полыми ПЭ микрокапсулами. Однако для образцов, полученных при 180° С, эта разница минимальна. Это может говорить о том, что при данной температуре гидротермального синтеза процесс инкапсуляции низкомолекулярного красителя протекает независимо от состава гибридных полимерных носителей.

Разница в количестве инкапсулированного красителя в гибридных носителях, полученных при 100°С, также может быть обусловлена невысокой температурой гидротермального синтеза и, как следствие, неэффективной деформацией полимерной оболочки. Это также хорошо согласуется с данными СЭМ-анализа (см. рис. 3, а).

В то же время при температуре гидротермального синтеза 150°С разница между образцами PE(0.15; 150) и PE(0.5; 150), а также CaCO<sub>3</sub>/PE(0.15; 150) и CaCO<sub>3</sub>/PE(0.5; 150) незна-

чительна. Следовательно, толщина полимерной оболочки не влияет на эффективность инкапсуляции низкомолекулярного красителя.

Разницу в количестве инкапсулированного RhV в гибридных носителях, полученных при 200° С, можно объяснить разницей в морфологии поверхности образцов CaCO<sub>3</sub>/PE(0.15; 200) и CaCO<sub>3</sub>/PE(0.5; 200). В то время как для образцов PE(0.15; 200) и PE(0.5; 200) эта разница обусловлена размерами частиц (см. рис. 3, б).

Для образцов PE(0.15; 180), PE(0.5; 180), CaCO<sub>3</sub>/PE(0.15; 180) и CaCO<sub>3</sub>/PE(0.5; 180) были получены спектральные характеристики, представленные на рис. 5. После гидротермального синтеза при 180°С флуоресцентный краситель RhV сохраняет свои характеристические пики ( $\lambda_{\text{max(поглощение)}} = 554 \text{ нм}$ ,  $\lambda_{\text{max(испускание)}} = 590 \text{ нм}$ ), при этом образцы между собой отличаются интенсивностью флуоресценции.

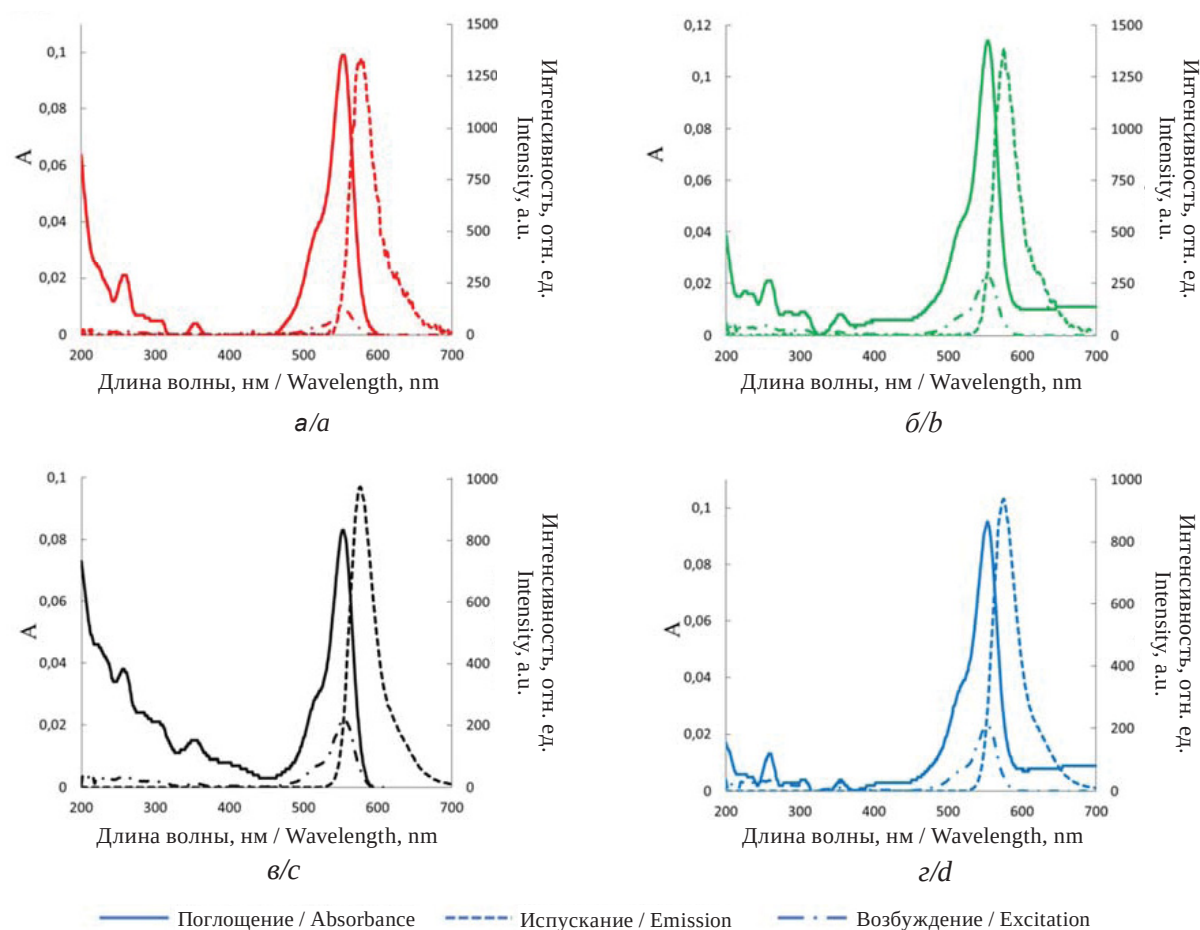


Рис. 5. Спектры поглощения, испускания и возбуждения термообработанных полимерных носителей: а – CaCO<sub>3</sub>/PE(0.15; 180); б – CaCO<sub>3</sub>/PE(0.5; 180); в – PE(0.15; 180); г – PE(0.5; 180) (цвет онлайн)

Fig. 5. Absorption, emission and excitation spectra of thermally treated polymer carriers: a – CaCO<sub>3</sub>/PE(0.15; 180); б – CaCO<sub>3</sub>/PE(0.5; 180); в – PE(0.15; 180); г – PE(0.5; 180) (color online)



### Кинетика высвобождения флуоресцентного красителя из гибридных полимерных носителей

Поскольку интенсивность флуоресценции разрабатываемых гибридных полимерных носителей зависит от содержания красителя, то следующим этапом исследования было изучение стабильности данных систем и характера

высвобождения красителя из носителей при инкубации в водной среде. Для этого каждый образец в количестве  $25 \times 10^6$  частиц в 2 мл ДВ инкубировали в течение 14 суток (336 ч). Мониторинг высвободившегося красителя проводили спектрофотометрическим измерением надосадочных растворов. Полученные результаты в виде временных зависимостей представлены на рис. 6.

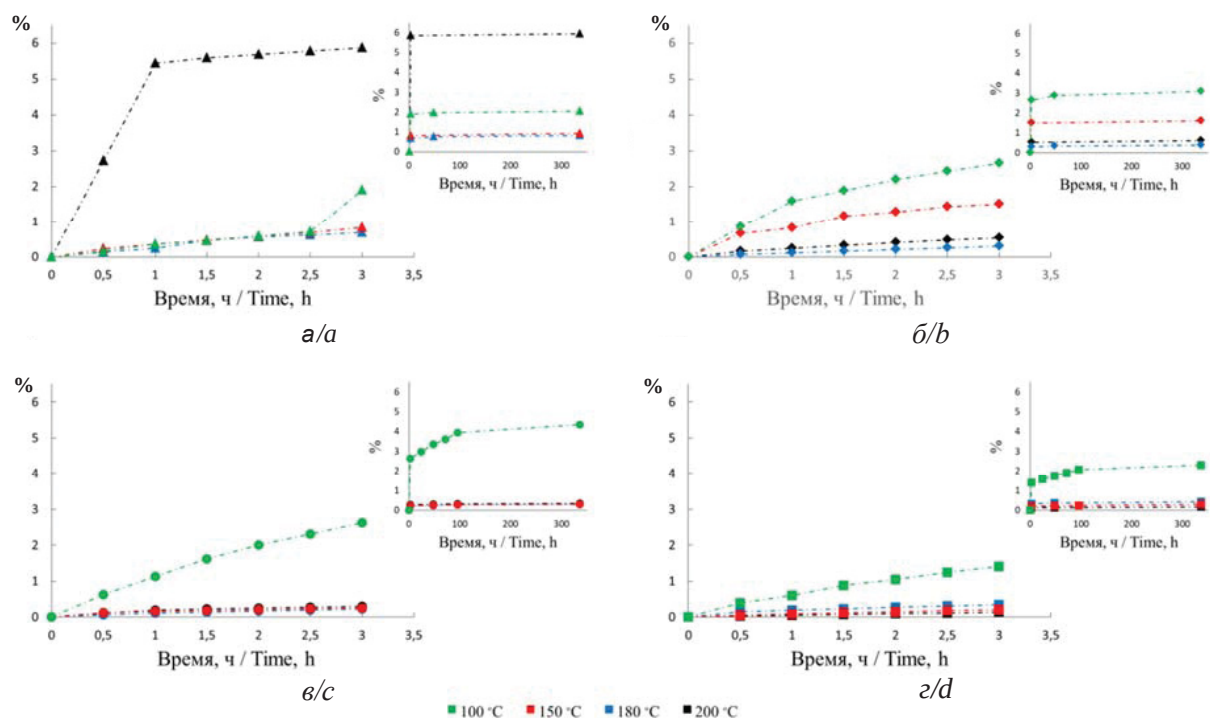


Рис. 6. Временная зависимость высвобождения красителя RhB (в %) из термообработанных полимерных носителей: а –  $\text{CaCO}_3/\text{PE}(0.15)$ ; б –  $\text{CaCO}_3/\text{PE}(0.5)$ ; в –  $\text{PE}(0.15)$ ; г –  $\text{PE}(0.5)$ , полученных при 100, 150, 180 и 200 °С (цвет онлайн)  
Fig. 6. Time dependence of RhB dye release (in %) from thermally treated polymer carriers: а –  $\text{CaCO}_3/\text{PE}(0.15)$ ; б –  $\text{CaCO}_3/\text{PE}(0.5)$ ; в –  $\text{PE}(0.15)$ ; г –  $\text{PE}(0.5)$ , obtained at 100, 150, 180 and 200 °С (color online)

Для структур «ядро–оболочка»  $\text{CaCO}_3/\text{PE}(0.15)$  характер высвобождения красителя отличен только для образца, полученного при 200 °С (см. рис. 6, а). Количество вышедшего красителя RhB составило около 6% за 336 ч инкубации в ДВ. Для всех остальных структур «ядро–оболочка» данный показатель не превысил 3% (см. рис. 6, а, б). Различие в характере кривой высвобождения для структур  $\text{CaCO}_3/\text{PE}(0.5)$  можно объяснить тем, что при более низкой температуре плотная ПЭ оболочка менее подвержена деформации в процессе гидротермального синтеза и, как следствие, менее эффективно удерживает низкомолекулярный краситель (см. рис. 6, б).

В случае полых ПЭ носителей высвобождение красителя при температуре 100 °С вне

зависимости от состава оболочки протекает быстрее, чем для более высоких температур (см. рис. 6, в, г). При этом чем плотнее оболочка (структуры  $\text{PE}(0.5)$ ), тем меньшее количество красителя высвобождается в водную среду. Тем не менее, в случае образцов с более плотной оболочкой можно наблюдать небольшую разницу в количестве красителя, высвободившегося за 336 ч (см. рис. 6, г). Это также подтверждается фактом, что для структуры  $\text{PE}(0.15)$  оболочка более тонкая и при гидротермальном синтезе она одинаково хорошо сжимается при данных температурах [25, 39, 41], а для более толстой оболочки структуры  $\text{PE}(0.5)$  эта разница уже заметна, пусть незначительно (см. рис. 6, в, г).



### Стабильность гибридных полимерных носителей в воде

Для дальнейшего использования полученных контейнеров в качестве флуоресцентной метки больше подходят частицы с более разветвленной поверхностью [42], поэтому

необходимо исследовать стабильность гибридных частиц  $\text{CaCO}_3/\text{ПЭ}(0.15)$  и  $\text{CaCO}_3/\text{ПЭ}(0.5)$  при длительном хранении. Для этого образцы инкубировали в течение 2 месяцев в ДВ при стандартных условиях. Результаты представлены на рис. 7.

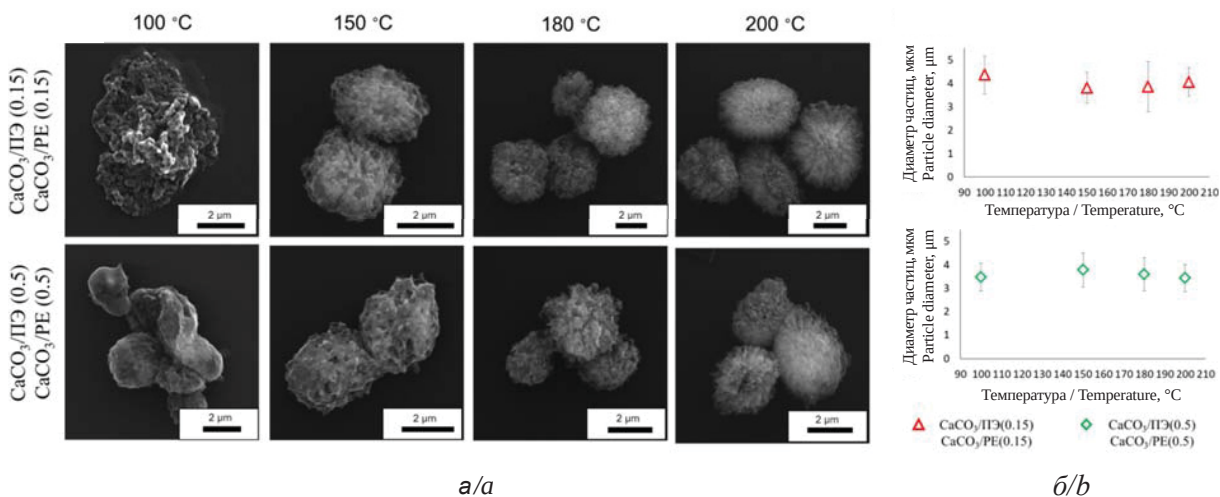


Рис. 7. Характеристические СЭМ-изображения термообработанных полимерных носителей после инкубации в воде в течение 2 месяцев

Fig. 7. Characteristic SEM-images of thermally treated polymer carriers after incubation in water for 2 months

Наименее стабильными оказались образцы  $\text{CaCO}_3/\text{PE}(0.15; 100)$  и  $\text{CaCO}_3/\text{PE}(0.5; 100)$  (см. рис. 7, а). Низкая температура гидротермального синтеза, как было продемонстрировано выше, не способствует деформации полимерной оболочки, что является причиной менее эффективной стабилизации ватеритного ядра. Несмотря на различия в морфологии исходных синтезированных структур  $\text{CaCO}_3/\text{PE}(0.15; 150)$ ,  $\text{CaCO}_3/\text{PE}(0.15; 180)$ ,  $\text{CaCO}_3/\text{PE}(0.15; 200)$ ,  $\text{CaCO}_3/\text{PE}(0.5; 150)$ ,  $\text{CaCO}_3/\text{PE}(0.5; 180)$  и  $\text{CaCO}_3/\text{PE}(0.5; 200)$  (см. рис. 3, а), при их хранении в ДВ в течение длительного периода в результате обнаружена схожесть морфологии поверхности. Таким образом, для гибридных полимерных носителей со структурой «ядро–оболочка», независимо от состава оболочки и температуры гидротермального синтеза (150, 180 и 200° С) изменения в морфологии при хранении в ДВ в течение длительного периода незначительны.

### Заключение

В ходе данного исследования было изучено влияние состава и температуры получения на структуру и стабильность гибридных поли-

мерных носителей. Показано, что для структур «ядро–оболочка» средний размер носителей не зависит от толщины полимерной оболочки и не отличается существенно от размеров исходных частиц карбоната кальция при варьировании температуры гидротермального синтеза в диапазоне +100÷200° С. В случае же полых полимерных носителей ярко выражена зависимость среднего размера частиц как от температуры гидротермального синтеза, так и от толщины полиэлектролитной оболочки. Причем для полых носителей, полученных при 180° С, и оболочек, сформированных из растворов полимеров с различной ионной силой (0.15 и 0.5 М NaCl), средний размер частиц одинаковый и значительно не отличается от среднего размера исходных частиц–ядер. Было показано, что для структур «ядро–оболочка» эффективность инкапсуляции низкомолекулярного флуоресцентного красителя родамин Б ниже, чем для полых микрокапсул. Однако для температуры гидротермального синтеза 180° С разница в содержании красителя RhB для всех типов гибридных структур незначительна. В ходе изучения кинетики высвобождения низкомолекулярного флуоресцентного красителя в воде в течение 336 ч было показано, что наличие





ядра в структуре гибридного носителя дестабилизирует систему, что проявляется в ускоренном высвобождении RhВ для образцов, полученных при всех исследуемых температурах. В случае структур полых микрокапсул, термообработанных при температурах 150° С и более, релиз красителя не превышает 2%. При изучении стабильности гибридных полимерных носителей со структурой «ядро–оболочка» в водной среде в течение 2 месяцев было продемонстрировано, что термообработанная полимерная оболочка не предотвращает деградацию сформированных носителей в целом.

Таким образом, было показано, что для получения стабильного гибридного полимерного носителя с яркой флуоресценцией оптимальными условиями получения являются температура гидротермального синтеза 180° С и отсутствие ядра внутри полиэлектролитной оболочки.

### Список литературы

1. Mak W. C., Cheung K. Y., Trau D. Influence of different polyelectrolytes on layer-by-layer microcapsule properties: Encapsulation efficiency and colloidal and temperature stability // *Chemistry of Materials*. 2008. Vol. 20, № 17. P. 5475–5484. <https://doi.org/10.1021/cm702254h>
2. Song W., He Q., Möhwald H., Yang Y., Li J. Smart polyelectrolyte microcapsules as carriers for water-soluble small molecular drug // *Journal of Controlled Release*. 2009. Vol. 139, № 2. P. 160–166. <https://doi.org/10.1016/j.jconrel.2009.06.010>
3. Caruso F., Yang W., Trau D., Renneberg R. Microencapsulation of uncharged low molecular weight organic materials by polyelectrolyte multilayer self-assembly // *Langmuir*. 2000. Vol. 16, № 23. P. 8932–8936. <https://doi.org/10.1021/la000401s>
4. Yi Q., Sukhorukov G. B. UV light stimulated encapsulation and release by polyelectrolyte microcapsules // *Advances in Colloid and Interface Science*. 2013. Vol. 207, № 1. P. 280–289. <https://doi.org/10.1016/j.cis.2013.11.009>
5. Li J., Fan J., Cao R., Zhang Z., Du J., Peng X. Encapsulated dye/polymer nanoparticles prepared via miniemulsion polymerization for inkjet printing // *ACS Omega*. 2018. Vol. 3, № 7. P. 7380–7387. <https://doi.org/10.1021/acsomega.8b01151>
6. Asua J. M. Miniemulsion polymerization // *Progress in Polymer Science*. 2002. Vol. 27, № 7. P. 1283–1346. [https://doi.org/10.1016/s0079-6700\(02\)00010-2](https://doi.org/10.1016/s0079-6700(02)00010-2)
7. Zhenqian Z., Sihler S., Ziener U. Alizarin Yellow R (AYR) as compatible stabilizer for miniemulsion polymerization // *Journal of Colloid and Interface Science*. 2017. Vol. 507. P. 337–343. <https://doi.org/10.1016/j.jcis.2017.08.007>
8. Landfester K. Miniemulsion polymerization and the structure of polymer and hybrid nanoparticles // *Angewandte Chemie International Edition*. 2009. Vol. 48, № 25. P. 4488–4507. <https://doi.org/10.1002/anie.200900723>
9. Faucheu J., Gauthier C., Chazeau L., Cavallé J.-Y., Mellon V., Lami E. B. Miniemulsion polymerization for synthesis of structured clay/polymer nanocomposites: Short review and recent advances // *Polymer*. 2010. Vol. 51. P. 6–17. <https://doi.org/10.1016/j.polymer.2009.11.044>
10. Umezawa M., Ueya Yu., Ichihashi K., Thi Kim Dung D., Soga K. Controlling molecular dye encapsulation in the hydrophobic core of core–shell nanoparticles for in vivo imaging // *Biomedical Materials & Devices*. 2023. Vol. 1. P. 605–617. <https://doi.org/10.1007/s44174-023-00073-0>
11. Kohl F. F. E., Hinckley J. A., Wiesner U. B. Dye encapsulation in fluorescent core–shell silica nanoparticles as probed by fluorescence correlation spectroscopy // *The Journal of Physical Chemistry C*. 2019. Vol. 123, № 15. P. 9813–9823. <https://doi.org/10.1021/acs.jpcc.9b00297>
12. Soga N., Watanabe R., Noji H. Attolitre-sized lipid bilayer chamber array for rapid detection of single transporter // *Scientific Reports*. 2015. Vol. 5. <https://doi.org/10.1038/srep11025>
13. Ga M., Frueh J., Tao T., Petro A. V., Petrov V. V., Shesterikov E. V., Tverdokhlebov S. I., Sukhorukov G. B. Poly(lactic acid) nano- and microchamber arrays for encapsulation of small hydrophilic molecules featuring drug release via high intensity focused ultrasound // *Nanoscale*. 2017. Vol. 9, № 21. P. 7063–7070. <https://doi.org/10.1039/C7NR01841J>
14. Abdelhamid H. N. Dye encapsulation and one-pot synthesis of microporous–mesoporous zeolitic imidazolate frameworks for CO<sub>2</sub> sorption and adenosine triphosphate biosensing // *Dalton Trans*. 2023. Vol. 52. P. 2506–2517. <https://doi.org/10.1039/D2DT04084K>
15. Skirtac A. G., Yashchenok A. M., Möhwald H. Encapsulation, release and applications of LbL polyelectrolyte multilayer capsules // *Chemical Communications*. 2011. Vol. 47, № 48. P. 12736–12746. <https://doi.org/10.1039/C1CC13453A>
16. Volodkin D. V., Petrov A. I., Prevot M., Sukhorukov G. B. Matrix polyelectrolyte microcapsules: New system for macromolecule encapsulation // *Langmuir*. 2004. Vol. 20, № 8. P. 3398–3406. <https://doi.org/10.1021/la036177z>
17. Kim M., Yeo S. J., Highley C. B., Burdick J. A., Yoo P. J., Doh J., Lee D. One-Step generation of multifunctional polyelectrolyte microcapsules via nanoscale interfacial complexation in emulsion (NICE) // *ACS Nano*. 2015. Vol. 9, № 8. P. 8269–8278. <https://doi.org/10.1021/acsnano.5b02702>
18. Kim A. L., Musin E. V., Oripova M. J., Oshchepkova Y. I., Salikhov S. I., Tikhonenko S. A. Polyelectrolyte microcapsules – a promising target delivery system of amiodarone with the possibility of prolonged release // *International Journal of Molecular Sciences*. 2023. Vol. 24. Article number 3348. <https://doi.org/10.3390/ijms24043348>
19. Liqin G., Xin T., Renwang S., Jun X. Layer-by-layer self-assembly of giant polyelectrolyte microcapsules templated by microbubbles as potential hydrophilic or hydrophobic drug delivery system // *Colloid and Interface Science Communications*. 2022. Vol. 47, № 23. <https://doi.org/10.1016/j.colcom.2022.100603>
20. Kalenichenko D., Nifontova G., Karaulov A., Sukhanova A., Nabiev I. D. Designing functionalized polyelec-



- trolyte microcapsules for cancer treatment // *Nanomaterials*. 2021. Vol. 11. Article number 3055. <https://doi.org/10.3390/nano11113055>
21. Son D., Cui J., Ju Y., Faria M., Sun H., Howard C. B., Thurecht K. J., Caruso F. Cellular targeting of bispecific antibody-functionalized poly(ethylene glycol) capsules: Do shape and size matter? // *ACS Applied Materials & Interfaces*. 2019. Vol. 11, № 32. P. 28720–28731. <https://doi.org/10.1021/acsami.9b10304>
  22. Simioni A. R., de Jesus P. C. C., Tedesco A. C. Layer-by-Layer hollow photosensitizer microcapsule design via a manganese carbonate hard template for photodynamic therapy in cells // *Photodiagnosis and Photodynamic Therapy*. 2018. Vol. 22. P. 169–177. <https://doi.org/10.1016/j.pdpdt.2018.04.011>
  23. Володькин Д. В. Иммунизация белков в микрокапсулы, сформированные методом последовательной адсорбции противополюжно заряженных полиэлектролитов: дис. ... канд. хим. наук. М., 2005. 166 с.
  24. Donath E., Sukhorukov G. B., Caruso F., Davis S. A., Möhwald H. Novel hollow polymer shells by colloid-templated assembly of polyelectrolytes // *Angewandte Chemie International Edition*. 1998. Vol. 37, № 16. P. 2201–2205. [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1521-3773\(19980904\)37:16<2201::AID-ANIE2201>3.0.CO;2-E](https://doi.org/10.1002/(SICI)1521-3773(19980904)37:16<2201::AID-ANIE2201>3.0.CO;2-E)
  25. Köhler K., Shchukin D. G., Möhwald H., Sukhorukov G. B. Thermal behavior of polyelectrolyte multilayer microcapsules. 1. The effect of odd and even layer number // *The Journal of Physical Chemistry B*. 2005. Vol. 109, № 39. P. 18250–18259. <https://doi.org/10.1021/jp052208i>
  26. Köhler K., Möhwald H., Sukhorukov G. B. Thermal behavior of polyelectrolyte multilayer microcapsules. 2. Insight into molecular mechanisms for the PDADMAC/PSS System // *The Journal of Physical Chemistry B*. 2006. Vol. 110, № 47. P. 24002–24010. <https://doi.org/10.1021/jp062907a>
  27. Musin E. V., Kim A. L., Tikhonenko S. A. Destruction of polyelectrolyte microcapsules formed on CaCO<sub>3</sub> microparticles and the release of a protein included by the adsorption method // *Polymers*. 2020. Vol. 12, № 3. Article number 520. <https://doi.org/10.3390/polym12030520>
  28. Pechenkin M. A., Möhwald H., Volodkin D. V. pH- and salt-mediated response of layer-by-layer assembled PSS/PAH microcapsules: Fusion and polymer exchange // *Soft Matter*. 2012. Vol. 8, № 33. Article number 8659. <https://doi.org/10.1039/c2sm25971k>
  29. Gao C., Leporatti S., Moya S., Donath E., Möhwald H. Swelling and shrinking of polyelectrolyte microcapsules in response to changes in temperature and ionic strength // *Chemistry – A European Journal*. 2003. Vol. 9, № 4. P. 915–920. <https://doi.org/10.1002/chem.200390113>
  30. Demina P. A., Sindeeva O. A., Abramova A. M., Prikhozhenko E. S., Verkhovskii R. A., Lengert E. V., Sapelkin A. V., Goryacheva I. Yu., Sukhorukov G. B. Fluorescent convertible capsule coding systems for individual cell labeling and tracking // *ACS Applied Materials & Interfaces*. 2021. Vol. 13, № 17. P. 19701–19709. <https://doi.org/10.1021/acsami.1c02767>
  31. Demina P. A., Sindeeva O. A., Abramova A. M., Saveleva M. S., Sukhorukov G. B., Goryacheva I. Y. Fluorescent polymer markers photoconvertible with a 532 nm laser for individual cell labeling // *Journal of Biophotonics*. 2023. Vol. 16, № 6. <https://doi.org/10.1002/jbio.202200379>
  32. Sindeeva O. A., Demina P. A., Kozyreva Z. V., Muslimov A. R., Gusliakova O. I., Laushkina V. O., Mordovina E. A., Tsyupka D., Epifanovskaya O. S., Sapach A. Y., Goryacheva I. Yu., Sukhorukov G. B. Labeling and tracking of individual human mesenchymal stromal cells using photoconvertible fluorescent microcapsules // *International Journal of Molecular Sciences*. 2023. Vol. 24. Article number 13665. <https://doi.org/10.3390/ijms241713665>
  33. Программа для анализа и обработки изображений ImageJ. URL: <https://imagej.net/ij/index.html> (дата обращения: 15.06.23).
  34. Saveleva M. S., Lengert E. V., Verkhovskii R. A., Abalymov A. A., Pavlov A. M., Ermakov A. V., Prikhozhenko E. S., Shtykov S. N., Svenskaya Yu. I. CaCO<sub>3</sub>-based carriers with prolonged release properties for antifungal drug delivery to hair follicles // *Biomaterials Science*. 2022. Vol. 10. P. 3323–3345. <https://doi.org/10.1039/D2BM00539E>
  35. Tao S., Zhu S., Feng T., Xia C., Song Y., Yang B. The polymeric characteristics and photoluminescence mechanism in polymer carbon dots: A review // *Materials Today Chemistry*. 2017. Vol. 6. P. 13–25. <https://doi.org/10.1016/j.mtchem.2017.09.001>
  36. Стенухович М. С., Абрамова А. М., Бакал А. А., Горячева И. Ю. Новые деградируемые фотокатализаторы для очистки сточных вод // *Известия Саратовского университета. Новая серия. Серия: Химия. Биология. Экология*. 2023. Т. 23, вып. 2. С. 148–158. <https://doi.org/10.18500/1816-9775-2023-23-2-148-158>
  37. Antipov A. A., Sukhorukov G. B., Möhwald H. Influence of the ionic strength on the polyelectrolyte multilayers' permeability // *Langmuir*. 2003. Vol. 19, № 6. P. 2444–2448. <https://doi.org/10.1021/la026101n>
  38. Tang K., Besseling N. A. M. Formation of polyelectrolyte multilayers: Ionic strengths and growth regimes // *Soft Matter*. 2016. Vol. 12, № 4. P. 1032–1040. <https://doi.org/10.1039/C5SM02118A>
  39. Ermakov A. V., Inozemtseva O. A., Gorin D. A., Sukhorukov G. B., Belyakov S., Antipina M. N. Influence of heat treatment on loading of polymeric multilayer microcapsules with rhodamine B // *Macromolecular Rapid Communications*. 2018. Article number 1800200. <https://doi.org/10.1002/marc.201800200>
  40. Ibarz G., Dähne L., Donath E., Möhwald H. Controlled permeability of polyelectrolyte capsules via defined annealing // *Chemistry of Materials*. 2002. Vol. 14, № 10. P. 4059–4062. <https://doi.org/10.1021/cm011300y>
  41. Han Y., Bu J., Zhang Y., Tong W., Gao C. Encapsulation of photosensitizer into multilayer microcapsules by combination of spontaneous deposition and heat-induced shrinkage for photodynamic therapy // *Macromolecular Bioscience*. 2012. Vol. 12, № 10. P. 1436–1442. <https://doi.org/10.1002/mabi.201200191>
  42. Sousa de Almeida M., Susnik E., Drasler B., Taladriz-Blanco P., Petri-Fink A., Rothen-Rutishauser B. Understanding nanoparticle endocytosis to improve targeting strategies in nanomedicine // *Chemical Society Reviews*. 2021. Vol. 50, № 9. P. 5397–5434. <https://doi.org/10.1039/d0cs01127d>



## References

1. Mak W. C., Cheung K. Y., Trau D. Influence of different polyelectrolytes on layer-by-layer microcapsule properties: Encapsulation efficiency and colloidal and temperature stability. *Chemistry of Materials*, 2008, vol. 20, no. 17, pp. 5475–5484. <https://doi.org/10.1021/cm702254h>
2. Song W., He Q., Möhwald H., Yang Y., Li J. Smart polyelectrolyte microcapsules as carriers for water-soluble small molecular drug. *Journal of Controlled Release*, 2009, vol. 139, no. 2, pp. 160–166. <https://doi.org/10.1016/j.jconrel.2009.06.010>
3. Caruso F., Yang W., Trau D., Renneberg R. Microencapsulation of uncharged low molecular weight organic materials by polyelectrolyte multilayer self-assembly. *Langmuir*, 2000, vol. 16, no. 23, pp. 8932–8936. <https://doi.org/10.1021/la000401s>
4. Yi Q., Sukhorukov G. B. UV light stimulated encapsulation and release by polyelectrolyte microcapsules. *Advances in Colloid and Interface Science*, 2013, vol. 207, no. 1, pp. 280–289. <https://doi.org/10.1016/j.cis.2013.11.009>
5. Li J., Fan J., Cao R., Zhang Z., Du J., Peng X. Encapsulated dye/polymer nanoparticles prepared via miniemulsion polymerization for inkjet printing. *ACS Omega*, 2018, vol. 3, no. 7, pp. 7380–7387. <https://doi.org/10.1021/acsomega.8b01151>
6. Asua J. M. Miniemulsion polymerization. *Progress in Polymer Science*, 2002, vol. 27, no. 7, pp. 1283–1346. [https://doi.org/10.1016/s0079-6700\(02\)00010-2](https://doi.org/10.1016/s0079-6700(02)00010-2)
7. Zhenqian Z., Sihler S., Ziener U. Alizarin Yellow R (AYR) as compatible stabilizer for miniemulsion polymerization. *Journal of Colloid and Interface Science*, 2017, vol. 507, pp. 337–343. <https://doi.org/10.1016/j.jcis.2017.08.007>
8. Landfester K. Miniemulsion polymerization and the structure of polymer and hybrid nanoparticles. *Angewandte Chemie International Edition*, 2009, vol. 48, no. 25, pp. 4488–4507. <https://doi.org/10.1002/anie.200900723>
9. Faucheu J., Gauthier C., Chazeau L., Cavaillé J.-Y., Mellon V., Lami E. B. Miniemulsion polymerization for synthesis of structured clay/polymer nanocomposites: Short review and recent advances. *Polymer*, 2010, vol. 51, pp. 6–17. <https://doi.org/10.1016/j.polymer.2009.11.044>
10. Umezawa M., Ueya Yu., Ichihashi K., Thi Kim Dung D., Soga K. Controlling molecular dye encapsulation in the hydrophobic core of core-shell nanoparticles for *in vivo* imaging. *Biomedical Materials & Devices*, 2023, vol. 1, pp. 605–617. <https://doi.org/10.1007/s44174-023-00073-0>
11. Kohl F. F. E., Hinckley J. A., Wiesner U. B. Dye encapsulation in fluorescent core-shell silica nanoparticles as probed by fluorescence correlation spectroscopy. *The Journal of Physical Chemistry C*, 2019, vol. 123, no. 15, pp. 9813–9823. <https://doi.org/10.1021/acs.jpcc.9b00297>
12. Soga N., Watanabe R., Noji H. Attolitre-sized lipid bilayer chamber array for rapid detection of single transporter. *Scientific Reports*, 2015, vol. 5. <https://doi.org/10.1038/srep11025>
13. Ga M., Frueh J., Tao T., Petro A. V., Petrov V. V., Sheshterikov E. V., Tverdokhlebov S. I., Sukhorukov G. B. Poly(lactic acid) nano- and microchamber arrays for encapsulation of small hydrophilic molecules featuring drug release via high intensity focused ultrasound. *Nanoscale*, 2017, vol. 9, no. 21, pp. 7063–7070. <https://doi.org/10.1039/C7NR01841J>
14. Abdelhamid H. N. Dye encapsulation and one-pot synthesis of microporous-mesoporous zeolitic imidazolate frameworks for CO<sub>2</sub> sorption and adenosine triphosphate biosensing. *Dalton Trans.*, 2023, vol. 52, pp. 2506–2517. <https://doi.org/10.1039/D2DT04084K>
15. Skirtac A. G., Yashchenok A. M., Möhwald H. Encapsulation, release and applications of LbL polyelectrolyte multilayer capsules. *Chemical Communications*, 2011, vol. 47, no. 48, pp. 12736–12746. <https://doi.org/10.1039/C1CC13453A>
16. Volodkin D. V., Petrov A. I., Prevot M., Sukhorukov G. B. Matrix polyelectrolyte microcapsules: New system for macromolecule encapsulation. *Langmuir*, 2004, vol. 20, no. 8, pp. 3398–3406. <https://doi.org/10.1021/la036177z>
17. Kim M., Yeo S. J., Highley C. B., Burdick J. A., Yoo P. J., Doh J., Lee D. One-step generation of multifunctional polyelectrolyte microcapsules via nanoscale interfacial complexation in emulsion (NICE). *ACS Nano*, 2015, vol. 9, no. 8, pp. 8269–8278. <https://doi.org/10.1021/acsnano.5b02702>
18. Kim A. L., Musin E. V., Oripova M. J., Oshchepkova Y. I., Salikhov S. I., Tikhonenko S. A. Polyelectrolyte microcapsules – a promising target delivery system of amiodarone with the possibility of prolonged release. *International Journal of Molecular Sciences*, 2023, vol. 24, article no. 3348. <https://doi.org/10.3390/ijms24043348>
19. Liqin G., Xin T., Renwang S., Jun X. Layer-by-layer self-assembly of giant polyelectrolyte microcapsules templated by microbubbles as potential hydrophilic or hydrophobic drug delivery system. *Colloid and Interface Science Communications*, 2022, vol. 47, no. 23. <https://doi.org/10.1016/j.colcom.2022.100603>
20. Kalenichenko D., Nifontova G., Karaulov A., Sukhanova A., Nabiev I. D. Designing functionalized polyelectrolyte microcapsules for cancer treatment. *Nanomaterials*, 2021, vol. 11, article no. 3055. <https://doi.org/10.3390/nano11113055>
21. Son D., Cui J., Ju Y., Faria M., Sun H., Howard C. B., Thurecht K. J., Caruso F. Cellular targeting of bispecific antibody-functionalized poly(ethylene glycol) capsules: Do shape and size matter? *ACS Applied Materials & Interfaces*, 2019, vol. 11, no. 32, pp. 28720–28731. <https://doi.org/10.1021/acsmi.9b10304>
22. Simioni A. R., de Jesus P. C. C., Tedesco A. C. Layer-by-layer hollow photosensitizer microcapsule design via a manganese carbonate hard template for photodynamic therapy in cells. *Photodiagnosis and Photodynamic Therapy*, 2018, vol. 22, pp. 169–177. <https://doi.org/10.1016/j.pdpdt.2018.04.011>
23. Volodkin D. V. *Immobilization of proteins into micro-particles formed by the method of sequential adsorption of oppositely charged polyelectrolytes*. Diss. Cand. Sci. (Chem.). Moscow, 2005. 166 p. (in Russian).



24. Donath E., Sukhorukov G. B., Caruso F., Davis S. A., Möhwald H. Novel hollow polymer shells by colloid-templated assembly of polyelectrolytes. *Angewandte Chemie International Edition*, 1998, vol. 37, no. 16, pp. 2201–2205. [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1521-3773\(19980904\)37:16<2201::AID-ANIE2201>3.0.CO;2-E](https://doi.org/10.1002/(SICI)1521-3773(19980904)37:16<2201::AID-ANIE2201>3.0.CO;2-E)
25. Köhler K., Shchukin D. G., Möhwald H., Sukhorukov G. B. Thermal behavior of polyelectrolyte multilayer microcapsules. 1. The effect of odd and even layer number. *The Journal of Physical Chemistry B*, 2005, vol. 109, no. 39, pp. 18250–18259. <https://doi.org/10.1021/jp052208i>
26. Köhler K., Möhwald H., Sukhorukov G. B. Thermal behavior of polyelectrolyte multilayer microcapsules. 2. Insight into molecular mechanisms for the PDADMAC/PSS system. *The Journal of Physical Chemistry B*, 2006, vol. 110, no. 47, pp. 24002–24010. <https://doi.org/10.1021/jp062907a>
27. Musin E. V., Kim A. L., Tikhonenko S. A. Destruction of polyelectrolyte microcapsules formed on CaCO<sub>3</sub> microparticles and the release of a protein included by the adsorption method. *Polymers*, 2020, vol. 12, no. 3, article no. 520. <https://doi.org/10.3390/polym12030520>
28. Pechenkin M. A., Möhwald H., Volodkin D. V. pH- and salt-mediated response of layer-by-layer assembled PSS/PAH microcapsules: Fusion and polymer exchange. *Soft Matter*, 2012, vol. 8, no. 33, article no. 8659. <https://doi.org/10.1039/c2sm25971k>
29. Gao C., Leporatti S., Moya S., Donath E., Möhwald H. Swelling and shrinking of polyelectrolyte microcapsules in response to changes in temperature and ionic strength. *Chemistry – A European Journal*, 2003, vol. 9, no. 4, pp. 915–920. <https://doi.org/10.1002/chem.200390113>
30. Demina P. A., Sindeeva O. A., Abramova A. M., Prikhozhenko E. S., Verkhovskii R. A., Lengert E. V., Sapelkin A. V., Goryacheva I. Yu., Sukhorukov G. B. Fluorescent convertible capsule coding systems for individual cell labeling and tracking. *ACS Applied Materials & Interfaces*, 2021, vol. 13, no. 17, pp. 19701–19709. <https://doi.org/10.1021/acsami.1c02767>
31. Demina P. A., Sindeeva O. A., Abramova A. M., Saveleva M. S., Sukhorukov G. B., Goryacheva I. Y. Fluorescent polymer markers photoconvertible with a 532 nm laser for individual cell labeling. *Journal of Biophotonics*, 2023, vol. 16, no. 6. <https://doi.org/10.1002/jbio.202200379>
32. Sindeeva O. A., Demina P. A., Kozyreva Z. V., Muslimov A. R., Gusliakova O. I., Laushkina V. O., Mordovina E. A., Tsyupka D., Epifanovskaya O. S., Sapach A. Y., Goryacheva I. Yu., Sukhorukov G. B. Labeling and tracking of individual human mesenchymal stromal cells using photoconvertible fluorescent microcapsules. *International Journal of Molecular Sciences*, 2023, vol. 24, article no. 13665. <https://doi.org/10.3390/ijms241713665>
33. *ImageJ image analysis and processing software*. Available at: <https://imagej.net/ij/index.html> (accessed June 15, 2023).
34. Saveleva M. S., Lengert E. V., Verkhovskii R. A., Abalymov A. A., Pavlov A. M., Ermakov A. V., Prikhozhenko E. S., Shtykov S. N., Svenskaya Yu. I. CaCO<sub>3</sub>-based carriers with prolonged release properties for antifungal drug delivery to hair follicles. *Biomaterials Science*, 2022, vol. 10, pp. 3323–3345. <https://doi.org/10.1039/D2BM00539E>
35. Tao S., Zhu S., Feng T., Xia C., Song Y., Yang B. The polymeric characteristics and photoluminescence mechanism in polymer carbon dots: A review. *Materials Today Chemistry*, 2017, vol. 6, pp. 13–25. <https://doi.org/10.1016/j.mtchem.2017.09.001>
36. Stepukhovich M. S., Abramova A. M., Bakal A. A., Goryacheva I. Yu. Novel degradable photocatalysts for wastewater treatment. *Izvestiya of Saratov University. Chemistry. Biology. Ecology*, 2023, vol. 23, iss. 2, pp. 148–158 (in Russian). <https://doi.org/10.18500/1816-9775-2023-23-2-148-158>
37. Antipov A. A., Sukhorukov G. B., Möhwald H. influence of the ionic strength on the polyelectrolyte multilayers' permeability. *Langmuir*, 2003, vol. 19, no. 6, pp. 2444–2448. <https://doi.org/10.1021/la026101n>
38. Tang K., Besseling N. A. M. Formation of polyelectrolyte multilayers: Ionic strengths and growth regimes. *Soft Matter*, 2016, vol. 12, no. 4, pp. 1032–1040. <https://doi.org/10.1039/C5SM02118A>
39. Ermakov A. V., Inozemtseva O. A., Gorin D. A., Sukhorukov G. B., Belyakov S., Antipina M. N. Influence of heat treatment on loading of polymeric multilayer microcapsules with rhodamine B. *Macromolecular Rapid Communications*, 2018, article no. 1800200. <https://doi.org/10.1002/marc.201800200>
40. Ibarz G., Dähne L., Donath E., Möhwald H. Controlled permeability of polyelectrolyte capsules via defined annealing. *Chemistry of Materials*, 2002, vol. 14, no. 10, pp. 4059–4062. <https://doi.org/10.1021/cm011300y>
41. Han Y., Bu J., Zhang Y., Tong W., Gao C. Encapsulation of photosensitizer into multilayer microcapsules by combination of spontaneous deposition and heat-induced shrinkage for photodynamic therapy. *Macromolecular Bioscience*, 2012, vol. 12, no. 10, pp. 1436–1442. <https://doi.org/10.1002/mabi.201200191>
42. Sousa de Almeida M., Susnik E., Drasler B., Taladriz-Blanco P., Petri-Fink A., Rothen-Rutishauser B. Understanding nanoparticle endocytosis to improve targeting strategies in nanomedicine. *Chemical Society Reviews*, 2021, vol. 50, no. 9, pp. 5397–5434. <https://doi.org/10.1039/d0cs01127d>

Поступила в редакцию 15.11.2023; одобрена после рецензирования 27.11.2023; принята к публикации 01.12.2023  
The article was submitted 15.11.2023; approved after reviewing 27.11.2023; accepted for publication 01.12.2023



Известия Саратовского университета. Новая серия. Серия: Химия. Биология. Экология. 2024. Т. 24, вып. 1. С. 28–34

*Izvestiya of Saratov University. Chemistry. Biology. Ecology*, 2024, vol. 24, iss. 1, pp. 28–34

<https://ichbe.sgu.ru>

<https://doi.org/10.18500/1816-9775-2024-24-1-28-34>, EDN: NXSGBR

Научная статья

УДК 544.344.016+536.445:544.344.013-16-14+66.061

## Фазовое поведение и растворимость компонентов двойной системы масляная кислота – полиэтиленгликоль-1500



А. В. Шевяхова, А. Ю. Нестерова, К. К. Ильин, Д. Г. Черкасов ✉

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

Шевяхова Алиса Вадимовна, студент 2-го курса Института химии, [shevyalisa@yandex.ru](mailto:shevyalisa@yandex.ru), <https://orcid.org/0009-0003-5569-7458>

Нестерова Анастасия Юрьевна, студент 2-го курса Института химии, [anastasin0000@gmail.com](mailto:anastasin0000@gmail.com), <https://orcid.org/0009-0003-2277-5771>

Ильин Константин Кузьмич, доктор химических наук, профессор кафедры общей и неорганической химии Института химии, [ilinkk@info.sgu.ru](mailto:ilinkk@info.sgu.ru), <https://orcid.org/0000-0002-8359-8874>

Черкасов Дмитрий Геннадиевич, доктор химических наук, профессор кафедры общей и неорганической химии Института химии, [dgcherkasov@mail.ru](mailto:dgcherkasov@mail.ru), <https://orcid.org/0000-0002-6862-1917>

**Аннотация.** Проведен критический обзор литературы по способам концентрированию и извлечения биомасляной кислоты из ферментационных растворов. Наилучшие результаты этих процессов достигнуты совмещением экстракции с высаливанием. В качестве негорючих и экологически безопасных экстрагентов предложено использовать полиэтиленгликоли с различной молекулярной массой. Цель исследования – выявление фазового поведения смесей компонентов, изучение растворимости и построение фазовой диаграммы ранее неизученной двойной системы масляная кислота – ПЭГ-1500 в интервале  $-10.0-50.0^{\circ}\text{C}$ . Визуально-политермическим методом найдены температуры переходов фазовых состояний в смесях компонентов двойной системы масляная кислота (МК) – полиэтиленгликоль-1500 (ПЭГ-1500) в интервале температур  $-10-50^{\circ}\text{C}$ . На построенной фазовой диаграмме выше эвтектической линии расположено большое поле кристаллизации ПЭГ-1500, в то время как поле кристаллизации МК имеет очень небольшие размеры. Впервые установлено, что в системе при  $-6.6^{\circ}\text{C}$  осуществляется эвтектическое равновесие, твердыми фазами которого являются кристаллы МК и ПЭГ-1500, определен состав жидкой фазы эвтектики (3.20 мас. % МК). Предложен способ концентрирования МК и разделения компонентов исследованной системы, основанный на кристаллизации ПЭГ-1500 при охлаждении смесей.

**Ключевые слова:** растворимость, фазовая диаграмма, эвтектика, масляная кислота, полиэтиленгликоль-1500

**Для цитирования:** Шевяхова А. В., Нестерова А. Ю., Ильин К. К., Черкасов Д. Г. Фазовое поведение и растворимость компонентов двойной системы масляная кислота – полиэтиленгликоль-1500 // Известия Саратовского университета. Новая серия. Серия: Химия. Биология. Экология. 2024. Т. 24, вып. 1. С. 28–34. <https://doi.org/10.18500/1816-9775-2024-24-1-28-34>, EDN:

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

Article

### Phase behavior and solubility of components of the binary butyric acid – polyethylene glycol-1500 system

A. V. Sheviakhova, A. Yu. Nesterova, K. K. Il'in, D. G. Cherkasov ✉

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

Alisa V. Sheviakhova, [shevyalisa@yandex.ru](mailto:shevyalisa@yandex.ru), <https://orcid.org/0009-0003-5569-7458>

Anastasia Yu. Nesterova, [anastasin0000@gmail.com](mailto:anastasin0000@gmail.com), <https://orcid.org/0009-0003-2277-5771>

Konstantin K. Il'in, [ilinkk@info.sgu.ru](mailto:ilinkk@info.sgu.ru), <https://orcid.org/0000-0002-8359-8874>

Dmitry G. Cherkasov, [dgcherkasov@mail.ru](mailto:dgcherkasov@mail.ru), <https://orcid.org/0000-0002-6862-1917>

**Abstract.** A critical review of the literature on the methods of concentration and extraction of biobutyric acid from fermentation solutions has been carried out. The best results of these processes are achieved by combining extraction with salting. It is proposed to use polyethylene glycols with different molecular weights as non-flammable and environmentally friendly extractants. The purpose of the study was to identify the phase behavior of mixtures of components, study solubility and construct a phase diagram of the previously unexplored double system



butyric acid – PEG-1500 in the range  $-10.0-50.0^{\circ}\text{C}$ . The transition temperatures of phase states in mixtures of components of the dual system butyric acid (BA) – polyethylene glycol-1500 (PEG-1500) in the temperature range  $-10-50^{\circ}\text{C}$  have been found by the visual-polythermal method. The phase diagram above the eutectic line shows a large crystallization field of PEG-1500, while the crystallization field of BA has very small dimensions. It has been established for the first time that eutectic equilibrium is carried out in the system at  $-6.6^{\circ}\text{C}$ , the solid phases of which are crystals of BA and PEG-1500, the composition of the liquid phase of eutectic (3.20 wt.% BA) has been determined. A method for concentrating BA and separating the components of the investigated system based on the crystallization of PEG-1500 during cooling of mixtures is proposed.

**Keywords:** solubility, phase diagram, eutectic, butyric acid, PEG-1500

**For citation:** Sheviakhova A. V., Nesterova A. Yu., Il'in K. K., Cherkasov D. G. Phase behavior and solubility of components of the binary butyric acid – polyethylene glycol-1500 system. *Izvestiya of Saratov University. Chemistry. Biology. Ecology*, 2024, vol. 24, iss. 1, pp. 28–34 (in Russian). <https://doi.org/10.18500/1816-9775-2024-24-1-28-34>, EDN: NXSGBR

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 десятилетия возрастает интерес к биохимическим методам получения органических веществ, в частности органических кислот, из доступного природного сырья. Масляная кислота является одним из важных промышленных продуктов, производство которого методом маслянокислого брожения [1, 2] весьма перспективно благодаря большей экологичности этого метода и практически неограниченной сырьевой базе по сравнению с традиционным окислением масляного альдегида или бутанола [3]. В качестве сырья для биохимического метода были предложены различные виды лигноцеллюлозной биомассы [1, 2], которые получают специально или используют отходы других отраслей промышленности. Масляную кислоту, полученную таким способом, часто называют «биомасляной» кислотой. В работах [4–8] обсуждаются усовершенствования в микробиологическом производстве масляной кислоты, включая модификацию штаммов с помощью генной инженерии и разработку новых процессов ферментации. В исследованиях проводится сравнение результатов выхода продукта и его чистоты, продуктивности использования сырья, обсуждается снижение выхода побочных продуктов биосинтеза. Для расширения сырьевой базы при производстве биомасляной кислоты предлагается использовать новые субстраты, например, пищевые отходы [9] и гидролизат молотого кофе, богатый галактозой [10].

Стоимость биомасляной кислоты выше, чем полученной традиционными методами. Несмотря на это, производители пищевых добавок и фармацевтических препаратов [1] отдают ей предпочтение. Биохимический метод остается малорентабельным и неконкурентоспособным по причине сложности извлечения биомасляной кислоты из ферментационных растворов, в которых ее концентрация обычно не превышает

8 мас.%. Концентрирование таких растворов путем дистилляции является энергозатратным, поэтому внимание исследователей обращено на разработку менее дорогостоящих методов, таких как электродиализ, жидкостная экстракция, экстрактивная ферментация, первапорация и высаливание [11, 12].

Селективное извлечение масляной кислоты из бродильного раствора предложено проводить с помощью силиконовой мембраны [13]. В качестве экстрагентов масляной кислоты используют ионные жидкости [14], октилацетат [15], а также триоктиламин с натуральными подсолнечным и соевым маслами в качестве разбавителей [16].

Экстракционная способность три-*n*-октилфосфиноксида, растворенного в различных растворителях (изоамиловый спирт, олеиловый спирт, толуол, метил-трет-бутиловый эфир, циклогексилацетат, керосин, изобутилметилкетон), по отношению к водным растворам пропионовой и масляной кислот изучена при 298.15 K [17]. Показано, что указанный экстрагент в сочетании с метил-трет-бутиловым эфиром наиболее эффективно извлекает исследованные органические кислоты.

В работе [18] исследовано распределение ряда монокарбоновых кислот, включая масляную, по равновесных жидким фазам в водных системах с экстрагентами на основе солей некоторых органических кислот и четвертичных аммонийных оснований (триоктиламмония и триоктилметиламмония). Найдено, что экстракционная способность рассмотренных экстрагентов намного выше, чем в системах с триоктиламином.

Закономерности межфазного распределения насыщенных монокарбоновых кислот изучены в системе с экстрагентом (ди(2-этилгексил)фосфат триоктилметиламмония), растворенным в толуоле [19]. Установлено, что экстрагируемость кислот уменьшается



в следующем порядке: масляная > пропионовая > муравьиная > уксусная > молочная.

В работе [20] исследовано совместное действие высаливающего агента  $K_2HPO_4$  и экстрагентов (алифатические спирты) на водные растворы ряда монокарбоновых кислот. Приведены данные об уменьшении выхода масляной кислоты из ее раствора при повышении температуры или понижении кислотности раствора. Высокие показатели извлечения масляной кислоты (более 90%) были достигнуты путем проведения второй стадии солевой экстракции с использованием  $NaH_2PO_4$  в качестве высаливающего агента и смеси *n*-бутилацетата с этанолом в качестве экстрагента [21].

Экстракция масляной кислоты полиэтиленгликолями (ПЭГ) в сочетании с высаливателем  $Na_2SO_4$  показала высокую эффективность извлечения [22, 23]. Применение полиэтиленгликолей, в частности ПЭГ-1500, в качестве экстрагентов представляется перспективным из-за их нетоксичности и низкой себестоимости. Однако следует отметить, что методы их отделения от масляной кислоты не предложены. На наш взгляд, причина этого состоит в отсутствии данных по растворимости и фазовым равновесиям в двойных системах масляная кислота – ПЭГ.

Цель нашего исследования состоит в выявлении фазового поведения смесей компонентов, изучении растворимости и построении фазовой диаграммы ранее неизученной двойной системы масляная кислота – ПЭГ-1500 в интервале – 10.0–50.0°C.

## Материалы и методы

Предварительно проводили идентификацию используемых в работе веществ. ПЭГ-1500 (ООО «Завод синтанолов», ТУ 20.16.40-008-71150986-2019) со средней молярной массой «1550» измельчали в агатовой ступке. Дополнительной очистке и осушке его не подвергали, поскольку значение его температуры плавления (48.4°C) совпало со справочными данными в пределах погрешности изменений [3].

Препарат масляной кислоты квалификации «ч.» («Вектон», ОКП 2634110251, ТУ 6-09-530-75) очистке не подвергали, поскольку его температура плавления (–6.0°C) и показатель преломления ( $n_D^{20}=1.3978$ ), хорошо согласовались со справочными данными [3].

Смеси компонентов заданного состава готовили взвешиванием в термостойких стеклянных

ампулах на электронных аналитических весах A&D HR-250AZG с абсолютной точностью 0,0001 г. Определение температур фазовых переходов в смесях проводили модифицированным визуально-политермическим методом [24] в интервале – 10.0–50.0°C. Ампулы со смесями запаивали и поочередно помещали в ванну термостата. Температуру фазового перехода с растворением твердой фазы определяли путем медленного нагревания ванны (0.5 град/мин) при постоянном перемешивании содержимого ампулы, отмечая визуальное исчезновение последнего кристалла. Затем ампулу со смесью охлаждали до выпадения кристаллов и опыт повторяли до получения результатов, совпадающих в пределах погрешности определения  $\pm 0.1^\circ C$ . Необходимую температуру в интервале –10.0–10.0°C поддерживали при помощи низкотемпературного термостата «Крио-вист-Т-05» (теплоноситель – этиловый спирт). В интервале 10.0–50.0°C исследования проводили в термостате Lauda A-100 и теплоносителем служила дистиллированная вода. Температуру измеряли с электронным лабораторным термометром ЛТ-300-Н с погрешностью  $\pm 0.1^\circ C$ . Критерием установления равновесия в смесях компонентов служила воспроизводимость результатов измерений температур фазового перехода. При постоянном перемешивании равновесие достигали через 2–4 ч.

## Результаты и их обсуждение

Было приготовлено 19 смесей масляной кислоты (МК) и ПЭГ-1500 различного состава и определена температура фазового перехода для каждой смеси в интервале – 10.0–50.0°C. Результаты определения растворимости компонентов двойной системы МК – ПЭГ-1500 с указанием состава равновесной твердой фазы приведены в таблице, а фазовая диаграмма системы представлена на рисунке. Согласно полученным данным в системе при –6.6°C осуществляется эвтектическое равновесие, твердыми фазами которого являются кристаллы масляной кислоты и твердый ПЭГ-1500.

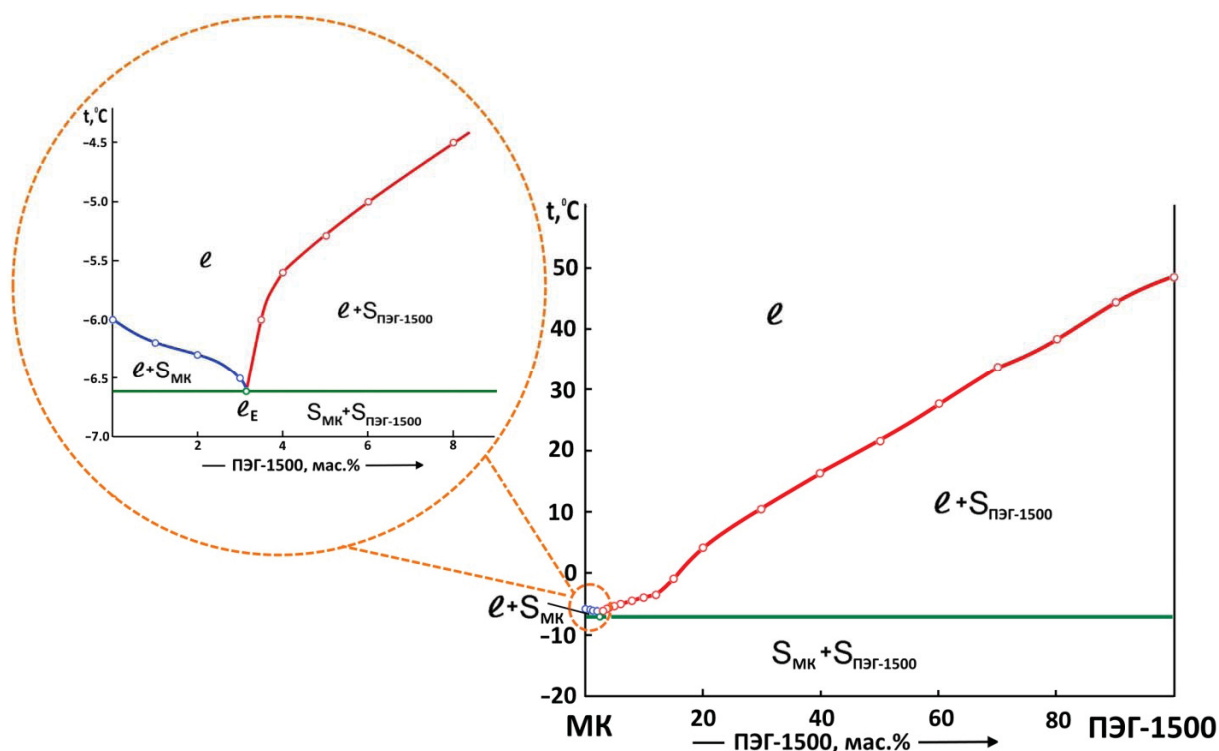
Температуру и состав жидкой фазы эвтектики определяли путем графической экстраполяции линий растворимости масляной кислоты и ПЭГ-1500 до их взаимного пересечения на эвтектической горизонтали. Затем эта смесь была приготовлена на аналитических



**Растворимость компонентов двойной системы масляная кислота – ПЭГ-1500**

*Table. Solubility of the components of butyric acid – PEG-1500 binary system*

ПЭГ-1500, мас.% / PEG-1500, wt.%	t, °C	Состав равновесной твердой фазы / Equilibrium solid phase composition	ПЭГ-1500, мас.% / PEG-1500, wt.%	t, °C	Состав равновесной твердой фазы / Equilibrium solid phase composition
0.00	-6.0	Кристаллы масляной кислоты / Crystals of butyric acid	15.03	-1.0	ПЭГ-1500 / PEG-1500
1.02	-6.2	- // -	20.09	4.2	- // -
2.04	-6.3	- // -	30.13	10.4	- // -
3.10	-6.5	- // -	40.21	16.4	- // -
3.20	-6.6	Кристаллы масляной кислоты + ПЭГ-1500 / Crystals of butyric acid + PEG-1500	50.17	21.4	- // -
3.51	-6.0	ПЭГ-1500 / PEG-1500	60.07	27.5	- // -
4.05	-5.6	- // -	70.14	33.8	- // -
5.11	-5.3	- // -	80.02	38.2	- // -
6.16	-5.0	- // -	90.07	44.5	- // -
8.07	-4.5	- // -	100.00	48.4	- // -
10.09	-4.0	- // -	- // -	- // -	- // -



Фазовая диаграмма двойной системы масляная кислота (МК) – полиэтиленгликоль-1500 (ПЭГ-1500);  $l$  – жидкая фаза,  $S_{МК}$  – твердая фаза, отвечающая по составу масляной кислоте,  $S_{ПЭГ-1500}$  – твердая фаза, отвечающая по составу ПЭГ-1500,  $l_E$  – точка, отвечающая составу жидкой фазы эвтектики (цвет онлайн)

Figure. Phase diagram of the binary system butyric acid (BA) – polyethylene glycol-1500 (PEG-1500);  $l$  – liquid phase,  $S_{BA}$  – solid phase corresponding to the composition of butyric acid,  $S_{PEG-1500}$  – solid phase corresponding to the composition of PEG-1500,  $l_E$  – point corresponding to the composition of the liquid phase of eutectic (color online)





весах и определена температура эвтектики, которая совпала с найденной графически. Эвтектическая температура равна  $-6.6^{\circ}\text{C}$ , при ней в системе осуществляется невариантная фазовая реакция:

$$l_E \rightleftharpoons S_{\text{МК}} + S_{\text{ПЭГ-1500}},$$

где  $l_E$  – жидкая фаза эвтектического состава,  $S_{\text{ПЭГ-1500}}$  – твердая фаза, соответствующая ПЭГ-1500,  $S_{\text{МК}}$  – твердая фаза, соответствующая кристаллам масляной кислоты.

На фазовой диаграмме (см. рисунок) выше эвтектической линии расположено большое поле кристаллизации ПЭГ-1500  $l_E + S_{\text{ПЭГ-1500}}$ , в то время как поле кристаллизации масляной кислоты  $l_E + S_{\text{МК}}$  имеет очень небольшие размеры (см. увеличенный фрагмент диаграммы на рисунке слева).

Из любой гомогенной смеси, содержащей до 96.8 мас.% масляной кислоты при охлаждении вплоть до эвтектической температуры будет кристаллизоваться только чистый ПЭГ-1500, а в жидкой фазе будет концентрироваться масляная кислота. Твердая фаза, представляющая собой кристаллы ПЭГ-1500, после отделения от жидкой фазы может быть повторно использована для экстракции масляной кислоты. Таким образом, масляную кислоту можно сконцентрировать в жидкой фазе без значительных затрат на нагревание смесей и их разделение ректификацией. Это открывает возможности эффективного разделения смесей компонентов системы МК – ПЭГ-1500 при их кристаллизации с понижением температуры.

### Список литературы

1. Jha A. K., Li J., Yuan Y., Baral N., Ai B. A review on bio-butyric acid production and its optimization // *Int. J. Agric. Biol.* 2014. Vol. 16, № 5. P. 1019–1024.
2. Dwidar M., Park J.-Y., Mitchell R. J., Sang B.-I. The future of butyric acid in industry // *The Scient World J.* 2012. ID 471417. P. 1–10. <https://doi.org/10.1100/2012/471417>
3. Химическая энциклопедия : в 5 т. / гл. ред. И. Л. Кнунянц. М. : Советская энциклопедия, 1988–1998.
4. Jiang L., Fu H., Yang H. K., Xu W., Wang J., Yang S.-T. Butyric acid: Applications and recent advances in its bioproduction // *Biotechnol. Adv.* 2018. Vol. 36, № 8. P. 2101–2117. <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2018.09.005>
5. Özcelik S., Kuley E., Özogul F. Formation of lactic, acetic, succinic, propionic, formic and butyric acid by lactic acid bacteria // *LWT.* 2016. Vol. 73. P. 536–542. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2016.06.066>
6. Luo H., Yang R., Zhao Y., Wang Z., Liu Z., Huang M., Zeng Q. Recent advances and strategies in process and strain engineering for the production of butyric acid by microbial fermentation // *Bioresour. Technol.* 2018. Vol. 253. P. 343–354. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2018.01.007>
7. Zhang C., Yang H., Yang F., Ma Y. Current progress on butyric acid production by fermentation // *Curr. Microbiol.* 2009. Vol. 59, № 6. P. 656–663. <https://doi.org/10.1007/s00284-009-9491-y>
8. Suo Y., Ren M., Yang X., Liao Z., Fu H., Wang J. Metabolic engineering of *Clostridium tyrobutyricum* for enhanced butyric acid production with high butyrate/acetate ratio // *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 2018. Vol. 102, № 10. P. 4511–4522. <https://doi.org/10.1007/s00253-018-8954-0>
9. Stein U. H., Wimmer B., Ortner M., Fuchs W., Bochmann G. Maximizing the production of butyric acid from food waste as a precursor for ABE-fermentation // *Sci. Total Environ.* 2017. Vol. 598. P. 993–1000. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2017.04.139>
10. He F., Qin S., Yang Z., Bai X., Suo Y., Wang J. Butyric acid production from spent coffee grounds by engineered *Clostridium tyrobutyricum* overexpressing galactose catabolism genes // *Bioresour. Technol.* 2020. Vol. 304. Article 122977. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2020.122977>
11. Fu H., Wang X., Sun Y., Yan L., Shen J., Wang J., Yang S.-T., Xiu Z. Effects of salting-out and salting-in extraction on the separation of butyric acid // *Sep. Purif. Technol.* 2017. Vol. 180. P. 44–50. <https://doi.org/10.1016/j.seppur.2017.02.042>
12. Dan W., Hao C., Ling J., Jin C., Zhinan X., Peilin C. Efficient separation of butyric acid by an aqueous two-phase system with calcium chloride // *Chin. J. Chem. Eng.* 2010. Vol. 18, № 4. P. 533–537. [https://doi.org/10.1016/S1004-9541\(10\)60255-8](https://doi.org/10.1016/S1004-9541(10)60255-8)
13. Dessi P., Asunis F., Ravishankar H., Cocco F. G., De Gioannis G., Muntoni A., Lens P. N. L. Fermentative hydrogen production from cheese whey with in-line, concentration gradient-driven butyric acid extraction // *Int. J. Hydrogen Energy.* 2020. Vol. 45, № 46. P. 24453–24466. <https://doi.org/10.1016/j.ijhydene.2020.06.081>
14. Marták J., Schlosser Š. Density, viscosity, and structure of equilibrium solvent phases in butyric acid extraction by phosphonium ionic liquid // *J. Chem. Eng. Data.* 2017. Vol. 62, № 10. P. 3025–3035. <https://doi.org/10.1021/acs.jced.7b00039>
15. Oh H. W., Lee S. C., Woo H. C., Kim Y. H. Energy-efficient recovery of fermented butyric acid using octyl acetate extraction // *Biotechnol. Biofuels Bioprod.* 2022. Vol. 15. Article 46. <https://doi.org/10.1186/s13068-022-02146-6>
16. Mukherjee S., Negi D., Nagraj M. S., Munshi B. Reactive extraction of butyric acid from water using trioctyl amine in 1-decanol and green natural oils // *J. Chem. Eng. Data.* 2021. Vol. 66, № 7. P. 2733–2753. <https://doi.org/10.1021/acs.jced.1c00122>



17. Bilgin M., Arisoy C., Kirbaşlar S. I. Extraction equilibria of propionic and butyric acids with tri-n-octylphosphine oxide/diluent systems // *J. Chem. Eng. Data*. 2009. Vol. 54, № 11. P. 3008–3013. <https://doi.org/10.1021/je900063p>
  18. Zakhodyaeva Y. A., Voshkin A. A., Belova V. V., Khol'kin A. I. Extraction of monocarboxylic acids with binary extracting agents based on amines and quaternary ammonium bases // *Theor. Found. Chem. Eng.* 2011. Vol. 45, № 5. P. 739–743. <https://doi.org/10.1134/S0040579511050186>
  19. Zakhodyaeva Y. A., Voshkin A. A., Belova V. V., Khol'kin A. I. Extraction of monocarboxylic acids by trioctylmethylammonium di(2-ethylhexyl)phosphate // *Theor. Found. Chem. Eng.* 2012. Vol. 46, № 4. P. 413–418. <https://doi.org/10.1134/S0040579512040094>
  20. Yan L., Sun Y.-Q., Wang X.-D., Fu H.-X., Mu Y., Xiu Z.-L. Partition behavior of monocarboxylic acids in salting-out extraction systems of monohydric alcohols and dipotassium phosphate // *Sep. Purif. Technol.* 2018. Vol. 199. P. 351–358. <https://doi.org/10.1016/j.seppur.2018.02.006>
  21. Li Z., Yan L., Zhou J., Wang X., Sun Y., Xiu Z.-L. Two-step salting-out extraction of 1,3-propanediol, butyric acid and acetic acid from fermentation broths // *Sep. Purif. Technol.* 2019. Vol. 209. P. 246–253. <https://doi.org/10.1016/j.seppur.2018.07.021>
  22. Wu X., Li G., Yang H., Zhou H. Study on extraction and separation of butyric acid from clostridium tyrobutyricum fermentation broth in PEG/Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> aqueous two-phase system // *Fluid Phase Equilib.* 2015. Vol. 403. P. 36–42. <https://doi.org/10.1016/j.fluid.2015.05.047>
  23. Zinov'eva I. V., Zakhodyaeva Yu. A., Voshkin A. A. Extraction of monocarboxylic acids from diluted solutions with polyethylene glycol // *Theor. Found. Chem. Eng.* 2019. Vol. 53, № 5. P. 871–874. <https://doi.org/10.1134/S0040579519050257>
  24. Ильин К. К., Черкасов Д. Г. Топология фазовых диаграмм тройных систем соль–два растворителя с всаливанием–высаливанием. Саратов : Изд-во Сарат. ун-та, 2020. 212 с.
- References**
1. Jha A. K., Li J., Yuan Y., Baral N., Ai B. A review on bio-butyric acid production and its optimization. *Int. J. Agric. Biol.*, 2014, vol. 16, no. 5, pp. 1019–1024.
  2. Dwidar M., Park J.-Y., Mitchell R. J., Sang B.-I. The future of butyric acid in industry. *The Scient World J.*, 2012, ID 471417, pp. 1–10. <https://doi.org/10.1100/2012/471417>
  3. *Khimicheskaya entsiklopediya: v 5 t. Pod red. I. L. Knunyantsa* [I. L. Knunyants, ed. Chemical Encyclopedia: in 5 vols]. Moscow, Sovetskaya entsiklopediya, 1988–1998 (in Russian).
  4. Jiang L., Fu H., Yang H. K., Xu W., Wang J., Yang S.-T. Butyric acid: Applications and recent advances in its bioproduction. *Biotechnol. Adv.*, 2018, vol. 36, no. 8, pp. 2101–2117. <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2018.09.005>
  5. Özcelik S., Kuley E., Özogul F. Formation of lactic, acetic, succinic, propionic, formic and butyric acid by lactic acid bacteria. *LWT*, 2016, vol. 73, pp. 536–542. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2016.06.066>
  6. Luo H., Yang R., Zhao Y., Wang Z., Liu Z., Huang M., Zeng Q. Recent advances and strategies in process and strain engineering for the production of butyric acid by microbial fermentation. *Bioresour. Technol.*, 2018, vol. 253, pp. 343–354. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2018.01.007>
  7. Zhang C., Yang H., Yang F., Ma Y. Current progress on butyric acid production by fermentation. *Curr. Microbiol.*, 2009, vol. 59, no. 6, pp. 656–663. <https://doi.org/10.1007/s00284-009-9491-y>
  8. Suo Y., Ren M., Yang X., Liao Z., Fu H., Wang J. Metabolic engineering of Clostridium tyrobutyricum for enhanced butyric acid production with high butyrate/acetate ratio. *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, 2018, vol. 102, no. 10, pp. 4511–4522. <https://doi.org/10.1007/s00253-018-8954-0>
  9. Stein U. H., Wimmer B., Ortner M., Fuchs W., Bochmann G. Maximizing the production of butyric acid from food waste as a precursor for ABE-fermentation. *Sci. Total Environ.*, 2017, vol. 598, pp. 993–1000. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2017.04.139>
  10. He F., Qin S., Yang Z., Bai X., Suo Y., Wang J. Butyric acid production from spent coffee grounds by engineered Clostridium tyrobutyricum overexpressing galactose catabolism genes. *Bioresour. Technol.*, 2020, vol. 304, article 122977. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2020.122977>
  11. Fu H., Wang X., Sun Y., Yan L., Shen J., Wang J., Yang S.-T., Xiu Z. Effects of salting-out and salting-out extraction on the separation of butyric acid. *Sep. Purif. Technol.*, 2017, vol. 180, pp. 44–50. <https://doi.org/10.1016/j.seppur.2017.02.042>
  12. Dan W., Hao C., Ling J., Jin C., Zhinan X., Peilin C. Efficient separation of butyric acid by an aqueous two-phase system with calcium chloride. *Chin. J. Chem. Eng.*, 2010, vol. 18, no. 4, pp. 533–537. [https://doi.org/10.1016/S1004-9541\(10\)60255-8](https://doi.org/10.1016/S1004-9541(10)60255-8)
  13. Dessì P., Asunis F., Ravishankar H., Cocco F. G., De Gioannis G., Muntoni A., Lens P. N. L. Fermentative hydrogen production from cheese whey with in-line, concentration gradient-driven butyric acid extraction. *Int. J. Hydrogen Energy*, 2020, vol. 45, no. 46, pp. 24453–24466. <https://doi.org/10.1016/j.ijhydene.2020.06.081>
  14. Marták J., Schlosser Š. Density, viscosity, and structure of equilibrium solvent phases in butyric acid extraction by phosphonium ionic liquid. *J. Chem. Eng. Data*, 2017, vol. 62, no. 10, pp. 3025–3035. <https://doi.org/10.1021/acs.jced.7b00039>
  15. Oh H. W., Lee S. C., Woo H. C., Kim Y. H. Energy-efficient recovery of fermented butyric acid using



- octyl acetate extraction. *Biotechnol. Biofuels Bioprod.*, 2022, vol. 15, article 46. <https://doi.org/10.1186/s13068-022-02146-6>
16. Mukherjee S., Negi D., Nagraj M. S., Munshi B. Reactive extraction of butyric acid from water using trioctyl amine in 1-decanol and green natural oils. *J. Chem. Eng. Data*, 2021, vol. 66, no. 7, pp. 2733–2753. <https://doi.org/10.1021/acs.jced.1c00122>
17. Bilgin M., Arisoy C., Kırbaşlar S. I. Extraction equilibria of propionic and butyric acids with Tri-n-octylphosphine oxide/diluent systems. *J. Chem. Eng. Data*, 2009, vol. 54, no. 11, pp. 3008–3013. <https://doi.org/10.1021/je900063p>
18. Zakhodyaeva Y. A., Voshkin A. A., Belova V. V., Khol'kin A. I. Extraction of monocarboxylic acids with binary extracting agents based on amines and quaternary ammonium bases. *Theor. Found. Chem. Eng.*, 2011, vol. 45, no. 5, pp. 739–743. <https://doi.org/10.1134/S0040579511050186>
19. Zakhodyaeva Y. A., Voshkin A. A., Belova V. V., Khol'kin A. I. Extraction of monocarboxylic acids by trioctylmethylammonium di(2-ethylhexyl)phosphate. *Theor. Found. Chem. Eng.*, 2012, vol. 46, no. 4, pp. 413–418. <https://doi.org/10.1134/S0040579512040094>
20. Yan L., Sun Y.-Q., Wang X.-D., Fu H.-X., Mu Y., Xiu Z.-L. Partition behavior of monocarboxylic acids in salting-out extraction systems of monohydric alcohols and dipotassium phosphate. *Sep. Purif. Technol.*, 2018, vol. 199, pp. 351–358. <https://doi.org/10.1016/j.seppur.2018.02.006>
21. Li Z., Yan L., Zhou J., Wang X., Sun Y., Xiu Z.-L. Two-step salting-out extraction of 1,3-propanediol, butyric acid and acetic acid from fermentation broths. *Sep. Purif. Technol.*, 2019, vol. 209, pp. 246–253. <https://doi.org/10.1016/j.seppur.2018.07.021>
22. Wu X., Li G., Yang H., Zhou H. Study on extraction and separation of butyric acid from clostridium tyrobutyricum fermentation broth in PEG/Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> aqueous two-phase system. *Fluid Phase Equilib.*, 2015, vol. 403, pp. 36–42. <https://doi.org/10.1016/j.fluid.2015.05.047>
23. Zinov'eva I. V., Zakhodyaeva Yu. A., Voshkin A. A. Extraction of monocarboxylic acids from diluted solutions with polyethylene glycol. *Theor. Found. Chem. Eng.*, 2019, vol. 53, no. 5, pp. 871–874. <https://doi.org/10.1134/S0040579519050257>
24. Il'in K. K., Cherkasov D. G. *Topologija fazovykh diagramm trojnykh sistem sol'-dva rastvoritelya s vsalivaniem–vysalivaniem* [Topology of the phase diagrams of the ternary systems a salt + two solvents with salting-in–salting-out]. Saratov, Saratov State University Publ., 2020. 212 p. (in Russian).

Поступила в редакцию 18.09.2023; одобрена после рецензирования 26.09.2023; принята к публикации 27.09.2023

The article was submitted 18.09.2023; approved after reviewing 26.09.2023; accepted for publication 27.09.2023



Известия Саратовского университета. Новая серия. Серия: Химия. Биология. Экология. 2024. Т. 24, вып. 1. С. 35–43

*Izvestiya of Saratov University. Chemistry. Biology. Ecology*, 2024, vol. 24, iss. 1, pp. 35–43

<https://ichbe.sgu.ru>

<https://doi.org/10.18500/1816-9775-2024-24-1-35-43>, EDN: FQNTJT

Научная статья

УДК 544.582.6

## Гетерофазные явления при фракционировании трития в водных системах



Я. О. Шабловский

Гомельский государственный технический университет им. П. О. Сухого, Белоруссия, 246746, г. Гомель, пр. Октября, д. 48

Шабловский Ярослав Олегович, кандидат физико-математических наук, доцент, ведущий научный сотрудник НИЧ, [ya.shablowsky@yandex.ru](mailto:ya.shablowsky@yandex.ru), <https://orcid.org/0000-0003-4464-4230>

**Аннотация.** Актуальность проблемы трития в экологической химии определяется тем, что тритий – единственный из радиоактивных изотопов, который невозможно обезвредить фильтрацией. Тритий возникает при побочных радиохимических процессах в ядерных реакторах и обнаруживается в радиоактивных отходах и выбросах в форме оксидов трития – тритиевых изотопологов воды. Побочным продуктом эксплуатации ядерных реакторов оказывается прототритиевая вода – раствор оксида прототрития НТО в лёгкой воде  $H_2O$ . Реже приходится иметь дело с дейтеротритиевой водой – раствором оксида дейтеротрития DTO в тяжёлой воде  $D_2O$ . Предложены различные подходы, обеспечивающие возможности выделения трития либо его оксида из тритиевой воды. Выбор процесса определяется тем, будет ли очищенная от трития вода возвращаться в реакторную систему либо сбрасываться в окружающую среду, а также тем, имеется ли потребность в извлечении молекулярного трития для его дальнейшего применения. Основное внимание уделено процессу электросонолиза тритиевой воды как экономически и экологически предпочтительному способу её обезвреживания, позволяющему получать молекулярный тритий. Разложению тритиевой воды должно предшествовать её концентрирование, которое целесообразно производить двухступенчато: кондиционирующая водоподготовка (предварительное концентрирование) и получение высококонцентрированной тритиевой воды. В этом контексте в работе рассмотрено обратноосмотическое кондиционирование тритиевой воды и её последующее концентрирование солевой ректификацией.

**Ключевые слова:** тритий, оксид прототрития, оксид дейтеротрития, прототритиевая вода, дейтеротритиевая вода, электросонолиз

**Для цитирования:** Шабловский Я. О. Гетерофазные явления при фракционировании трития в водных системах // Известия Саратовского университета. Новая серия. Серия: Химия. Биология. Экология. 2024. Т. 24, вып. 1. С. 35–43. <https://doi.org/10.18500/1816-9775-2024-24-1-35-43>, EDN: FQNTJT

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

Article

**Heterophase phenomena of tritium fractionation in water systems**

Ya. O. Shablowsky

Gomel State Technical University, 48 October Ave., Gomel 246746, Belarus

Yaroslav O. Shablowsky, [ya.shablowsky@yandex.ru](mailto:ya.shablowsky@yandex.ru), <https://orcid.org/0000-0003-4464-4230>

**Abstract.** Tritium is the only one of the radioactive isotopes that a filtering system is unable to neutralize. It is produced by collateral fission processes in nuclear reactors and displays itself in radioactive wastes and effluents in different forms of tritium oxides. Thus the development and application of nuclear energy entails a challenging problem of treating tritium-containing radioactive wastewater. The paper deals with tritium water isotopologues, namely, with prototritium water and deuterotritium water. Various approaches to the problem of tritium separation have been outlined. The choice of the appropriate process of water detritiation depends, first of all, on whether the detritiated water is recycled back to the reactor system or is discharged to the environment and on whether molecular tritium is to be extracted for further application. Special attention is paid to the process of electrosonochemical water detritiation which is shown to be the preferential one due to its ability to provide molecular tritium. Tritiated water decomposition should be preceded by its concentrating, the latter being two-stage and including water conditioning followed by providing concentrated tritiated water. Reverse-osmosis conditioning and salt rectification are considered as preferential techniques.

**Keywords:** tritium, prototritium oxide, deuterotritium oxide, prototritium water, deuterotritium water, electrosonoysis

**For citation:** Shablowsky Ya. O. Heterophase phenomena of tritium fractionation in water systems. *Izvestiya of Saratov University. Chemistry. Biology. Ecology*, 2024, vol. 24, iss. 1, pp. 35–43 (in Russian). <https://doi.org/10.18500/1816-9775-2024-24-1-35-43>, EDN: FQNTJT

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



## Введение

Тритий Т является продуктом реакции  $^{10}\text{B}(n, 2\alpha)\text{T}$  в регулирующих борных стержнях ядерных реакторов, а также осколком тройного деления урана или плутония [1]. В ходе окислительных процессов, сочетающихся с реакциями изотопного обмена, образуются тритиевые изотопологи воды – оксид прототрития НТО и оксид дейтеротрития DTO. Образование этих оксидов происходит особенно интенсивно, когда обычная либо тяжёлая вода используется в качестве теплоносителя и одновременно замедлителя ядерной реакции. В таких случаях дейтроны воды захватывают нейтроны и превращаются в тритоны:  $\text{D}(n, \gamma)\text{T}$  [1]. В конечном итоге побочным продуктом эксплуатации ядерных реакторов оказывается прототритиевая вода – раствор оксида прототрития НТО в лёгкой воде  $\text{H}_2\text{O}$  [2]. В особых случаях утилизации подлежит дейтеротритиевая вода – раствор оксида дейтеротрития DTO в тяжёлой воде  $\text{D}_2\text{O}$  [3].

Оксиды трития по своей радиотоксичности сравнимы с изотопом  $^{239}\text{Pu}$ , в связи с чем необходимо их обезвреживание. Количественные различия изотопологов воды наиболее сильно выражены в интервале температур  $0 \div 4^\circ\text{C}$ , в котором внутреннее давление воды антибатно кинетическому давлению [4]. Благодаря данной особенности принципиально возможно отделение стабильных изотопологов воды от её радиоактивных изотопологов. Тем не менее, на практике обычно применяется стандартный подход – иммобилизация радионуклидов, и в настоящее время для иммобилизации трития предложены десятки способов: от простых и достаточно действенных [5] до экзотических [6]. Тритийсодержащие водные отходы крупнотоннажны и требуют для своего обезвреживания соразмерно больших объёмов иммобилизующего материала. Цель данной работы – выявление закономерностей гетерофазных процессов, позволяющих эффективно перерабатывать тритиевую воду.

## Материалы и методы

Переработка тритиевой воды окажется высокорентабельной, если на её завершающей ступени осуществить разложение тритиевой воды с выделением молекулярного трития  $\text{T}_2$ , 1 г которого стоит  $\sim \$ 30\,000$ . Существенно, что такая переработка оправдана не только с экономической, но и с экологической точки зрения.

Радиотоксичность оксидных форм трития обусловлена особой биохимической ролью воды в организме, а не радиоактивностью трития как такового [7]. Распад атома трития



(период полураспада  $\tau_{1/2} = 12,32$  лет) имеет удельную активность 356,3 ТБк/г и вне организма безопасен [2].

Подлежащим переработке жидким радиоактивным отходам свойственны низкие ( $\sim \text{ppm}$ ) концентрации трития [8]. В связи с этим разложению тритиевой воды должно предшествовать её концентрирование, производимое двухступенчато: 1) кондиционирующая водоподготовка (предварительное концентрирование); 2) получение высококонцентрированной тритиевой воды. Дальнейшие разделы нашей работы изложены в порядке следования технологических ступеней переработки тритиевой воды.

## Результаты и их обсуждение

### Кондиционирование тритиевой воды

Поскольку сырьевые водно-тритиевые растворы являются сильно разбавленными, оптимальным способом их предварительного концентрирования представляется использование обратноосмотических мембран. Фундаментальное исследование [9] продемонстрировало высокую эффективность баромембранной обработки тритиевой воды, однако авторы [9] констатировали, что результат обработки зависит только от свойств конкретной мембраны. Дальнейшие усилия, направленные на создание инновационных мембран и на оптимизацию реологических режимов их использования, так и не привели к появлению продуктивной методики баромембранной обработки тритиевой воды (см. обзор [10]). В связи с этим обратимся к основному уравнению осмометрии [11]:

$$\pi V = RT \ln \frac{p_s^\circ}{p_s}, \quad (1)$$

где  $\pi$  – осмотическое давление,  $V$  – молярный объём растворителя,  $p_s^\circ$  и  $p_s$  – давления его насыщенного пара над чистым растворителем и над раствором. Смесь жидких изотопологов является идеальным раствором, поэтому мы можем применить закон Рауля

$$\frac{p_s}{p_s^\circ} = x_s, \quad (2)$$

где  $x_s$  – молярная доля растворителя в растворе. В рассматриваемом случае решающее значение



имеет то обстоятельство, что молекулы растворённого оксида трития участвуют в формировании сетки водородных связей наравне с молекулами растворителя – оксида протия. В силу большей асимметрии зарядовой плотности молекул НТО образуемые ими водородные связи прочнее водородных связей между молекулами  $H_2O$ . Вследствие этого подвижность смежных с молекулами НТО молекул  $H_2O$  в прототритиевой воде оказывается снижена. Если такое снижение подвижности затрагивает  $\xi$  молекул  $H_2O$  в пересчёте на одну молекулу НТО, то из общего числа  $N_H$  молекул  $H_2O$  в формировании пара растворителя будут участвовать только  $N_H - \xi N_T$  молекул, где  $N_T$  – число молекул НТО. С учётом этого эффективная молярная доля растворителя составит

$$\frac{N_H - \xi N_T}{N_H + N_T} = 1 - x_T(1 + \xi), \quad (3)$$

где  $x_T$  – молярная доля оксида трития. Из (1) – (3) находим изотопное осмотическое давление тритиевой воды:

$$\pi_i = \frac{RT}{V} \ln[1 - x_T(1 + \xi)]. \quad (4)$$

Величина  $\xi$  зависит от температуры. В связи с этим уточним температурный режим кондиционирования тритиевой воды.

В работах [12, 13] отмечалось, что баромембранной обработке следует подвергать холодную тритиевую воду: её температура должна быть ниже  $10^\circ C$ . В действительности верхней границей рабочих температур баромембранной обработки прототритиевой воды служит температура  $\hat{T}_{HT}$ , соответствующая максимальной плотности жидкого оксида НТО. Общеизвестно, что охлаждение воды ниже температуры её максимальной плотности вызывает образование в воде льдоподобных молекулярных кластеров. В прототритиевой воде при температуре немного ниже  $\hat{T}_{HT} \sim 280,6$  К кластеризации будут подвержены только молекулы НТО. Их тепловое движение окажется «скованным» по сравнению с движением молекул растворителя, и это различие тепловой подвижности молекул НТО и  $H_2O$  обеспечит возможность осмотического фракционирования трития. Если же температура прототритиевой воды опустится ниже  $\hat{T}_H = 277,15$  К, т.е. ниже точки максимума плотности жидкого оксида протия, то произойдёт кластеризация молекул  $H_2O$  и осмотическое фракционирование трития выродится. Таким

образом, для концентрирования оксида НТО баромембранная обработка разбавленной прототритиевой воды должна осуществляться при

$$\hat{T}_H < T < \hat{T}_{HT}. \quad (5)$$

Аналогичное ограничение необходимо соблюдать при концентрировании оксида DTO: баромембранная обработка разбавленной дейтеротритиевой воды должна осуществляться при

$$\hat{T}_D < T < \hat{T}_{DT}, \quad (6)$$

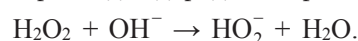
где  $\hat{T}_D = 284,3$  К – температура максимальной плотности жидкого  $D_2O$ ,  $\hat{T}_{DT} \sim 285,5$  К – температура максимальной плотности жидкого DTO.

Из (4) видно, что изотопное осмотическое давление тритиевой воды мало ( $\sim 100 \div 500$  кПа). Благодаря этому при баромембранной обработке тритиевой воды изотопная селективность по тритию не будет зависеть от содержания в воде нетритиевых примесей, если рабочее давление  $p$  поддерживать в промежутке

$$\pi_i < p < \pi_0, \quad (7)$$

где  $\pi_0$  – «классическое» осмотическое давление тритиевой воды, обусловленное нетритиевыми примесями. Давление  $\pi_0$  может оказаться очень большим, многократно превышающим «типичные» значения. Впервые это отметили авторы [14], исследовавшие водопроницаемость бентонитовых мембран и назвавшие обнаруженное явление изотопным осмосом. По нашему мнению, правильнее говорить о явлении радиолитического осмоса тритиевой воды, так как нетипично высокие значения её осмотического давления  $\pi_0$  обуславливаются не изотопией, а авторадииолизом.

Известно [2], что в разбавленной тритиевой воде, а именно, при её активности менее 1 мКи/моль (1 г трития соответствует 9619 Ки) накапливаются продукты авторадииолиза, не содержащие тритий. Авторадииолиз тритиевой воды – чрезвычайно сложная совокупность последовательно-параллельных реакций (см. [15]), в результате которых наряду с радиолитическими газами образуется пероксид водорода, взаимодействующий с содержащимися в воде нетритиевыми примесями. При подщелачивании ( $pH \geq 10$ ) пероксид водорода нейтрализуется:



Образующиеся гидропероксид-ионы  $HO_2^-$  обладают восстановительными свойствами и нивелируют окислительные процессы в радиолитической водной системе. За счёт этого при



подщелачивании эффективность баромембранной обработки тритиевой воды повысится. В отсутствие подщелачивания совокупная концентрация первичных и вторичных продуктов авторадииолиза в тритиевой воде может оказаться намного больше начальной концентрации нетритиевых примесей, и тогда осмотическое давление тритиевой воды многократно превзойдёт сумму его парциальных значений, соответствующих этим примесям.

### Концентрирование тритиевой воды

Наиболее изящным методом получения концентрированной тритиевой воды является каталитический изотопный обмен в системе «вода–водород» [16]. Этот технологический процесс имеет ряд достоинств, но чрезвычайно взрывоопасен и не подходит для крупнотоннажной переработки. Основной альтернативой служит вакуумная ректификация – метод относительно малозатратный и притом имеющий большое количество готовых аппаратных решений. Особо привлекательной, по нашему мнению, представляется солевая ректификация, так как при парофазном разделении тяжёлых изотопологов воды изотопную селективность можно усилить за счёт положительной гидратации.

В самом деле, ионы с положительной гидратацией связывают молекулы воды, затрудняя её самодиффузию и тем самым усиливая различия между изотопологами воды в их смеси. В наибольшей степени упомянутое связывание молекул свойственно аниону  $F^-$ , способному участвовать в образовании водородных связей. В свете сказанного ясно, что коэффициент изотопного разделения существенно повысится, если в разделяемой смеси изотопологов воды предварительно растворить фторид цезия  $CsF$  или фторид рубидия  $RbF$  либо иную незначительно гидролизующуюся соль с большой растворимостью при условии, что у этой соли положительна сумма энергий ближней (первичной) гидратации её ионов. При отрицательности такой суммы отрицательным окажется и изотопный солевой эффект: селективность разделения изотопологов воды в этом случае понизится<sup>1</sup>. Если речь идёт о крупнотоннажной переработке тритиевой воды, то целесообразно использовать сульфаты и фосфаты, у которых достаточно высокая положительная гидратация сочетается с значительно меньшей, нежели у

фторидов, стоимостью и токсичностью. Наиболее предпочтительные солевые агенты для ректификации больших объёмов тритиевой воды – ортофосфат натрия  $Na_3PO_4$  и сульфат магния  $MgSO_4$ . Обоснуем этот выбор.

При разделении изотопов обычно руководствуются тем, что более тяжёлый изотоп накапливается в более плотной фазе. Если происходит разделение изотопологов, т.е. веществ с идентичным строением молекулы, то накоплению более тяжёлой изотопной фракции будет способствовать не только большая плотность фазы, но и большая выраженность её мезоструктурной регулярности – основной фактор подавления подвижности структурных единиц в конденсированном состоянии. Из-за различий в таком подавлении в тех случаях, когда в смеси изотопологов образуется новая фаза, более тяжёлый (т.е. более диффузионно-инерционный) изотополог будет предпочтительно концентрироваться в той фазе, формирование которой сопряжено с меньшей структурной перестройкой при трансформации данной смеси. Речь идёт о противопоставлении альтернативных путей структурной перестройки при фазообразующих процессах с участием изотопологов, и сказанное относится как к агрегатному, так и к реконструктивному фазообразованию. Для нашего рассмотрения интерес представляет такое проявление изотопной селективности при реконструктивном фазообразовании, как разбавление тяжёлых изотопологов в кристаллизационной воде. Н. Такака с соавторами обнаружил [18], что по сравнению с водным раствором, в котором образуется кристаллогидрат, вода гидратных оболочек обеднена тритием. Следовательно, если безводный гидратообразователь растворять в тритиевой воде, доводя раствор до насыщения, а затем охлаждать этот раствор, то концентрация оксида трития в нём будет повышаться, так как снятие пересыщения будет происходить за счёт преимущественного осаждения кристаллогидрата с протиевой водой.

Доля химически связанной воды наиболее высока у ортофосфата натрия, образующего додекагидрат  $Na_3PO_4 \cdot 12H_2O$ . Однако этот кристаллогидрат отличается высокой термической устойчивостью и его сложно рециклировать. С точки зрения возможности многократного рециклирования предпочтителен сульфат магния: общеизвестно, что его гептагидрат  $MgSO_4 \cdot 7H_2O$  (эпсомит) легко дегидратируется при нагревании до температуры  $\sim 210^\circ C$ .

<sup>1</sup> С описанным отрицательным эффектом столкнулись авторы [17].



### Электросонолиз тритиевой воды

Разложение тритиевой воды целесообразно осуществлять путём электросонолиза, т.е. путём совмещения сонохимического реактора с электролитической ячейкой. Обычно при таком совмещении кавитация в электролитической ячейке создаётся в качестве вспомогательного процесса, обеспечивающего вторичные эффекты. Здесь химические реакции, активируемые кавитацией в тритиевой воде, рассматриваются как целевой первичный процесс.

В водных системах распад трития вызывает радиолиз воды, накладывающийся на её автопротолиз. Исследовательская группа под руководством А. Б. Сазонова (Российский химико-технологический университет, г. Москва) установила [19, 20]: растворам органических веществ (амиды, моно- и дисахариды, карбоновые кислоты, аминокислоты и гидроксикаминокислоты, природные и синтетические полимеры) в тритиевой воде свойственно накопление трития в функциональных группах молекул, тогда как насыщение таких групп дейтерием при растворении тех же веществ в дейтериевой воде не происходит. Выраженное накопление трития в обменных позициях молекул в присутствии воды доказывает, что при протолизе тритиевой воды образуется тритон  $T^+$ , а не гидроксониевые ионы  $T_3O^+$ ,  $HT_2O^+$ ,  $H_2TO^+$ ,  $DT_2O^+$ ,  $D_2TO^+$ .

Данный факт имеет для проводимого нами анализа принципиальное значение, так как свидетельствует о том, что при протолитических процессах в тритиевой воде образуются тритиевые и гидроксильный радикалы:



Независимым подтверждением реакционных механизмов (8) – (10) служит наличие в газообразном продукте автордиолиза тритиевой воды сверхстехиометрического избытка кислорода [21], образующегося в результате разложения пероксида водорода, возникающего при парных рекомбинациях гидроксильных радикалов.

Из (8) – (10) следует, что молекулярный тритий можно выделить, накапливая продукт парной рекомбинации тритиевых радикалов



Для такого накопления необходимо, активировав процессы (8) – (10), одновременно обеспечить

подавление обратных им рекомбинационных процессов. Это возможно, если в тритиевой воде создать акустическую кавитацию.

Во-первых, в условиях кавитации протолитические процессы (8) – (10) приобретут практически значимую интенсивность. Во-вторых, акустическое воздействие способно обеспечить преобладание процессов образования радикалов  $T^{\bullet}$  по отношению к обратным процессам их рекомбинации с радикалами  $\bullet OH$ ,  $\bullet OD$  и  $\bullet OT$ . При прочих равных условиях разрежение способствует диссоциации, а сжатие благоприятствует рекомбинации. Разрежения и сжатия окажутся разбалансированы, если кавитацию в тритиевой воде создавать ультразвуковыми биениями при сложении косинусоидальных колебаний с одинаковыми амплитудами  $A_m$  и нулевыми начальными фазами. В этом случае амплитуда  $\tilde{A}$  результирующего колебания изменяется со временем  $t$  по закону

$$\tilde{A}(t) = 2A_m \cos \frac{\omega_1 - \omega_2}{2} t, \quad (11)$$

а само результирующее колебание, имеющее частоту

$$\tilde{\omega} = (\omega_1 + \omega_2)/2, \quad (12)$$

совершается по косинусоидальному закону с нулевой начальной фазой и обладает периодичностью при

$$\frac{\omega_1}{\omega_2} = \frac{N+2}{N+1}, \quad (13)$$

где  $N$  – натуральное число. Такую «двухчастотную» ультразвуковую обработку целесообразно проводить, соблюдая в дополнение к (13) требование

$$\frac{\omega_1 - \omega_2}{\omega_1 + \omega_2} \ll 1. \quad (14)$$

Ультразвуковые биения (11) – (14) позволят обеспечить наиболее продуктивный – квазиимпульсный – режим, при котором кавитационная активация первичных процессов (8) – (10) чередуется с вторичными реакциями, задействующими радикальные продукты первичных процессов, а не накладывается на вторичные реакции, как это происходит при стандартной схеме ультразвуковой обработки жидкофазных систем.

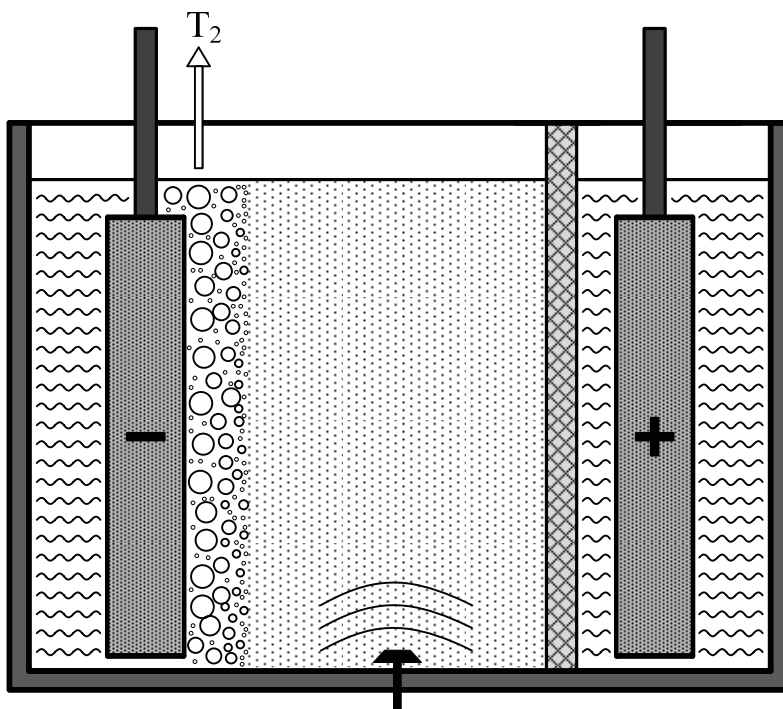
Если принять в качестве порога разрывной прочности воды стандартное усреднённое значение 28 МПа, то для создания в тритиевой воде акустической кавитации ультразвук «промышленных» частот ( $f = 20 \div 40$  кГц) должен иметь интенсивность  $I \sim 0,8 \div 2,75$  Вт/см<sup>2</sup>. При этом источник ультразвука следует располагать между катодом и пористой, предпочтительно





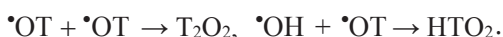
волоконной перегородкой, отделяющей кавитационную область от анода (рисунок). С учётом неравновесности кавитационного состояния

реакционного объёма такое расположение обеспечит приоритет катодного процесса по отношению к анодному процессу.



Принципиальная схема осуществления электросонолиза тритиевой воды  
Fig. Basic scheme of tritiated water electrosonolysis

Для усиления достигаемого при этом эффекта необходимо предотвратить накопление в реакционном объёме тритиевых пероксидов, образующихся при парных рекомбинациях гидроксильных радикалов:

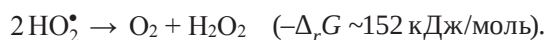


Термодинамическая оценка показывает, что при таких рекомбинациях убыль энергии Гиббса ( $-\Delta_r G \sim 174$  кДж/моль) меньше, чем убыль энергии Гиббса при реакциях

$2\text{T}_2\text{O}_2 \rightarrow 2\text{T}_2\text{O} + \text{O}_2\uparrow$ ;  $2\text{HTO}_2 \rightarrow 2\text{HTO} + \text{O}_2\uparrow$   
( $-\Delta_r G \sim 246$  кДж/моль). Несмотря на это, тритиевые пероксиды весьма устойчивы, так как первичная реакция разложения пероксидов водорода

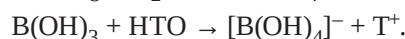
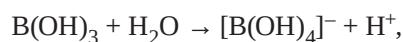


(здесь H соответствует протию, дейтерию либо тритию) требует активации для преодоления энергетического порога  $\Delta_r G \sim 40$  кДж/моль, а продукты этой первичной реакции взаимодействуют между собой антибатно:



Чтобы подавить образование в реакционном объёме тритиевых пероксидов, целесообразно добавить в разлагаемую тритиевую воду борную кислоту.

Известно, что если концентрация гидроксильных радикалов в реакционном объёме незначительна ( $\text{pH} < 8$ ), то растворённая борная кислота остаётся в недиссоциированной форме. При образовании избытка гидроксильных радикалов, т.е. при положительном приращении  $\Delta\text{pH}$ , инициируются процессы:



При неизменном режиме ультразвуковой обработки интенсивность этих процессов постоянна: например, при «стандартных» значениях  $f = 22$  кГц,  $I = 2,5$  Вт/см<sup>2</sup> выполненный нами на основе результатов работ [21, 22] оценочный расчёт дал для скорости образования тритие-



вых радикалов величину  $\sim 1,67 \cdot 10^{-7}$  моль/с, а для скорости пероксидообразования – величину  $\sim 8,33 \cdot 10^{-8}$  моль/с. Отмеченное постоянство позволяет однозначно определить концентрацию  $c_B$  борной кислоты, обеспечивающую подавление пероксидообразования при сонолизе тритиевой воды: в результате обработки экспериментальных данных [23] нами было получено эмпирическое равенство

$$c_B = (0,0786 \cdot (\Delta pH) - 3,852 \cdot 10^{-4} t)^{1,695} \text{ г/л,} \quad (15)$$

где  $\Delta pH > 0$ ,  $[t] = ^\circ\text{C}$ .

### Заключение

Переработку тритийсодержащих водных отходов целесообразно осуществлять, предусматривая на её завершающей ступени разложение тритиевой воды с выделением молекулярного трития  $T_2$ . Этому разложению должны предшествовать кондиционирование (предварительное концентрирование) сырьевого водно-тритиевого раствора и получение высококонцентрированной тритиевой воды.

Оптимальный способ предварительного концентрирования водно-тритиевых растворов – использование обратноосмотических мембран. Режим баромембранной обработки тритиевой воды определяется соотношениями (4) – (7). При подщелачивании ( $pH \geq 10$ ) эффективность баромембранной обработки тритиевой воды повысится.

Для получения высококонцентрированной тритиевой воды предпочтительна солевая ректификация, так как при парофазном разделении тяжёлых изотопологов воды изотопную селективность можно усилить за счёт положительной гидратации. Коэффициент изотопного разделения существенно повысится, если в разделяемой смеси изотопологов воды предварительно растворить незначительно гидролизующуюся соль с большой растворимостью при условии, что у этой соли положительна сумма энергий ближней (первичной) гидратации её ионов. При крупнотоннажной переработке тритиевой воды в качестве солевых агентов целесообразно использовать сульфаты и фосфаты.

Важный фактор выбора солевого агента для ректификации тритиевой воды – способность к гидратообразованию. Если безводный гидратообразователь растворять в тритиевой воде, доводя раствор до насыщения, а затем охлаждать этот раствор, то концентрация оксида

трития в нём будет повышаться, так как снятие пересыщения будет происходить за счёт преимущественного осаждения кристаллогидрата с противеивой водой. Наиболее предпочтительные солевые агенты для ректификации больших объёмов тритиевой воды – ортофосфат натрия  $Na_3PO_4$  и сульфат магния  $MgSO_4$ .

Разложение тритиевой воды с выделением молекулярного трития следует проводить в режиме акустической кавитации, создаваемой ультразвуковыми биениями (11) – (14) в электролитической ячейке. При этом источник ультразвука следует располагать между катодом и пористой, предпочтительно волокнистой перегородкой, отделяющей кавитационную область от анода (см. рисунок). Для усиления достигаемого при этом эффекта необходимо добавить в разлагаемую тритиевую воду борную кислоту в соответствии с равенством (15), чтобы предотвратить накопление в реакционном объёме тритиевых пероксидов.

### Список литературы

1. *Перевезенцев А. Н., Розенкевич М. Б.* Технология трития для термоядерного реактора. Долгопрудный : ИД «Интеллект», 2019. 336 с.
2. *Vásaru G.* Tritium isotope separation. Ann Arbor, London, Tokyo : CRC Press Inc., Boca Raton, 1993. 320 p.
3. *Магомедбеков Э. П., Белкин Д. Ю., Растунова И. Л., Сазонов А. Б., Селиваненко И. Л., Кулов Н. Н.* Ректификация воды как метод детритизации тяжеловодного замедлителя // Теоретические основы химической технологии. 2017. Т. 51, № 4. С. 376–383.
4. *Карцев В. Н.* К пониманию структурочувствительности температурного коэффициента внутреннего давления // Журнал структурной химии. 2004. Т. 45, № 5. С. 877–882.
5. *Сазонов А. Б., Алешина А. В., Магомедбеков Э. П.* Иммобилизация тритийсодержащих отходов путем включения в цементную матрицу // Радиохимия. 2009. Т. 51, № 4. С. 363–365.
6. *Satoshi N., Toshihiro A., Hitoshi K., Haruki I., Ryo O.* Tritiated water removal method based on hydrate formation using heavy water as co-precipitant // Chemical Engineering Journal. 2023. Vol. 465, № 1. P. 142979-1–142979-11. <https://doi.org/10.1016/j.cej.2023.142979>
7. *Ferreira M. F., Turner A.* Tritium: Its relevance, sources and impacts // Science of the Total Environment. 2023. Vol. 876, № 1. P. 162816-1–162816-9.
8. *Магомедбеков Э. П., Растунова И. Л.* Проблемы детритизации водных радиоактивных отходов // Радиоактивные отходы. 2022. № 2 (19). С. 17–24.
9. *Prabhakar S., Misra B. M., Ramami M. P. S.* Relative transport of water ( $H_2O$ ) and tritiated water (HTO) across



- cellulose acetate membranes // *Radiochimica Acta*. 1986. Vol. 39, № 2. P. 93–96. <https://doi.org/10.1524/ract.1986.39.2.93>
10. Sun D., Run L. Hydrogen isotopic water separation in membrane distillation // *Separation and Purification Technology*. 2023. Vol. 314, № 1. P. 123634-1–123634-19. <https://doi.org/10.1016/j.seppur.2023.123634>
11. Lott P. F., Millich F. Instrumentation for osmometry // *Journal of Chemical Education*. 1966. Vol. 43, № 3. P. A191–A208.
12. Nelson D. A., Duncan J. B., Jensen G. A., Burton S. D. Isotopomeric water separations with supported polyphosphazene membranes // *Journal of Membrane Science*. 1996. Vol. 112, № 2. P. 105–113. [https://doi.org/10.1016/0376-7388\(95\)00100-X](https://doi.org/10.1016/0376-7388(95)00100-X)
13. Duncan J. B., Nelson D. A. The separation of tritiated water using supported polyphosphazene membranes // *Journal of Membrane Science*. 1999. Vol. 157, № 2. P. 211–217. [https://doi.org/10.1016/S0376-7388\(98\)00380-9](https://doi.org/10.1016/S0376-7388(98)00380-9)
14. Соботович Э. В., Пушкарёв А. В., Литовченко А. С., Пушкарёва Р. А., Долин В. В. Феномен изотопного осмоса при использовании бентонитовых мембран // Доклады НАН Украины. 2007. № 1. С. 179–183.
15. Dzaugis M. E., Spivack A. J., D'Hondt S. A quantitative model of water radiolysis and chemical production rates near radionuclide containing // *Radiation Physics and Chemistry*. 2015. Vol. 115, № 1. P. 127–134. <https://doi.org/10.1016/j.radphyschem.2015.06.011>
16. Андреев Б. М., Магомедбеков Э. П., Розенкевич М. Б., Сахаровский Ю. А. Гетерогенные реакции изотопного обмена трития / под общ. ред. Б. Ф. Мясоедова. М. : Едиториал УРСС, 1999. 206 с.
17. Кулов Н. Н., Полковниченко А. В., Лупачев Е. В., Вошкин А. А., Магомедбеков Э. П. Распределение изотопов водорода между фазами при парожидкостном равновесии водных солевых растворов // Теоретические основы химической технологии. 2020. Т. 54, № 1. С. 3–9. <https://doi.org/10.31857/S0040357120010108>
18. Tanaka H., Kado T., Negita H. The fractionation of tritiated water in an equilibrium between organic hydrates and their aqueous solutions // *Bulletin of the Chemical Society of Japan*. 1974. Vol. 47, № 2. P. 278–280.
19. Кондакова Ю. В., Шестаков И. А., Сазонов А. Б. Термодинамические изотопные эффекты трития в амидах и аминокислотах // *Успехи в химии и химической технологии*. 2017. Т. 31, № 10. С. 34–36.
20. Королёва В. С., Шестаков И. А., Сазонов А. Б. Изотопное равновесие дейтерия и трития между молекулами воды и углеводов // *Успехи в химии и химической технологии*. 2018. Т. 32, № 9 (205). С. 21–23.
21. Heinze S., Stolz T., Ducret D., Colson J.-C. Self-radiolysis of tritiated water: Experimental study // *Fusion Science and Technology*. 2005. Vol. 48, № 1. P. 673–679. <https://doi.org/10.13182/FST05-A1014>
22. Stolz T., Ducret D., Heinze S., Baldacchino G., Colson J.-C., Dedieu B., Pelletier Th. Self-radiolysis of tritiated water // *Fusion Engineering and Design*. 2003. Vol. 69, № 1–4. P. 57–60. [https://doi.org/10.1016/S0920-3796\(03\)00236-9](https://doi.org/10.1016/S0920-3796(03)00236-9)
23. Морозов А. В., Сахипгареев А. Р., Шлёпкин А. С., Сошкина А. С. Определение физико-химических свойств борной кислоты // *Энергетические системы*. 2019. № 1. С. 67–73.

## References

1. Perevezencev A. N., Rozenkevich M. B. *Tekhnologiya tritiya dlya termoyadernogo reaktora* [Tritium technology for a thermonuclear reactor]. Dolgoprudny, ID “Intellekt”, 2019. 336 p. (in Russian).
2. Värsaru G. *Tritium isotope separation*. Ann Arbor, London, Tokyo, CRC Press Inc., Boca Raton, 1993. 320 p.
3. Magomedbekov E. P., Belkin D. Yu., Rastunova I. L., Sazonov A. B., Selivanenko I. L., Kulov N. N. Water distillation as a method of detritiation of heavy-water moderator. *Theoretical Foundations of Chemical Engineering*, 2017, vol. 51, no. 4, pp. 384–391 (in Russian).
4. Kartsev V. N. To the understanding of the structural sensitivity of the temperature coefficient of internal pressure. *Journal of Structural Chemistry*, 2004, vol. 45, no. 5, pp. 832–837 (in Russian).
5. Sazonov A. B., Alyoshina A. V., Magomedbekov E. P. Immobilization of tritium-containing oil wastes by their incorporation in a cement matrix. *Radiochemistry*, 2009, vol. 51, no. 4, pp. 412–414 (in Russian).
6. Satoshi N., Toshihiro A., Hitoshi K., Haruki I., Ryo O. Tritiated water removal method based on hydrate formation using heavy water as co-precipitant. *Chemical Engineering Journal*, 2023, vol. 465, no. 1, pp. 142979-1–142979-11. <https://doi.org/10.1016/j.cej.2023.142979>
7. Ferreira M. F., Turner A. Tritium: Its relevance, sources and impacts. *Science of the Total Environment*, 2023, vol. 876, no. 1, pp. 162816-1–162816-9.
8. Magomedbekov E. P., Rastunova I. L. Detritization of water radioactive wastes. *Radioactive Waste*, 2022, no. 2 (19), pp. 17–24 (in Russian).
9. Prabhakar S., Misra B. M., Ramami M. P. S. Relative transport of water (H<sub>2</sub>O) and tritiated water (HTO) across cellulose acetate membranes. *Radiochimica Acta*, 1986, vol. 39, no. 2, pp. 93–96. <https://doi.org/10.1524/ract.1986.39.2.93>
10. Sun D., Run L. Hydrogen isotopic water separation in membrane distillation. *Separation and Purification Technology*, 2023, vol. 314, no. 1, pp. 123634-1–123634-19. <https://doi.org/10.1016/j.seppur.2023.123634>
11. Lott P. F., Millich F. Instrumentation for osmometry. *Journal of Chemical Education*, 1966, vol. 43, no. 3, pp. A191–A208.
12. Nelson D. A., Duncan J. B., Jensen G. A., Burton S. D. Isotopomeric water separations with supported polyphosphazene membranes. *Journal of Membrane Science*, 1996, vol. 112, no. 2, pp. 105–113. [https://doi.org/10.1016/0376-7388\(95\)00100-X](https://doi.org/10.1016/0376-7388(95)00100-X)
13. Duncan J. B., Nelson D. A. The separation of tritiated water using supported polyphosphazene membranes. *Journal of Membrane Science*, 1999, vol. 157, no. 2, pp. 211–217. [https://doi.org/10.1016/S0376-7388\(98\)00380-9](https://doi.org/10.1016/S0376-7388(98)00380-9)



14. Sobotovich E. V., Pushkarjov A. V., Litovchenko A. S., Pushkarjova R. A., Dolin V. V. A phenomenon of isotopic osmosis in bentonite membranes. *Reports of the National Academy of Sciences of Ukraine*, 2007, no. 1, pp. 179–183 (in Russian).
15. Dzaugis M. E., Spivack A. J., D'Hondt S. A quantitative model of water radiolysis and chemical production rates near radionuclide containing. *Radiation Physics and Chemistry*, 2015, vol. 115, no. 1, pp. 127–134. <https://doi.org/10.1016/j.radphyschem.2015.06.011>
16. Andreev B. M., Magomedbekov E. P., Rozenkevich M. B., Saharovskij Yu. A. *Geterogennye reaktsii izotopnogo obmena tritiya* [Heterogeneous tritium isotope exchange reactions]. Moscow, Editorial URSS, 1999. 206 p. (in Russian).
17. Kulov N. N., Polkovnichenko A. V., Lupachev E. V., Voshkin A. A., Magomedbekov E. P. Distribution of hydrogen isotopes between phases at vapor–liquid equilibrium in aqueous salt solutions. *Theoretical Foundations of Chemical Engineering*, 2020, vol. 54, no. 1, pp. 132–138 (in Russian). <https://doi.org/10.31857/S0040357120010108>
18. Tanaka H., Kado T., Negita H. The fractionation of tritiated water in an equilibrium between organic hydrates and their aqueous solutions. *Bulletin of the Chemical Society of Japan*, 1974, vol. 47, no. 2, pp. 278–280.
19. Kondakova Ju.V., Shestakov I. A., Sazonov A. B. Thermodynamic isotopic effects of tritium in amides and aminoacids. *Uspekhi v khimii i khimicheskoy tekhnologii*, 2017, vol. 31, no. 10, pp. 34–36 (in Russian).
20. Koroljova V. S., Shestakov I. A., Sazonov A. B. Isotopic equilibrium of deuterium and tritium between water molecules and carbohydrates. *Uspekhi v khimii i khimicheskoy tekhnologii*, 2018, vol. 32, no. 9 (205), pp. 21–23 (in Russian).
21. Heinze S., Stolz T., Ducret D., Colson J.-C. Self-radiolysis of tritiated water: Experimental study. *Fusion Science and Technology*, 2005, vol. 48, no. 1, pp. 673–679. <https://doi.org/10.13182/FST05-A1014>
22. Stolz T., Ducret D., Heinze S., Baldacchino G., Colson J.-C., Dedieu B., Pelletier Th. Self-radiolysis of tritiated water. *Fusion Engineering and Design*, 2003, vol. 69, no. 1–4, pp. 57–60. [https://doi.org/10.1016/S0920-3796\(03\)00236-9](https://doi.org/10.1016/S0920-3796(03)00236-9)
23. Morozov A. V., Sahipgareev A. R., Shljopkin A. S., Soshkina A. S. Determination of physicochemical properties of boric acid. *Energy Systems*, 2019, no. 1, pp. 67–73 (in Russian).

Поступила в редакцию 25.08.2023; одобрена после рецензирования 12.12.2023; принята к публикации 25.12.2023  
The article was submitted 25.08.2023; approved after reviewing 12.12.2023; accepted for publication 25.12.2023



Известия Саратовского университета. Новая серия. Серия: Химия. Биология. Экология. 2024. Т. 24, вып. 1. С. 44–50

*Izvestiya of Saratov University. Chemistry. Biology. Ecology*, 2024, vol. 24, iss. 1, pp. 44–50

<https://ichbe.sgu.ru>

<https://doi.org/10.18500/1816-9775-2024-24-1-44-50>, EDN: AJKDRB

Научная статья

УДК 579.64:661.162.66

## Изменение химических, физико-химических и биологических свойств липополисахарида *Ochrobactrum cytisi* IPA7.2 при O-деацелировании



Ю. А. Филипьева<sup>1</sup>✉, Е. Н. Сигида<sup>1</sup>, О. В. Ткаченко<sup>2</sup>, Г. Л. Бурьгин<sup>1,2,3</sup>

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

<sup>2</sup>Саратовский государственный университет генетики, биотехнологии и инженерии имени Н. И. Вавилова, Россия, 410012, г. Саратов, пр. им. П. Столыпина, д. 4

<sup>3</sup>Саратовский национальный исследовательский государственный университет имени Н. Г. Чернышевского, Россия, 410012, г. Саратов, ул. Астраханская, д. 83

Филипьева Юлия Анатольевна, кандидат биологических наук, научный сотрудник лаборатории генетики микроорганизмов, [ljuche@yandex.ru](mailto:ljuche@yandex.ru), <https://orcid.org/0000-0003-3182-1007>

Сигида Елена Николаевна, кандидат биологических наук, старший научный сотрудник лаборатории биохимии, [si\\_elena@mail.ru](mailto:si_elena@mail.ru), <https://orcid.org/0000-0002-9223-4589>

Ткаченко Оксана Викторовна, кандидат сельскохозяйственных наук, доцент кафедры «Растениеводство, селекция и генетика», [oktkachenko@yandex.ru](mailto:oktkachenko@yandex.ru), <https://orcid.org/0000-0001-8327-6763>

Бурьгин Геннадий Леонидович, кандидат биологических наук, <sup>1</sup>старший научный сотрудник лаборатории иммунохимии; <sup>2</sup>доцент кафедры «Растениеводство, селекция и генетика»; <sup>3</sup>доцент кафедры органической и биорганической химии, [burygingl@gmail.com](mailto:burygingl@gmail.com), <https://orcid.org/0000-0001-8031-9641>

**Аннотация.** Липополисахариды – соединения бактериального происхождения, обладающие биологической активностью в отношении растений, животных и человека. Представлена информация о получении и характеристике свойств модифицированных производных липополисахарида ризосферной бактерии *Ochrobactrum cytisi* IPA7.2. Деацелирование проводили с помощью щелочного гидролиза с последующим хроматографическим разделением фракций. О-деацелирование О-полисахарида приводило к увеличению в 2 раза экстинкции продуктов фенол-серноокислотной реакции. Жирнокислотный состав липида А при щелочном гидролизе не изменялся. Сравнение надмолекулярных частиц в водной среде нативной и деацелированной форм липополисахарида методом динамического рассеяния света выявило, что в результате модификации происходило снижение размеров мицелл с 65 до 35 нм и повышение значения их отрицательного дзета-потенциала с –22 до –30 мВ. Установлено, что нестехиометрическое ацелирование липополисахарида *O. cytisi* IPA7.2 не влияло на взаимодействие со специфическими антителами, но являлось важным для проявления рост-стимулирующей активности в отношении микрорастений картофеля.

**Ключевые слова:** липополисахарид, *Ochrobactrum cytisi* IPA7.2, ацелирование, динамическое рассеяние света, надмолекулярные частицы, картофель, *in vitro*

**Благодарности.** Исследование выполнено при финансовой поддержке Российского научного фонда (проект №22-26-00293, <https://rscf.ru/project/22-26-00293/>).

**Для цитирования:** Филипьева Ю. А., Сигида Е. Н., Ткаченко О. В., Бурьгин Г. Л. Изменение химических, физико-химических и биологических свойств липополисахарида *Ochrobactrum cytisi* IPA7.2 при O-деацелировании // Известия Саратовского университета. Новая серия. Серия: Химия. Биология. Экология. 2024. Т. 24, вып. 1. С. 44–50. <https://doi.org/10.18500/1816-9775-2024-24-1-44-50>, EDN: AJKDRB  
Статья опубликована на условиях лицензии Creative Commons Attribution 4.0 International (CC-BY 4.0)

Article

### Changes in the chemical, physical-chemical and biological properties of *Ochrobactrum cytisi* IPA7.2 lipopolysaccharide during O-deacylation

Yu. A. Filip'icheva<sup>1</sup>✉, E. N. Sigida<sup>1</sup>, O. V. Tkachenko<sup>2</sup>, G. L. Burygin<sup>1,2,3</sup>

<sup>1</sup>Institute 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

<sup>2</sup>Saratov State University of Genetics, Biotechnology and Engineering named after N. I. Vavilov, 4 Prospekt Stolypina, Saratov 410012, Russia

<sup>3</sup>Saratov State University, 83 Astrakhanskaya St., Saratov 410012, Russia



Yuliya A. Filip'echeva, ljuche@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0003-3182-1007>

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

Oksana V. Tkachenko, oktkachenko@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0001-8327-6763>

Gennadiy L. Burygin, buryingl@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0001-8031-9641>

**Abstract.** Lipopolysaccharides are compounds of bacterial origin that have biological activity against plants, animals and humans. This work provides information on the preparation and characterization of the properties of modified lipopolysaccharide derivatives of the rhizosphere bacterium *Ochrobactrum cytisi* IPA7.2. Deacylation has been carried out using alkaline hydrolysis, followed by chromatographic separation of the fractions. O-deacylation of O-polysaccharide led to a 2-fold increase in the extinction of the products of the phenol-sulfuric acid reaction. The fatty acid composition of lipid A did not change during alkaline hydrolysis. A comparison of supramolecular particles in an aqueous medium of native and deacylated forms of lipopolysaccharide using dynamic light scattering revealed that, as a result of modification, the size of micelles decreased from 65 nm to 35 nm and their negative zeta potential increased from  $-22$  mV to  $-30$  mV. It has been found that non-stoichiometric acetylation of lipopolysaccharide *O. cytisi* IPA7.2 did not affect the interaction with specific antibodies but was important for the manifestation of growth-stimulating activity towards potato microplants.

**Keywords:** lipopolysaccharide, *Ochrobactrum cytisi* IPA7.2, acetylation, dynamic light scattering, supramolecular particles, potato, *in vitro*

**Acknowledgements:** This work was supported by the Russian Science Foundation (project no. 22-26-00293, <https://rscf.ru/project/22-26-00293/>).

**For citation:** Filip'echeva Yu. A., Sigida E. N., Tkachenko O. V., Burygin G. L. Changes in the chemical, physical-chemical and biological properties of *Ochrobactrum cytisi* IPA7.2 lipopolysaccharide during O-deacylation. *Izvestiya of Saratov University. Chemistry. Biology. Ecology*, 2024, vol. 24, iss. 1, pp. 44–50 (in Russian). <https://doi.org/10.18500/1816-9775-2024-24-1-44-50>, EDN: AJKDRB

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

## Введение

Поверхность клеток грамотрицательных бактерий образована наружной мембраной клеточной стенки, мажорным компонентом которой являются молекулы липополисахарида (ЛПС) [1]. В связи с этим именно структура ЛПС во многом определяет активность взаимодействия бактерий с объектами окружающей среды, в том числе с клетками животных и растений [2]. ЛПС являются амфифильными молекулами, содержащими гидрофобную часть в виде липида А и гидрофильные олигосахаридный кор и О-полисахарид (ОПС) [3]. При этом ОПС бактерий могут содержать остатки дезоксисахаров и различные гидрофобные функциональные группы (метильные, ацетильные и другие). Присутствие модификаций моносахаридных остатков в составе ОПС могут значительно изменять химические и физико-химические свойства, приводящие и к изменениям биологических свойств ЛПС [4].

Одной из групп микроорганизмов, имеющих широкий биотехнологический потенциал, являются бактерии рода *Ochrobactrum*, широко распространенные в природе. Штаммы этого рода часто выделяются из почвы, сточных вод, растений и клинических образцов [5]. В частности, бактерии *Ochrobactrum* spp. часто выделяются из корней картофеля в разных географических точках и поэтому рассматриваются в качестве перспективных объектов в технологии повышения эффективности культивирования растений картофеля [6].

Структура и свойства ЛПС бактерий рода *Ochrobactrum* относительно мало изучены. На сегодняшний день охарактеризованы химические структуры О-полисахаридов (ОПС) лишь 5 штаммов данной группы бактерий. Ранее нами из корней картофеля был выделен бактериальный штамм *Ochrobactrum cytisi* IPA7.2 [6], для которого была описана структура повторяющегося олигосахаридного звена ОПС и показана рост-стимулирующая активность ЛПС этого штамма в отношении микрорастений картофеля [7]. Остаток *N*-ацетилглюкозамина в ОПС штамма *O. cytisi* IPA7.2 был ацетилирован в положении 3 и нестехиометрически ацетилирован в положении 6. В работе [4] было показано, что ацетилирование ЛПС значительно влияет на успешность бактериальной колонизации корней растений. В связи с этим целью данной работы являлось получение деацелированного препарата ЛПС штамма *O. cytisi* IPA7.2 и изучение его химического состава, физико-химических и антигенных свойств, а также влияния на рост микрорастений картофеля.

## Материалы и методы

Объектом данного исследования являлся ЛПС штамма *O. cytisi* IPA7.2, для которого ранее была описана структура повторяющегося звена и активность по отношению к микрорастениям картофеля (*Solanum tuberosum* L.) сорта Кондор.

В данной работе был проведен щелочной гидролиз препарата ЛПС штамма IPA7.2 при действии 12%  $\text{NH}_4\text{OH}$  в течение 16 ч при 37 °С.



Образовавшийся дезацелированный липополисахарид (ДЛПС) обессоливали на колонке TSK HW-40 (S) в 1 %-ном водном растворе уксусной кислоты с последующей лиофилизацией. Выход препарата ДЛПС составил около 60% от использованного для гидролиза препарата ЛПС.

Растворы глюкозы (25 мкг/мл), ЛПС и ДЛПС (75 мкг/мл) объёмом 0,5 мл смешивали с 0,5 мл 5%-ного водного раствора фенола и 2,5 мл концентрированной серной кислоты [8]. После охлаждения растворов до комнатной температуры проводили измерение спектров с шагом 0,5 нм в диапазоне длин волн 400–600 нм с помощью спектрофотометра Spеcord S300 (Analytik Jena, Германия). Полученные спектры сравнивали со спектрами ОПС и дезацелированного ОПС (ДПС), препараты которых были получены в работе [7].

Препараты ЛПС и ДЛПС были исследованы на взаимодействие со специфическими антителами к О-антигену штамма *O. cytisi* IPA7.2 с помощью метода двойной радиальной иммунодиффузии в агарозном геле [9].

Качественное и количественное определение содержания остатков жирных кислот в составе препаратов ЛПС и ДЛПС было проведено посредством анализа метиловых эфиров жирных кислот, как было описано в [10] с помощью газового хроматографа GC-2010 (Shimadzu, Япония) на колонке EQUITY-1 (30 м × 0,32 мм) (Sigma-Aldrich, США). Была использована следующая температурная программа: 110 °С 5 мин с последующим повышением до 290 °С со скоростью 5 °С/мин, конечное время элюции составило 30 мин; в качестве газа-носителя был использован гелий со скоростью потока 1,3 мл/мин. Жирные кислоты были идентифицированы с использованием стандартной смеси метиловых эфиров жирных кислот (Sigma Aldrich, США).

Для водных растворов ЛПС и ДЛПС с концентрацией 2,0 мг/мл было проведено измерение размера надмолекулярных частиц и их дзета-потенциала методом динамического рассеяния света с помощью дзета-сайзера Malvern Nano-ZS (Malvern, Великобритания) при температуре 37°С. Измерения проводили как было описано ранее [11]. Использовали показатели для воды как растворителя и углеводов как исследуемых макромолекул; фокусное расстояние – центр кюветы. Для определения дзета-потенциала использовали установки программы DTS (Malvern, Великобритания) по умолчанию. Проводили по 10 измерений каждого из параметров.

*Статистическая обработка результатов.* Во всех случаях количественных измерений проводили не менее трех независимых экспериментов как минимум в трех повторностях. Результаты обрабатывали с использованием пакета Microsoft Office Excel 2010; доверительные интервалы определяли для уровня значимости 95% ( $P = 0,05$ ).

## Результаты и их обсуждение

Результаты измерения методом динамического рассеяния света распределения по размеру надмолекулярных частиц (мицелл), формируемых в водной среде препаратами ЛПС и ДЛПС, показали, что в результате щелочного гидролиза происходит снижение среднего диаметра частиц почти в два раза (с 65 до 35 нм) (рис. 1, а). Столь сильное изменение размеров мицелл может быть связано как с удалением примесных фосфолипидов и, соответственно, снижением гидрофобного ядра мицелл, так и удалением ацетильных групп О-полисахарида, приводящих к снижению гидрофобных взаимодействий между углеводными частями формируемых частиц с распадом на отдельные мицеллы. Кроме того, установлено, что О-дезацелирование ЛПС изменяет дзета-потенциал надмолекулярных частиц с –22 до –30 мВ (см. рис. 1, б). Повышение отрицательного значения дзета-потенциала мицелл ДЛПС может быть связано с увеличением доступности карбоксильных групп остатков *N*-ацетилманнуриновой кислоты в составе О-полисахарида.

Анализ результатов фенол-сернокислотной реакции (рис. 2) показал, что спектральные характеристики всех исследованных препаратов сходны между собой и со спектром глюкозы. Это наблюдение свидетельствует о том, что из трёх моносахаридных остатков в составе повторяющегося звена ОПС окрашенные продукты реакции образует только остаток глюкозы. При этом дезацетилизация ОПС приводило к двукратному увеличению экстинкции продуктов фенол-сернокислотной реакции при сохранении спектральных характеристик для препаратов ДПС, что может свидетельствовать об участии в реакции остатка *N*-ацетилглюкозамина после его полного дезацетилирования, происходящего в результате последовательных кислотного и щелочного гидролиза. При этом отдельно кислотный (препарат ОПС) или щелочной (препарат ДЛПС) гидролиз не приводил к подобному эффекту.

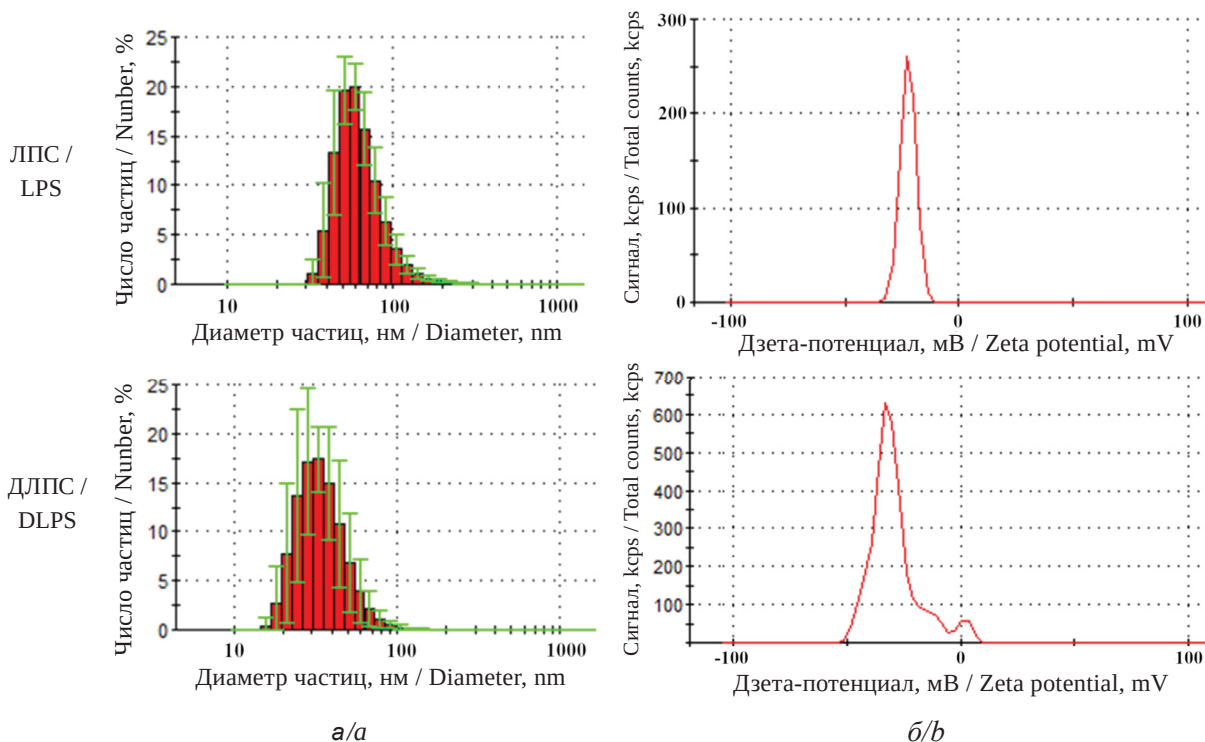


Рис. 1. Результаты измерения размера (а) и дзета-потенциала (б) надмолекулярных частиц, образуемых препаратами ЛПС и ДЛПС ризобактерии *Ochrobactrum cytisi* IPA7.2 в водной среде при концентрации 2 мг/мл. Погрешности показывают стандартные отклонения для 10 измерений

Fig. 1. Results of measuring the size (a) and zeta potential (b) of LPS and DLPS micelles from bacterium *Ochrobactrum cytisi* IPA7.2 in an aqueous medium at a concentration of 2 mg/ml. Bars show standard deviations ( $\pm$  SD) for 10 measurements

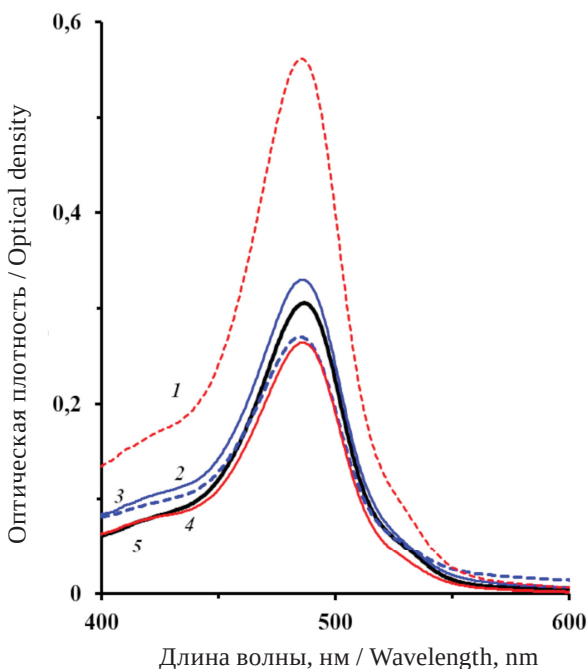


Рис. 2. Спектры продуктов фенол-серноокислотной реакции препаратов: 1 – ДПС; 2 – ЛПС; 3 – ДЛПС; 4 – ОПС; 5 – в сравнении со спектром глюкозы

Fig. 2. Spectra of the products of the phenol-sulfuric acid reaction for: 1 – DPS; 2 – LPS; 3 – DLPS; 4 – OPS; 5 – glucose

Анализ состава жирных кислот в препаратах ЛПС и ДЛПС показал преобладание остатков 3-гидрокситетрадекановой [14:0(3-ОН)], 3-гидроксигексадекановой [16:0(3-ОН)], 11,12-метилен-октадекановой [19с:0] и 27-гидроксиоктакозановой [28:0(27-ОН)] кислот. Жирнокислотный состав препаратов был качественно идентичен. Из чего был сделан вывод, что при щелочном гидролизе липид А не изменяется, что свидетельствует о химической устойчивости липида А из-за соединения жирных кислот четырьмя устойчивыми к щелочному гидролизу амидными связями (в положениях 2, 3, 2' и 3' обоих остатков 2,3-диамино-D-глюкозы (GlcN3N) липида А, как это ранее было показано для липида А типовых штаммов *Ochrobactrum anthropi* LMG 3301 [12] и *Phyllobacterium trifolii* ПЕТР02 [13].

Также провели изучение иммунохимических свойств полученных препаратов с использованием антител к клеткам *O. cytisi* IPA7.2 с помощью иммунодиффузионного анализа. Было обнаружено, что ДЛПС и ЛПС одинаково взаимодействуют с антителами. Таким образом, ацетильные группы, удалённые при щелочном гидролизе из полисахаридной части, не влияют





на взаимодействие с антителами. Это может быть объяснено структурой биологического звена О-полисахарида (рис. 3). Поскольку наибольший вклад во взаимодействие с антителами вносит терминальный и субтерминальные остатки моносахаридов [14, 15], которые в составе ОПС штамма *O. cytisi* IPA7.2 неацетилированы, аффинность антител, специфичных к нативному ОПС,

остаётся высокой. Удаление же ацетильной группы у третьего с терминального конца моносахаридного остатка не влияет на взаимодействие с антителами. Показано также, что препараты ОПС и ДПС не образуют полос преципитации с антителами в агарозном геле, что может быть связано с образованием растворимых иммунных комплексов.

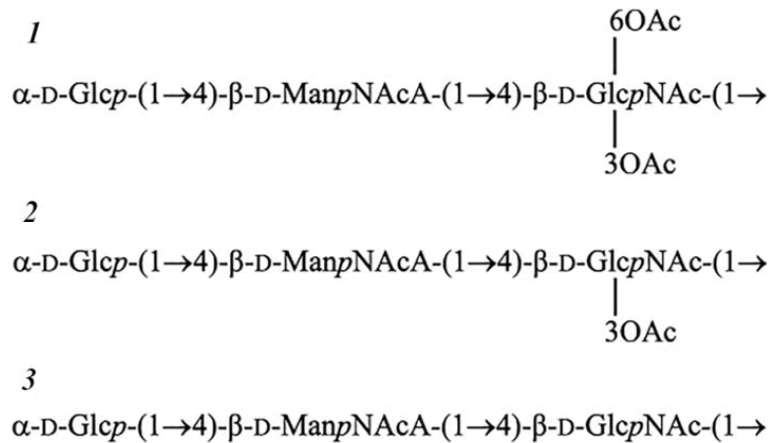


Рис. 3. Структуры терминальных олигосахаридных звеньев в составе ЛПС (1, 2) и ДЛПС (3). Нестехиометрическое ацетилирование О-полисахарида делает возможным ацетилирование остатка N-ацетилглюкозамина по положениям 3 и 6 (1) или только по положению 3 (2)

Fig. 3. Structures of terminal oligosaccharide repeats of LPS (1, 2) and DLPS (3). Non-stoichiometric acetylation of the O-polysaccharide makes it possible to acetylate the N-acetylglucosamine residue at positions 3 and 6 (1) or only at position 3 (2)

Был проведён эксперимент по изучению влияния полученного препарата ДЛПС на рост микрорастений картофеля в условиях *in vitro*. К 7-суточным микрорастениям картофеля были

добавлены препараты ЛПС и ДЛПС до конечной концентрации в среде культивирования 10 мкг/мл. Через 14 дней были измерены морфометрические показатели микрорастений (таблица).

**Морфометрические параметры 21-суточных микрорастений картофеля сорта Кондор, обработанных препаратами ЛПС и ДЛПС штамма *O. cytisi* IPA7.2**

Table. Morphometric parameters of 21-day-old potato microplants (cultivar Kondor) treated with LPS and DLPS of *O. cytisi* strain IPA7.2

Вариант	Длина побега, см	Кол-во корней, шт.	Длина корней, см	Сухая масса, мг	
				побега	корней
Контроль	10,78	6,70 a	11,0 a	339	172 a
ЛПС	9,50	7,75 b	14,7 b	313	198 b
ДЛПС	9,50	6,30 a	9,40 a	326	182 a
$F_{\text{факт}}$	1,09	4,87*	5,99*	1,23	4,74*
$\text{НСР}_{0,05}$	–	0,86	2,65	–	12

Примечание. \* Показывает присутствие достоверных различий для исследуемого параметра по данным однофакторного дисперсионного анализа ( $F_{\text{факт}} > F_{\text{теор}}$ ). Различные латинские буквы (a и b) указывают на статистическую значимость различий между вариантами при ранжировании средних по тесту Дункана.

Note. \* Indicates the presence of significant differences for the studied parameter according to one-way ANOVA ( $F_{\text{факт}} > F_{\text{теор}}$ ). Different Latin letters (a and b) indicate the statistical significance of the differences between the variants by ranking the means using the Duncan test.



Установлено, что препарат ЛПС достоверно повышал количество (+16%) и среднюю длину корней (+13%) микрорастений картофеля, а также увеличивал сухую массу корней на 15% относительно микрорастений контрольного варианта. При этом микрорастения, выращенные на среде с добавлением препарата ДЛПС, не отличались от контрольных. Таким образом, ацелирование полисахаридной части молекул ЛПС является важным для проявления биологической активности в отношении растений.

### Заключение

Полученные данные свидетельствуют о том, что нестехиометрическое ацелирование ОПС *O. cytisi* IPA7.2 не оказывает существенного влияния на взаимодействие со специфическими антителами, но является важным для взаимодействия молекул ЛПС с растениями.

### Список литературы

1. Raetz C. R., Whitfield C. Lipopolysaccharide endotoxins // *Ann. Rev. Biochem.* 2002. Vol. 71, iss. 1. P. 635–700. <https://doi.org/10.1146/annurev.biochem.71.110601.135414>
2. Kagan J. C. Lipopolysaccharide detection across the kingdoms of life // *Trends Immunol.* 2017. Vol. 38, iss. 10. P. 696–704. <https://doi.org/10.1016/j.it.2017.05.001>
3. Valvano M. A. Genetics and biosynthesis of lipopolysaccharide // *Molecular medical microbiology* / eds. Y.-W. Tang, M. Sussman, D. Liu, I. Pexton, J. Schwartzman. 2<sup>nd</sup> ed. Academic Press, 2015. P. 55–89. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-397169-2.00004-4>
4. Vanacore A., Vitiello G., Wanke A., Cavasso D., Clifton L. A., Mahdi L., Campanero-Rhodes M. A., Solís D., Wuhler M., Nicolardi S., Molinaro A. Lipopolysaccharide O-antigen molecular and supramolecular modifications of plant root microbiota are pivotal for host recognition // *Carbohydr. Polym.* 2022. Vol. 277. Article number 118839. P. 1–11. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2021.118839>
5. Ryan M. P., Pembroke J. T. The genus *Ochrobactrum* as major opportunistic pathogens // *Microorganisms.* 2020. Vol. 8 (11). Article number 1797. <https://doi.org/10.3390/microorganisms8111797>
6. Burygin G. L., Kargapolova K. Yu., Kryuchkova Ye. V., Avdeeva E. S., Gogoleva N. E., Ponomaryova T. S., Tkachenko O. V. *Ochrobactrum cytisi* IPA7.2 promotes growth of potato microplants and is resistant to abiotic stress // *World J. Microbiol. Biotechnol.* 2019. Vol. 35, iss. 4. Article number 55. P. 1–12. <https://doi.org/10.1007/s11274-019-2633-x>
7. Sigida E. N., Kargapolova K. Y., Shashkov A. S., Zdorovenko E. L., Ponomaryova T. S., Meshcheryakova A. A., Tkachenko O. V., Burygin G. L., Knirel Y. A. Structure, gene cluster of the O antigen and biological activity of the lipopolysaccharide from the rhizospheric bacterium *Ochrobactrum cytisi* IPA7.2 // *Int. J. Biol. Macromol.* 2020. Vol. 154. P. 1375–1381. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2019.11.017>
8. DuBois M., Gilles K. A., Hamilton J. K., Rebers P. T., Smith F. Colorimetric method for determination of sugars and related substances // *Anal. Chem.* 1956. Vol. 28, iss. 3. P. 350–356. <https://doi.org/10.1021/ac60111a017>
9. Bailey G. S. Ouchterlony double immunodiffusion // *The protein protocols handbook.* 1996. P. 749–752. [https://doi.org/10.1007/978-1-60327-259-9\\_135](https://doi.org/10.1007/978-1-60327-259-9_135)
10. Zdorovenko E. L., Kadykova A. A., Shashkov A. S., Varbanets L. D., Bulyhina T. V., Knirel Y. A. Lipopolysaccharide of *Pantoea agglomerans* 7969: Chemical identification, function and biological activity // *Carbohydr. Polym.* 2017. Vol. 165. P. 351–358. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2017.02.053>
11. Tkachenko O. V., Burygin G. L., Evseeva N. V., Fedonenko Y. P., Matora L. Y., Lobachev Y. V., Shchyogolev S. Y. Morphogenesis of wheat calluses treated with *Azospirillum* lipopolysaccharides // *Plant Cell Tissue Organ Cult.* 2021. Vol. 147, iss. 1. P. 147–155. <https://doi.org/10.1007/s11240-021-02114-2>
12. Velasco J., Moll H., Knirel Y. A., Sinnwell V., Moriyón I., Zähringer U. Structural studies on the lipopolysaccharide from a rough strain of *Ochrobactrum anthropi* containing a 2,3-diamino-2,3-dideoxy-D-glucose disaccharide lipid A backbone // *Carbohydr. Res.* 1998. Vol. 306, iss. 1–2. P. 283–290. [https://doi.org/10.1016/S0008-6215\(97\)10029-5](https://doi.org/10.1016/S0008-6215(97)10029-5)
13. Zamlynska K., Komanińska I., Zebracki K., Mazur A., Sroka-Bartnicka A., Choma A. Studies on lipid A isolated from *Phyllobacterium trifolii* PETP02<sup>T</sup> lipopolysaccharide // *Antonie Van Leeuwenhoek.* 2017. Vol. 110. P. 1413–1433. <https://doi.org/10.1007/s10482-017-0872-0>
14. Wang J., Villeneuve S., Zhang J., Lei P.S., Miller C. E., Lafaye P., Nato F., Szu S. C., Karpas A., Bystrycky S., Robbins J. B. On the antigenic determinants of the lipopolysaccharides of *Vibrio cholerae* O: 1, serotypes Ogawa and Inaba // *J. Biol. Chem.* 1998. Vol. 273, iss. 5. P. 2777–2783. <https://doi.org/10.1074/jbc.273.5.2777>
15. Haji-Ghassemi O., Blackler R. J., Martin Young N., Evans S. V. Antibody recognition of carbohydrate epitopes // *Glycobiology.* 2015. Vol. 25, iss. 9. P. 920–952. <https://doi.org/10.1093/glycob/cwv037>

### References

1. Raetz C. R., Whitfield C. Lipopolysaccharide endotoxins. *Ann. Rev. Biochem.*, 2002, vol. 71, iss. 1, pp. 635–700. <https://doi.org/10.1146/annurev.biochem.71.110601.135414>
2. Kagan J. C. Lipopolysaccharide detection across the kingdoms of life. *Trends Immunol.*, 2017, vol. 38, iss. 10, pp. 696–704. <https://doi.org/10.1016/j.it.2017.05.001>



3. Valvano M. A. Genetics and biosynthesis of lipopolysaccharide. In: Tang Y.-W., Sussman M., Liu D., Pexton I., Schwartzman J., eds. *Molecular medical microbiology*. 2<sup>nd</sup> ed. Academic Press, 2015, pp. 55–89. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-397169-2.00004-4>
4. Vanacore A., Vitiello G., Wanke A., Cavasso D., Clifton L. A., Mahdi L., Campanero-Rhodes M. A., Solís D., Wuhner M., Nicolardi S., Molinaro A. Lipopolysaccharide O-antigen molecular and supramolecular modifications of plant root microbiota are pivotal for host recognition. *Carbohydr. Polym.*, 2022, vol. 277, article number 118839, pp. 1–11. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2021.118839>
5. Ryan M. P., Pembroke J. T. The genus *Ochrobactrum* as major opportunistic pathogens. *Microorganisms*, 2020, vol. 8 (11), article number 1797. <https://doi.org/10.3390/microorganisms8111797>
6. Burygin G. L., Kargapolova K. Yu., Kryuchkova Ye. V., Avdeeva E. S., Gogoleva N. E., Ponomaryova T. S., Tkachenko O. V. *Ochrobactrum cytisi* IPA7.2 promotes growth of potato microplants and is resistant to abiotic stress. *World J. Microbiol. Biotechnol.*, 2019, vol. 35, iss. 4, article number 55, pp. 1–12. <https://doi.org/10.1007/s11274-019-2633-x>
7. Sigida E. N., Kargapolova K. Y., Shashkov A. S., Zdorovenko E. L., Ponomaryova T. S., Meshcheryakova A. A., Tkachenko O. V., Burygin G. L., Knirel Y. A. Structure, gene cluster of the O antigen and biological activity of the lipopolysaccharide from the rhizospheric bacterium *Ochrobactrum cytisi* IPA7.2. *Int. J. Biol. Macromol.*, 2020, vol. 154, pp. 1375–1381. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2019.11.017>
8. DuBois M., Gilles K. A., Hamilton J. K., Rebers P. T., Smith F. Colorimetric method for determination of sugars and related substances. *Anal. Chem.*, 1956, vol. 28, iss. 3, pp. 350–356. <https://doi.org/10.1021/ac60111a017>
9. Bailey G. S. Ouchterlony double immunodiffusion. *The protein protocols handbook*, 1996, pp. 749–752. [https://doi.org/10.1007/978-1-60327-259-9\\_135](https://doi.org/10.1007/978-1-60327-259-9_135)
10. Zdorovenko E. L., Kadykova A. A., Shashkov A. S., Varbanets L. D., Bulyhina T. V., Knirel Y. A. Lipopolysaccharide of *Pantoea agglomerans* 7969: Chemical identification, function and biological activity. *Carbohydr. Polym.*, 2017, vol. 165, pp. 351–358. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2017.02.053>
11. Tkachenko O. V., Burygin G. L., Evseeva N. V., Fedonenko Y. P., Matora L. Y., Lobachev Y. V., Shchyogolev S. Y. Morphogenesis of wheat calluses treated with *Azospirillum* lipopolysaccharides. *Plant Cell Tissue Organ Cult.*, 2021, vol. 147, iss. 1, pp. 147–155. <https://doi.org/10.1007/s11240-021-02114-2>
12. Velasco J., Moll H., Knirel Y. A., Sinnwell V., Moriyón I., Zähringer U. Structural studies on the lipopolysaccharide from a rough strain of *Ochrobactrum anthropi* containing a 2,3-diamino-2,3-dideoxy-D-glucose disaccharide lipid A backbone. *Carbohydr. Res.*, 1998, vol. 306, iss. 1–2, pp. 283–290. [https://doi.org/10.1016/S0008-6215\(97\)10029-5](https://doi.org/10.1016/S0008-6215(97)10029-5)
13. Zamlynska K., Komanięcka I., Zebracki K., Mazur A., Sroka-Bartnicka A., Choma A. Studies on lipid A isolated from *Phyllobacterium trifolii* PETP02<sup>T</sup> lipopolysaccharide. *Antonie Van Leeuwenhoek*, 2017, vol. 110, pp. 1413–1433. <https://doi.org/10.1007/s10482-017-0872-0>
14. Wang J., Villeneuve S., Zhang J., Lei P.S., Miller C. E., Lafaye P., Nato F., Szu S. C., Karpas A., Bystricky S., Robbins J. B. On the antigenic determinants of the lipopolysaccharides of *Vibrio cholerae* O: 1, serotypes Ogawa and Inaba. *J. Biol. Chem.*, 1998, vol. 273, iss. 5, pp. 2777–2783. <https://doi.org/10.1074/jbc.273.5.2777>
15. Haji-Ghassemi O., Blackler R. J., Martin Young N., Evans S. V. Antibody recognition of carbohydrate epitopes. *Glycobiology*, 2015, vol. 25, iss. 9, pp. 920–952. <https://doi.org/10.1093/glycob/cwv037>

Поступила в редакцию 11.12.2023; одобрена после рецензирования 19.12.2023; принята к публикации 23.12.2023  
The article was submitted 11.12.2023; approved after reviewing 19.12.2023; accepted for publication 23.12.2023



## БИОЛОГИЯ

Известия Саратовского университета. Новая серия. Серия: Химия. Биология. Экология. 2024. Т. 24, вып. 1. С. 51–57

*Izvestiya of Saratov University. Chemistry. Biology. Ecology*, 2024, vol. 24, iss. 1, pp. 51–57

<https://ichbe.sgu.ru>

<https://doi.org/10.18500/1816-9775-2024-24-1-51-57>

EDN: CKTYLC

Научная статья  
УДК 599.32.38:57.08

### К совершенствованию неинвазивного метода оценки обилия мышевидных грызунов и землероек в городской среде

О. В. Толкачёв ✉, Е. А. Малкова, К. В. Маклаков, Е. И. Куваева

Институт экологии растений и животных Уральского отделения РАН, Россия, 620144, г. Екатеринбург, ул. 8 Марта, д. 202

Толкачёв Олег Владимирович, кандидат биологических наук, старший научный сотрудник лаборатории функциональной экологии наземных животных, [olt@mail.ru](mailto:olt@mail.ru), <https://orcid.org/0000-0002-5673-7816>

Малкова Екатерина Александровна, кандидат биологических наук, научный сотрудник лаборатории функциональной экологии наземных животных, [bay\\_81@mail.ru](mailto:bay_81@mail.ru), <https://orcid.org/0000-0003-4908-9571>

Маклаков Кирилл Владимирович, кандидат биологических наук, научный сотрудник лаборатории популяционной экологии и моделирования, [kvmkvm6@outlook.com](mailto:kvmkvm6@outlook.com), <https://orcid.org/0000-0003-1089-9104>

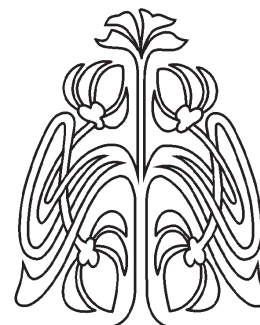
Куваева Екатерина Ивановна, старший лаборант-исследователь лаборатории популяционной экологии и моделирования, [kuvaeva\\_ei@ipae.uran.ru](mailto:kuvaeva_ei@ipae.uran.ru)

**Аннотация.** Предложено улучшение нового неинвазивного метода учета совокупного обилия мелких млекопитающих в городской среде. Проверяли два варианта возможного усовершенствования методики: использование бутылок уменьшенного объема (0,25 л vs 0,5 л) для повышения эргономичности и применение непрозрачных бутылок с целью повышения их привлекательности для животных. Бутылки большого и маленького размера с диаметром горлышка 38 мм скрепляли попарно и выкладывали линиями с интервалами в 5 м. Аналогично поступали с парами чёрных и прозрачных бутылок. В каждую закладывали приманку из ржаного хлеба с нерафинированным подсолнечным маслом. В последующие дни фиксировали заходы зверьков в бутылки. Обнаружили, что значимых различий в посещаемости бутылок объёмом 0,5 и 0,25 л нет, как и в случае с чёрными и прозрачными стенками. Таким образом, этот простой метод оценки обилия мелких млекопитающих может быть ещё более оптимизирован за счёт использования бутылок меньшего размера, цвет которых не имеет значения.

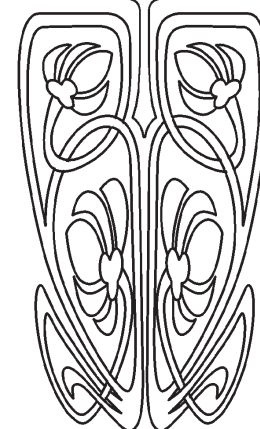
**Ключевые слова:** мелкие млекопитающие, грызуны, землеройки, обилие, неинвазивные методы, городская среда

**Благодарности.** Авторы признательны студентам УрГГУ А. В. Тришевской и В. А. Зубкову, студентам УрФУ А. С. Будимирову и А. В. Горшколеповой за помощь в полевой части исследования в 2020 г. Благодарим И. Ю. Толкачёву за фотографии.

Исследование выполнено в рамках государственного задания Института экологии растений и животных УрО РАН (122021000082-0, 122021000085-1).



НАУЧНЫЙ  
ОТДЕЛ





**Для цитирования:** Толкачев О. В., Малкова Е. А., Маклаков К. В., Куваева Е. И. К совершенствованию неинвазивного метода оценки обилия мышевидных грызунов и землероек в городской среде // Известия Саратовского университета. Новая серия. Серия: Химия. Биология. Экология. 2024. Т. 24, вып. 1. С. 51–57. <https://doi.org/10.18500/1816-9775-2024-24-1-51-57>, EDN: CKTYLC

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

Article

### Proposals for improving a non-invasive method for estimating abundance of mouse-like rodents and shrews in urban areas

O. V. Tolkachev ✉, E. A. Malkova, K. V. Maklakov, E. I. Kuvaeva

Institute of Plant and Animal Ecology Ural Centre RAS, 202 8th March St., Yekaterinburg 620144, Russia

Oleg V. Tolkachev, olt@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-5673-7816>

Ekaterina A. Malkova, bay\_81@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0003-4908-9571>

Kirill V. Maklakov, kvmkvm6@outlook.com, <https://orcid.org/0000-0003-1089-9104>

Ekaterina I. Kuvaeva, kuvaeva\_ei@ipae.uran.ru

**Abstract.** Previously we proposed a new reconnaissance method for estimating the total abundance of small mammals in urban areas. The method includes placing plastic bottles with bait inside equal distances apart. In this research we examined two ways to improve the method: using bottles of smaller volume (0,25 liters instead of 0,5 liters) to increase the ergonomics and using opaque bottles to make them more attractive for animals. Bigger and smaller bottles with neck diameter of 38 mm were fastened in pairs which were set in a transect with a five-meter spacing. The same was done with pairs of opaque and transparent bottles. A bait (rye bread with unrefined sunflower oil) was put into all the bottles. During the following days we recorded animals' visits into the bottles. It was found out that there are no significant differences in how often animals attend bottles of 0,25 liters and 0,5 liters, the same results were received for both transparent and opaque bottles. Thus, the simple method for estimating abundance of small mammals may be optimized by using smaller bottles, the colour of which is not important.

**Keywords:** small mammals, rodents, shrews, abundance, non-invasive methods, urban environment

**Acknowledgments.** The authors are grateful to the students of the Ural State Mining University Alexandra V. Trishevskaya and Vladimir A. Zubkov, the students of the Ural Federal University Alexander S. Budimirov and Anna V. Gorshkolepova for their assistance in the field part of the study in 2020. We thank Irina Yu. Tolkacheva for the photographs.

The study was carried out within the framework of the state assignment of the Institute of Plant and Animal Ecology of the Ural Branch of the Russian Academy of Sciences (122021000082-0, 122021000085-1).

**For citation:** Tolkachev O. V., Malkova E. A., Maklakov K. V., Kuvaeva E. I. Proposals for improving a non-invasive method for estimating abundance of mouse-like rodents and shrews in urban areas. *Izvestiya of Saratov University. Chemistry. Biology. Ecology*, 2024, vol. 24, iss. 1, pp. 51–57 (in Russian). <https://doi.org/10.18500/1816-9775-2024-24-1-51-57>, EDN: CKTYLC

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

## Введение

Значительная часть полевых исследований мелких млекопитающих предполагает оценку их обилия, для чего существует много методов, большинство из которых относятся к инвазивным, то есть подразумевающим умерщвление, травмирование или изъятие особей из природной среды. К этой группе относятся три наиболее распространённых метода отлова – давилками, живоловками, конусами (цилиндрами). Между тем в последнее десятилетие повышаются требования к гуманности исследований [1, 2]. Кроме того, применение инвазивных методов, подразумевающих безвозвратное изъятие животных из природной среды, может приводить к появлению артефактов в получаемых результатах [3, 4]. Отлов может быть нежелателен или запрещён по отношению к редким или находящимся под угрозой исчезновения видам. Однако именно такие животные требуют изучения в первую очередь. Использо-

вание традиционных методов отлова может быть затруднено из-за природно-климатических особенностей территории [5]. По этим причинам растёт значение неинвазивных методов для изучения мелких млекопитающих. К этой группе относятся косвенные методы, которые основаны на учёте признаков присутствия животных без непосредственного контакта с исследователем. Косвенные методы дают менее точные оценки обилия, но требуют наименьших затрат усилий и времени. Применительно к мелким млекопитающим косвенные учёты успешно применяются, прежде всего, к видам, которые оставляют хорошо заметные признаки своего присутствия – норы, «дома», тропы и тому подобное [6–9]. По отношению к скрытным видам такой подход обычно оказывается слишком ненадежным, требуя от исследователя высокой квалификации, но, тем не менее, дающим крайне субъективный результат. Существует также другая группа косвенных методов учёта, в которых используются технические приспособ-



собления разной степени сложности – следовые площадки, волосяные трубки, фотоловушки и т. п. [10–12]. Но они, помимо несомненных достоинств, обладают и рядом недостатков, в числе которых можно отметить сравнительно высокую стоимость и/или трудоёмкость, что накладывает ограничения на масштаб проводимых работ.

По мере расширения площадей городов по всему миру увеличивается и актуальность исследований мелких млекопитающих на урбанизированных территориях. Город является специфической, эволюционно новой средой обитания. Изменения касаются и абиотических, и биотических факторов в равной степени. Вследствие этого необходимо изучение новых закономерностей жизни мелких млекопитающих, составляющих важную часть урбанизированной фауны. Исследования в городских местообитаниях имеют собственную специфику. Например, здесь исследователи часто сталкиваются с кражами и вандализмом по отношению к научному оборудованию, что приводит к повышению издержек и может снижать объём и качество получаемых данных [13]. Городские ландшафты сильно фрагментированы и всегда включают островные и узкие линейные местообитания, что ограничивает применение некоторых традиционных методов. Ранее мы предложили косвенный, неинвазивный метод оценки общего обилия мелких млекопитающих, пригодный для использования в городской среде [14]. Учёт проводится с помощью пластиковых бутылок объёмом 0,5 л с горлышком 38 мм, которые содержат приманку и раскладываются в линии с интервалом 5 или 10 м. Доля бутылок, где приманка поедена или отсутствует, служит индексом обилия животных, который может быть пересчитан в относительную численность или плотность, соотносимую, соответственно, с отловом линиями давилок или площадками живоловок. Было показано, что за счёт дешевизны и простоты бутылочный метод подходит для масштабных рекогносцировочных исследований в городской среде и может применяться как в комплексе с другими способами, так и самостоятельно.

Цель данного исследования состояла в том, чтобы попытаться повысить эффективность и эргономичность описанного ранее метода. Мы предположили, что при использовании бутылок меньшего объёма (0,25 вместо 0,5 л) с тем же диаметром горлышка их посещаемость останется

неизменной, что позволит сократить суммарный объём бутылок, снизить трудозатраты на их транспортировку и раскладку. Кроме того, мы хотели проверить, есть ли у мелких млекопитающих предпочтения в выборе бутылок с разной освещённостью внутри, что могло бы повлиять на эффективность метода. Мы предположили, что бутылки с меньшей освещённостью будут посещаться чаще.

## Материалы и методы

Первый эксперимент имел целью сравнение посещаемости мелкими млекопитающими больших и малых бутылок и был проведён в июне 2019 г. на закрытой для посетителей территории дендрария Ботанического сада УрО РАН, Екатеринбург. В ходе предварительных опытов было установлено, что белки, в изобилии живущие в месте проведения исследования, чаще достают приманку из малых бутылок, что могло внести искажения результатов в тех случаях, когда их вмешательство не было очевидным. Поэтому большие и малые бутылки из полиэтилентерефталата скрепляли попарно скотчем (рис. 1, а). В этом случае постороннее вмешательство должно действовать на них в равной степени. В каждую бутылку помещали приманку в виде кубика ржаного хлеба размером 1,5 × 1,5 см, смоченного нерафинированным подсолнечным маслом. Пары бутылок (37 пар) раскладывали в линейную трансекту с интервалами 5 м. Заходы в каждую бутылку фиксировались каждое утро в течение 9 дней (туров). Отсутствие приманки и погрызы считались заходом одного зверька. Каждые два дня линии перемещались, чтобы избежать прикормки зверьков к бутылкам (всего четыре перемещения). На каждом месте было две проверки бутылок, после четвертого перемещения – одна. Таким образом, объем промышленного усилия составлял 666 бутылко-суток (37 × 2 × 9). Если пара бутылок имела признаки вмешательства нецелевых видов (белки, собаки, насекомые, люди), они не учитывались в дальнейших расчётах.

В ходе второго эксперимента проверяли гипотезу, что мелкие млекопитающие могут охотнее заходить в тёмные бутылки, напоминая норы по освещённости. Работу проводили в июле 2020 г. там же, где и первый эксперимент. Использовали скреплённые пары бутылок объёмом 0,5 л, одна из которых была покрашена чёрной эмалью (см. рис. 1, б).



Рис. 1. Пары пластиковых бутылок разных видов для сравнения их посещаемости мелкими млекопитающими: а – бутылки разного объёма; б – бутылки разной прозрачности (с разной освещённостью внутри)

Fig. 1. Pairs of plastic bottles of different types to compare their attendance by small milk feeders: a – bottles of different volumes; b – bottles of different transparency (with different illumination inside)

Пары выложили в виде решётки 12×12 с интервалами 10 м (144 пары, 288 бутылок). Использовали стандартную приманку, как описано выше. Заходы в чёрные и прозрачные бутылки зафиксировали однократно, спустя сутки после раскладки. Так же, как и в первом эксперименте, отмечали случаи, когда бутылки не были посещены или имели признаки постороннего вмешательства.

#### Статистическая обработка

Для сравнения долей посещённых бутылок разного объёма совокупно для всех повторностей использовали критерий  $\chi^2$ , при этом полученные значения сопоставлялись со средним (теоретическим). При сравнении без суммирования результатов повторностей применили тест Уилкоксона для связанных выборок, поскольку результат одной бутылки в паре потенциально

мог влиять на результат второй бутылки. В обоих экспериментах элементарной учетной единицей было одно посещение бутылки. Расчёты проводили в программном пакете STATISTICA 6.0, StatSoft Inc.

#### Результаты и их обсуждение

В ходе эксперимента по сравнению посещаемости бутылок разного объёма зафиксировано 211 заходов в большие бутылки и 207 в малые: посещены обе бутылки в паре – 203 случая; только большая – 8; только малая – 4; результаты аннулированы из-за постороннего вмешательства – 71; ни одна бутылка в паре не посещена – 47 (табл. 1). Различия при сравнении двух типов бутылок по сумме посещений были незначимыми ( $\chi^2 = 0,19$ ;  $df = 1$ ;  $p = 0,66$ ).

Таблица 1 / Table 1

Результаты посещений бутылок разного размера мелкими млекопитающими суммарно за 9 туров  
The total number of visits made by small mammals to bottles of different sizes over nine tours

Бутылки / Bottles	Посещённые / Visited		Непосещённые / Unvisited		Исключённые из анализа / Excluded from the analysis	
	Большие / Large	Малые / Small	Большие / Large	Малые / Small	Большие / Large	Малые / Small
Обе в паре / Both are paired	203	203	47	47	71	71
Одна в паре / One in a pair	8	4	4	8	–	–
Всего / Total	211	207	51	55	71	71
	418		106		142	



При более детальном анализе выяснилось, что процент посещённых точек учёта варьировал от 31 до 100% в разных турах, но различие по этому параметру между большими и малыми бутылками также было незначимым (рис. 2). Наименьшая посещаемость бутылок обоих типов

наблюдалась в первом туре, что, по-видимому, связано с эффектом неофобии. Последующие колебания общей посещаемости бутылок могут быть связаны с изменением активности мелких млекопитающих, вызванным погодными эффектами [8, 15, 16].

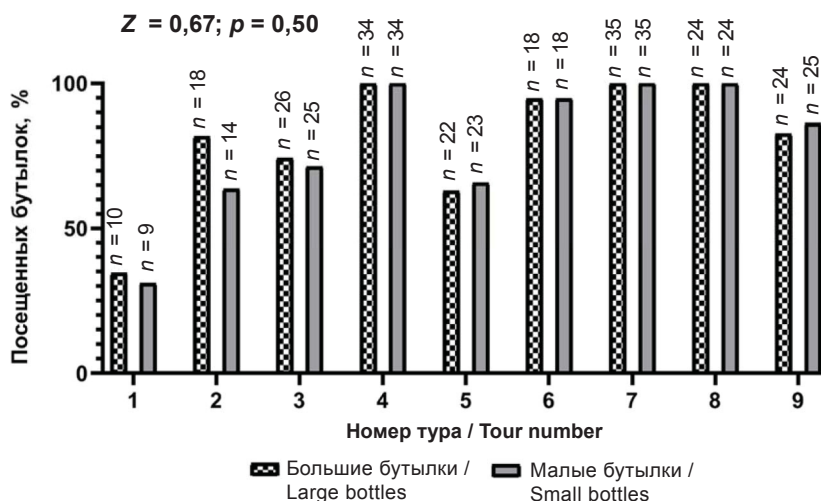


Рис. 2. Доля бутылок двух типов, посещённых в каждом туре (исключены из учёта пары бутылок с признаками внешнего вмешательства)

Fig. 2. The percentage of each type of bottle visited during each tour (excluding any bottles that showed signs of external interference)

В эксперименте по проверке влияния уровня освещения внутри бутылки на её посещаемость мелкими млекопитающими было зафиксировано равное число посещений (по 77) чёрной и прозрачной модификаций:

посещены обе бутылки в паре – 72 случая; только чёрная – 5; только прозрачная – 5; результаты аннулированы из-за постороннего вмешательства – 4; ни одна бутылка в паре не посещена – 58 (табл. 2).

Таблица 2 / Table 2

**Результаты посещения мелкими млекопитающими бутылок с разной прозрачностью стенок**  
**The total number of visits made by small mammals to bottles with varying degrees of wall transparency**

Бутылки / Bottles	Посещённые / Visited		Непосещённые / Unvisited		Исключённые из анализа / Excluded from the analysis	
	Чёрные / Black	Прозрачные / Transparent	Чёрные / Black	Прозрачные / Transparent	Чёрные / Black	Прозрачные / Transparent
Обе в паре / Both are paired	72	72	58	58	4	4
Одна в паре / One in a pair	5	5	5	5	–	–
Всего / Total	77	77	63	63	4	4
	154		126		8	

Полученные в ходе эксперимента результаты могут свидетельствовать о том, что ни объём, ни освещённость внутри бутылки не влияют на

её посещаемость мелкими млекопитающими. Поэтому для бутылочного метода учёта обилия животных целесообразно использовать малые





бутылки, так как они меньше, легче и, соответственно, удобнее. При этом бутылки могут быть как прозрачными, так и нет. Мы предполагали, что чёрные бутылки, минимально пропускающие свет, будут более привлекательны для мелких млекопитающих, использующих норы в качестве укрытий. Непрозрачные материалы используются и в других устройствах для изучения этой группы животных, например, в следовых тоннелях, включая имеющиеся в продаже [17–19]. Никто из указанных авторов не поясняет выбор цвета конструкции, но мы предполагаем, что они руководствуются тем, что светлые объекты редко встречаются на уровне земли в естественной среде и могут отпугивать мелких млекопитающих, ведущих преимущественно ночной образ жизни. Также есть данные, что грызуны чаще избегают следовых тоннелей с хорошей освещённостью внутри [20]. Можно предположить, что действие фактора освещённости в нашем исследовании всё-таки отличалось от ноля, но нивелировалось наличием приманки, которая мотивировала животных к риску.

Следует отметить, что результаты данной работы относятся только к тем видам мелких млекопитающих, которые, как установлено нами в сопутствующем исследовании, встречались в месте проведения работ: полевая мышь (*Apodemus agrarius* Pallas, 1771), лесная мышь (*Sylvaemus uralensis* Pallas, 1811) и серые полёвки (*Microtus spp.*).

Метод учёта обилия мелких млекопитающих с помощью бутылочек предназначен, в первую очередь, для использования в городской среде. Одним из его преимуществ является низкая подверженность кражам и вандализму, которые являются проблемой при исследованиях в антропогенных условиях по всему миру [13]. С этой точки зрения прозрачные бутылки предпочтительнее, поскольку они встречаются гораздо чаще чёрных и привлекают меньше внимания.

## Заключение

Таким образом, мы не обнаружили влияния объема бутылки или уровня освещённости внутри неё на посещаемость мелкими млекопитающими. При использовании этого метода мы рекомендуем выбирать бутылки объемом 0,25 л любой степени прозрачности.

## Список литературы

1. Sikes R. S., Gannon W. L. Guidelines of the American Society of Mammalogists for the use of wild mammals in research // *Journal of Mammalogy*. 2011. № 92. P. 235–253.
2. Sikes R. S., Bryan II J. A., Gannon L., Odell K., Tracy A. Guidelines of the American Society of Mammalogists for the use of wild mammals in research // *Journal of Mammalogy*. 2016. Vol. 97, № 3. P. 663–688. <https://doi.org/10.1093/jmammal/gyw078>
3. Kalinin A. A. The consequences of small mammal censuses by method of irreversible removal // *Russ. J. Ecol.* 2019. Vol. 50, № 3. P. 262–267.
4. Kalinin A. A., Aleksandrov D. Y., Kupriyanova I. F. Contributions of resident populations and nonresident activities of small mammals to the results of censuses performed using the permanent removal method // *Contemporary Problems of Ecology*. 2020. Vol. 13, № 2. P. 184–192.
5. DeSa M. A., Zweig C. L., Franklin H. P., Kitchens W. M., Kasbohm J. W. Comparison of small-mammal sampling techniques in tidal salt marshes of the central gulf coast of Florida // *Southeastern Naturalist*. 2012. Vol. 11, № 1. P. 89–100. <https://doi.org/10.1656/058.011.0109>
6. Hamm K. A., Diller L. V., Kitchen D. W. Comparison of indices to estimate abundance of dusky-footed woodrats // *Wildlife Society Bulletin*. 2002. Vol. 30, № 1. P. 64–70. <https://doi.org/10.2307/3784636>
7. Aplin K. P., Brown P. R., Jacob J., Krebs C. J., Singleton G. R. Field methods for rodent studies in Asia and the Indo-Pacific. Canberra, ACIAR Monograph, 2003. № 100. 223 p.
8. Карасева Е. В., Телицына А. Ю., Жигальский О. А. Методы изучения грызунов в полевых условиях. М.: Издательство ЛКИ, 2008. 416 с.
9. Bean W. T., Stafford R., Prugh L. R., Butterfield H. S., Brashares J. S. An evaluation of monitoring methods for the endangered giant kangaroo rat // *Wildlife Society Bulletin*. 2012. Vol. 36, № 3. P. 587–593. <https://doi.org/10.1002/wsb.171>
10. Blackwell G. L., Potter M. A., McLennan J. A. Rodent density indices from tracking tunnels, snap-traps and Fenn traps: Do they tell the same story? // *New Zealand Journal of Ecology*. 2002. Vol. 26, № 1. P. 43–51.
11. Nams V. O., Gillis E. A. Changes in tracking tube use by small mammals over time // *Journal of Mammalogy*. 2003. Vol. 84, № 4. P. 1374–1380. <https://doi.org/10.1644/BEH-001>
12. De Bondi N., White J. G., Stevens M., Cooke R. A comparison of the effectiveness of camera trapping and live trapping for sampling terrestrial small-mammal communities // *Wildlife Research*. 2010. № 37. P. 456–465. <https://doi.org/10.1071/WR10046>
13. Clarin B. M., Bitzilekis E., Siemers B. M., Goerlitz H. R. Personal messages reduce vandalism and theft of unattended scientific equipment // *Methods in Ecology and Evolution*. 2014. № 5. P. 125–131. <https://doi.org/10.1111/2041-210X.12132>
14. Tolkachev O. V., Malkova E. A., Maklakov K. V. A Reconnaissance method for small mammal abundance assessment in urban environments // *Russ. J. Ecol.* 2021. № 52. P. 329–339. <https://doi.org/10.1134/S106741362104010X>
15. Ермаков Л. Н., Николаев А. С., Фолитарек С. С. Активность и миграции // *Водяная полёвка: Образ вида*. М.: Наука, 2001. С. 290–305.



16. Фолитарек С. С., Максимов А. А. Сезонные кочевки, подвижность и активность водяной крысы // Водяная крыса и борьба с ней в западной Сибири. Новосибирск : Новосибирское кн. изд-во, 1959. 476 с.
17. Öberg M. The use of tracking tunnels to monitor the activity of small mammals in habitats associated with the northern wheatear (*Oenanthe oenanthe*). Master Thesis. Uppsala: Swedish University of Agricultural Sciences, 2009. 35 p.
18. Gillies C. A., Williams D. DOC tracking tunnel guide v2.5.2: Using tracking tunnels to monitor rodents and mustelids. Hamilton, Department of Conservation, Science & Capability Group. 2013. 14 p.
19. Ruffell J., Innes J., Didham R. K. Efficacy of chew-track-card indices of rat and possum abundance across widely varying pest densities // *New Zealand Journal of Ecology*. 2015. Vol. 39, № 1. P. 87–92.
20. Cooper A., Kelly C. L., King C. M., Miller S. D., Patty B. Do rats mind getting their feet dirty? Observing the behaviour of ship rats (*Rattus rattus*) towards footprint tracking tunnels // *New Zealand Journal of Zoology*. 2017. Vol. 45, № 1. P. 61–72. <https://doi.org/10.1080/03014223.2017.1361455>
- [The Method of Studying Rodents in the Wild Nature]. Moscow, LKI Publ., 2008. 416 p. (in Russian).
9. Bean W. T., Stafford R., Prugh L. R., Butterfield H. S., Brashares J. S. An evaluation of monitoring methods for the endangered giant kangaroo rat. *Wildlife Society Bulletin*, 2012, vol. 36, no. 3, pp. 587–593. <https://doi.org/10.1002/wsb.171>
10. Blackwell G. L., Potter M. A., McLennan J. A. Rodent density indices from tracking tunnels, snap-traps and Fenn traps: Do they tell the same story? *New Zealand Journal of Ecology*, 2002, vol. 26, no. 1, pp. 43–51.
11. Nams V. O., Gillis E. A. Changes in tracking tube use by small mammals over time. *Journal of Mammalogy*, 2003, vol. 84, no. 4, pp. 1374–1380. <https://doi.org/10.1644/BEH-001>
12. Bondi N. De, White J. G., Stevens M., Cooke R. A comparison of the effectiveness of camera trapping and live trapping for sampling terrestrial small-mammal communities. *Wildlife Research*, 2010, vol. 37, pp. 456–465. <https://doi.org/10.1071/WR10046>
13. Clarin B. M., Bitzilekis E., Siemers B. M., Goerlitz H. R. Personal messages reduce vandalism and theft of unattended scientific equipment. *Methods in Ecology and Evolution*, 2014, no. 5, pp. 125–131. <https://doi.org/10.1111/2041-210X.12132>
14. Tolkachev O. V., Malkova E. A., Maklakov K. V. A Reconnaissance method for small mammal abundance assessment in urban environments. *Russian Journal of Ecology*, 2021, no. 52, pp. 329–339. <https://doi.org/10.1134/S106741362104010X>
15. Erdakov L. N., Nikolaev A. S., Folitarek S. S. Activity and migrations. In: *Vodyanaya polevka: Obraz vida* [The Water Vole: Mode of the Species]. Moscow, Nauka, 2001, pp. 290–305 (in Russian).
16. Folitarek S. S., Maksimov A. A. Seasonal migrations, mobility and activity of the water rat. In: *Vodyanaya krysa i bor'ba s ney v zapadnoy Sibiri* [Water Rat and the fight against it in Western Siberia]. Novosibirsk, Novosibirskoe knizhnoe izdatel'stvo, 1959. 476 p. (in Russian).
17. Öberg M. *The use of tracking tunnels to monitor the activity of small mammals in habitats associated with the northern wheatear (Oenanthe oenanthe)*. Master Thesis. Uppsala, Swedish University of Agricultural Sciences, 2009. 35 p.
18. Gillies C. A., Williams D. *DOC tracking tunnel guide v2.5.2: Using tracking tunnels to monitor rodents and mustelids*. Hamilton, Department of Conservation, Science & Capability Group, 2013. 14 p.
19. Ruffell J., Innes J., Didham R. K. Efficacy of chew-track-card indices of rat and possum abundance across widely varying pest densities. *New Zealand Journal of Ecology*, 2015, vol. 39, no. 1, pp. 87–92.
20. Cooper A., Kelly C. L., King C. M., Miller S. D., Patty B. Do rats mind getting their feet dirty? Observing the behaviour of ship rats (*Rattus rattus*) towards footprint tracking tunnels. *New Zealand Journal of Zoology*, 2017, vol. 45, no. 1, pp. 61–72, <https://doi.org/10.1080/03014223.2017.1361455>

## References

1. Sikes R. S., Gannon W. L. Guidelines of the American Society of Mammalogists for the use of wild mammals in research. *Journal of Mammalogy*, 2011, no. 92, pp. 235–253.
2. Sikes R. S., Bryan II J. A., Gannon L., Odell K., Tracy A. Guidelines of the American Society of Mammalogists for the use of wild mammals in research. *Journal of Mammalogy*, 2016, vol. 97, no. 3, pp. 663–688. <https://doi.org/10.1093/jmammal/gyw078>
3. Kalinin A. A. The consequences of small mammal censuses by method of irreversible removal. *Russian Journal of Ecology*, 2019, vol. 50, no. 3, pp. 262–267.
4. Kalinin A. A., Aleksandrov D. Y., Kupriyana I. F. Contributions of resident populations and nonresident activities of small mammals to the results of censuses performed using the permanent removal method. *Contemporary Problems of Ecology*, 2020, vol. 13, no. 2, pp. 184–192.
5. DeSa M. A., Zweig C. L., Franklin Percival H., Kitchens W. M., Kasbohm J. W. Comparison of small-mammal sampling techniques in tidal salt marshes of the central gulf coast of Florida. *Southeastern Naturalist*, 2012, vol. 11, no. 1, pp. 89–100. <https://doi.org/10.1656/058.011.0109>
6. Hamm K. A., Diller L. V., Kitchen D. W. Comparison of indices to estimate abundance of dusky-footed woodrats. *Wildlife Society Bulletin*, 2002, vol. 30, no. 1, pp. 64–70. <https://doi.org/10.2307/3784636>
7. Aplin K. P., Brown P. R., Jacob J., Krebs C. J., Singleton G. R. *Field methods for rodent studies in Asia and the Indo-Pacific*. Canberra, ACIAR Monograph, 2003, no. 100. 223 p.
8. Karaseva E. V., Telitsina A. Yu., Zhigalsky O. A. *Metody izucheniya gryzunov v polevykh usloviyakh*

Поступила в редакцию 28.02.2023; одобрена после рецензирования 28.11.2023; принята к публикации 28.11.2023  
The article was submitted 28.02.2023; approved after reviewing 28.11.2023; accepted for publication 28.11.2023



Известия Саратовского университета. Новая серия. Серия: Химия. Биология. Экология. 2024. Т. 24, вып. 1. С. 58–66

*Izvestiya of Saratov University. Chemistry. Biology. Ecology*, 2024, vol. 24, iss. 1, pp. 58–66

<https://ichbe.sgu.ru>

<https://doi.org/10.18500/1816-9775-2024-24-1-58-66>, EDN: DNSCSQ

Научная статья

УДК 577.151



## Влияние ингибиторов фенолоксидаз на эффективность деколоризации малахитового зеленого бактериями рода *Azospirillum*

М. А. Купряшина<sup>1,2</sup> ✉, Е. Г. Пономарева<sup>1</sup>, А. С. Абдрахманова<sup>1,3</sup>

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

<sup>2</sup>Саратовский государственный медицинский университет имени В. И. Разумовского, Россия, 410012, г. Саратов, ул. Б. Казачья, д. 112

<sup>3</sup>Саратовский национальный исследовательский государственный университет имени Н. Г. Чернышевского, Россия, 410012, г. Саратов, ул. Астраханская, д. 83

Купряшина Мария Александровна, кандидат биологических наук, <sup>1</sup>заведующий лабораторией микробиологии, <sup>2</sup>ассистент кафедры микробиологии, [kupryashina\\_m@mail.ru](mailto: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](mailto:ponomareva_e@ibppm.ru), <https://orcid.org/0000-0003-3701-9090>

Абдрахманова Алена Сергеевна, <sup>1</sup>инженер лаборатории микробиологии, <sup>3</sup>магистрант кафедры микробиологии, [alena.chernova2018@yandex.ru](mailto:alena.chernova2018@yandex.ru), <https://orcid.org/0009-0005-2624-9415>

**Аннотация.** Активное использование синтетических красителей неотрывно связано с увеличивающимися темпами индустриализации. Однако из-за недостаточной результативности работы очистных сооружений до 40% красителей попадают в сточные воды в неизменном виде, загрязняя тем самым окружающую среду. Красители трифенилметанового ряда, в частности малахитовый зеленый, являются токсичными, аллергенными и канцерогенными. Способность к деколоризации и деградации синтетических красителей показана для некоторых бактерий и грибов, являющихся продуцентами фенолоксилирующих ферментов, в том числе и для бактерий рода *Azospirillum*. Многие факторы способны индуцировать и ингибировать эффективность биodeградации, в частности ферментативные системы, вовлеченные в процессы обесцвечивания. Представлены результаты исследования влияния типичных деактивирующих агентов фенолоксидаз, таких как H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, ЭДТА, ДДС-На, β-меркаптоэтанол, дитиотреитол, твин и азид натрия на активность фенолоксидаз азоспирилл и способность к деколоризации малахитового зеленого. Обнаружено, что твин и азид натрия не оказывают ингибирующего воздействия на ферменты азоспирилл и проявляют стабилизирующее действие на весь комплекс в целом. Ингибирующий эффект от 60 до 100% отмечен для лакказной и Mn-пероксидазной активности под действием β-меркаптоэтанол, дитиотреитола и ЭДТА, что прямо пропорционально отражается на степени деколоризации малахитового зеленого. При сравнении полученных сведений с данными литературы для ферментов фенолоксидазного комплекса азоспирилл выявлены не характерные для классических фенолоксилирующих ферментов свойства.

**Ключевые слова:** *Azospirillum*, фенолоксидазы, малахитовый зеленый, деколоризация

**Благодарности.** Работа выполнена при финансовой поддержке Российского научного фонда (проект № 23-24-00570).

**Для цитирования:** Купряшина М. А., Пономарева Е. Г., Абдрахманова А. С. Влияние ингибиторов фенолоксидаз на эффективность деколоризации малахитового зеленого бактериями рода *Azospirillum* // Известия Саратовского университета. Новая серия. Серия: Химия. Биология. Экология. 2024. Т. 24, вып. 1. С. 58–66. <https://doi.org/10.18500/1816-9775-2024-24-1-58-66>, EDN: DNSCSQ

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

Article

**The effects of phenoloxidase inhibitors on the efficacy of malachite green decolorization by *Azospirillum* bacteria**

М. А. Kupryashina<sup>1,2</sup> ✉, Е. Г. Ponomareva<sup>1</sup>, А. S. Abdrakhmanova<sup>1,3</sup>

<sup>1</sup>Institute of Biochemistry and Physiology of Plants and Microorganisms, Saratov Scientific Centre of the Russian Academy of Sciences (IBPPM RAS) 13 Entuziastov Ave., Saratov 410049, Russia

<sup>2</sup>Saratov State Medical University named after V. I. Razumovsky, 112 Bolshaya Kazachia St., Saratov 410012, Russia

<sup>3</sup>Saratov State University, 83 Astrakhanskaya St., Saratov 410012, Russia

Maria A. Kupryashina, [kupryashina\\_m@mail.ru](mailto:kupryashina_m@mail.ru), <https://orcid.org/0000-0002-2136-5362>

Elena G. Ponomareva, [ponomareva\\_e@ibppm.ru](mailto:ponomareva_e@ibppm.ru), <https://orcid.org/0000-0003-3701-9090>

Alena S. Abdrakhmanova, [alena.chernova2018@yandex.ru](mailto:alena.chernova2018@yandex.ru), <https://orcid.org/0009-0005-2624-9415>



**Abstract.** Synthetic dyes are widely used in various branches of light industry. Due to the insufficient efficiency of industrial painting processes, a large percentage of dyes end up in the wastewater of enterprises in an unmodified form, which creates a huge risk of environmental pollution with these compounds. Triphenylmethane dyes, in particular malachite green, are toxic, allergenic and carcinogenic compounds. To date, biodegradability of triphenylmethane dyes has been shown for some bacteria and fungi producing phenol oxidase complex enzymes, including soil associative bacteria of the genus *Azospirillum*. Many factors are capable of inducing and inhibiting the biodegradation efficiency, in particular the enzymatic systems that are involved in bleaching processes. In the present work we studied the effects of typical deactivating agents of phenol oxidases, such as  $H_2O_2$ , EDTA, SDS-Na,  $\beta$ -mercaptoethanol, dithiothreitol, Tween, and sodium azide, on the azospirilla's phenol oxidases activity and the ability to decolorize malachite green. It was found that Tween and sodium azide do not have an inhibitory effect on azospirillum enzymes and exhibit a total stabilizing effect on the entire complex. An inhibitory effect from 60 to 100% was noted for laccase and Mn-peroxidase activity under the action of  $\beta$ -mercaptoethanol, dithiothreitol and EDTA, which is directly proportional to the decolorization rate of malachite green. Compared with the latest issues on classical phenol-oxidizing enzymes, our data revealed non-typical properties of the phenol oxidase complex enzymes of azospirillum.

**Keywords:** *Azospirillum*, phenol oxidases, malachite green, decolorization

**Acknowledgements:** This work was supported by the Russian Science Foundation (project No. 23-24-00570).

**For citation:** Kupryashina M. A., Ponomareva E. G., Abdrakhmanova A. S. The effects of phenoloxidase inhibitors on the efficacy of malachite green decolorization by *Azospirillum* bacteria. *Izvestiya of Saratov University. Chemistry. Biology. Ecology*, 2024, vol. 24, iss. 1, pp. 58–66 (in Russian). <https://doi.org/10.18500/1816-9775-2024-24-1-58-66>, EDN: DNSCSQ

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 особое внимание уделяется токсикологии окружающей среды из-за злоупотребления в использовании синтетических красителей и серьезных последствий от их воздействия на водные и земельные ресурсы [1, 2]. К сожалению, обычные физико-химические методы обработки промышленных стоков, включающие сорбцию, химическую флокуляцию, фильтрацию или коагуляцию, оказались малоэффективны [3, 4]. В качестве альтернативы начались активные исследования редукции красителей различными биологическими объектами. Ранее мы показали, что непатогенные ассоциативные микроорганизмы рода *Azospirillum* обладают фенолоксидазной активностью [5–8]. Окислительная способность бактериальных фенолоксидаз несколько ниже грибных, при этом отмечаются различия не только в кинетических, но и в каталитических свойствах ферментов [9]. Учитывая опыт применения фенолоксидаз в различных отраслях промышленности, первостепенное значение имеет поиск ферментов с нетипичными свойствами [10, 11]. Знания об активаторах и ингибиторах фенолоксидаз актуальны в контексте промышленного применения, так как ряд органических и неорганических соединений, присутствующих в окружающей среде, способен оказывать воздействие на ферментативную активность [12]. Ранее нами обнаружена способность азоспирилл, благодаря наличию пула фенолоксилящих ферментов, обесцвечивать малахитовый зеленый – синтетический краситель трифенилметанового ряда, обладающий мутагенными и канцерогенными

свойствами [13]. Многие факторы способны индуцировать и ингибировать эффективность биodeградации, воздействуя на ферментативные системы бактерий, вовлеченные в процессы обесцвечивания. Выяснение влияния различных эффекторов на активность ферментов фенолоксидазного комплекса и процесс биodeколоризации имеет важное значение для разработки прикладных технологий.

Цель работы – оценка влияния таких соединений, как  $H_2O_2$ , ЭДТА (этилендиаминтетраацетат), ДДС-На (додецилсульфат натрия),  $\beta$ -меркаптоэтанол, дитиотреитол на активность фенолоксидаз азоспирилл и эффективность деколоризации малахитового зеленого.

## Материалы и методы

В настоящей работе в качестве биообъекта был взят штамм *Azospirillum brasilense* SR80 из коллекции ризосферных микроорганизмов ИБФРМ РАН. Культивирование бактерий проводили в жидкой малатно-солевой среде при 37°C. Для оценки действия типичных деактивирующих агентов фенолоксидаз на уровень ферментативной активности и эффективности обесцвечивания малахитового зеленого, бактерии культивировали в стационарных условиях без постоянного перемешивания в течение 48 ч, далее осаждали центрифугированием в течение 15 мин при 7000 g, супернатант использовали для дальнейших анализов. В эксперимент были взяты соединения:  $H_2O_2$ , ЭДТА, ДДС-На,  $\beta$ -меркаптоэтанол, дитиотреитол, твин 80 и азид натрия. Вещества вносили в инкубационную смесь в конечной концентрации 2 мМ (концен-



трация была выбрана исходя из данных литературных источников). Оценку влияния данных соединений на активность лакказ, лигнин- и Мп-пероксидаз проводили в соответствии со стандартной методикой [8]. Удельную активность выражали в единицах на 1 мг белка. О содержании белка судили по количественной реакции с реактивом Бредфорд [14]. Образец культуральной жидкости прединкубировали с исследуемым соединением в течение 10 мин при комнатной температуре с последующим измерением удельной активности ферментов. Кинетическое измерение начинали с добавления субстратов в соответствующем буферном растворе. В качестве контроля выступала удельная активность фермента, детектируемая в образцах без внесения исследуемых соединений. Параллельно, для того чтобы подтвердить, что исследуемые соединения не участвуют в ферментативных реакциях с вератриловым спиртом и 2,6-диметоксифенолом, проводили измерение оптической плотности в инкубационной смеси без добавления образца.

Оценку эффективности обесцвечивания малахитового зеленого проводили в 96-луночных планшетах с плоским дном. Сначала в лунки вносили образцы культуральной жидкости, инкубировали с исследуемым соединением в течение 10 мин при комнатной температуре, далее добавляли малахитовый зеленый в конечной концентрации 1мМ. Показания оптической плотности проводили на планшетном спектрофотометре Spark 10 M («Тесан», Швейцария), в режиме фотометрии при 620 нм в цикле 3 измерений с интервалом 3 ч при термостатировании при 27°C. Эффективность деколоризации рассчитывали по формуле [15]:

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

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

### Результаты и их обсуждение

В ходе данной работы было исследовано влияние  $\text{H}_2\text{O}_2$ , ЭДТА, ДДС-Na,  $\beta$ -меркаптоэтанола, дитиотреитола, твина 80 и азида натрия на внеклеточную лакказную, лигнин- и Мп-пероксидазную активность азоспирилл и эф-

фективность деколоризации синтетического красителя – малахитового зеленого. В эксперимент был взят штамм *Azospirillum brasilense* SR80, для которого ранее показаны высокие уровни продукции фенолоксилирующих ферментов. В качестве модельного синтетического красителя был взят малахитовый зеленый (тетраметил-4,4-диаминотрифенилметан). Как видно из представленных графиков, типичные деактивирующие агенты фенолоксидаз оказывали как стимулирующее, так и ингибирующее действие на активность ферментов в нашем эксперименте (рис. 1). На эффективность обесцвечивания малахитового зеленого выбранные деактивирующие агенты также оказывали различное влияние (рис. 2).

Наиболее сильным деактивирующим эффектом в отношении всех исследуемых ферментов фенолоксидазного комплекса азоспирилл обладал  $\beta$ -меркаптоэтанол. Широко известно, что многие белки денатурируют в присутствии  $\beta$ -меркаптоэтанола из-за восстановления дисульфидных связей. Поэтому меркаптоэтанол часто используют при исследовании структуры белков, например, для перевода всех молекул белка из олигомерного в мономерное состояние [16]. Прединкубация образцов культуральной жидкости SR80 с меркаптоэтанолом снижала активность лигнин- и Мп-пероксидаз в 1.5 раза (см. рис. 1), в то время как для *Aspergillus terreus*, *Trametes versicolor*, *Phanerochaete chrysosporium* была показана полная дезактивация лигнин- и Мп-пероксидаз под действием аналогичных концентраций  $\beta$ -меркаптоэтанола [17–19]. Внеклеточная активность лакказы азоспирилл под действием  $\beta$ -меркаптоэтанола инактивировалась на 90% (см. рис. 1), аналогичная тенденция отмечалась для термофильной бактерии *Cohnella* sp. Снижение активности фермента в присутствии  $\beta$ -меркаптоэтанола может быть связано с восстановлением окисленного субстрата сульфгидрильной группой [20]. В то же время присутствие  $\beta$ -меркаптоэтанола в среде культивирования лишь незначительно снижало эффективность деколоризации малахитового зеленого взятым в эксперимент штаммом.

Иная картина наблюдалась в отношении азида натрия. Для большинства лакказ и пероксидаз лигнинолитических комплексов грибов было показано полное ингибирование ферментативной активности в присутствии азида натрия [11, 19, 21, 22]. Предполагается, что азид натрия блокирует перенос электронов,

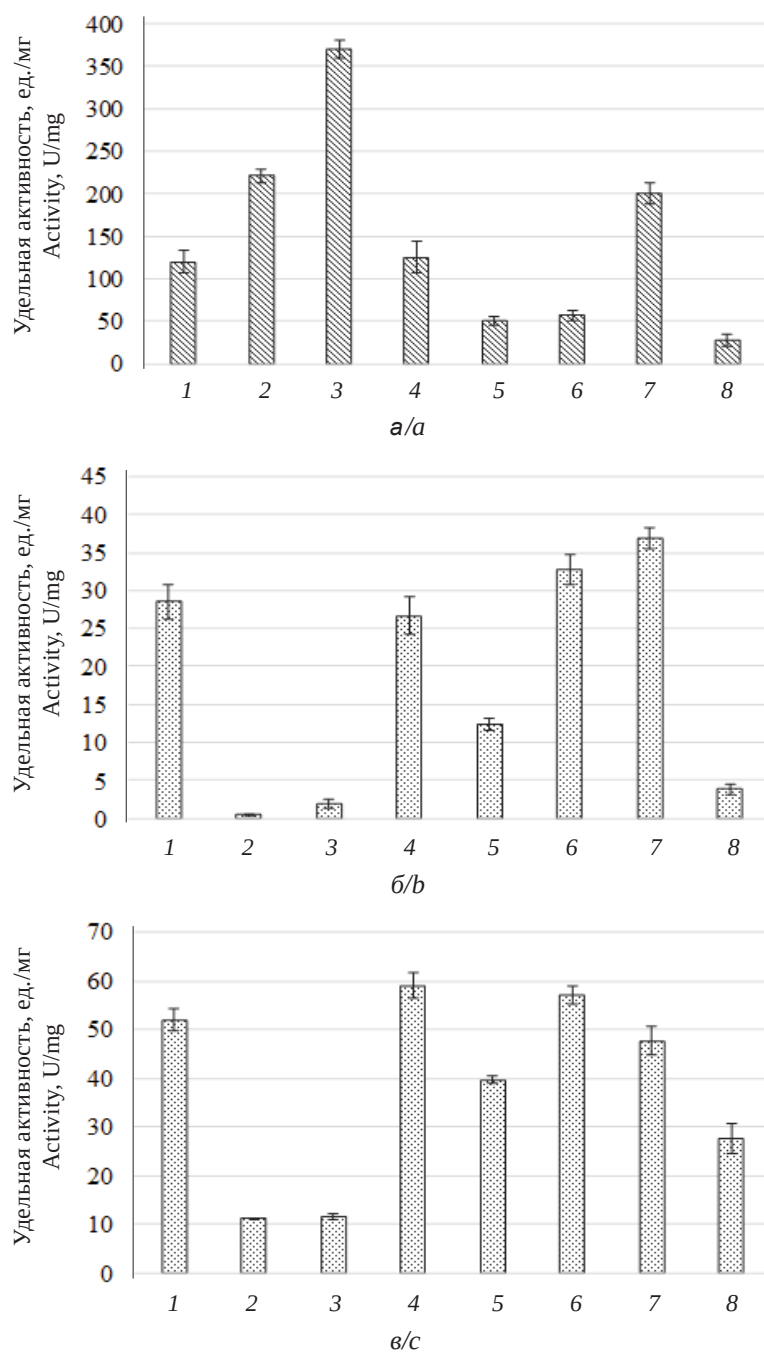


Рис. 1. Удельная активность внеклеточной лигнин-пероксидазы (а), лакказы (б), Мп-пероксидазы (в) *A. brasilense* SR80: 1 – контроль, 2 – ЭДТА, 3 – дитиотрейтол, 4 – азид натрия, 5 – Na-ДДС, 6 – H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, 7 – твин 80, 8 – β-меркаптоэтанол

Fig. 1. Activity of extracellular lignin peroxidase (a), laccase (b), Mn-peroxidase (c) *A. brasilense* SR80: 1 – control, 2 – EDTA, 3 – dithiothreitol, 4 – sodium azide, 5 – sodium dodecyl sulfate, 6 – H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, 7 – twin 80, 8 – β-mercaptoethanol

из-за чего фермент теряет свою окислительную способность [23]. NaN<sub>3</sub> снижает активность бактериальных лакказ на 45–48% [20, 24]. Однако для исследуемого штамма установлено лишь незначительное снижение лакказной и

Мп-пероксидазной активности под действием азид натрия, при этом на активность лигнин-пероксидазы данное соединение не оказывало влияния вовсе (см. рис. 1). Стоит отметить, что на лакказную активность *Bacillus* sp. NaN<sub>3</sub> так-

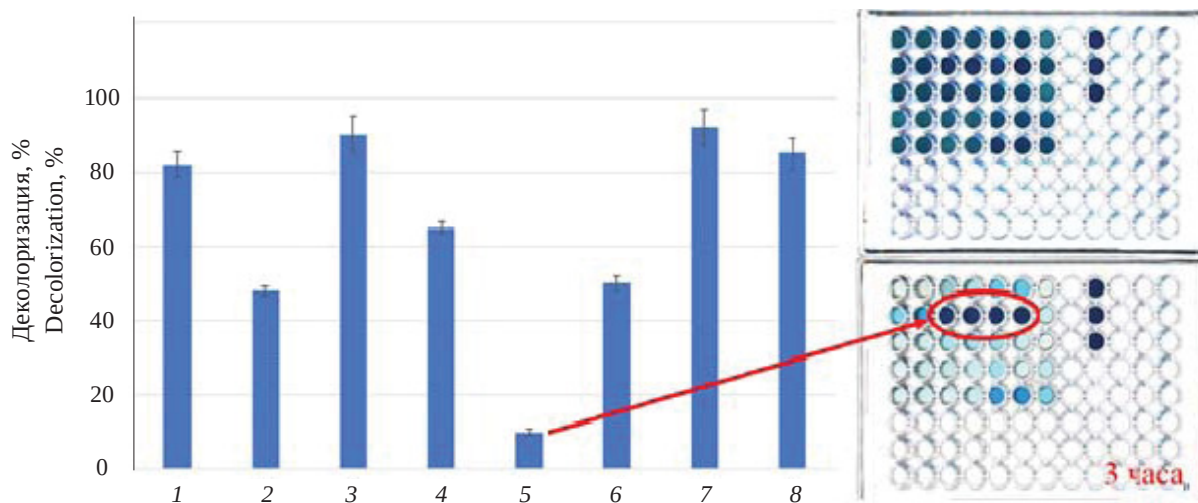


Рис. 2. Эффективность деколоризации малахитового зеленого *A. brasilense* SR80: 1 – контроль, 2 – ЭДТА, 3 – дитиотрейтол, 4 – азид натрия, 5 – Na-ДДС, 6 – H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, 7 – твин 80, 8 – β-меркаптоэтанол  
Fig. 2. Efficiency of decolorization of malachite green *A. brasilense* SR80: 1 – control, 2 – EDTA, 3 – dithiothreitol, 4 – sodium azide, 5 – sodium dodecyl sulfate, 6 – H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, 7 – twin 80, 8 – β-mercaptoethanol

же не оказывал никакого эффекта [24]. Обесцвечивание синтетического красителя в среде снижалось на 30% (см. рис. 2).

Согласно данным литературы, также достаточно сильным ингибитором общей фенолоксидазной активности является дитиотрейтол [11]. Однако в ряде работ показано, что подавление активности лакказы дитиотрейтолом имеет обратимый характер, и с увеличением времени инкубации в реакционной смеси наблюдается образование окисленных катион-радикалов. Предполагается, что в данном случае дитиотрейтол выступает не в роли ингибитора ферментативной реакции, а является конкурентом по отношению к хромагенному субстрату [11]. Активность Mn-пероксидазы снижалась в 4.3 раза в присутствии дитиотрейтола (см. рис. 1), аналогичное влияние отмечалось и для грибных Mn-пероксидаз [25, 26]. В то же время данное вещество проявляло стимулирующий эффект в отношении лигнин-пероксидазы, в ходе эксперимента мы детектировали увеличение ферментативной активности более, чем в 2.5 раза (см. рис. 1). Повышенная активность фермента в присутствии дитиотрейтола может указывать на важную роль восстановленных SH-групп в осуществлении каталитического процесса. Также нами не отмечалось снижение способности бактерии к деколоризации красителя.

Этилендиаминтетраацетат является хелатором ионов двухвалентных металлов, в связи

с чем выступает в роли ингибитора многих металлсодержащих ферментов, и, в свою очередь, не обладает строгой специфичностью к блокированию активности фенолоксидаз. Как для грибных, так и для бактериальных лакказ ЭДТА является сильнейшим ингибитором, полностью подавляющим активность фермента даже при низких концентрациях (0.02–0.1 мМ) [11, 20]. Для внеклеточной лакказной активности азоспирилл также отмечалось полное ингибирование активности фермента под действием ЭДТА. В работе Vandana с соавторами при исследовании стимулирующего/ингибирующего действия данного соединения в отношении лигнин-пероксидазы *Phanerochaete chrysosporium* отмечалось нетипичное увеличение активности фермента [19], аналогичные данные были получены в нашей работе. Лигнин-пероксидазная активность азоспирилл в условиях эксперимента увеличивалась в 3 раза (см. рис. 1). Во многих работах сообщается о частичном ингибировании активности Mn-пероксидазы ЭДТА за счет образования комплекса с железопропорферином, являющимся кофактором фермента [17, 18, 22]. Для Mn-пероксидазы азоспирилл было характерно снижение активности фермента до 70% от начального уровня. Снижение эффективности обесцвечивания красителя отмечалось более чем на 50% от контроля (см. рис. 2).

Перекись водорода, несмотря на то что она является природным субстратом как лигнин-,



так и Mn-пероксидаз, способна ингибировать данные ферменты. Показано, что в случае внесения большего количества перекиси водорода лигнинолитические пероксидазы инактивируются с разрушением гема. При этом грибные лигнин-пероксидазы более чувствительны к инактивации перекисью водорода, по сравнению с Mn-пероксидазами [25]. В ходе нашего исследования при прединкубировании исследуемых образцов культуральной жидкости азоспирилл с перекисью водорода отмечалось снижение лигнин-пероксидазной активности более, чем на 50% (см. рис. 1). При этом эффективность обесцвечивания красителя резко снижалась (см. рис. 2).

Лакказная активность исследуемого штамма азоспирилл незначительно повышалась в присутствии перекиси водорода, в то время как для грибных лакказ *Psilocybe castanella*, *Lentinus crinitus*, *Trametes villosa*, *Pleurotus ostreatus*, *Aspergillus niger* показана инактивация ферментативной активности на 40–80% под воздействием  $H_2O_2$  (см. рис. 1) [26].

При исследовании влияния поверхностно-активных веществ на активность ферментов фенолоксидазного комплекса в качестве дезактивирующего агента был выбран твин 80. Как оказалось, присутствие данного соединения в инкубационной среде незначительно влияло на обесцвечивание малахитового зеленого. Показано, что на фенолоксидазную активность актиномицета *Nonomuraea gerenzanensis* сильно влияло присутствие твина 80 в реакционной среде, инактивируя ферменты в 2 раза [27]. Также резкий ингибирующий эффект отмечался для лакказ и Mn-пероксидаз *Trametes polyzona* [22]. Полученные данные о влиянии твина на ферменты фенолоксидазного комплекса азоспирилл согласуются с работой Shafeia с соавторами, в которой показано стимулирующее действие на активность бактериальных лакказ от внесения в инкубационную смесь данного поверхностного вещества в концентрации от 0.1 до 5 мМ [20].

Неожиданные данные были получены при исследовании влияния другого поверхностно-активного вещества, а именно ДДС-Na, на активность фенолоксидаз азоспирилл (см. рис. 1). Согласно данным литературы, ДДС-Na в концентрации от 0.5 до 25 мМ стимулирует увеличение активности лакказы термофильной бактерии *Cohnella* на 41%, а также вызывает индукцию активности *A. lipoferum*. [20, 28, 29].

Однако полученные нами данные свидетельствуют о снижении ферментативной активности как оксидаз, так и пероксидаз фенолоксидазного комплекса азоспирилл при воздействии ДДС-Na, что характерно для грибных ферментов [30]. При этом происходило практически полное ингибирование деколоризации малахитового зеленого (см. рис. 2).

### Заключение

Таким образом, в ходе проведенной экспериментальной работы исследовано влияние типичных деактивирующих агентов фенолоксидаз, таких как  $H_2O_2$ , ЭДТА, ДДС-Na,  $\beta$ -меркаптоэтанол, дитиотреитол, твин и азид натрия, на степень деколоризации малахитового зеленого и активность лакказ, лигнин- и Mn-пероксидаз. Обнаружено, что твин и азид натрия не оказывают ингибирующего воздействия на ферменты азоспирилл и проявляют стабилизирующее действие на весь комплекс в целом. Типичные деактивирующие агенты фенолоксидаз, такие как  $H_2O_2$ , ЭДТА, ДДС-Na,  $\beta$ -меркаптоэтанол, дитиотреитол, твин и азид натрия, оказывали как стимулирующее, так и ингибирующее действие на внеклеточную ферментативную активность азоспирилл и обесцвечивание малахитового зеленого. Ингибирующий эффект от 60 до 100% отмечен для лакказной и Mn-пероксидазной активности под действием  $\beta$ -меркаптоэтанола, дитиотреитола и ЭДТА, что прямо пропорционально отражается на степени деколоризации малахитового зеленого. Показано, что данные соединения не вызывают дестабилизации лигнин-пероксидазы, что свидетельствует об атипичном строении молекулы фермента, вследствие чего белок не теряет активность при взаимодействии с хелатором и не денатурирует из-за восстановления дисульфидных связей. Отмечено, что аналогичные хелаторы и поверхностно-активные вещества приводят к полной дезактивации процесса обеспечения синтетических красителей для многих биообъектов, для *A. brasilense* SR80 100% ингибирование деградации малахитового зеленого установлено только для ДДС-Na. При сравнении полученных сведений с данными литературы для ферментов фенолоксидазного комплекса азоспирилл выявлены свойства не характерные для классических фенолоксидазных и лигнинолитических ферментов.





## Список литературы

1. Pearce C. I., Lloyd J. R., Guthrie J. T. The removal of color from textile wastewater using whole bacterial cells: A review // *Dyes Pigments*. 2003. Vol. 58. P. 179–196. [https://doi.org/10.1016/S0143-7208\(03\)00064-0](https://doi.org/10.1016/S0143-7208(03)00064-0)
2. Mourid E., Lakraimi M., Khatlaji E. El., Benaziz L., Berraho M. Removal of remazol brilliant blue R from aqueous solution by adsorption using a calcined layered double hydroxide [Zn<sub>2</sub>-Al-CO<sub>3</sub>] // *JMES*. 2017. Vol. 8, № 3. P. 921–930. <https://doi.org/10.1007/s42452-020-2063-2>
3. Forgacs E., Cserhati T., Oros G. Removal of synthetic dyes from wastewaters: A review // *Environment International*. 2004. Vol. 30. P. 953–971. <https://doi.org/10.1016/j.envint.2004.02.001>
4. Jadhav J. P., Kalyani D. C., Telke A. A., Phugare S. S., Govindwar S. P. Evaluation of the efficacy of a bacterial consortium for the removal of color, reduction of heavy metals, and toxicity from textile dye effluent // *Bioresour. Technol.* 2010. № 101. P. 165–173. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2009.08.027>
5. 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.
6. Купряшина М. А., Селиванов Н. Ю., Никитина В. Е. Выделение и очистка Mn-пероксидазы *Azospirillum brasilense* Sp245 // *Прикладная биохимия и микробиология*. 2012. Т. 48, № 1. С.23–26.
7. 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. <https://doi.org/10.18500/1816-9775-2017-17-2-170-176>
8. 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. <https://doi.org/10.7868/S0026365615060051>
9. 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. <https://doi.org/10.1039/c1np00042j>
10. Falade A. O., Eyisia O. A. L., Mabinya L. V., Nwodo U. U., Okoh A. I. Peroxidase production and ligninolytic potentials of freshwater bacteria *Raoultella ornithinolytica* and *Ensifera dhaerens* // *Biotechnol. Report*. 2017. Vol. 16. P. 2–17. <https://doi.org/10.1016/j.btre.2017.10.001>
11. 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. 6:e00394. <https://doi.org/10.1002/mbo3.394>
12. Ahmad M., Taylor C. R., Pink D., Burton K., Eastwood D., Bending G. D., Bugg T. D. H. Development of novel assays for lignin degradation: Comparative analysis of bacterial and fungal lignin degraders // *Mol. Biosyst.* 2010. № 6. P. 815–821. <https://doi.org/10.1039/b908966g>
13. Купряшина М. А., Пономарева Е. Г., Никитина В. Е. Способность бактерий рода *Azospirillum* к деколоризации синтетических красителей // *Микробиология*. 2020. Т. 89, № 4. С. 453–461. <https://doi.org/10.31857/S0026365620040084>
14. Bradford M. M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microorganisms qualities of protein utilizing the principle of protein-dye binding // *Anal. Biochem.* 1976. Vol. 72. P. 248–254.
15. Nidadavolu S. B., Gudikandula K., Pabba S. K., Maringanti Ch. S. Decolorization of triphenyl methane dyes by *Fomitopsis feei* // *Natural Science*. 2013. Vol. 5. P. 30–35. <https://doi.org/10.4236/ns.2013.56A005>
16. Banker D. D. Enzymes – a review // *Indian J. Med. Sci.* 1998. Vol. 52, № 6. P. 265–271. PMID: 9849038.
17. Kanayama N., Tohru S., Keiichi K. Purification and characterization of an alkaline manganese peroxidase from *Aspergillus terreus* LD-1 // *J. Biosci. Bioeng.* 2002. Vol. 93. P. 405–410. [https://doi.org/10.1016/S1389-1723\(02\)80075-5](https://doi.org/10.1016/S1389-1723(02)80075-5)
18. Asgher M., Iqbal H. M. N. Characterization of a novel manganese peroxidase purified from solid state culture of *Trametes versicolor* IBL-04 // *BioResources*. 2011. Vol. 6. P. 4302–4315. <https://doi.org/10.15376/biores.6.4.4317-4330>
19. Vandana T., Kumar S., Swaraj S., Manpal S. Purification, characterization, and biodelignification potential of lignin peroxidase from immobilized *Phanerochaete chrysosporium* // *BioResources*. 2019. Vol. 14. P. 5380–5399. <https://doi.org/10.15376/biores.14.3.5380-5399>
20. Shafeia M., Afzalib F., Karkhanea A. A., Ebrahimi S. M., Haghbeend K., Aminzadeha S. *Cohnella* sp. A01 laccase: Thermostable, detergent resistant, anti-environmental and industrial pollutants enzyme // *Heliyon*. 2017. Vol. 5. e02543. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2019.e02543>
21. Parveen K., Usha K., Visvanath B., Reddy B. Kinetic properties of manganese peroxidase from the mushroom *Stereum ostrea* and its ability to decolorize dyes // *J. Microbiol. Biotechnol.* 2012. Vol. 22. P. 1540–1548. <https://doi.org/10.4014/jmb.1112.12011>
22. Lueangjaroenkit P., Teerapatsaku C., Sakka K., Sakka M., Kimura T., Kunitake E., Chitradon L. Two manganese peroxidases and a laccase of *Trametes polyzona* KU-RNW027 with novel properties for dye and pharmaceutical product degradation in redox mediator-free system // *Mycobiology*. 2019. Vol. 47, № 2. P. 217–229. <https://doi.org/10.1080/12298093.2019.1589900>
23. Zhou X., Qu Y., Kim B. H. Effects of azide on electron transport of exoelectrogens in air-cathode microbial fuel cells // *Bioresour. Technol.* 2014. Vol. 169. P. 265–270. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2014.07.012>
24. Siroosi M., Amoogzar M. A., Khajeh K. Purification and characterization of an alkaline chloride-tolerant laccase from a halotolerant bacterium *Bacillus* sp. strain WT // *J. Mol. Catal. B. Enzym.* 2016. Vol. 134. P. 89–97. <https://doi.org/10.1016/j.molcatb.2016.10.001>



25. Valderrama B., Ayala M., Vazquez-Duhalt R. Suicide inactivation of peroxidases and the challenge of engineering more robust enzymes // *Chem. Biol.* 2002. Vol. 9. P. 555–565. [https://doi.org/10.1016/S1074-5521\(02\)00149-7](https://doi.org/10.1016/S1074-5521(02)00149-7)
26. Ballaminut N., Yamanaka R., Gomes Machado K. Interference of a commercial catalase preparation in laccase and peroxidase activities // *Braz. Arch. Biol. Technol.* 2009. Vol. 52, № 5. P. 1193–1198. <https://doi.org/10.1590/S1516-89132009000500017>
27. Casciello C., Tonin F., Berini F., Fasoli E., Marinelli F., Pollegioni L., Rosini E. A valuable peroxidase activity from the novel species *Nonomuraea gerenzanensis* growing on alkali lignin // *Biotechnol. Rep. (Amst)*. 2017. Vol. 13. P. 49–57. <https://doi.org/10.1016/j.btre.2016.12.005>
28. Diamantidis G., Effosse A., Potier P., Bally R. Purification and characterization of the first bacterial laccase in the rhizospheric bacterium *Azospirillum lipoferum* // *Soil Biol. Biochem.* 2000. Vol. 32. P. 919–927. [https://doi.org/10.1016/S0038-0717\(99\)00221-7](https://doi.org/10.1016/S0038-0717(99)00221-7)
29. Alexandre G., Jacoud C., Faure D. Population dynamics of a motile and a non-motile *Azospirillum lipoferum* strain during rice colonization and motility variation in the rhizosphere // *FEMS Microbiol. Ecol.* 1996. Vol. 19. P. 271–278. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6941.1996.tb00219.x>
30. Pollegioni L., Tonin F., Rosini E. Lignin-degrading enzymes // *FEBS J.* 2015. Vol. 282. P. 1190–1213. <https://doi.org/10.1111/febs.13224>
1. Pearce C. I., Lloyd J. R., Guthrie J. T. The removal of color from textile wastewater using whole bacterial cells: A review. *Dyes Pigments*, 2003, vol. 58, pp. 179–196. [https://doi.org/10.1016/S0143-7208\(03\)00064-0](https://doi.org/10.1016/S0143-7208(03)00064-0)
2. Mourid E., Lakraimi M., Khattabi E. El., Benaziz L., Berraho M. Removal of remazol brilliant blue R from aqueous solution by adsorption using a calcined layered double hydroxide [Zn<sub>2</sub>-Al-CO<sub>3</sub>]. *JMES*, 2017, vol. 8, no. 3, pp. 921–930. <https://doi.org/10.1007/s42452-020-2063-2>
3. Forgacs E., Cserhati T., Oros G. Removal of synthetic dyes from wastewaters: A review. *Environment International*, 2004, vol. 30, pp. 953–971. <https://doi.org/10.1016/j.envint.2004.02.001>
4. Jadhav J. P., Kalyani D. C., Telke A. A., Phugare S. S., Govindwar S. P. Evaluation of the efficacy of a bacterial consortium for the removal of color, reduction of heavy metals, and toxicity from textile dye effluent. *Bioresour. Technol.*, 2010, no. 101, pp. 165–173. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2009.08.027>
5. 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).
6. Kupryashina M. A., Selivanov N. Yu., Nikitina V. E. Isolation and purification of Mn-peroxidase from *Azospirillum brasilense* Sp245. *Appl. Biochem. Microbiol.*, 2012, vol. 48, pp. 17–20 (in Russian).
7. 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>
8. 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). <https://doi.org/10.1134/S0026261715060041>
9. Bugg T. D. H., Ahmad M., Hardiman E. M., Rahmampour R. Pathways for degradation of lignin in bacteria and fungi. *Nat. Prod. Rep.*, 2011, vol. 28, pp. 1883–1896. <https://doi.org/10.1039/c1np00042j>
10. Falade A. O., Eyisia O. A. L., Mabinya L. V., Nwodo U. U., Okoh A. I. Peroxidase production and ligninolytic potentials of freshwater bacteria *Raoultella ornithinolytica* and *Ensifera dhaerens*. *Biotechnol. Report.*, 2017, vol. 16, pp. 2–17. <https://doi.org/10.1016/j.btre.2017.10.001>
11. 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, 6:e00394. <https://doi.org/10.1002/mbo3.394>
12. Ahmad M., Taylor C. R., Pink D., Burton K., Eastwood D., Bending G. D., Bugg T. D. H. Development of novel assays for lignin degradation: Comparative analysis of bacterial and fungal lignin degraders. *Mol. Biosyst.*, 2010, no. 6, pp. 815–821. <https://doi.org/10.1039/b908966g>
13. Kupryashina M. A., Ponomareva E. G., Nikitina V. E. Ability of bacteria of the genus *Azospirillum* to decolorize synthetic dyes. *Microbiology*, 2020, vol. 89, no. 4, pp. 451–458 (in Russian). <https://doi.org/10.1134/S0026261720040074>
14. Bradford M. M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microorganisms qualities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Anal. Biochem.*, 1976, vol. 72, pp. 248–254.
15. 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. <https://doi.org/10.4236/ns.2013.56A005>
16. Banker D. D. Enzymes – a review. *Indian J. Med. Sci.*, 1998, vol. 52, no. 6, pp. 265–271. PMID: 9849038.
17. Kanayama N., Tohru S., Keichi K. Purification and characterization of an alkaline manganese peroxidase from *Aspergillus terreus* LD-1. *J. Biosci. Bioeng.*, 2002, vol. 93, pp. 405–410. [https://doi.org/10.1016/S1389-1723\(02\)80075-5](https://doi.org/10.1016/S1389-1723(02)80075-5)
18. Asgher M., Iqbal H. M. N. Characterization of a novel manganese peroxidase purified from solid state culture of *Trametes versicolor* IBL-04. *BioResources*, 2011, vol. 6, pp. 4302–4315. <https://doi.org/10.15376/biores.6.4.4317-4330>



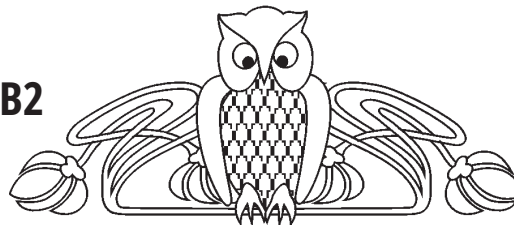
19. Vandana T., Kumar S., Swaraj S., Manpal S. Purification, characterization, and biodelignification potential of lignin peroxidase from immobilized *Phanerochaete chrysosporium*. *BioResources*, 2019, vol. 14, pp. 5380–5399. <https://doi.org/10.15376/biores.14.3.5380-5399>
20. Shafieia M., Afzalib F., Karkhanea A. A., Ebrahimi S. M., Haghbeend K., Aminzadeha S. *Cohnella* sp. A01 laccase: Thermostable, detergent resistant, anti-environmental and industrial pollutants enzyme. *Heliyon*, 2017, vol. 5, e02543. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2019.e02543>
21. Parveen K., Usha K., Visvanath B., Reddy B. Kinetic properties of manganese peroxidase from the mushroom *Stereum ostrea* and its ability to decolorize dyes. *J. Microbiol. Biotechnol.*, 2012, vol. 22, pp. 1540–1548. <https://doi.org/10.4014/jmb.1112.12011>
22. Lueangjaroenkit P., Teerapatsaku C., Sakka K., Sakka M., Kimura T., Kunitake E., Chitradon L. Two manganese peroxidases and a laccase of *Trametes polyzona* KU-RNW027 with novel properties for dye and pharmaceutical product degradation in redox mediator-free system. *Mycobiology*, 2019, vol. 47, no. 2, pp. 217–229. <https://doi.org/10.1080/12298093.2019.1589900>
23. Zhou X., Qu Y., Kim B. H. Effects of azide on electron transport of exoelectrogens in air-cathode microbial fuel cells. *Bioresour. Technol.*, 2014, vol. 169, pp. 265–270. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2014.07.012>
24. Siroosi M., Amoozegar M. A., Khajeh K. Purification and characterization of an alkaline chloride-tolerant laccase from a halotolerant bacterium *Bacillus* sp. strain WT. *J. Mol. Catal. B. Enzym.*, 2016, vol. 134, pp. 89–97. <https://doi.org/10.1016/j.molcatb.2016.10.001>
25. Valderrama B., Ayala M., Vazquez-Duhalt R. Suicide inactivation of peroxidases and the challenge of engineering more robust enzymes. *Chem. Biol.*, 2002, vol. 9, pp. 555–565. [https://doi.org/10.1016/S1074-5521\(02\)00149-7](https://doi.org/10.1016/S1074-5521(02)00149-7)
26. Ballaminut N., Yamanaka R., Gomes Machado K. Interference of a commercial catalase preparation in laccase and peroxidase activities. *Braz. Arch. Biol. Technol.*, 2009, vol. 52, no. 5, pp. 1193–1198. <https://doi.org/10.1590/S1516-89132009000500017>
27. Casciello C., Tonin F., Berini F., Fasoli E., Marinelli F., Pollegioni L., Rosini E. A valuable peroxidase activity from the novel species *Nonomuraea gerenzanensis* growing on alkali lignin. *Biotechnol. Rep. (Amst)*, 2017, vol. 13, pp. 49–57. <https://doi.org/10.1016/j.btre.2016.12.005>
28. Diamantidis G., Effosse A., Potier P., Bally R. Purification and characterization of the first bacterial laccase in the rhizospheric bacterium *Azospirillum lipoferum*. *Soil Biol. Biochem.*, 2000, vol. 32, pp. 919–927. [https://doi.org/10.1016/S0038-0717\(99\)00221-7](https://doi.org/10.1016/S0038-0717(99)00221-7)
29. Alexandre G., Jacoud C., Faure D. Population dynamics of a motile and a non-motile *Azospirillum lipoferum* strain during rice colonization and motility variation in the rhizosphere. *FEMS Microbiol. Ecol.*, 1996, vol. 19, pp. 271–278. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6941.1996.tb00219.x>
30. Pollegioni L., Tonin F., Rosini E. Lignin-degrading enzymes. *FEBS J.*, 2015, vol. 282, pp. 1190–1213. <https://doi.org/10.1111/febs.13224>

Поступила в редакцию 07.08.2023; одобрена после рецензирования 06.10.2023; принята к публикации 09.10.2023  
The article was submitted 07.08.2023; approved after reviewing 06.10.2023; accepted for publication 09.10.2023



Научная статья  
УДК 577.114.083

## Активность липополисахарида типового штамма *Azospirillum palustre* B2 в отношении проростков пшеницы (*Triticum aestivum* L.)



Н. К. Кондюрина<sup>1,2</sup>✉, Ю. П. Федоненко<sup>1,2</sup>, Е. Н. Сигида<sup>2</sup>, С. А. Коннова<sup>1,2</sup>

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

<sup>2</sup>Институт биохимии и физиологии растений и микроорганизмов, ФИЦ «Саратовский научный центр Российской академии наук» (ИБФРМ РАН), Россия, 410049, г. Саратов, пр. Энтузиастов, д. 13

Кондюрина Наталья Кирилловна, <sup>1</sup>студент кафедры биохимии и биофизики, <sup>2</sup>лаборант лаборатории биохимии, [natasha.kondyurina@gmail.com](mailto:natasha.kondyurina@gmail.com), <https://orcid.org/0000-0003-2975-6066>

Федоненко Юлия Петровна, кандидат биологических наук, доцент, <sup>1</sup>доцент кафедры биохимии и биофизики, <sup>2</sup>заведующий лабораторией биохимии, [fedonenko\\_yu@ibppm.ru](mailto:fedonenko_yu@ibppm.ru), <https://orcid.org/0000-0003-0255-8190>

Сигида Елена Николаевна, кандидат биологических наук, старший научный сотрудник лаборатории биохимии, [sigida\\_e@ibppm.ru](mailto:sigida_e@ibppm.ru), <https://orcid.org/0000-0002-9223-4589>

Коннова Светлана Анатольевна, доктор биологических наук, профессор, <sup>1</sup>заведующий кафедрой биохимии и биофизики, <sup>2</sup>ведущий научный сотрудник, [konnovasa@yandex.ru](mailto:konnovasa@yandex.ru), <https://orcid.org/0000-0002-9607-8173>

**Аннотация.** Липополисахарид – основной структурный компонент внешней мембраны грамотрицательных бактерий, который может также входить в состав экстраклеточных полимерных субстанций. Липополисахариды бактерий, стимулирующих рост и развитие растений, относятся к группе молекул, формирующих микроб-ассоциированный молекулярный паттерн (microbe-associated molecular pattern, MAMP). Эти гликоконъюгаты симбиотических, равно как и фитопатогенных бактерий, индуцируют активацию иммунных реакций у растений. Однако уровень ответного отклика растений при воздействии липополисахаридов симбионтов существенно отличается, в том числе благодаря их структурным особенностям, позволяющим обходить или ослаблять реакции врожденного фитоиммунитета. Мы приводим результаты анализа ответных реакций проростков пшеницы *Triticum aestivum* L. после воздействия липополисахарида ассоциативных бактерий *Azospirillum palustre* B2(T). Инкубация проростков пшеницы в присутствии липополисахарида *A. palustre* B2 приводила к активации ростовых процессов растений, выражающейся в увеличении длины побегов, корней, площади первого листа, а также изменению содержания пигментов в листьях.

**Ключевые слова:** растительно-бактериальная ассоциация, *Azospirillum palustre*, липополисахарид, стимуляция роста

**Для цитирования:** Кондюрина Н. К., Федоненко Ю. П., Сигида Е. Н., Коннова С. А. Активность липополисахарида типового штамма *Azospirillum palustre* B2 в отношении проростков пшеницы (*Triticum aestivum* L.) // Известия Саратовского университета. Новая серия. Серия: Химия. Биология. Экология. 2024. Т. 24, вып. 1. С. 67–75. <https://doi.org/10.18500/1816-9775-2024-24-1-67-75>, EDN: DILUUQ

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

Article

### Effect of *Azospirillum palustre* B2 lipopolysaccharide on wheat seedlings (*Triticum aestivum* L.)

Н. К. Kondyurina<sup>1,2</sup>✉, Yu. P. Fedonenko<sup>1,2</sup>, E. N. Sigida<sup>2</sup>, S. A. Konnova<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Saratov State University, 83 Astrakhanskaya St., Saratov 410012, Russia

<sup>2</sup>Institute of Biochemistry and Physiology of Plants and Microorganisms, Saratov Scientific Centre of the Russian Academy of Sciences (IBPPM RAS) 13 Entuziastov Ave., Saratov 410049, Russia

Natalya K. Kondyurina, [natasha.kondyurina@gmail.com](mailto:natasha.kondyurina@gmail.com), <https://orcid.org/0000-0003-2975-6066>

Yulia P. Fedonenko, [fedonenko\\_yu@ibppm.ru](mailto:fedonenko_yu@ibppm.ru), <https://orcid.org/0000-0003-0255-8190>

Elena N. Sigida, [sigida\\_e@ibppm.ru](mailto:sigida_e@ibppm.ru), <https://orcid.org/0000-0002-9223-4589>

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



**Abstract.** Lipopolysaccharide is the main structural component of the outer membrane of Gram-negative bacteria, which can also be a part of extracellular polymeric substances. Lipopolysaccharides of bacteria that stimulate the growth and development of plants belong to the group of molecules that form a microbe-associated molecular pattern (MAMP). These glycoconjugates of both symbiotic and phytopathogenic bacteria induce the activation of immune responses in plants. However, the level of plant response under the influence of symbiont lipopolysaccharides differs significantly, also due to their structural features, which make it possible to bypass or weaken the reactions of innate autoimmunity. In this paper, we present the results of the analysis of the reactions of wheat seedlings *Triticum aestivum* L. after incubation with lipopolysaccharide of associative bacteria *Azospirillum palustre* B2(T). Incubation of wheat seedlings in the presence of *A. palustre* B2 lipopolysaccharide for three days led to the activation of plant growth processes, namely an increase in the length of shoots, roots, the area of the first leaf, and a change in the content of pigments in the leaves.

**Keywords:** plant-bacterial association, *Azospirillum palustre*, lipopolysaccharide, growth stimulation

**For citation:** Kondyurina N. K., Fedonenko Yu. P., Sigida E. N., Konnova S. A. Effect of *Azospirillum palustre* B2 lipopolysaccharide on wheat seedlings (*Triticum aestivum* L.). *Izvestiya of Saratov University. Chemistry. Biology. Ecology*, 2024, vol. 24, iss. 1, pp. 67–75 (in Russian). <https://doi.org/10.18500/1816-9775-2024-24-1-67-75>, EDN: DILUUQ

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

## Введение

Почвенные азотфиксирующие бактерии рода *Azospirillum* вступают в ассоциативный симбиоз с широким кругом растений, включая кормовые и хлебные злаки. Стимулирующее действие на рост и развитие растений азоспириллы оказывают не столько благодаря фиксации атмосферного азота, сколько активному синтезу фитогормонов (ауксинов, гиббериллинов) и ряда других физиологически активных метаболитов [1, 2]. Среди последних следует отметить гликополимеры поверхности бактериальной клетки: секретируемые в окружающую среду экстраклеточные полисахариды, сохраняющие связь с клеткой капсульные полисахариды и локализованные во внешней мембране липополисахариды (ЛПС) [3, 4]. Эти биополимеры способны индуцировать у растений защитные реакции системной устойчивости, направленные против стрессоров различной природы [4]. Спектр и интенсивность подобных защитных реакций растения могут различаться, что, возможно, связано с отсутствием у непатогенных штаммов специфических сигнальных молекул [5, 6].

Для ЛПС нескольких штаммов *Azospirillum* spp. была продемонстрирована способность индуцировать деформацию корневых волосков у проростков пшеницы [7–9]. При этом механизм действия ЛПС неизвестен, но увеличение площади всасывания корневых волосков способствует активизации поступления питательных веществ и воды в проростки и, следовательно, их росту и развитию.

Обработка корневой системы проростков пшеницы ЛПС *A. baldaniorum* Sp245 (10 мкг/мл) увеличивала в клетках меристемы корней митотический индекс (в 1,8 раза) и содержание пролиферативного антигена инициалей (при-

близительно в 1,4 раза), что было сопоставимо с эффектами, получаемыми при инокуляции бактериями (в 2 и 1,4 раза соответственно), а также увеличивала длину и сухой вес корней и побегов проростков (в 1,3, 2,2 и в 1,2, 1,3 раза соответственно) [10]. Также ЛПС штамма Sp245 влиял на морфогенетическую активность клеток каллуса пшеницы (*Triticum aestivum* L.) и выход как морфогенных каллусов, так и растений-регенерантов [11].

Сравнительный анализ действия ЛПС трех штаммов *A. brasilense* SR55, *A. brasilense* SR75 и *A. lipoferum* SR65 [12] на каллусы двух различающихся по своей морфогенной активности линий *T. aestivum* L. (LRht-B1c и LRht-B1a) выявил наибольший стимулирующий эффект ЛПС *A. lipoferum* SR65 на морфогенез каллуса и развитие регенерантов у обеих линий пшеницы, в то время как ЛПС *A. brasilense* SR55 и SR75 увеличивали либо только формирование морфогенных каллусов, либо только – растений-регенерантов. При этом ЛПС *Azospirillum* spp. влияли на слабоморфогенную линию LRht-B1a сильнее, чем на высокоморфогенную линию LRht-B1c [13].

Было показано, что инокуляция *A. baldaniorum* Sp245 снижала уровень супероксид аниона приблизительно на 30 % в корнях проростков пшеницы, в отличие от обработанных папаином бактериальных клеток штамма Sp245, заметно увеличивающих продукцию супероксида всеми тканями растений. В то же время обработка проростков ЛПС этого же штамма в течение 24 ч (50 и 100 мкг/мл) не влияла на характер продукции  $O_2^-$  [14].

В работе Vallejo-Ochoa с соавт. было показано, что обработка *in vitro* проростков пшеницы ЛПС *A. baldaniorum* Sp245 (100 мкг/мл) через 4 суток вызывала увеличение содержания супероксид аниона и перекиси водорода в корнях,



а также уменьшение содержания хлорофилла *b* в листьях. Ответные реакции растений полностью ингибировались при добавлении в систему ЛПС–растение проантоцианидина B2 (5 мкг/л) – фенольного соединения растительного происхождения, обладающего способностью связывать ЛПС [15].

Кроме того, обработка различными концентрациями ЛПС *A. baldaniorum* Sp245 (от 10 до 1000 мкг/мл) приводила к стимулированию роста проростков пшеницы, о чем свидетельствовало значительное увеличение длины листьев и корней, а также веса в свежем виде, сопоставимого наблюдаемому при инокуляции гомологичными бактериями. Показано, что параллельное действие салицилгидроксамовой кислоты, ингибитора активности пероксидазы, и лантан-индуцированной блокады кальциевых каналов либо этиленгликольтетрауксусной кислоты снижали активность общей пероксидазы и рост растений, индуцированный ЛПС [16]. Следовательно, активность общей пероксидазы и уровень  $Ca^{2+}$  участвуют в опосредованной ЛПС биологической активности в отношении проростков пшеницы.

Данные этих работ свидетельствуют об активации ответных реакций растений после распознавания ЛПС азоспирилл, в том числе

задействованных в регуляции роста растений. Однако большая часть этих исследований выполнена на эндофитном штамме *A. baldaniorum* Sp245, одном из наиболее изученных представителей азоспирилл. Следует отметить, что в непосредственном контакте с растением задействована наиболее варибельная часть молекулы ЛПС – О-антиген, ориентированный в окружающую среду. Особенности структуры О-антигенов позволили разделить азоспириллы на три серогруппы. *A. baldaniorum* Sp245 отнесен к серогруппе I, для представителей которой характерны линейные D-рамнанные О-антигены [12]. В данной работе мы приводим результаты анализа ответных реакций проростков пшеницы (*T. aestivum* L.) на воздействие ЛПС, выделенного из кислых торфяников штамма бактерий *Azospirillum palustre* B2(T) [17] и отнесенного к серогруппе III, О-антиген которого представлен разветвленной цепью из четырёх моносахаридных остатков в повторяющемся звене (рис. 1) с тремя остатками α-L-рамнозы в основной цепи, причем один из них нестехиометрически ацетилирован, и остатком β-D-глюкозы в боковой цепи [18]. Актуальность исследований также обусловлена наличием некоторых генетических и фенотипических признаков *A. palustre* B2 перспективных для использования в биоремедиации [17].

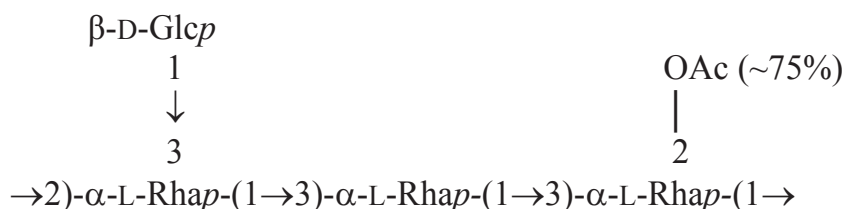


Рис. 1. Структура повторяющегося звена О-антигена *A. palustre* B2 [18]

Fig. 1. The structure of the repeating unit of the *A. palustre* B2 O-antigen [18]

## Материалы и методы

В работе использован типовой штамм микроорганизмов *A. palustre* B2 (IBPRM 633), предоставленный Коллекцией ризосферных микроорганизмов ИБФРМ РАН (<http://collection.ibprp.ru>). Бактерии культивировали в жидкой минеральной среде с малатом натрия и хлоридом аммония в качестве источников углерода и азота соответственно [19] при 30°C до окончания экспоненциальной фазы роста. Клетки осаждали центрифугированием на Allegra X-30R (3700 g, 30 мин, «Beckman Coulter», США),

промывали трехкратно 0,15 М раствором NaCl и высушивали ацетоном. Из ацетонового порошка биомассы бактериальных клеток горячим 45%-ным водным фенолом экстрагировали ЛПС по модифицированному методу Вестфала без разделения слоев [20]. Экстракт освобождали от фенола диализом против  $H_2O$ , концентрировали на вакуумном роторном испарителе Laborota 4000 («Heidolph», Германия), а затем осаждали примесные белки и нуклеиновые кислоты подкислением 40%-ной трихлоруксусной кислотой до конечного значения pH 2,7 с последующим центрифугированием (3700 g, 30 мин). Экстракт



диализовали против деионизированной воды, концентрировали и лиофильно высушивали с использованием Benchtop 2K («VirTis», США).

Концентрацию в ЛПС углеводов, белка, нуклеиновых кислот, состав жирных кислот и моносахаридный состав определяли с использованием методов, описанных в работе [19]. Макромолекулярную организацию ЛПС подтверждали методом электрофореза в полиакриламидном геле (12%) в денатурирующих условиях с последующей визуализацией нитратом серебра после периодатного окисления [21, 22]. Принадлежность к серогруппе III подтверждали методом двойной радиальной иммунодиффузии и иммуноферментным анализом с использованием кроличьих поликлональных антител, полученных к различным ЛПС азоспирилл ранее [12].

Объектом исследования являлись проростки пшеницы (*T. aestivum* L.) сорта Саратовская 58, любезно предоставленные сотрудниками ФГБНУ «ФАНЦ Юго-Востока». Зерновки пшеницы заливали водой для набухания на 30 мин, промывали раствором детергента, тщательно отмывали водой, обрабатывали 30 с 80%-ным этиловым спиртом, после чего выдерживали в 0,1%-ном растворе диоксида (смесь этанолртутихлорида и *N*-цетилпиридиния хлорида) 7 мин, от которого зерновки многократно отмывали стерильной водой. Дальнейшие эксперименты проводились в асептических условиях. Стерилизованные зерновки раскладывали в чашки Петри на поверхности плотной питательной среды LB и проращивали при 25 °С в термостате. Трехсуточные этиолированные проростки переносили в контейнеры для культивирования с жидкой средой Фареуса [23]. Проростки выращивали в гидропонных условиях при постоянной температуре 24 ± 1°С, 10-часовом темном периоде, относительной влажности 60% и освещенности 8000 лк.

В культуральную среду опытных шестисуточных проростков добавляли ЛПС *A. palustre* B2(T) в конечной концентрации 125 мкг/мл. В качестве контроля использовали необработанные растения. В качестве индикаторов биологического действия ЛПС на ранних стадиях онтогенеза пшеницы использовали морфометрические показатели опытных растений через 24 ч инкубации с гликополимером. Измерение содержания хлорофиллов и каротиноидов в первом настоящем листе производили по методу, описанному в работе [24]. Площадь поверхности первого настоящего листа определяли с использованием приложения Petiole [25]. У проростков фиксиро-

вали длину coleoptilya, побега, корней, первого настоящего листа (мм); количество корней; массу сырых побегов и корней (г). Статистическую обработку полученных данных осуществляли с использованием программы Excel 2007 (Microsoft Corp., США). В каждом варианте опыта (в трех повторностях) анализировали не менее 10 растений. Доверительные интервалы даны для 95% надежности. Средние значения сравнивали с помощью *t*-критерия Стьюдента при уровне значимости  $p < 0,05$ .

## Результаты и их обсуждение

Для изучения биоэффекторной активности ЛПС *A. palustre* B2 в отношении проростков пшеницы произведено выделение данного гликополимера из биомассы бактерий, культуру которых выращивали до окончания экспоненциальной фазы роста. Использование модифицированного метода Вестфалля для экстракции ЛПС из ацетонового порошка бактериальных клеток позволило выделить высокомолекулярный препарат, содержащий преимущественно молекулы S-формы, что подтверждено методом электрофореза в ПААГ.

Данные электрофоретического анализа, выявление в препарате маркерных компонентов ЛПС – 3-дезоксид-*D*-манно-окт-2-улозоновой кислоты (кетодезоксиоктоновой кислоты, Kdo) и 3-гидроксилированных жирных кислот, а также моносахаридный состав и иммунохимический перекрест с антисыворотками к ЛПБК штамма *A. lipoferum* Sp59b, свидетельствующий о принадлежности культуры бактерий к серогруппе III, позволяет говорить об идентичности вновь полученного препарата ЛПС исследованному нами ранее [18].

Анализ активности ЛПС *A. palustre* B2 в отношении шестисуточных проростков пшеницы проводили в условиях стерильности. На каждом этапе работы с растительным материалом (отбор зерновок, проращивание, перенос в контейнеры для растений) отбирались неповрежденные, без признаков бактериального и грибного заражения проростки. При постановке эксперимента мы вносили ЛПС в культуральную жидкую среду Фареуса до конечной концентрации 125 мкг/мл. Данная концентрация была подобрана эмпирически, как наиболее оптимальная для индукции фиксируемых ответных реакций растения без признаков чрезмерного стрессирования. Для проростков мягкой яровой пшеницы на данном этапе развития характерны активный рост корне-



вой системы, завершение формирования первого настоящего листа и достижение им максимально возможной площади. Изменение морфологических, физиологических и биохимических параметров под воздействием ЛПС фиксировали через 24 ч после инокуляции ЛПС.

Результаты измерений морфометрических параметров проростков пшеницы приведены в таблице. У опытных растений был отмечен значительный прирост биомассы (в среднем на

20%) в сравнении с контрольной группой. Длина coleoptily, корней и количество корней были сопоставимы для растений, как выращенных в присутствии ЛПС, так и в интактной группе. Следует отметить, что у инокулированных растений отмечалось статистически значимое увеличение таких показателей, как длина побегов и первого настоящего листа приблизительно на 42 и 64% соответственно, а также площади поверхности первого листа приблизительно на 58%.

**Морфометрические показатели семидневных проростков пшеницы *T. aestivum* L. сорта Саратовская 58**  
Table. Morphometric parameters of wheat seven-day-old seedlings of *T. aestivum* L. cv. Saratovskaya 58

Параметр проростка / Parametr	Вариант / Variant	
	ЛПС/LPS <i>A. palustre</i> B2(T)	Контроль / Reference
Длина побега, мм / Shoot length, mm	133,4 ± 9,2*	94,0 ± 17,6
Длина coleoptily, мм / Coleoptile length, mm	28,7 ± 4,6	27,9 ± 2,6
Длина первого листа, мм / First sheet length, mm	107,0 ± 11,2*	65,3 ± 16,9
Площадь первого листа, см <sup>2</sup> / Area of the first sheet, cm <sup>2</sup>	5,7 ± 0,8*	3,6 ± 1,0
Длина корней, мм / Root length, mm	51,5 ± 19,0	38,2 ± 15,8
Количество корней, шт / Number of roots, pcs	3,0 ± 0,7	3,3 ± 0,5
Сырая масса побега, г / Raw weight of the shoot, g	0,8 ± 0,1	0,7 ± 0,1
Сырая масса корня, г / Raw weight of the root, g	0,2 ± 0,05	0,14 ± 0,02

Примечание. \* – отмечены достоверные отличия от контроля.  
Note. \* – marked significant differences from the control.

В стрессовых условиях, в том числе и при воздействии МАМР, растения генерируют активные формы кислорода, которые могут вызывать окислительные повреждения различных соединений в клетках. Одной из физиологических ответных реакций растения является изменение содержания основных пигментов, участвующих в фотосинтезе. Результаты определения содержания хлорофилла *a*, хлорофилла *b* и каротиноидов в первом настоящем листе проростков пшеницы через сутки инкубации в питательной среде в присутствии ЛПС исследуемого штамма, а также соотношение суммарного содержания хлорофиллов *a* и *b* к каротиноидам представлены на рис. 2.

Следует отметить, что инкубация в присутствии ЛПС через сутки индуцировала снижение содержания пигментов в листьях проростков пшеницы. Анализ данных продемонстрировал, что увеличение отношения содержания суммы хлорофиллов *a* и *b* к каротиноидам по отно-

шению к контролю совпадает с уменьшением отношения содержания хлорофилла *a* к *b* и наоборот. Можно предполагать, что наблюдаемые изменения являются следствием запуска реакций неспецифического иммунного ответа после распознавания О-антигена и последующей адаптации растений.

Природа индукции ростовых процессов у растения под воздействием ЛПС неизвестна, но можно предположить, что молекулы ЛПС распознаются рецепторами растительных клеток [26], после чего запускается каскад биохимических реакций, которые приводят к включению защитных и компенсаторных механизмов. При учёте специфики полученных результатов можно говорить об индукции роста растяжением под воздействием гормонов ауксинового ряда с дальнейшим увеличением вегетативных органов проростков. Подобное предположение согласуется с данными, полученными другими исследователями [15, 16, 27, 28].



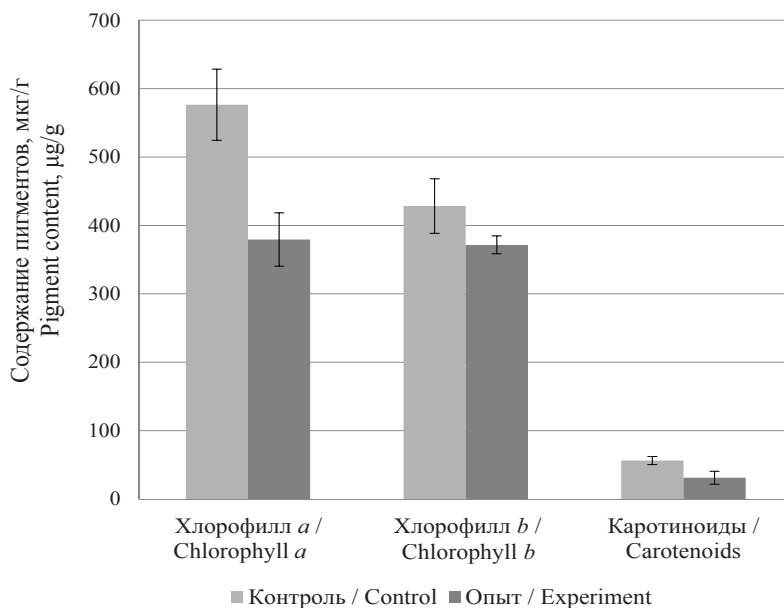


Рис. 2. Содержание пигментов в первых настоящих листьях интактных семидневных проростков пшеницы (*T. aestivum* L. сорта Саратовская 58) и при инкубации с ЛПС *A. palustre* B2 («\*» – отмечены достоверные отличия от контроля)

Fig. 2. The content of pigments in the first true leaves of intact 7-day-old wheat seedlings (*T. aestivum* L. cv. Saratovskaya 58) and after incubation with LPS of *A. palustre* (B2 “\*” – marked significant differences from the control)

## Заключение

Азоспириллы на протяжении многих лет являются модельным объектом для изучения феномена ассоциативного симбиоза. В то же время среди представителей р. *Azospirillum* присутствуют штаммы, выделенные из биотопов, в которых либо отсутствуют высшие растения, либо доминируют не типичные для данных бактерий растения (водоросли, мхи и т.д.), для которых выявление симбиотических реакций вызывает определенный интерес с точки зрения выяснения механизма растительно-микробного взаимодействия без выраженного влияния коэволюции. Выделенный из метан-обогащенного верхового торфяника с преобладанием сфагнома *A. palustre* B2(T) синтезирует S-форму ЛПС, который, как было показано ранее, по структуре липида А сходен с другими *Azospirillum* spp. Особенности структуры повторяющегося звена О-антигена и наличие серологических перекрестов позволили отнести *A. palustre* B2(T) к серогруппе III азоспирилл. При инкубации проростков пшеницы *T. aestivum* L. в присутствии ЛПС *A. palustre* B2 были зафиксированы ответные реакции растений, заключающиеся в активации ростовых процессов, а также изменении уровня основных

пигментов в листьях, свидетельствующие об активации реакций системной устойчивости. Учитывая способность штамма *A. palustre* B2 к азотфиксации, стимулирующий характер действия его поверхностных гликополимеров на физиологические параметры растений, а также способность метаболизировать метанол и формиаат, можно рекомендовать его использование в качестве компонента комплексных биопрепаратов для ликвидации последствий разливов и отходов газового конденсата и метанола в газовой промышленности.

## Список литературы

1. Cunha E. T. da, Pedrolo A. M., Arisi A. C. M. Effects of sublethal stress application on the survival of bacterial inoculants: A systematic review // Arch. Microbiol. 2023. Vol. 205, iss. 5. Article number 190. <https://doi.org/10.1007/s00203-023-03542-8>
2. Bhadrecha P., Singh S., Dwivedi V. ‘A plant’s major strength in rhizosphere’: The plant growth promoting rhizobacteria // Arch. Microbiol. 2023. Vol. 205. Article number 165. <https://doi.org/10.1007/s00203-023-03502-2>
3. Rodríguez-Navarro D. N., Dardanelli M. S., Ruíz-Sáinz J. E. Attachment of bacteria to the roots of higher plants // FEMS Microbiol. Lett. 2007. Vol. 272, iss. 2. P. 127–136. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6968.2007.00761.x>



4. Федоненко Ю. П., Коннова С. А., Сигида Е. Н. Гликополимеры ассоциативных микроорганизмов: фундаментальные и прикладные аспекты / под ред. В. В. Игнатова. Саратов : Изд-во Сарат. ун-та, 2018. 128 с.
5. Raaijmakers J. M., Vlami M., De Souza J. T. Antibiotic production by bacterial biocontrol agents // *Antonie van Leeuwenhoek*. 2002. Vol. 81. P. 537–547. <https://doi.org/10.1023/A:1020501420831>
6. Gureeva M. V., Gureev A. P. Molecular Mechanisms determining the role of bacteria from the genus *Azospirillum* in plant adaptation to damaging environmental factors // *Int. J. Mol. Sci.* 2023. Vol. 24, iss. 11. Article number 9122. <https://doi.org/10.3390/ijms24119122>
7. Федоненко Ю. П., Егоренкова И. В., Коннова С. А., Игнатов В. В. Участие липополисахаридов азоспирилл во взаимодействии с поверхностью корней пшеницы // *Микробиология*. 2001. Т. 70, № 3. С. 384–390.
8. Boyko A. S., Konnova S. A., Fedonenko Yu. P., Zdorovenko E. L., Smol'kina O. N., Kachala V. V., Ignatov V. V. Structural and functional peculiarities of the lipopolysaccharide of *Azospirillum brasilense* SR55 isolated from the roots of *Triticum durum* // *Microbial. Res.* 2011. Vol. 166. P. 585–593. <https://doi.org/10.1016/j.micres.2011.01.002>
9. Sigida E., Shashkov A., Shelud'ko A., Zdorovenko E., Toukach P. V., Konnova S., Fedonenko Yu., Knirel Yu. Structural studies of O-specific polysaccharide(s) and biological activity toward plants of the lipopolysaccharide from *Azospirillum brasilense* SR8 // *Int. J. Biol. Macromol.* 2019. Vol. 126. P. 246–253. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2018.12.229>
10. Evseeva N. V., Matora L. Y., Burygin G. L., Dmitrienko V. V., Shchyogolev S. Y. Effect of *Azospirillum brasilense* Sp245 lipopolysaccharide on the functional activity of wheat root meristematic cells // *Plant Soil*. 2011. Vol. 346. P. 181–188. <https://doi.org/10.1007/s11104-011-0808-9>
11. Evseeva N. V., Tkachenko O. V., Burygin G. L., Matora L. Y., Lobachev Y. V., Shchyogolev S. Y. Effect of bacterial lipopolysaccharides on morphogenetic activity in wheat somatic calluses // *World J. Microbiol. Biotechnol.* 2018. Vol. 34, iss. 3. <https://doi.org/10.1007/s11274-017-2386-3>
12. Fedonenko Y. P., Sigida E. N., Konnova S. A., Ignatov V. V. Structure and serology of O-antigens of nitrogen-fixing rhizobacteria of the genus *Azospirillum* // *Russ. Chem. Bull.* 2015. Vol. 64, iss. 5. P. 1024–1031. <https://doi.org/10.1007/s11172-015-0971-x>
13. Tkachenko O. V., Burygin G. L., Evseeva N. V., Fedonenko Y. P., Matora L. Y., Lobachev Y. V., Shchyogolev S. Y. Morphogenesis of wheat calluses treated with *Azospirillum* lipopolysaccharides // *Plant Cell Tiss. Organ. Cult.* 2021. Vol. 147. P. 147–155. <https://doi.org/10.1007/s11240-021-02114-2>
14. Méndez-Gómez M., Castro-Mercado E., Alexandre G., García-Pineda E. Oxidative and antioxidative responses in the wheat-*Azospirillum brasilense* interaction // *Protoplasma*. 2016. Vol. 253. P. 477–486. <https://doi.org/10.1007/s00709-015-0826-1>
15. Vallejo-Ochoa J., López-Marmolejo M., Hernández-Esquivel A. A., Méndez-Gómez M., Suárez-Soria L. N., Castro-Mercado E., García-Pineda E. Early plant growth and biochemical responses induced by *Azospirillum brasilense* Sp245 lipopolysaccharides in wheat (*Triticum aestivum* L.) seedlings are attenuated by pro-cyanidin B2 // *Protoplasma*. 2018. Vol. 255. P. 685–694. <https://doi.org/10.1007/s00709-017-1180-2>
16. Hernández-Esquivel A. A., Castro-Mercado E., Valencia-Cantero E., Alexandre G., García-Pineda E. Application of *Azospirillum brasilense* lipopolysaccharides to promote early wheat plant growth and analysis of related biochemical responses // *Front. Sustain. Food Syst.* 2020. Vol. 4. Article number 579976. <https://doi.org/10.3389/fsufs.2020.579976>
17. Tikhonova E. N., Grouzdev D. S., Kravchenko I. K. *Azospirillum palustre* sp. nov., a methylotrophic nitrogen-fixing species isolated from raised bog // *Int. J. Syst. Evolut. Microbiol.* 2019. Vol. 69, iss. 9. P. 2787–2793. <https://doi.org/10.1099/ijsem.0.003560>
18. Сигида Е. Н., Гринёв В. С., Здоровенко Э. Л., Дмитриенко А. С., Бурьгин Г. Л., Кондюрина Н. К., Коннова С. А., Федоненко Ю. П. Характеристика структуры и генов биосинтеза O-антигенов *Azospirillum zeae* N7(T), *Azospirillum melinis* TMCY 0552(T) и *Azospirillum palustre* B2(T) // *Биоорг. химия*. 2022. Т. 48, № 3. С. 302–312. <https://doi.org/10.31857/S0132342322030174>
19. Konnova S. A., Makarov O. E., Skvortsov I. M., Ignatov V. V. Isolation, fractionation and some properties of polysaccharides produced in a bound form by *Azospirillum brasilense* and their possible involvement in *Azospirillum*-wheat root interactions // *FEMS Microbiol. Lett.* 1994. Vol. 118. P. 93–99. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6968.1994.tb06809.x>
20. Кульшин В. А., Яковлев А. П., Аваева С. Н., Дмитриев Б. А. Улучшенный метод выделения липополисахаридов из грамотрицательных бактерий // *Молекулярная генетика, микробиология и вирусология*. 1987. № 5. С. 44–46.
21. Hitchcock P. J., Brown T. M. Morphological heterogeneity among *Salmonella* lipopolysaccharide chemotypes in silver-stain polyacrylamide gels // *J. Bacteriol.* 1983. Vol. 154. P. 269–277. <https://doi.org/10.1128/jb.154.1.269-277.1983>
22. Tsai C. M., Frasch C. E. A sensitive silver stain for detecting lipopolysaccharides in polyacrylamide gels // *Anal. Biochem.* 1982. Vol. 119. P. 115–119. [https://doi.org/10.1016/0165-022X\(93\)90024-I](https://doi.org/10.1016/0165-022X(93)90024-I)
23. Коннова С. А., Скворцов И. М., Макаров О. Е., Прохорова Р. Н., Рогова Т. А., Игнатов В. В. Полисахаридные комплексы выделяемые *Azospirillum brasilense* и их возможная роль во взаимодействии бактерий с корнями пшеницы // *Микробиология*. 1995. Т. 64, № 6. С. 762–768.
24. Wellburn A. R. The spectral determination of chlorophylls *a* and *b*, as well as total carotenoids, using



various solvents with spectrophotometers of different resolution // *J. Plant Physiol.* 1994. Vol. 144. P. 307–313. [https://doi.org/10.1016/S0176-1617\(11\)81192-2](https://doi.org/10.1016/S0176-1617(11)81192-2)

25. Дорофеева М. М., Бонецкая С. А. Сравнительный анализ некоторых классических и современных методик определения площади листовой поверхности // *Растительные ресурсы.* 2020. Т. 56, № 2. С. 182–192. <https://doi.org/10.31857/S0033994620020041>
  26. Luo X., Wu W., Liang Y., Xu N., Wang Z., Zou H., Liu J. Tyrosine phosphorylation of the lectin receptor-like kinase LORE regulates plant immunity // *EMBO J.* 2020. Vol. 39, iss. 4. Article number e102856. <https://doi.org/10.15252/embj.2019102856>
  27. Bashan Y., Singh M., Levanony H. Contribution of *Azospirillum brasilense* Cd to growth of tomato seedlings is not through nitrogen fixation // *Can. J. Bot.* 1989. Vol. 67, iss. 8. P. 2429–2434. <https://doi.org/10.1139/b89-312>
  28. Вологон В. В., Димова С. Б., Мамчур А. Е. Особенности взаимоотношений бактерий рода *Azospirillum* с растениями картофеля, культивируемыми *in vitro* // *Сільськогосподарська мікробіологія.* 2005. № 3. С. 19–25.
- ## References
1. da Cunha E. T., Pedrolo A. M., Arisi A. C. M. Effects of sublethal stress application on the survival of bacterial inoculants: A systematic review. *Arch. Microbiol.*, 2023, vol. 205, iss. 5, article number 190. <https://doi.org/10.1007/s00203-023-03542-8>
  2. Bhadrecha P., Singh S., Dwibedi V. 'A plant's major strength in rhizosphere': The plant growth promoting rhizobacteria. *Arch. Microbiol.*, 2023, vol. 205, article number 165. <https://doi.org/10.1007/s00203-023-03502-2>
  3. Rodríguez-Navarro D. N., Dardanelli M. S., Ruíz-Saíenz J. E. Attachment of bacteria to the roots of higher plants. *FEMS Microbiol. Lett.*, 2007, vol. 272, iss. 2, pp. 127–136. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6968.2007.00761.x>
  4. Fedonenko Yu. P., Konnova S. A., Sigida E. N. *Гликополимеры ассоциативных микроорганизмов: фундаментальные и прикладные аспекты.* Под ред. В. В. Игнатова [Ignatov V. V., ed. Glycopolymers of associative microorganisms: Fundamental and applied aspects]. Saratov, Saratov State University Publ., 2018. 128 p. (in Russian).
  5. Raaismakers J. M., Vlami M., De Souza J. T. Antibiotic production by bacterial biocontrol agents. *Antonie van Leeuwenhoek*, 2002, vol. 81, pp. 537–547. <https://doi.org/10.1023/A:1020501420831>
  6. Gureeva M. V., Gureev A. P. Molecular Mechanisms determining the role of bacteria from the genus *Azospirillum* in plant adaptation to damaging environmental factors. *Int. J. Mol. Sci.*, 2023, vol. 24, iss. 11, article number 9122. <https://doi.org/10.3390/ijms24119122>
  7. Fedonenko Y. P., Egorenkova I. V., Konnova S. A., Ignatov V. V. Involvement of the lipopolysaccharides of azospirilla in the interaction with wheat seedling roots. *Microbiology*, 2001, vol. 70, pp. 329–334 (in Russian). <https://doi.org/10.1023/A:1010411629428>
  8. Boyko A. S., Konnova S. A., Fedonenko Yu. P., Zdorovenko E. L., Smol'kina O. N., Kachala V. V., Ignatov V. V. Structural and functional peculiarities of the lipopolysaccharide of *Azospirillum brasilense* SR55 isolated from the roots of *Triticum durum*. *Microbiol. Res.*, 2011, vol. 166, pp. 585–593. <https://doi.org/10.1016/j.micres.2011.01.002>
  9. Sigida E., Shashkov A., Shelud'ko A., Zdorovenko E., Toukach P. V., Konnova S., Fedonenko Yu., Knirel Yu. Structural studies of O-specific polysaccharide(s) and biological activity toward plants of the lipopolysaccharide from *Azospirillum brasilense* SR8. *Int. J. Biol. Macromol.*, 2019, vol. 126, pp. 246–253. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2018.12.229>
  10. Evseeva N. V., Matora L. Y., Burygin G. L., Dmitrienko V. V., Shchyogolev S. Y. Effect of *Azospirillum brasilense* Sp245 lipopolysaccharide on the functional activity of wheat root meristematic cells. *Plant Soil*, 2011, vol. 346, pp. 181–188. <https://doi.org/10.1007/s11104-011-0808-9>
  11. Evseeva N. V., Tkachenko O. V., Burygin G. L., Matora L. Y., Lobachev Y. V., Shchyogolev S. Y. Effect of bacterial lipopolysaccharides on morphogenetic activity in wheat somatic calluses. *World J. Microbiol. Biotechnol.*, 2018, vol. 34, iss. 3. <https://doi.org/10.1007/s11274-017-2386-3>
  12. Fedonenko Y. P., Sigida E. N., Konnova S. A., Ignatov V. V. Structure and serology of O-antigens of nitrogen-fixing rhizobacteria of the genus *Azospirillum*. *Rus. Chem. Bull.*, 2015, vol. 64, iss. 5, pp. 1024–1031. <https://doi.org/10.1007/s11172-015-0971-x>
  13. Tkachenko O. V., Burygin, G. L., Evseeva, N. V., Fedonenko Y. P., Matora L. Y., Lobachev Y. V., Shchyogolev S. Y. Morphogenesis of wheat calluses treated with *Azospirillum* lipopolysaccharides. *Plant Cell Tiss. Organ. Cult.*, 2021, vol. 147, pp. 147–155. <https://doi.org/10.1007/s11240-021-02114-2>
  14. Méndez-Gómez M., Castro-Mercado E., Alexandre G., García-Pineda E. Oxidative and antioxidative responses in the wheat-*Azospirillum brasilense* interaction. *Protoplasma*, 2016, vol. 253, pp. 477–486. <https://doi.org/10.1007/s00709-015-0826-1>
  15. Vallejo-Ochoa J., López-Marmolejo M., Hernández-Esquivel A. A., Méndez-Gómez M., Suárez-Soria L. N., Castro-Mercado E., García-Pineda E. Early plant growth and biochemical responses induced by *Azospirillum brasilense* Sp245 lipopolysaccharides in wheat (*Triticum aestivum* L.) seedlings are attenuated by procyandin B2. *Protoplasma*, 2018, vol. 255, pp. 685–694. <https://doi.org/10.1007/s00709-017-1180-2>
  16. Hernaández-Esquivel A. A., Castro-Mercado E., Valencia-Cantero E., Alexandre G., García-Pineda E. Application of *Azospirillum brasilense* lipopolysaccharides to promote early wheat plant growth and analysis of related biochemical responses. *Front. Sustain. Food Syst.*, 2020, vol. 4, article number 579976. <https://doi.org/10.3389/fsufs.2020.579976>
  17. Tikhonova E. N., Grouzdev D. S., Kravchenko I. K. *Azospirillum palustre* sp. nov., a methylotrophic nitrogen-fixing species isolated from raised bog.



- Int. J. Syst. Evolut. Microbiol.*, 2019, vol. 69, iss. 9, pp. 2787–2793. <https://doi.org/10.1099/ijsem.0.003560>
18. Sigida E. N., Grinev V. S., Zdorovenko E. L., Dmitrenok A. S., Burygin G. L., Kondurina N. K., Konnova S. A., Fedonenko Y. P. O-Antigens of *Azospirillum zeae* N7 (T), *Azospirillum melinis* TMCY 0552 (T), and *Azospirillum palustre* B2 (T): Structure elucidation and analysis of biosynthesis genes. *Russ. J. Bioorg. Chem.*, 2022, vol. 48, iss. 3, pp. 519–528 (in Russian). <https://doi.org/10.1134/S1068162022030177>
  19. Konnova S. A., Makarov O. E., Skvortsov I. M., Ignatov V. V. Isolation, fractionation and some properties of polysaccharides produced in a bound form by *Azospirillum brasilense* and their possible involvement in *Azospirillum*-wheat root interactions. *FEMS Microbiol. Lett.*, 1994, vol. 118, pp. 93–99. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6968.1994.tb06809.x>
  20. Kulshin V. A., Yakovlev A. P., Avaeva S. N., Dmitriev B. A. An improved method for the isolation of lipopolysaccharides from Gram-negative bacteria. *Molecular Genetics, Microbiology and Virology*, 1987, no. 5, pp. 44–46 (in Russian).
  21. Hitchcock P. J., Brown T. M. Morphological heterogeneity among *Salmonella* lipopolysaccharide chemotypes in silver-stain polyacrylamide gels. *J. Bacteriol.*, 1983, vol. 154, pp. 269–277. <https://doi.org/10.1128/jb.154.1.269-277.1983>
  22. Tsai C. M., Frasch C. E. A sensitive silver stain for detecting lipopolysaccharides in polyacrylamide gels. *Anal. Biochem.*, 1982, vol. 119, pp. 115–119. [https://doi.org/10.1016/0165-022X\(93\)90024-I](https://doi.org/10.1016/0165-022X(93)90024-I)
  23. Konnova S. A., Skvortsov I. M., Makarov O. E., Prokhorova R. N., Rogova T. A., Ignatov V. V. Polysaccharide complexes isolated by *Azospirillum brasilense* and their possible role in the interaction of bacteria with wheat roots. *Microbiology*, 1995, vol. 64, no. 6, pp. 762–768 (in Russian).
  24. Wellburn A. R. The spectral determination of chlorophylls *a* and *b*, as well as total carotenoids, using various solvents with spectrophotometers of different resolution. *J. Plant Physiol.*, 1994, vol. 144, pp. 307–313. [https://doi.org/10.1016/S0176-1617\(11\)81192-2](https://doi.org/10.1016/S0176-1617(11)81192-2)
  25. Dorofeeva M. M., Bonetskaya S. A. Comparative analysis of some classical and modern methods for determining the area of the leaf surface. *Plant Resources*, 2020, vol. 56, no. 2, pp. 182–192 (in Russian). <https://doi.org/10.31857/S0033994620020041>
  26. Luo X., Wu W., Liang Y., Xu N., Wang Z., Zou H., Liu J. Tyrosine phosphorylation of the lectin receptor-like kinase LORE regulates plant immunity. *EMBO J.*, 2020, vol. 39, iss. 4, article number e102856. <https://doi.org/10.15252/emj.2019102856>
  27. Bashan Y., Singh M., Levanony H. Contribution of *Azospirillum brasilense* Cd to growth of tomato seedlings is not through nitrogen fixation. *Can. J. Bot.*, 1989, vol. 67, iss. 8, pp. 2429–2434. <https://doi.org/10.1139/b89-312>
  28. Volkogon V. V., Dimova S. B., Mamchur A. E. Features of the relationship of bacteria of the genus *Azospirillum* with potato plants cultivated *in vitro*. *Agricultural Microbiology*, 2005, no. 3, pp. 19–25 (in Russian).

Поступила в редакцию 08.09.2023; одобрена после рецензирования 07.11.2023; принята к публикации 17.11.2023  
The article was submitted 08.09.2023; approved after reviewing 07.11.2023; accepted for publication 17.11.2023



Известия Саратовского университета. Новая серия. Серия: Химия. Биология. Экология. 2024. Т. 24, вып. 1. С. 76–83

*Izvestiya of Saratov University. Chemistry. Biology. Ecology*, 2024, vol. 24, iss. 1, pp. 76–83

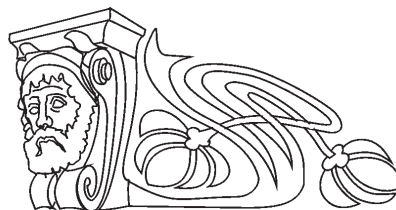
<https://ichbe.sgu.ru>

<https://doi.org/10.18500/1816-9775-2024-24-1-76-83>, EDN: SAHEFJ

Научная статья

УДК 595.782 (470.44)

## Новый подвид выемчатокрылых молей рода *Neofriseria* (Lepidoptera, Gelechiidae) из Нижнего Поволжья (Россия)



В. И. Пискунов, В. В. Аникин<sup>1</sup>✉, Е. А. Держинский<sup>2</sup>

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

<sup>2</sup>Витебский государственный университет имени П. М. Машерова, Республика Беларусь, 210038, г. Витебск, Московский пр., д. 33

Пискунов Владимир Иванович, независимый исследователь, Республика Беларусь, г. Витебск, [dernoctuid@mail.ru](mailto:dernoctuid@mail.ru), <https://orcid.org/0000-0001-7153-8084>

<sup>1</sup>Аникин Василий Викторович, доктор биологических наук, профессор кафедры морфологии и экологии животных, [anikinvasiliiv@mail.ru](mailto:anikinvasiliiv@mail.ru), <https://orcid.org/0000-0001-8575-5418>

<sup>2</sup>Держинский Евгений Александрович, кандидат биологических наук, доцент кафедры фундаментальной и прикладной биологии, [dernoctuid@mail.ru](mailto:dernoctuid@mail.ru), <https://orcid.org/0000-0002-1341-585X>

**Аннотация.** Кратко проанализирован видовой состав микрочешуекрылых рода *Neofriseria* Sattler, 1960 (Gelechiidae) фауны России и отдельных сопредельных государств. Приводится список из шести видов данного рода, известных для территории России в настоящее время. Один вид рода, описанный только по самцам из Греции, впервые указывается для России (Саратовская область) как новый подвид с описанием и изображением генитальных структур обоих полов. Отличия в строении гениталий самцов между номинативным подвидом и *N. b. volgensis* Piskunov et Anikin, **ssp. n.** обсуждаются.

**Ключевые слова:** выемчатокрылые моли, фауна, новый подвид, Нижнее Поволжье, Саратовская область, Россия

**Благодарности.** Авторы выражают признательность О. Карсхольту (O. Karsholt, Зоологический музей университета, Копенгаген, Дания) за предоставление публикаций датских лепидоптерологов.

**Для цитирования:** Пискунов В. И., Аникин В. В., Держинский Е. А. Новый подвид выемчатокрылых молей рода *Neofriseria* (Lepidoptera, Gelechiidae) из Нижнего Поволжья (Россия) // Известия Саратовского университета. Новая серия. Серия: Химия. Биология. Экология. 2024. Т. 24, вып. 1. С. 76–83. <https://doi.org/10.18500/1816-9775-2024-24-1-76-83>, EDN: SAHEFJ

Статья внесена в базу данных ZooBank: <http://zoobank.org/References/E7A27666-0B61-4DAF-A262-4B66289F1123>

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

Article

### A new subspecies of gelechiid moths from the genus *Neofriseria* (Lepidoptera, Gelechiidae) from the Lower Volga Region (Russia)

V. I. Piskunov, V. V. Anikin<sup>1</sup>✉, Ye. A. Derzhinsky<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Saratov State University, 83 Astrakhanskaya St., Saratov 410012, Russia

<sup>2</sup>Vitebsk State University named after P. M. Masharov, 33 Moskovsky Ave., Vitebsk 210038, Republic of Belarus

Vladimir I. Piskunov, [dernoctuid@mail.ru](mailto:dernoctuid@mail.ru), <https://orcid.org/0000-0001-7153-8084>

Vasily V. Anikin, [anikinvasiliiv@mail.ru](mailto:anikinvasiliiv@mail.ru), <https://orcid.org/0000-0001-8575-5418>

Yevgeny A. Derzhinsky, [dernoctuid@mail.ru](mailto:dernoctuid@mail.ru), <https://orcid.org/0000-0002-1341-585X>

**Abstract.** The article provides a brief analysis on the species composition of microlepidopteran genus *Neofriseria* Sattler, 1960 (Gelechiidae) of the fauna of Russia and some neighboring countries. A list of six species of this genus known for the territory of Russia at present is given. One species of the genus, previously described only relating to males from Greece, is recorded for Russia (Saratov region) firstly as a new subspecies with a description and illustrations of the genital structures of both sexes. Differences in the structure of the male genitalia between the nominative subspecies and *N. b. volgensis* Piskunov et Anikin, **ssp. n.** were analysed.

**Keywords:** Gelechiid moths, fauna, new subspecies, Lower Volga region, Saratov province, Russia



**Acknowledgements.** The authors express their gratitude to Ole Karsholt (Zoological Museum of the University, Copenhagen, Denmark) for sending publications of Danish lepidopterists.

**For citation:** Piskunov V. I., Anikin V. V., Derzhinsky Ye. A. A new subspecies of gelechiid moths from the genus *Neofriseria* (Lepidoptera, Gelechiidae) from the Lower Volga Region (Russia). *Izvestiya of Saratov University. Chemistry. Biology. Ecology*, 2024, vol. 24, iss. 1, pp. 76–83 (in Russian). <https://doi.org/10.18500/1816-9775-2024-24-1-76-83>, EDN: SAHEFJ

The article is included in the ZooBank database: <http://zoobank.org/References/E7A27666-0B61-4DAF-A262-4B66289F1123>

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

## Введение

Изучение выемчатокрылых молей Волжского бассейна, территории исключительно интересной фаунистически и биогеографически, продолжается уже 180 лет. Морфологическая терминология взята из литературы [1–3]. В итоговой сводке по этому региону [4] отмечен, включая Южный Урал, 351 вид данного крупного семейства микрочешуекрылых. Позднее появились новые публикации о выемчатокрылых молях Нижнего Поволжья [5–7]. Для Европы отмечено 865 видов этих молей [8], для России – 734 [9]. Обзор видов данной группы, реальных или потенциальных вредителей сельскохозяйственных культур, был опубликован в [10]. В настоящее время это семейство интенсивно изучается в Европе [3, 8, 11–15], проведен его филогенетический анализ [16–18], используются молекулярно-генетические методы [19–22] при изучении данной группы чешуекрылых.

Типовой материал собран вторым автором, детерминирован и передан на хранение в Зоологический институт РАН (г. Санкт-Петербург). Иллюстрации выполнены первым автором с помощью микроскопа МБР-1 и рисовального аппарата РА-4. Поиск отдельных литературных источников и подготовка рукописи к печати проведены вторым и третьим авторами.

## Материалы и методы

Рассмотренный ниже род *Neofriseria* включается в трибу Gelechiini подсемейства Gelechiinae [8]. Выделенный немецким энтомологом К. Саттлером [23], род первоначально включал четыре вида, при этом один из них был описан как новый для науки; типовой вид – *Lita peliella* Treitschke, 1835. Общее распространение видов рода по этой работе: Европа, Кавказ, Закавказье; гусеницы питаются на щавелях (*Rumex*) (Polygonaceae). Род отличается усложненным строением вальв в гениталиях самцов, что позволяет сразу определить родовую принадлежность его видов. Вальва из трех лопастей разной формы, к ее основанию с внутренней стороны прикреплен длинный узкий склерит, направленный почти

краниально, а затем дважды изогнутый под углом, близким к прямому [2]. Ранее [23] и позднее [3, 12, 16, 17] для обозначения частей вальвы использовалась разная терминология; авторы данной работы заимствовали её из последней упомянутой выше публикации [3], по которой стернит девятого брюшного сегмента сложного строения, вальва из четырех гонопод: первая из них длинная, тонкая, умеренно булавовидная, дистально в щетинках, вторая сильно склеротизована, тонкая, конусовидная, с мелким вершинным кончиком, третья пальцевидная, почти той же длины, что и вторая, четвёртая очень длинная, угловидно изогнута, склеротизована, названа отростком транстилли, хотя ранее называлась отдельными авторами [12, 23] гарпа; прикреплена к основанию второй гоноподы, коленообразно изогнута дистально. Фаллус, вздутый в основании, с отогнутой под прямым углом зауженной вершиной, по форме совпадает с фаллусом у видов рода *Athrips* Billberg, 1820 из вышеуказанных подсемейства и трибы, что подтверждает родство этих двух таксонов родового ранга [8, 11, 12]. Ареал рода: Палеарктика (на восток до юга Сибири, Монголии, на юг до Туркменистана включительно [2]); северо-восток Эфиопской области (Саудовская Аравия) (зоогеографическое деление суши по Лопатину [24]). После первоописания рода описывались его новые виды из Монголии [25], Саудовской Аравии [26], Туркменистана [27], Греции [12], России (Азиатская часть) [28], Испании и Португалии [29]. Синонимика, отличия друг от друга близких видов опубликованы у *Neofriseria singula* (Staudinger, 1876) [30, 31], этого же вида и *N. peliella* (Treitschke, 1835) [32], *N. mongolinella* Piskunov, 1977 и *N. kuznetzovae* Bidzilya, 2002 [33].

В России отмечены 5 видов рода *Neofriseria* [9], в Европе – 8 [8], на северо-западе Европы – 2 [3]. В Среднем, Нижнем Поволжье и на Южном Урале (Россия) были отмечены 4 вида [4].

## Результаты и их обсуждение

При изучении материала по выемчатокрылым молям, собранного вторым автором в Саратовской области, детерминирован но-



вый для фауны России вид рода *Neofriseria* Sattler, 1960, который был описан по самцам из Греции; небольшие отличия в строении гениталий позволили, с учетом наличия экземпляров обоих полов, описать ниже новый для науки подвид.

***Neofriseria baungardiella volgensis* Piskunov et Anikin, ssp. n.**

**Материал.** Голотип, ♂. «Россия, Саратовская область; Красноармейский р-н, 5 км Ю с. Н. Банновка лесостепь – степь, на свет V. Anikin col. 21–26.VI.2002». Паратипы, ♂, ♀. «Россия, Саратовская область; Красноармейский р-н, 5 км Ю с. Нижняя Банновка лесостепь, степные склоны Col. V. Anikin. днем 27–30.06.[20]03». Голотип снабжен красной этикеткой размером 8 × 23 мм, с надпечаткой в левом верхнем углу «Holotypus» и надписью черной тушью от руки: «*Neofriseria baungardiella volgensis* Piskunov et Anikin, ssp. n. ♂. Coll. Zool. inst. RAS, St. Peterburg». Препараты гениталий помещены в микропробирки с глицерином, каждый на той же энтомологической булавке, что и соответствующий ему расправленный экземпляр микрочешуекрылого; без нумерации.

**Голова.** Голова в крупных, направленных вершинами вперёд жёлтых чешуйках, около половины из них с коричневыми вершинами. Губные щупики очень длинные, серповидно

загнутые вверх, их первый членик желтый, второй того же цвета, снизу с короткой щёткой из жёлтых и отдельных коричневых чешуек, третий в тесно прижатых мелких жёлтых чешуйках с тёмно-коричневыми кольцами перед серединой и вершиной. Усики с тёмно-коричневым первым члеником, их жгутик весь в тёмно-коричневых чешуйках, при этом каждый членик в основании с воротничком из очень мелких жёлтых чешуек. Грудь тёмно-коричневая, тегулы серые с отдельными коричневыми чешуйками.

**Крылья.** Размах передних крыльев 9–10 мм. Передние крылья серовато-коричневые, в серых чешуйках с коричневыми вершинами каждая; на прикорневом поле – зауженный к заднему краю крыла косой коричневый штрих, того же цвета перевязи: внутренняя, узкая, дважды разорванная и широкая наружная, с одним разрывом в центре; на внешнем поле коричневое треугольное пятно, упирающееся своей вершиной в вершину крыла; бахромки короткие, тёмно-серые. Задние крылья светло-серые, тусклые, бахромки очень длинные, серовато-жёлтые.

**Гениталии самца** (рис. 1). Симметричные, восьмой сегмент брюшка умеренно модифицирован, его стернит с неглубокой выемкой полуовальной формы на заднем крае.

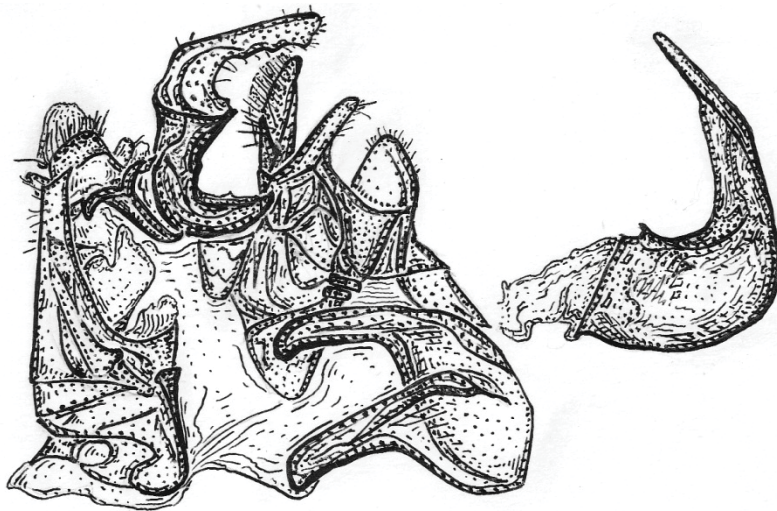


Рис. 1. Гениталии самца *Neofriseria baungardiella volgensis* Piskunov et Anikin, ssp. n. (голотип), отросток транстиллы в латеральном положении, четыре левых гоноподы не изображены, фаллус справа (вычленен). Увеличено в 40 раз  
Fig. 1. Male genitalia of *Neofriseria baungardiella volgensis* Piskunov et Anikin, ssp. n. (holotype), transtilla process in a lateral position, four left gonopods not depicted, phallus on the right (isolated). Magnified 40 times



Вальва из четырёх гонопод. Первая, лежащая ближе к тергиту, пальцевидная, в щетинках, с левым (краниальным) сильно склеротизованным треугольным краем, отогнутым направо, к её центральной части прикреплён перепончатый чехол; вторая несколько короче первой, также пальцевидная, в редких щетинках; третья короче второй, широкая, треугольная, с притуплённой вершиной, в редких щетинках; отросток транстиллы причленен к основанию второй, подвижен, смещается, его основание крючковидной формы, сильно склеротизовано, дистальная часть серповидная, умеренно склеротизована, в редких щетинках, с притуплённой, слегка вздутой вершиной. Ункус широкий, со слабо округлённой вершиной, в щетинках по краю. Гнатос небольшой, крючковидный, с загнутой вверх острой вершиной. Тегумен крышевиден, в основании резко расширен и с наличием там участков сложной склеротизации; винкулум (коксо-стернальная часть девятого сегмента) в виде короткой, широкой склеротизованной ленты; саккус широкий, с округлённой вершиной; фаллус характерной для рода формы, его основание почти шаровидно расширено, вершинная часть заужена, отклонена под прямым углом от основания, собственно вершина слегка притуплена. По длине фаллус более чем в три раза превосходит саккус.

**Гениталии самки** (рис. 2). Вагинальная пластинка из двух тесно сближенных лопастей, оба её передних края сильно склеротизованы, серповидно изогнуты, не смыкаются друг с другом.

Остиум воронковидный, перепончатый, антрум из двух склеритов треугольной формы с острыми оттянутыми вершинами, направленными каудально, при этом дорсальный (правый) склерит более чем в два раза крупнее вентрального (левого); дуктус (проток копулятивной сумки) при вытянутом яйцекладе находится в седьмом сегменте, перепончатый; бурса (копулятивная сумка) шаровидная, главным образом в шестом – седьмом сегментах; сигна небольшая, почти округлая, с перетяжкой в центре; яйцеклад умеренной длины; передние апофизы сильно склеротизованы, по длине в 2 раза превосходят вагинальную пластинку; задние апофизы не достигают остиума; анальные сосочки конусовидные, в основании слабо склеротизованы, в мелких щетинках. У номинативного подвида самка неизвестна.

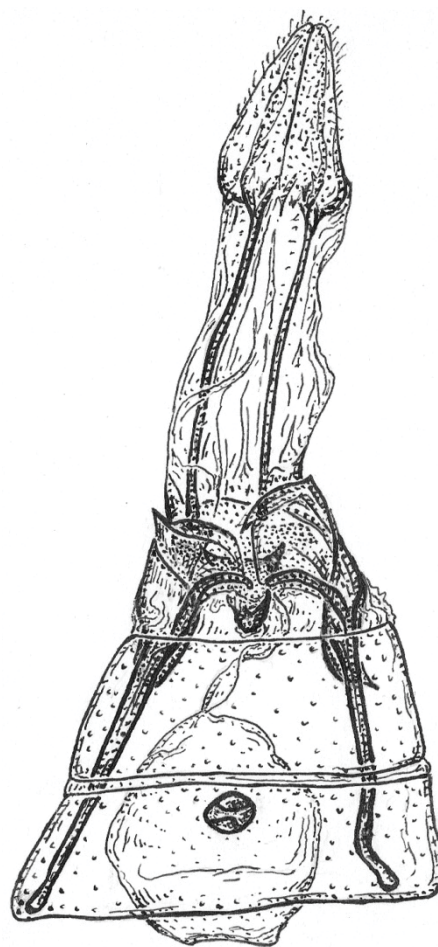


Рис. 2. Гениталии самки *Neofriseria baungardiella volgensis* Piskunov et Anikin, **ssp. n.** (паратип). Увеличено в 32 раза

Fig. 2. Female genitalia *Neofriseria baungardiella volgensis* Piskunov et Anikin, **ssp. n.** (paratype). Magnified 32 times

**Распространение.** Россия – Саратовская область, Красноармейский район.

**Биология.** Кормовые растения гусениц, преимагинальные стадии неизвестны. Имаго пойманы в лесостепи, на степных склонах, в последней декаде июня.

**Этимология.** Ввиду того, что типовая местность нового подвида находится в Нижнем Поволжье (Россия), описываемый таксон назван в честь главной реки этого региона – Волги.

**Замечания.** *Neofriseria baungardiella* Huemer et Karsholt, 1999 описан по двум самцам из Греции (типовая серия) и одному самцу из Южной Испании (не включён в типовую серию) [12]. Позже материал из Испании, дополненный таковым же из Португалии, выделен в отдельный вид *N. hitadoella* Karsholt





et Vives, 2014 [29]. Судя по первоописанию *N. baungardiella* Huemer et Karsholt, 1999, в котором имеются цветное изображение голотипа из Греции и изображение гениталий самца этого же экземпляра, новый материал, оба пола, из Нижнего Поволжья следует отнести к данному виду. Отличия нового материала из России от типового (только самцы) из Греции сводятся к форме третьей гоноподы и отростков транстиллы в гениталиях самцов. У номинативного

подвида *N. b. baungardiella* третья гонопода кинжаловидной формы, по ширине она равна второй и почти не уступает ей по длине, а у *N. b. volgensis* ssp. n. третья гонопода короче и шире в два раза по сравнению с таковой у самца номинативного подвида; отросток транстиллы у номинативного подвида длинный, с заострённой вершиной, а у *N. b. volgensis* ssp. n. он почти на треть короче, с тупой, умеренно вздутой вершиной (рис. 3).

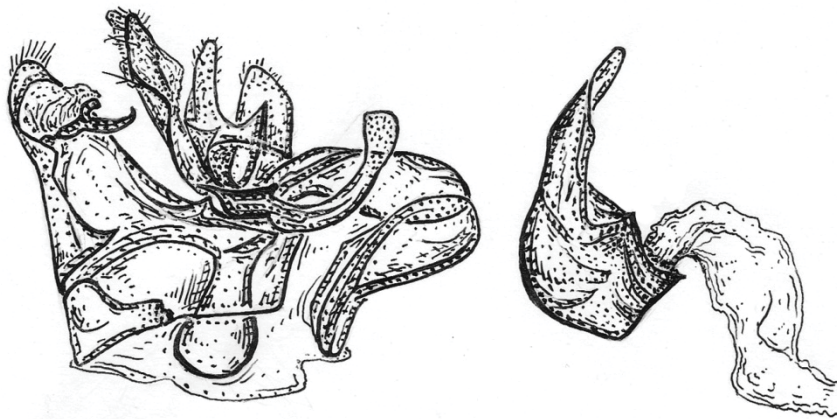


Рис. 3. Гениталии самца *Neofriseria baungardiella volgensis* Piskunov et Anikin, ssp. n. (паратип), отросток транстиллы в медиальном положении, четыре левых гоноподы не изображены, фаллус справа (вычленен). Увеличено в 40 раз

Fig. 3. Male genitalia *Neofriseria baungardiella volgensis* Piskunov et Anikin, ssp. n. (paratype), transtilla process in a medial position, four left gonopods not depicted, phallus on the right (isolated). Magnified 40 times

Таким образом, выемчатокрылая моль *Neofriseria baungardiella* Huemer et Karsholt, 1999 представлена в европейской фауне двумя подвидами: *N. b. baungardiella* Huemer et Karsholt, 1999 (Греция: Grekenland Molivos Lesvos) и *N. b. volgensis* Piskunov et Anikin, ssp. n. (Россия: Саратовская область, Красноармейский район); самка известна только у нового подвида (**femina nova**).

### Заключение

Проведенное исследование показало, что в России (Нижнее Поволжье, Саратовская область) встречается описанный ранее по самцам из Греции вид семейства выемчатокрылые моли *Neofriseria baungardiella* Huemer et Karsholt, 1999; в новом изученном материале оказались экземпляры обоих полов, он выделен в подвид *N. b. volgensis* Piskunov et Anikin, ssp. n., с описанием и изображением гениталий самцов и самки (**femina nova**). Ранее [9] в России были

отмечены пять видов рода *Neofriseria* Sattler, 1960, теперь их количество увеличилось до шести: *N. caucasicella* Sattler, 1960, *N. kuznetzovae* Bidzilya, 2002, *N. mongolinella* Piskunov, 1977, *N. peliella* (Treitschke, 1835), *Neofriseria singula* (Staudinger, 1876), *N. baungardiella volgensis* Piskunov et Anikin, ssp. n.

### Список литературы

1. Klots A. B. 20. Lepidoptera // Taxonomist's glossary of genitalia in insects / ed. S. L. Tuxen. Copenhagen : Munksgaard, 1970. P. 115–130.
2. Пискунов В. И. Сем. Gelechiidae – выемчатокрылые моли // Определитель насекомых европейской части СССР. Чешуекрылые. Л. : Наука, Ленингр. отд-ние, 1981. Т. 4, ч. 2. С. 659–748.
3. Gregersen K., Karsholt O. The Gelechiidae of North-West Europe. Oslo : Norwegian Entomological Society, 2022. 939 p.
4. Anikin V. V., Sachkov S. A., Zolotuhin V. V. "Fauna Lepidopterologica Volgo-Uralensis": From P. Pallas to present



- days (Proceedings of the Museum Witt Munich. Munich ; Vilnius : Museum Witt Munich, Nature Research Center Vilnius, 2017. Vol. 7). 696 p.
5. Аникин В. В., Пискунов В. И. Три новых вида выемчатокрылых молей (Lepidoptera, Gelechiidae) из юго-восточных районов европейской части России // Энтомологическое обозрение. 2018. Т. 97, вып. 4. С. 794–799.
  6. Пискунов В. И., Держинский Е. А. Новые находки выемчатокрылых молей (Lepidoptera: Gelechiidae) в Нижнем Поволжье и Казахстане // Энтомологические и паразитологические исследования в Поволжье : сборник научных трудов. Саратов, 2020. Вып. 17. С. 39–46.
  7. Пискунов В. И., Аникин В. В., Держинский Е. А. Виды рода *Holcophora* Staudinger, 1871 (Lepidoptera: Gelechiidae) в фаунах Нижнего Поволжья и Западного Кавказа (Россия) // Энтомологические и паразитологические исследования в Поволжье : сборник научных трудов. Саратов, 2022. Вып. 19. С. 21–27.
  8. Huemer P., Karsholt O. Commented checklist of European Gelechiidae (Lepidoptera) // ZooKeys. 2020. № 921. P. 65–140.
  9. Пономаренко М. Г. Gelechiidae // Каталог чешуекрылых (Lepidoptera) России / С. Ю. Синёв (ред.). 2-е изд. СПб. : Зоологический институт РАН, 2019. С. 91–112.
  10. Львовский А. Л., Пискунов В. И. (сост.). Сем. Gelechiidae – выемчатокрылые моли // Насекомые и клещи – вредители сельскохозяйственных культур / отв. ред. В. И. Кузнецов. СПб. : Наука, 1999. Т. 3: Чешуекрылые, ч. 2. С. 46–93.
  11. Elsner G., Huemer P., Tokár Z. Die Palpenmotten (Lepidoptera, Gelechiidae) Mitteleuropas: Bestimmung – Verbreitung – Flugstandort. Bratislava : František Slamka, 1999. 208 S.
  12. Huemer P., Karsholt O. Gelechiidae I (Gelechiinae: Teleoidini, Gelechiini) // Microlepidoptera of Europe / eds. P. Huemer, O. Karsholt, L. Lyneborg. Stenstrup : Apollo Books, 1999. 356 p.
  13. Povolný D. Iconographia Tribus Gnorimoschemini (Lepidoptera, Gelechiidae) Regionis Palaearcticae. Bratislava : František Slamka, 2002. 110 S.
  14. Huemer P., Karsholt O. Gelechiidae II (Gelechiinae: Gnorimoschemini) // Microlepidoptera of Europe / eds. P. Huemer, O. Karsholt et M. Nuss. Stenstrup : Apollo Books, 2010. Vol. 6. 586 p.
  15. Kovács Z., Kovács S. An overview of the Romanian Gelechiidae (Lepidoptera) summarizing the current knowledge in an updated and annotated checklist // Entomologica Romanica. 2022. Vol. 26. P. 1–76.
  16. Пономаренко М. Г. Выемчатокрылые моли (Lepidoptera, Gelechiidae) Палеарктики: функциональная морфология гениталий самцов, филогения и систематика. (Чтения памяти Н. А. Холодковского. Вып. 58, № 1). СПб. : Зоол. ин-т РАН, 2005. 139 с.
  17. Пономаренко М. Г. Выемчатокрылые моли подсемейства Dichomeridinae (Lepidoptera: Gelechiidae) мировой фауны. Владивосток : Дальнаука, 2009. 389 с.
  18. Ponomarenko M. G. Functional morphology of the male genitalia in Gelechiidae (Lepidoptera) and its significance for phylogenetic analysis // Nota Lepidopterologica. 2008. Vol. 31, № 2. P. 179–198.
  19. Huemer P., Mutanen M. Taxonomy of spatially disjunct alpine *Teleiopsis albifemorella* s. lat. (Lepidoptera: Gelechiidae) revealed by molecular data and morphology – how many species are there? // Zootaxa. 2012. Vol. 3580. P. 1–23. <https://doi.org/10.11646/zootaxa.3580.1.1>
  20. Karsholt O., Mutanen M., Lee S., Kaila L. A molecular analysis of the Gelechiidae (Lepidoptera, Gelechioidea) with an interpretative grouping of its taxa // Systematic Entomology. 2013. Vol. 38. P. 334–348.
  21. Huemer P., Karsholt O., Mutanen M. DNA barcoding as a screening tool for cryptic diversity: An example from Caryocolum, with description of a new species (Lepidoptera, Gelechiidae) // ZooKeys. 2014. Vol. 404. P. 91–111. <https://doi.org/10.3897/zookeys.404.7234>
  22. Huemer P., Karsholt O., Aarvik L., Berggren K., Bidzilya O., Junnilainen J., Landry J.-F., Mutanen M., Nupponen K., Segerer A., Šumpich J., Wieser C., Wisemair B., Hebert P. D. N. DNA barcode library for European Gelechiidae (Lepidoptera) suggests greatly underestimated species diversity // ZooKeys. 2020. Vol. 921. P. 141–157. <https://doi.org/10.3897/zookeys.921.49199>
  23. Sattler K. Generische Gruppierung der europäischen Arten der Sammelgattung Gelechia (Lepidoptera, Gelechiidae) (auf Grund der Untersuchungen der männlichen und weiblichen Genitalarmaturen) // Deutsche Entomologische Zeitschrift, Neue Folge. 1960. Bd. 7, Hf. I/II. S. 10–118.
  24. Лопатин И. К. Зоогеография. 2-е изд. Минск : Вышэйшая школа, 1989. 318 с.
  25. Пискунов В. И. Новый вид рода *Neofriseria* Sattler (Lepidoptera, Gelechiidae) из Монголии // Насекомые Монголии. Л. : Наука, Ленингр. отд-ние, 1977. Вып. 5. С. 617–619.
  26. Povolný D. Insects of Saudi Arabia Lepidoptera: Fam. Gelechiidae (Part 2) // Fauna of Saudi Arabia. Basel, 1981. Vol. 3. P. 417–424.
  27. Пискунов В. И. Обзор видов рода *Neofriseria* (Lepidoptera, Gelechiidae) с описанием нового вида из Туркменской ССР // Вестник зоологии. 1987. № 2. С. 8–14.
  28. Bidzilya O. *Neofriseria kuznetzovae* Bidzilya, sp. n., a new species of Palaearctic Gelechiidae (Lepidoptera: Gelechiidae) // SHILAP Revista de Lepidopterologia. 2002. Vol. 30, № 119. P. 239–243.
  29. Karsholt O., Vives Moreno A. Two new Gelechiidae for the Iberian Peninsula (Lepidoptera: Gelechiidae) // SHILAP Revista de Lepidopterologia. 2014. Vol. 42, № 168. P. 649–653.



30. Amsel H. G. Zur Nomenklatur von *Lita amaurella* Rbl. (Lepidoptera: Gelechiidae) // Zeitschrift der Wiener entomologischen Gesellschaft. 1953. Bd. 64, № 10. S. 274–275.
31. Povolný D. Resultate einiger Typenuntersuchungen aus der Familie Gelechiidae (Lep.) // Časopis Československé Společnosti entomologické. 1964. Roč. 61, čís. 1. S. 53–57.
32. Buszko J., Bengtsson B. Å. First records of some Lepidoptera in Poland // Polskie Pismo Entomologiczne. 1992. T. 61, № 3–4. P. 47–56.
33. Junnilainen J., Karsholt O., Nupponen K., Kaitila J.-P., Nupponen T., Olschwang V. The gelechiid fauna of the southern Ural Mountains, part II: List of recorded species with taxonomic notes (Lepidoptera: Gelechiidae) // Zootaxa. 2010. Vol. 2367. P. 1–68.

## References

1. Klots A. B. 20. Lepidoptera. In: Tuxen S. L., ed. *Taxonomist's glossary of genitalia in insects*. Copenhagen, Munksgaard, 1970, pp. 115–130.
2. Piskunov V. I. Family Gelechiidae – Gelechiid moths. In: *Opredelitel nasekomykh evropeiskoi chasti SSSR. Cheshuekrylye* [Key to the insects of European part of USSR. Lepidoptera]. Leningrad, Nauka, 1981, vol. 4, part 2, pp. 659–748 (in Russian)
3. Gregersen K., Karsholt O. *The Gelechiidae of North-West Europe*. Oslo, Norwegian Entomological Society, 2022. 939 p.
4. Anikin V. V., Sachkov S. A., Zolotuhin V. V. "Fauna Lepidopterologica Volgo-Uralensis": From P. Pallas to present days. (*Proceedings of the Museum Witt Munich*. Munich, Vilnius, Museum Witt Munich, Nature Research Center Vilnius, 2017, vol. 7). 696 p.
5. Anikin V. V., Piskunov V. I. Three New Species of Gelechiid Moths (Lepidoptera, Gelechiidae) from the Southeastern Regions of the European Part of Russia. *Entomological Review*, 2018, vol. 98, iss. 8, pp. 1147–1151. <https://doi.org/10.1134/S0013873818080213>
6. Piskunov V. I., Derzhinsky Ye. A. New findings of the gelechiid moths (Lepidoptera: Gelechiidae) in the Lower Volga Region and Kazakhstan. *Entomological and Parasitological Investigations in the Povolzh'e Region*, 2020, iss. 17, pp. 39–46 (in Russian)
7. Piskunov V. I., Anikin V. V., Derzhinsky Ye. A. Species of the genus *Holcophora* Staudinger, 1871 (Lepidoptera: Gelechiidae) in the faunas of the Lower Volga Region and the Western Caucasus (Russia). *Entomological and Parasitological Investigations in the Povolzh'e Region*, 2022, iss. 19, pp. 21–27 (in Russian).
8. Huemer P., Karsholt O. Commented checklist of European Gelechiidae (Lepidoptera). *ZooKeys*, 2020, no. 921, pp. 65–140.
9. Ponomarenko M. G. Gelechiidae. In: Sinev S. Yu., ed. *Katalog cheshuekrylykh (Lepidoptera) Rossii* [Catalogue of the Lepidoptera of Russia]. 2nd ed. St. Petersburg, Zoological Institute of RAS Publ., 2019, pp. 91–112 (in Russian).
10. Lvovsky A. L., Piskunov V. I. Family Gelechiidae – Gelechiid moths. In: Kuznetsov V. I., ed. *Insects and mites – pests of agricultural plants*. St. Petersburg, Nauka, 1999, vol. 3: Lepidoptera, part 2, pp. 46–93 (in Russian)
11. Elsner G., Huemer P., Tokár Z. *Die Palpenmotten (Lepidoptera, Gelechiidae) Mitteleuropas: Bestimmung – Verbreitung – Flugstandort*. Bratislava, František Slamka, 1999. 208 s.
12. Huemer P., Karsholt O. Gelechiidae I (Gelechiinae: Teleoidini, Gelechiini). In: Huemer P., Karsholt O., Lyneborg L., eds. *Microlepidoptera of Europe*. Stenstrup, Apollo Books, 1999. 356 p.
13. Povolný D. *Iconographia Tribus Gnorimoschemini (Lepidoptera, Gelechiidae) Regionis Palaearcticae*. Bratislava, František Slamka, 2002. 110 S.
14. Huemer P., Karsholt O. Gelechiidae II (Gelechiinae: Gnorimoschemini). In: Huemer P., Karsholt O., Nuss M., eds. *Microlepidoptera of Europe*. Stenstrup, Apollo Books, 2010, vol. 6. 586 p.
15. Kovács Z., Kovács S. An overview of the Romanian Gelechiidae (Lepidoptera) summarizing the current knowledge in an updated and annotated checklist. *Entomologica Romanica*, 2022, vol. 26, pp. 1–76.
16. Ponomarenko M. G. *Gelechiid moths of the Palaearctics: Functional morphology of the male genitalia, phylogeny and taxonomy* (Lepidoptera, Gelechiidae). (Meetings in memory of N. A. Cholodkovsky, iss. 58, no. 1). St. Petersburg, Zoological Institute of RAS Publ., 2005. 139 p. (in Russian)
17. Ponomarenko M. G. *Gelechiid moths of the subfamily Dichomeridinae (Lepidoptera: Gelechiidae) of the world*. Vladivostok, Dalnauka, 2009. 389 p. (in Russian).
18. Ponomarenko M. G. Functional morphology of the male genitalia in Gelechiidae (Lepidoptera) and its significance for phylogenetic analysis. *Nota Lepidopterologica*, 2008, vol. 31, no. 2, pp. 179–198.
19. Huemer P., Mutanen M. Taxonomy of spatially disjunct alpine *Teleiopsis albifemorella* s. lat. (Lepidoptera: Gelechiidae) revealed by molecular data and morphology – how many species are there? *Zootaxa*, 2012, vol. 3580, pp. 1–23. <https://doi.org/10.11646/zootaxa.3580.1.1>
20. Karsholt O., Mutanen M., Lee S., Kaila L. A molecular analysis of the Gelechiidae (Lepidoptera, Gelechioidea) with an interpretative grouping of its taxa. *Systematic Entomology*, 2013, vol. 38, pp. 334–348.
21. Huemer P., Karsholt O., Mutanen M. DNA barcoding as a screening tool for cryptic diversity: An example from Caryocolum, with description of a new species (Lepidoptera, Gelechiidae). *ZooKeys*, 2014, vol. 404, pp. 91–111. <https://doi.org/10.3897/zookeys.404.7234>
22. Huemer P., Karsholt O., Aarvik L., Berggren K., Bidzilya O., Junnilainen J., Landry J.-F., Mutanen M., Nupponen K.,



- Segerer A., Šumpich J., Wieser C., Wiesmair B., Herbert P. D. N. DNA barcode library for European Gelechiidae (Lepidoptera) suggests greatly underestimated species diversity. *ZooKeys*, 2020, vol. 921, pp. 141–157. <https://doi.org/10.3897/zookeys.921.49199>
23. Sattler K. Generische Gruppierung der europäischen Arten der Sammelgattung *Gelechia* (Lepidoptera, Gelechiidae) (auf Grund der Untersuchungen der männlichen und weiblichen Genitalarmaturen). *Deutsche Entomologische Zeitschrift, Neue Folge*, 1960, Bd. 7, no. I/II, pp. 10–118.
24. Lopatin I. K. *Zoogeografia* [Zoogeography]. 2nd ed. Minsk, Vysheishaia shkola, 1989. 318 p. (in Russian).
25. Piskunov V. I. A new species of the genus *Neofriseria* Sattler (Lepidoptera, Gelechiidae) from Mongolia. In: Kerzhner I. M., ed. *Insects of Mongolia*. Leningrad, Nauka, 1977, iss. 5, pp. 617–619 (in Russian).
26. Povolný D. Insects of Saudi Arabia Lepidoptera: Fam. Gelechiidae (Part 2). *Fauna of Saudi Arabia*. Basel, 1981, vol. 3, pp. 417–424.
27. Piskunov V. I. A review of the genus *Neofriseria* (Lepidoptera, Gelechiidae) with description of a new species from Turkmen SSR. *Vestnik zoologii*, 1987, no. 2, pp. 8–14 (in Russian).
28. Bidzilya O. *Neofriseria kuznetzovae* Bidzilya, sp. n., a new species of Palaearctic Gelechiidae (Lepidoptera: Gelechiidae). *SHILAP Revista de Lepidopterologia*, 2002, vol. 30, no. 119, pp. 239–243.
29. Karsholt O., Vives Moreno A. Two new Gelechiidae for the Iberian Peninsula (Lepidoptera: Gelechiidae). *SHILAP Revista de Lepidopterologia*, 2014, vol. 42, no. 168, pp. 649–653.
30. Amsel H. G. Zur Nomenklatur von *Lita amaurella* Rbl. (Lepidoptera: Gelechiidae). *Zeitschrift der Wiener entomologischen Gesellschaft*, 1953, Bd. 64, no. 10, S. 274–275.
31. Povolný D. Resultate einiger Typenuntersuchungen aus der Familie Gelechiidae (Lep.). *Časopis Československé Společnosti Entomologické*, 1964, roč. 61, čís. 1, S. 53–57.
32. Buszko J., Bengtsson B. Å. First records of some Lepidoptera in Poland. *Polskie Pismo Entomologiczne*, 1992, vol. 61, no. 3–4, pp. 47–56.
33. Junnilainen J., Karsholt O., Nupponen K., Kaitila J.-P., Nupponen T., Olschwang V. The gelechiid fauna of the southern Ural Mountains, part II: List of recorded species with taxonomic notes (Lepidoptera: Gelechiidae). *Zootaxa*, 2010, vol. 2367, pp. 1–68.

Поступила в редакцию 28.10.2023; одобрена после рецензирования 26.11.2023; принята к публикации 27.11.2023  
The article was submitted 28.10.2023; approved after reviewing 26.11.2023; accepted for publication 27.11.2023



## ЭКОЛОГИЯ

Известия Саратовского университета. Новая серия. Серия: Химия. Биология. Экология. 2024. Т. 24, вып. 1. С. 84–95

*Izvestiya of Saratov University. Chemistry. Biology. Ecology*, 2024, vol. 24, iss. 1, pp. 84–95

<https://ichbe.sgu.ru>

<https://doi.org/10.18500/1816-9775-2024-24-1-84-95>

EDN: RVLBVO

Научная статья  
УДК 615.9:577.4

### Анализ природных и антропогенных факторов, влияющих на способность *Lepidium sativum* L. адаптироваться к токсичности триазольных ксенобиотиков

В. А. Исаичкин, Е. С. Селезнева, З. П. Белоусова ✉

Самарский национальный исследовательский университет имени академика С. П. Королева, Россия, 443086, г. Самара, ул. Московское шоссе, д. 34

Исаичкин Вадим Александрович, магистрант кафедры биохимии, биотехнологии и биоинженерии, vadim.isaichkin.99@mail.ru, <https://orcid.org/0009-0000-0950-588X>

Селезнева Екатерина Сергеевна, кандидат биологических наук, доцент кафедры биохимии, биотехнологии и биоинженерии, catana7@yandex.ru, <https://orcid.org/0009-0005-0801-0750>

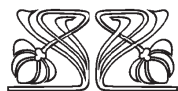
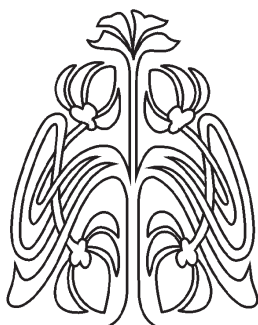
Белоусова Зоя Петровна, доктор химических наук, профессор кафедры неорганической химии, zbelousova@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0003-0165-5140>

**Аннотация.** Исследовали последствия воздействия природными факторами (температуры +34°C и +20°C) и антропогенными ксенобиотиками (1,2,4-TriH; 1-(CH<sub>3</sub>SO<sub>2</sub>)-1H-1,2,4-Tri; 4-(PhSO<sub>2</sub>)-4H-1,2,4-Tri; 4-(TolSO<sub>2</sub>)-4H-1,2,4-Tri) на кресс-салат *Lepidium sativum* L. Для этого были проведены 4 серии экспериментов. В первых двух сериях исследовали влияние концентраций: 0,001; 0,01; 0,1 мг/мл при проращивании в условиях разных температур в течение трех суток. Обнаружили, что с повышением концентрации растворов триазолов возрастает способность соединений ингибировать прорастание семян кресс-салата. Определяющим фактором их токсичности является величина липофильности. Не выявлены различия между влиянием исследованных температур на энергию прорастания семян. С повышением концентрации увеличивается способность синтезированных триазолов ингибировать рост корней и стеблей кресс-салата. При этом их токсичность достоверно выше при более высокой из исследованных температур. В последующих двух сериях изучали способность *Lepidium sativum* адаптироваться к токсичности триазолов. Для этого в течение суток семена проращивали при контрастных температурах в растворах с концентрацией 0,001 мг/мл, затем их двое суток проращивали в растворах 0,1 мг/мл. Обнаружили, что триазолы достоверно по-разному влияют на развитие адаптивного ответа у растений. Только 4-(PhSO<sub>2</sub>)-4H-1,2,4-Tri; 4-(TolSO<sub>2</sub>)-4H-1,2,4-Tri вызывали достоверное развитие адаптивного ответа, величина которого зависела и от температуры культивирования. Мы выявили, если при прямом действии исследуемыми триазолами важна величина их липофильности, то для развития преадаптации важны величины их молекулярной массы и молекулярного объема.

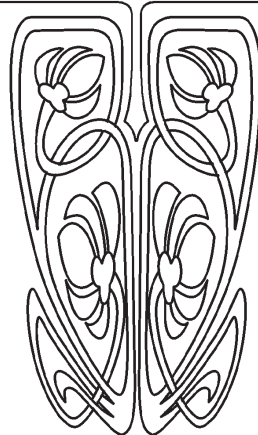
**Ключевые слова:** *Lepidium sativum*, кресс-салат, триазольные пестициды, ретарданты, токсичность, преадаптация, адаптивный ответ

**Для цитирования:** Исаичкин В. А., Селезнева Е. С., Белоусова З. П. Анализ природных и антропогенных факторов, влияющих на способность *Lepidium sativum* L. адаптироваться к токсичности триазольных ксенобиотиков // Известия Саратовского университета. Новая серия. Серия: Химия. Биология. Экология. 2024. Т. 24, вып. 1. С. 84–95. <https://doi.org/10.18500/1816-9775-2024-24-1-84-95>, EDN: RVLBVO

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



НАУЧНЫЙ  
ОТДЕЛ





Article

## Analysis of natural and anthropogenic factors affecting the ability of *Lepidium sativum* L. to adapt to the toxicity of triazole xenobiotics

V. A. Isaichkin, E. S. Selezneva, Z. P. Belousova ✉

Samara University, 34 Moskovckoe shosse St., Samara 443086, Russia

Vadim A. Isaichkin, vadim.isaichkin.99@mail.ru, <https://orcid.org/0009-0000-0950-588X>

Ekaterina S. Selezneva, catana7@yandex.ru, <https://orcid.org/0009-0005-0801-0750>

Zoya P. Belousova, zbelousova@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0003-0165-5140>

**Abstract.** The effects of natural factors (temperatures +34°C and +20°C) and anthropogenic xenobiotics (1,2,4-TriH; 1-(CH<sub>3</sub>SO<sub>2</sub>)-1H-1,2,4-Tri; 4-(PhSO<sub>2</sub>)-4H-1,2,4-Tri; 4-(TolSO<sub>2</sub>)-4H-1,2,4-Tri) on watercress *Lepidium sativum* L. was studied. For this, 4 series of experiments were carried out. In the first two series, the effect of concentrations was studied: 0.001, 0.01, 0.1 mg/ml during germination at different temperatures for three days. It was found that the ability of the triazole compounds to inhibit the germination of watercress seeds increased with increasing concentration of the solutions. The magnitude of lipophilicity was the determining factor in their toxicity. Differences between the influence of the studied temperatures on the energy of seed germination weren't revealed. The ability of the synthesized triazoles to inhibit the growth of watercress roots and stems increased with increasing their concentration. At the same time, their toxicity was significantly higher at the higher of the studied temperatures. The next two series examined the ability of *Lepidium sativum* to adapt to the toxicity of triazoles. To do this, the seeds were germinated during the day at contrasting temperatures in solutions with a concentration of 0.001 mg/ml, then they were germinated in solutions of 0.1 mg/ml for two days. It turned out that triazoles had significantly different effects on the development of the adaptive response in plants. Only 4-(PhSO<sub>2</sub>)-4H-1,2,4-Tri; 4-(TolSO<sub>2</sub>)-4H-1,2,4-Tri caused a significant development of an adaptive response, the magnitude of which also depended on the cultivation temperature. We found that the value of lipophilicity of the studied triazoles was of significant importance during their direct action, and the values of their molecular weight and molecular volume were important for the development of preadaptation.

**Keywords:** *Lepidium sativum*, watercress, triazole pesticides, retardants, toxicity, preadaptation, adaptive response

**For citation:** Isaichkin V. A., Selezneva E. S., Belousova Z. P. Analysis of natural and anthropogenic factors affecting the ability of *Lepidium sativum* L. to adapt to the toxicity of triazole xenobiotics. *Izvestiya of Saratov University. Chemistry. Biology. Ecology*, 2024, vol. 24, iss. 1, pp. 84–95 (in Russian). <https://doi.org/10.18500/1816-9775-2024-24-1-84-95>, EDN: RVLBVO

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

## Введение

Для предпосевной обработки часто используют высокоэффективные ретарданты и фунгициды, содержащие триазол [1]. С их помощью решаются проблемы, связанные с болезнями, вредителями и сорными растениями, а также повышением урожайности культурных растений [2]. Однако это приводит к появлению рас растений, устойчивых к данным пестицидам. К тому же существует риск накопления культурными растениями используемых пестицидов, и возникает необходимость постоянного тестирования сельскохозяйственной продукции [3, 4].

Особый интерес вызывает способность растений из экосистем, сопровождающих агроценозы, приспосабливаться к токсическому действию повсеместно применяемых препаратов [5]. Именно возникновение устойчивых к пестицидам форм приводит к тому, что нужно либо увеличивать дозу применяемых веществ, либо синтезировать аналоги применимых препаратов, к которым приспособлений нет. В

сущности оба эти пути создают векторный отбор генотипов у растений-сорняков и паразитарных грибов на устойчивость к антропогенным ксенобиотикам. Необходимы модельные эксперименты, позволяющие оценить, какие природные и антропогенные факторы участвуют в появлении у растений способности адаптироваться к используемым пестицидам.

Целью данного исследования является анализ способности тест-объекта *Lepidium sativum* адаптироваться к разным температурным режимам выращивания (как комфортной температуры, так и повышенной) в условиях воздействия на растения триазола и его производных.

## Материалы и методы

Исследовали влияние двух положительных температур +20 и +34 °С. Токсикантами служили: 1,2,4-TriH (I), 1-(CH<sub>3</sub>SO<sub>2</sub>)-1H-1,2,4-Tri (II), 4-(PhSO<sub>2</sub>)-4H-1,2,4-Tri (III), 4-(TolSO<sub>2</sub>)-4H-1,2,4-Tri (IV). Это химические соединения, относящиеся к классу алкил(арил)сульфонил-



1,2,4-триазолов. Они различаются структурой фрагмента сульфокислоты, это, соответственно, метильная, фенильная и толильная группы. Триазолиды исследовали в концентрациях 0,001; 0,01; 0,1 мг/мл.

Используемые триазолов синтезированы на кафедре неорганической химии Самарского университета с целью выяснения роли физико-химических параметров в развитии биологического ответа, что поможет в будущем синтезировать соединения с высокой избирательной активностью [6].

В качестве тест-объекта использовали *Lepidium sativum* L., широко применяемый в экологических исследованиях [7, 8], сорт «Забава».

Модельные эксперименты длились трое суток. Было проведено 4 серии экспериментов.

Во всех сериях экспериментов семена кресс-салата по 30 штук помещали в чашки Петри на фильтровальную бумагу, пропитанную исследуемыми растворами. Контролем служили семена, пророщенные в воде. Все серии экспериментов проводили в трех повторах для каждой концентрации исследуемого соединения.

Биологические ответы оценивали через трое суток, подсчитывая энергию прорастания семян, среднюю длину стеблей и корней.

**Серия 1.** Культивирование проводили в термостате при температуре +34°C. Контролем служили семена, пророщенные в воде при этой же температуре.

**Серия 2.** Проращивание в экспериментальных растворах и в воде (контроль) проводили при температуре +20°C.

**Серия 3.** Семена проращивали в течение суток при температуре +34°C в растворе исследуемого триазола с концентрацией 0,001 мг/мл. Через сутки тест-объекты переносили в другие чашки Петри, где концентрация раствора этого же вещества была 0,1 мг/мл. Растения проращивали ещё двое суток.

Активным контролем служили семена, пророщенные в растворе исследуемого триазола в концентрации 0,1 мг/мл в течение трех суток при температуре +34°C.

**Серия 4.** Семена проращивали в течение суток при температуре +20°C в растворах исследуемого соединения в концентрации 0,001 мг/мл, затем их переносили в чашки Петри с раствором этого же вещества в концентрации 0,1 мг/мл, где тест-объекты проращивали ещё двое суток.

Активный контроль был тот же, как и в серии 3, но семена проращивали при температуре +20°C.

Достоверность различий между опытом и контролем, разными концентрациями испытуемых соединений и аналогичными концентрациями разных соединений, действующих при разных температурах культивирования, и между биологическими ответами в экспериментах со сменой концентрацией при разных температурах оценивали с применением двухфакторного дисперсионного анализа. С помощью однофакторного дисперсионного анализа выясняли достоверное влияние физико-химических параметров на токсичность соединений [9].

### Результаты и их обсуждение

В регионах с резко континентальным климатом весна характеризуется перепадами температур, когда диапазон положительных температур колеблется от +20 до +34°C [10]. Поэтому мы смоделировали процесс, когда тест-объект проращивали при контрастных температурах: +20°C (комфортная температура, рекомендованная ГОСТом 12038-84) и +34°C в водных растворах производных триазола с разной концентрацией. На первом этапе оценивали влияние разных температур на энергию прорастания семян кресс-салата.

Чтобы избежать влияния полиморфизма по генам, отвечающим за регуляцию ранних этапов онтогенеза растения, мы использовали в анализе «дружность всхожести семян» или «энергию прорастания семян», которая, по мнению многих исследователей, является косвенным показателем однородности [11, 12] по генам-регуляторам онтогенеза, координирующих развитие растений в соответствии с внешними факторами [13]. Таким образом, мы наблюдали реакцию сходных генотипов на воздействующие факторы.

Исследование влияния анализируемых факторов на энергию прорастания семян представлено на рис. 1.

Как видно из представленных результатов, при проращивании в растворах всех испытуемых триазолов в концентрации 0,001 мг/мл при разных температурах культивирования достоверных различий по энергии прорастания семян не выявлено. Необходимо отметить, что и в контроле не выявлено статистически значимых отличий по всхожести семян в разных температурных условиях.

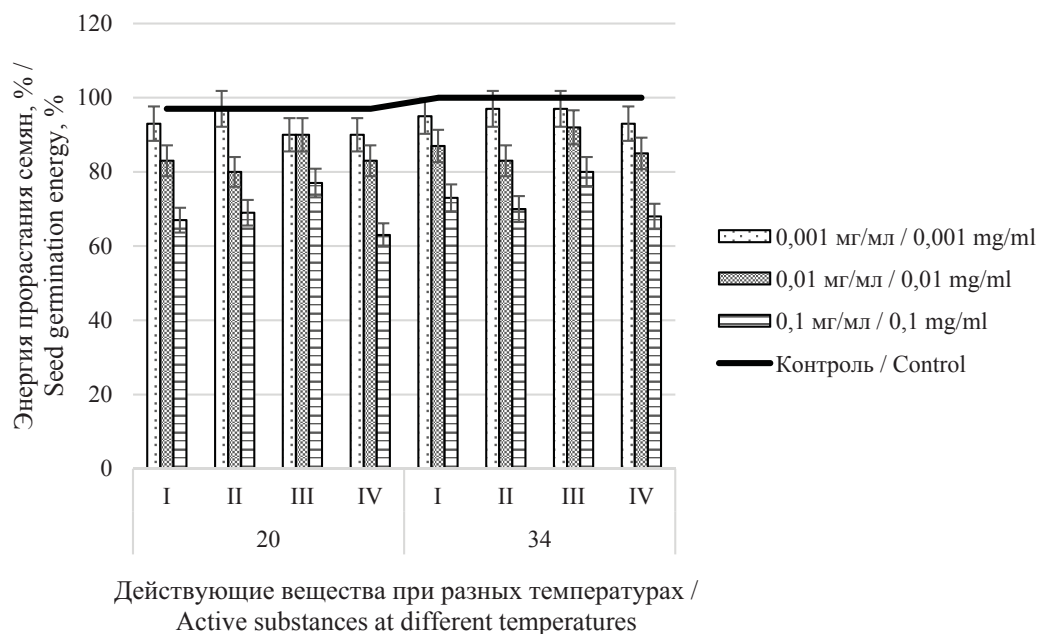


Рис. 1. Влияние водных растворов триазола и его производных на энергию всхожести семян *Lepidium sativum* при проращивании их при контрастных температурах, где 20 – температура +20°C, 34 – температура +34°C; I – 1,2,4-TriH, II – 1-(CH<sub>3</sub>SO<sub>2</sub>)-1H-1,2,4-Tri, III – 4-(PhSO<sub>2</sub>)-4H-1,2,4-Tri, IV – 4-(TolSO<sub>2</sub>)-4H-1,2,4-Tri

Fig. 1. The effect of aqueous solutions of triazole and its derivatives on the germination energy of *Lepidium sativum* seeds when germinating them at contrasting temperatures, where 20 is the temperature +20°C, 34 is the temperature +34°C; I – 1,2,4-TriH, II – 1-(CH<sub>3</sub>SO<sub>2</sub>)-1H-1,2,4-Tri, III – 4-(PhSO<sub>2</sub>)-4H-1,2,4-Tri, IV – 4-(TolSO<sub>2</sub>)-4H-1,2,4-Tri

Двухфакторный дисперсионный анализ позволил выявить, что в более высоких концентрациях исследуемые нами соединения достоверно ингибируют величину проросших семян по сравнению с контролем, и чем выше концентрация, тем сильнее ингибирование ( $p < 0,001$ ). Необходимо отметить, что и триазолы, отличающиеся своими активными группами, по-разному влияют на энергию прорастания ( $p < 0,01$ ), минимальные ингибирующие свойства проявлял 4-(PhSO<sub>2</sub>)-4H-1,2,4-Tri (III) (см. рис. 1). В целом можно отметить, что энергия прорастания семян падала по сравнению с контролем в растворах с концентрацией от 0,01 до 0,1 мг/мл на 20–34%.

Мы исследовали совместное воздействие синтезированных триазолов, отличающихся активными группами и физико-химическими свойствами, и природного фактора температуры. Двухфакторный дисперсионный анализ показал, что при комфортной температуре +20°C ингибирование прорастания семян исследуемыми соединениями в концентрации 0,1 мг/мл было достоверно выше, чем при температуре +34°C ( $p < 0,01$ ). Нам удалось построить ряд, в котором

ингибирование энергии прорастания в высокой концентрации растворов при исследованных температурах падает: 4-(TolSO<sub>2</sub>)-4H-1,2,4-Tri > 1-(CH<sub>3</sub>SO<sub>2</sub>)-1H-1,2,4-Tri > 1,2,4-TriH > 4-(PhSO<sub>2</sub>)-4H-1,2,4-Tri

В системе «HyperChem» мы рассчитали физико-химические параметры синтезированных нами соединений. Результаты представлены в таблице.

Анализ влияния физико-химических характеристик растворов триазолов на энергию прорастания семян кресс-салата показал, что определяющую роль в способности ингибировать прорастание семян при температуре +34°C и при выращивании при +20°C играет величина липофильности исследуемых триазолов, однако при +34°C на способность ингибировать прорастание семян влияет и величина дипольного момента синтезированных триазолов.

Можно предположить, что в теплицах предварительное воздействие триазольными фунгицидами на семена усиливает ингибирующее действие этих препаратов не только на паразитарные грибы, но и на сами культурные растения.





**Физико-химические параметры исследуемых триазолов (программа «HyperChem»)**  
**Table. Physico-chemical parameters of the triazoles under study (HyperChem program)**

Исследуемые триазолы / Investigated triazoles	Физико-химические параметры / Physico-chemical parameters				
	Молекулярная масса, г/моль / Molecular weight, g/mol	Молекулярный объем, Å <sup>3</sup> / Molecular volume, Å <sup>3</sup>	Липофильность, lgP / Lipophilicity, lgP	Энергия гидратации, кДж/моль / Hydration energy, kJ/mol	Величина дипольного момента, дб / The magnitude of the dipole moment, db
1,2,4-TriH	69,07	258,91	-0,12	-11,48	2,7
1-(CH <sub>3</sub> SO <sub>2</sub> )-1H-1,2,4-Tri	147,5	407,04	-0,53	-8,07	3,03
4-(PhSO <sub>2</sub> )-4H-1,2,4-Tri	209,22	568,12	-0,04	-8,45	4,76
4-(TolSO <sub>2</sub> )-4H-1,2,4-Tri	223,25	618,7	0,11	-7,2	5,33

При попадании фунгицидов в почву соединения так или иначе влияют на корневую систему. Мы исследовали влияние испытуемых триазольных соединений на рост корней кресс-салата. Результаты представлены на рис. 2.

Полученные результаты показывают (см. рис. 2), что температурный фактор существенно влияет на рост корневой системы. Проращивание при +34°C достоверно ингибирует рост корней по сравнению с ростом при температуре +20°C

в растворах всех исследованных концентраций. С ростом концентрации растворов растут ингибирующие свойства всех триазолов независимо от их строения ( $p < 0,01$ ).

Двухфакторный дисперсионный анализ не выявил различий между исследованными соединениями в их способности ингибировать рост корней. Таким образом, связь между структурой соединений и их ингибирующими свойствами для корневой системы не обнаружено.

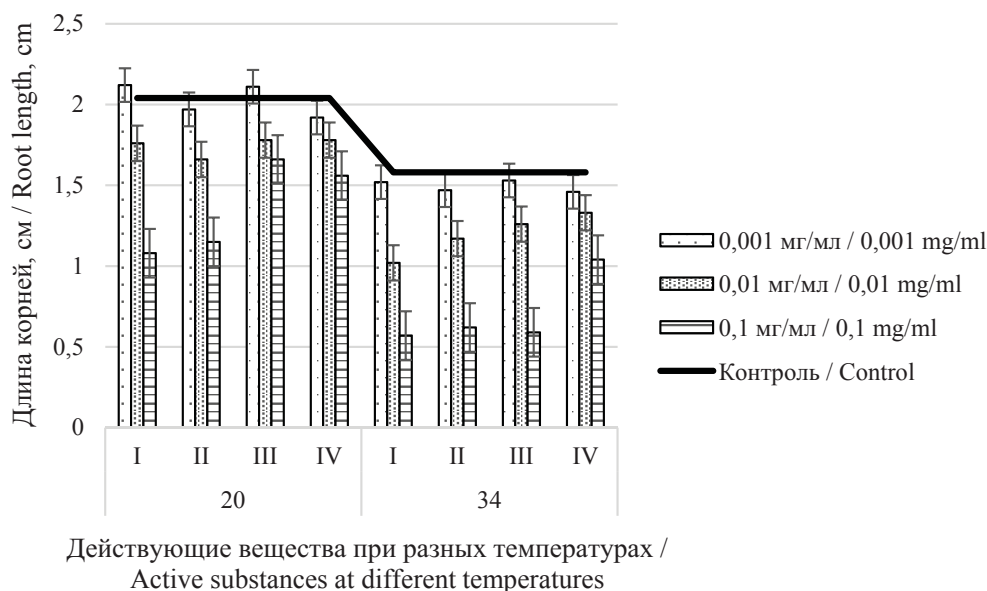


Рис. 2. Влияние водных растворов триазола и его производных на среднюю длину корней *Lepidium sativum* на третьи сутки, при проращивании их при контрастных температурах, где 20 – температура +20°C, 34 – температура +34°C; I – 1,2,4-TriH, II – 1-(CH<sub>3</sub>SO<sub>2</sub>)-1H-1,2,4-Tri, III – 4-(PhSO<sub>2</sub>)-4H-1,2,4-Tri, IV – 4-(TolSO<sub>2</sub>)-4H-1,2,4-Tri

Fig. 2. Effect of aqueous solutions of triazole and its derivatives on the average root length of *Lepidium sativum* on the third day, when germinating them at contrasting temperatures, where 20 is temperature +20°C, 34 is temperature + 34°C; I – 1,2,4-TriH, II – 1-(CH<sub>3</sub>SO<sub>2</sub>)-1H-1,2,4-Tri, III – 4-(PhSO<sub>2</sub>)-4H-1,2,4-Tri, IV – 4-(TolSO<sub>2</sub>)-4H-1,2,4-Tri



Анализ влияния водных растворов триазолов на рост побегов при выращивании

кресс-салата в разных температурных условиях показан на рис. 3.

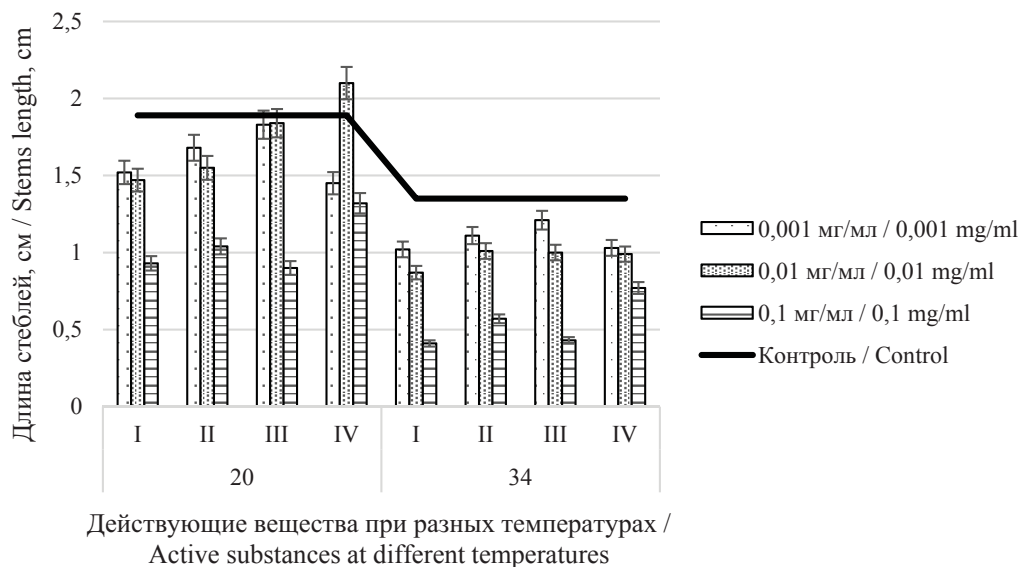


Рис. 3. Влияние водных растворов триазола и его производных на среднюю длину стеблей *Lepidium sativum* на третий сутки, при проращивании их при контрастных температурах, где 20 – температура +20°C, 34 – температура +34°C; I – 1,2,4-TriH, II – 1-(CH<sub>3</sub>SO<sub>2</sub>)-1H-1,2,4-Tri, III – 4-(PhSO<sub>2</sub>)-4H-1,2,4-Tri, IV – 4-(TolSO<sub>2</sub>)-4H-1,2,4-Tri

Fig. 3. Effect of aqueous solutions of triazole and its derivatives on average stem length of *Lepidium sativum* on the third day, when germinating them at contrasting temperatures, where 20 is +20°C, 34 is +34°C; I – 1,2,4-TriH, II – 1-(CH<sub>3</sub>SO<sub>2</sub>)-1H-1,2,4-Tri, III – 4-(PhSO<sub>2</sub>)-4H-1,2,4-Tri, IV – 4-(TolSO<sub>2</sub>)-4H-1,2,4-Tri

Как видно из представленных результатов (см. рис. 3) и проведённого двухфакторного дисперсионного анализа, синтезированные нами триазолы при выращивании при +34°C достоверно сильнее ингибируют рост стеблей кресс-салата, чем при температуре +20°C ( $p < 0,01$ ). Однако следует отметить, что при проращивании при более низкой из исследованных температур минимальными ингибирующими свойствами обладал 4-(PhSO<sub>2</sub>)-4H-1,2,4-Tri в концентрации 0,01 мг/мл, а соединение 4-(TolSO<sub>2</sub>)-4H-1,2,4-Tri проявило стимулирующий эффект в этой же концентрации. В более высокой концентрации все исследованные триазолы ингибируют рост стеблей ( $p < 0,01$ ) независимо от температуры культивирования.

Последнее позволяет предположить, что именно кольцо триазола определяет свойства соединений подавлять рост тест-объекта. Независимо от того, при какой температуре выращивали кресс-салат ретардантные свойства синтезированных триазолов связаны с их липофильностью. Ретардантное действие триазолов, используемых как комплексные фунгициды, обусловлено подавлением биосинтеза гибберел-

лина в трёх его звеньях уже на ранних стадиях развития растений [1]. Возможно, соединения с более высокой липофильностью быстрее достигают клеток апикальных меристем корней и побегов, которые вносят наибольший вклад в формирование растительного организма. В целом существует большое количество механизмов, позволяющих снизить негативное воздействие триазолами, однако данные соединения являются новыми, поэтому наблюдаемые нами ответы – следствие неспецифических реакций.

Многолетнее использование одних и тех же пестицидов приводит к отбору генотипов сорных растений и вредителей, устойчивых к данному соединению, за счёт появления адаптивного ответа [14]. Чтобы доказать это, мы смоделировали эксперимент, позволяющий выяснить, какие факторы влияют на формирование адаптивного ответа: температура или физико-химические свойства триазолидов.

После преадаптации семян в течение суток самой низкой из используемых нами концентрации (0,001 мг/мл) мы переносили проростки в чашки Петри, в которых тест-объект рос на концентрации 0,1 мг/мл при контрастных положи-



тельных температурах. Таким образом, мы преадаптировали кресс-салат слаботоксичной дозой.

Исследования влияния преадаптации на энергию прорастания семян представлены на рис. 4.



Рис. 4. Влияние различных типов воздействия растворами триазола на энергию прорастания семян *Lepidium sativum*, при проращивании кресс-салата при контрастных температурах, где 20 – температура +20°C, 34 – температура +34°C; I – 1,2,4-TriH, II – 1-(CH<sub>3</sub>SO<sub>2</sub>)-1H-1,2,4-Tri, III – 4-(PhSO<sub>2</sub>)-4H-1,2,4-Tri, IV – 4-(TolSO<sub>2</sub>)-4H-1,2,4-Tri; преадаптация – предварительное проращивание в растворах с концентрацией 0,001 мг/мл, с последующим выращиванием в растворах соединений с концентрацией 0,1 мг/мл, прямое действие – культивирование в растворах с концентрацией 0,1 мг/мл

Fig. 4. Effect of different types of exposure to triazole solutions on germination energy of *Lepidium sativum* seeds, during cress germination at contrasting temperatures, where 20 – temperature +20°C, 34 – temperature +34°C; I – 1,2,4-TriH, II – 1-(CH<sub>3</sub>SO<sub>2</sub>)-1H-1,2,4-Tri, III – 4-(PhSO<sub>2</sub>)-4H-1,2,4-Tri, IV – 4-(TolSO<sub>2</sub>)-4H-1,2,4-Tri; pre-adaptation – pre-germination in solutions with a concentration of 0,001 mg/ml, followed by cultivation in solutions with a concentration of 0,1 mg/ml, direct action – cultivation in solutions with a concentration of 0,1 mg/ml

Как видно из представленных результатов (см. рис. 4), преадаптация семян низкотоксичной дозой и последующим выращиванием их в соединениях с высокой концентрацией исследуемых веществ не зависит от температуры культивирования. Однако необходимо отметить, что предварительное воздействие соединениями, имеющими бензольное кольцо – 4-(PhSO<sub>2</sub>)-4H-1,2,4-Tri, 4-(TolSO<sub>2</sub>)-4H-1,2,4-Tri, на 10% повышало прорастание семян по сравнению с прямым действием ( $p < 0,05$ ).

Однофакторный дисперсионный анализ показал, что на развитие адаптивной реакции, выражающейся в увеличении энергии прорастания семян, влияют липофильность, энергия гидратации и величина дипольного момента. Самый сильный адаптивный ответ вызывает 4-(TolSO<sub>2</sub>)-4H-1,2,4-Tri.

Исследования влияния преадаптации растений слаботоксичной дозой на ростовые процессы корней показаны на рис. 5.

Проведённый двухфакторный дисперсионный анализ не выявил достоверных различий в стимуляции адаптивного ответа у корней при действии триазолами с разным строением, не оказал влияние и температурный режим культивирования растений, хотя необходимо отметить, что преадаптация соединениями в низкой концентрации снижает токсичность веществ в дозе 0,1 мг/мл ( $p < 0,05$ ) при культивировании при высокой температуре, преадаптация нетоксичной дозой при комфортной температуре наблюдалась только для 4-(PhSO<sub>2</sub>)-4H-1,2,4-Tri.

Результаты преадаптации нетоксичными дозами на ростовые процессы в стеблях кресс-салата представлены на рис. 6.

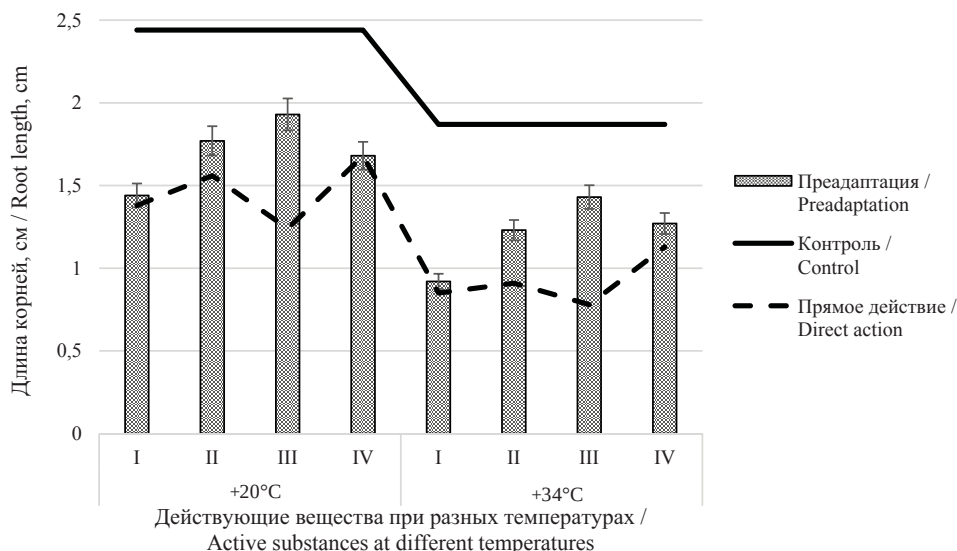


Рис. 5. Влияние различных типов воздействия растворами триазола на длину корней, при проращивании *Lepidium sativum* при контрастных температурах; I – 1,2,4-TriH, II – 1-(CH<sub>3</sub>SO<sub>2</sub>)-1H-1,2,4-Tri, III – 4-(PhSO<sub>2</sub>)-4H-1,2,4-Tri, IV – 4-(TolSO<sub>2</sub>)-4H-1,2,4-Tri; преадаптация – предварительное проращивание в растворах с концентрацией 0,001 мг/мл, с последующим выращиванием в растворах соединений с концентрации 0,1 мг/мл, прямое действие – культивирование в растворах с концентраций 0,1 мг/мл

Fig. 5. Effect of different types of exposure to triazole solutions on root length, when germinating *Lepidium sativum* at contrasting temperatures; I – 1,2,4-TriH, II – 1-(CH<sub>3</sub>SO<sub>2</sub>)-1H-1,2,4-Tri, III – 4-(PhSO<sub>2</sub>)-4H-1,2,4-Tri, IV – 4-(TolSO<sub>2</sub>)-4H-1,2,4-Tri; pre-adaptation – pre-germination in solutions with a concentration of 0,001 mg/ml, followed by cultivation in solutions with a concentration of 0,1 mg/ml, direct action – cultivation in solutions with a concentration of 0,1 mg/ml

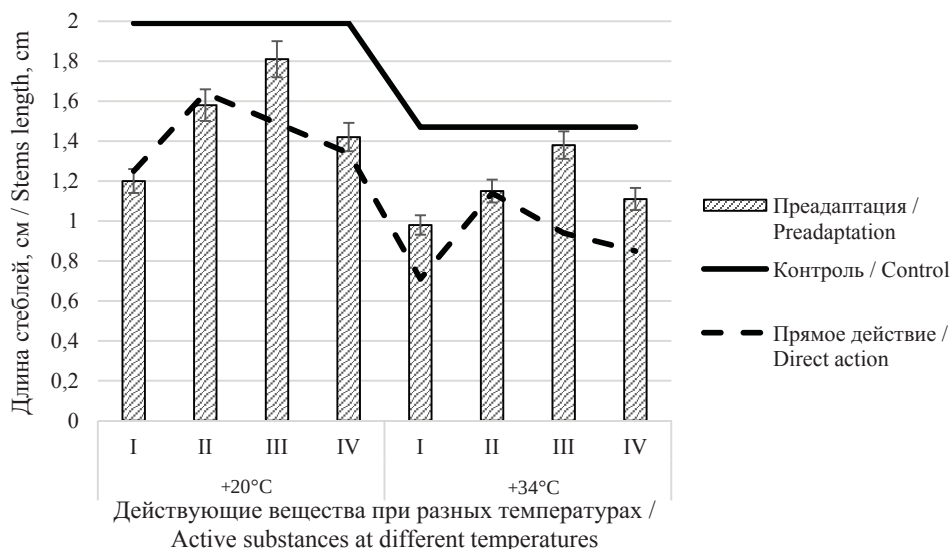


Рис. 6. Влияние различных типов воздействия растворами триазола на длину стеблей *Lepidium sativum*, при проращивании кресс-салата при контрастных температурах; I – 1,2,4-TriH, II – 1-(CH<sub>3</sub>SO<sub>2</sub>)-1H-1,2,4-Tri, III – 4-(PhSO<sub>2</sub>)-4H-1,2,4-Tri, IV – 4-(TolSO<sub>2</sub>)-4H-1,2,4-Tri; преадаптация – предварительное проращивание в растворах с концентрацией 0,001 мг/мл, с последующим выращиванием в растворах веществ с концентрацией 0,1 мг/мл, прямое действие – культивирование в растворах с концентраций 0,1 мг/мл

Fig. 6. Effect of different types of exposure to triazole solutions on stem length of *Lepidium sativum*, when germinating cress at contrasting temperatures; I – 1,2,4-TriH, II – 1-(CH<sub>3</sub>SO<sub>2</sub>)-1H-1,2,4-Tri, III – 4-(PhSO<sub>2</sub>)-4H-1,2,4-Tri, IV – 4-(TolSO<sub>2</sub>)-4H-1,2,4-Tri; pre-adaptation – pre-germination in solutions with a concentration of 0,001 mg/ml, followed by cultivation in solutions with a concentration of 0,1 mg/ml, direct action – cultivation in solutions with a concentration of 0,1 mg/ml



Проведённые эксперименты показали, что развитие адаптивного ответа зависит от строения исследуемых нами триазолов. Так, соединения, в состав которых входило бензольное кольцо, развивают адаптивный ответ независимо от температуры культивирования ( $p < 0,05$ ). При культивировании при  $+34^{\circ}\text{C}$  величина адаптивного ответа достоверно больше, чем при культивировании при  $+20^{\circ}\text{C}$ .

Анализируя физико-химические параметры триазолов, мы обнаружили, что если при прямом действии важна величина их липофильности, то для развития адаптивного ответа важны величины их молекулярной массы и молекулярного объема.

Адаптации к условиям окружающей среды проявляются на различных уровнях биологической организации – от молекулярного до биогеоценотического [15]. Один из этапов адаптивного реагирования – появление адаптивного ответа, выражающегося в величине негативного ответа при предварительном воздействии токсикантом в нетоксичной дозе [16].

Формирование адаптивного ответа зависит от наличия у растений ферментов, способных трансформировать действие токсиканта, скорости поступления ксенобиотика в апикальные меристемы, от строения и физико-химических характеристик синтезированных пестицидов и абиотических факторов, ускоряющих поступление токсикантов в клетки. Разработка оптимизированного применения пестицидов триазольной группы позволит снизить потенциальный вред химической защиты сельскохозяйственных культур от сорных растений [17].

Исследуя триазолы, различающиеся физико-химическими параметрами, мы обнаружили, что все они способны вызывать адаптивный ответ. Быстрее всего развивается адаптивный ответ при воздействии на семена, состояние которых определяется успешностью выживания молодого организма растения. Другие азолы при воздействии на семена также могут создавать состояние преадаптированности [18].

Воздействие ксенобиотиками у растений вызывает стресс, приводящий к активации репаративных процессов, защищающих формообразовательные процессы [19], именно поэтому активируются древние механизмы, создающие состояние преадаптированности.

Таким образом, при создании новых пестицидов, в состав которых входит триазольное кольцо, необходимо учитывать, какие из

физико-химических факторов исследуемого триазола послужат фактором быстрого проникновения соединения в клетку и, следовательно, индукции систем репарации, повышающих устойчивость растений [1].

Несмотря на то что существует много работ, посвященных изучению действия различных триазольных пестицидов, исследований роли структуры соединений очень мало, поэтому наши исследования в некоторой степени заполняют эту брешь [1].

Все изученные нами физико-химические параметры характеризуют степень мембранотропности синтетических триазолов. Наши результаты совпадают с данными некоторых исследователей, которые доказали, что триазольные пестициды вызывают деполяризацию мембран растительных клеток и усиливают проницаемость мембран для изученных пестицидов [20–22].

Можно предположить, что способность растений адаптироваться к триазольным пестицидам определяется скоростью и путями проникновения веществ в клетки апикальных меристем стеблей. Возможно, анализ при мониторинговых исследованиях в первую очередь веществ, характеризующихся высокой мембранотропностью, ускорит оценку потенциального вреда, наносимого пестицидами [23].

Контрастные положительные температуры в период вегетации у овощных культур могут существенно снизить наращивание фитомассы, однако у давно разводимых культур выработаны адаптации к контрастным положительным температурам, при этом сами механизмы адаптации могут быть различными [24].

Проведенные исследования показали, что растения способны развивать адаптивный ответ при предварительном воздействии на них на ранних стадиях развития нетоксичными дозами триазолов. Величина адаптивного ответа для разных типов биологических параметров зависит и от строения соединения и температуры культивирования.

## Заключение

Изучение факторов, определяющих развитие устойчивости у растений к токсичности синтетических триазолов при выращивании растений в контрастных температурных условиях, показало, что в развитии негативного ответа (ингибировании прорастания семян и



ростовых процессов кресс-салата), а также позитивного ответа (появлении адаптивного ответа в модельных экспериментах) играют большую роль температура проращивания и некоторые физико-химические параметры исследованных триазолов.

Выяснили, что энергия прорастания семян зависит как от температуры проращивания, так и от концентраций исследованных триазолов и величины их липофильности.

На рост корней влияет температура проращивания, концентрация растворов анализируемых триазолов, но не влияет их структура в избранном диапазоне концентраций.

Рост побегов тест-объекта зависит от температуры проращивания, концентрации растворов и липофильности исследованных триазолов. Липофильность характеризует способность соединений проходить через клеточные мембраны. Литературных данных об изменении липофильности алкил(арил)сульфонил-1,2,4-триазолов в выбранном нами интервале температур мы не обнаружили.

Состояние преадаптации определяется физико-химическими параметрами используемых азолов. Адаптивный ответ обнаруживается при предварительном воздействии слабotoxicными дозами растворов синтезированных триазолов на всхожесть семян и рост стеблей кресс-салата и зависит от строения веществ.

### Список литературы

1. Побежимова Т. П., Корсукова А. В., Дорофеев Н. В., Грабельных О. И. Физиологические эффекты действия на растения фунгицидов триазольной природы // Известия вузов. Прикладная химия и биотехнология. 2019. Т. 9, № 3. С. 461–476. <https://doi.org/10.21285/2227-2925-2019-9-3-461-476>
2. Комарова О. П., Земляницына С. В. Снижение пестицидной нагрузки как основа экологической безопасности сельских территорий // Фундаментальные исследования. 2020. № 3. С. 54–59. <https://doi.org/10.17513/fr.42699>
3. Захарченко В. А. Особенности проявления рисков химического загрязнения, связанного с применением пестицидов // Защита и карантин растений. 2017. № 6. С. 3–7.
4. Петрова М. О., Черменская Т. Д. Поиск остаточных веществ пестицидов в сельскохозяйственной продукции – путь к безопасному продовольствию // Междисциплинарный научный и прикладной журнал «Биосфера». 2019. Т. 11, № 1. С. 40–47.
5. Кротова Л. А., Чибис С. П. Эколого-генетическое влияние химических соединений на адаптацию растений // Современные проблемы науки и образования. 2017. № 6. URL: <https://science-education.ru/ru/article/view?id=27139> (дата обращения: 12.01.2023).
6. Склюев П. В., Белоусова З. П., Зарубин Ю. П., Пурьгин П. П. Синтез и антибактериальная активность 1-[алкил(арил)сульфонил]-1H-азолов // Бутлеровские сообщения. 2011. Т. 25, № 6. С. 47–54.
7. Кубрина Л. В., Супиниченко Е. А. Использование кресс-салата как тест-объекта для оценки загрязнения снежного покрова // Биологические науки. Научное обозрение. 2021. № 1. С. 11–15.
8. Зейферт Д. В., Опарина Ф. Р., Тукумбетова Н. Р., Князева О. А., Уразаева А. И., Конкина И. Г. Оценка фитотоксичности глюконатов и хлоридов ряда d-элементов с использованием кресс-салата (*Lepidium sativum*) // Башкирский химический журнал. 2012. Т. 19, № 4. С. 20–23.
9. Лакин Г. Ф. Биометрия. М. : Высшая школа, 1990. 352 с.
10. Дзюба А. В., Панин Г. Н. Механизм формирования многолетних направленных изменений климата в прошлом и текущем столетиях // Метеорология и гидрология. 2007. № 5. С. 5–27.
11. Hayashi E., Aoyama N., Still D. W. Quantitative trait loci associated with lettuce seed germination under different temperature and light environments // Genome. 2008. Vol. 51. P. 928–947.
12. Kazmi R. H., Khan N., Willems L. A. J., Van Heusden A. W., Ligterink W., Hilhorst H. W. M. Complex genetics controls natural variation among seed quality phenotypes in a recombinant 17 inbred population of an interspecific cross between *Solanum lycopersicum* × *Solanum pimpinellifolium* // Plant, Cell and Environment. 2012. Vol. 35. P. 929–951.
13. Лутова Л. А. Современные аспекты генетики развития растений // Вавиловский журнал генетики и селекции. 2013. Т. 17, № 4/2. С. 1003–1014.
14. Ижевский С. С. Негативные последствия применения пестицидов // Защита и карантин растений. 2006. № 5. С. 16–19.
15. Срослова А. А., Постнова М. В., Зимица Ю. А. Особенности адаптации живых организмов // Вестник ВолГУ. Сер. 11. Естественные науки. 2017. Т. 7, № 4. С. 32–38.
16. Засухина Г. Д. Адаптивный ответ – общебиологическая закономерность: факты, гипотезы, вопросы // Радиационная биология. Радиоэкология. 2008. Т. 48, № 4. С. 464–473.
17. Наумов М. М., Зимица Т. В., Хрюкина Е. И., Рябчинская Т. А. Роль полифункциональных регуляторов роста растений в преодолении гербицидного стресса // Агрехимия. 2019. № 5. С. 21–28. <https://doi.org/10.1134/S0002188119050077>
18. Селезнева Е. С. Анализ влияния бензотриазола на некоторые морфофизиологические показатели *Allium fistulosum* // Самарский научный вестник. 2019. Т. 8, № 1 (26). С. 105–109.



19. Неведьева Е. Э. Физиолого-биохимические процессы и морфогенез у растений после действия импульсного давления на семена: автореф. дис. ... д-ра биол. наук. М., 2011. 45 с.
20. Дитченко Т. И., Юрин В. Б., Голубович В. П., Кудряшов А. П. Молекулярные механизмы мембранотропного действия производных 1,2,4-триазола // Ученые записки БГУ. 2002. № 1 (4). С. 11–18.
21. Дитченко Т. И., Голубович В. П., Юрин В. М., Фигловский В. А., Кудряшов А. П. Анализ натрий-калиевой селективности плазматической мембраны растительной клетки при действии фунгицидов триазоловой природы // Вестник БГУ. Сер. 2. 2002. № 1. С. 29–32.
22. Дитченко Т. И., Кудряшов А. П., Юрин В. М. Модификация активности протонного насоса плазмалеммы растительной клетки под действием производных 1,2,4-триазола // Доклады НАН Б. 2002. Т. 46, № 1. С. 78–82.
23. Селезнева Е. С., Теньгаев Е. И. К вопросу об использовании в мониторинге окружающей среды анализа физико-химических параметров ксенобиотиков // Известия Самарского научного центра Российской академии наук. 2010. Т. 12, № 1 (4). С. 1149–1152.
24. Попов В. Н., Антипина О. В. Особенности низкотемпературной адаптации теплолюбивых растений // Интенсификация и оптимизация продукционного процесса сельскохозяйственных растений: материалы Междунар. науч.-практ. конф. Орел: Орловский гос. аграр. ун-т, 2009. С. 128–132.
6. Sklyuyev P. B., Belousova Z. P., Zarubin Yu. P., Purygin P. P. Synthesis and antibacterial activity of 1-[alkyl(aryl)sulfonyl]-1H-azoles. *Butlerov Messages*, 2011, vol. 25, no. 6, pp. 47–54 (in Russian).
7. Kubrina L. V., Supinichenko E. A. The use of watercress as a test object for assessing snow cover pollution. *Biological Sciences. Scientific Review*, 2021, no. 1, pp. 11–15 (in Russian).
8. Seifert D. V., Oparina F. R., Tukumbetova N. R., Knyazeva O. A., Urazaeva A. I., Konkina I. G. Evaluation of phytotoxicity of gluconates and chlorides of a number of d-elements using watercress (*Lepidium sativum*). *Bashkir Chemical Journal*, 2012, vol. 19, no. 4, pp. 20–23 (in Russian).
9. Lakin G. F. *Biometriya* [Biometrics]. Moscow, Vysshaya shkola, 1990. 352 p. (in Russian).
10. Dzyuba A. V., Panin G. N. The mechanism of formation of long-term directional climate changes in the past and current centuries. *Meteorology and Hydrology*, 2007, no. 5, pp. 5–27 (in Russian).
11. Hayashi E., Aoyama N., Still D. W. Quantitative trait loci associated with lettuce seed germination under different temperature and light environments. *Genome*, 2008, vol. 51, pp. 928–947.
12. Kazmi R. H., Khan N., Willems L. A. J., Van Heusden A. W., Ligterink W., Hilhorst H. W. M. Complex genetics controls natural variation among seed quality phenotypes in a recombinant 17 inbred population of an interspecific cross between *Solanum lycopersicum* × *Solanum pimpinellifolium* p. *Plant, Cell and Environment*, 2012, vol. 35, pp. 929–951.
13. Lutova L. A. Modern aspects of plant development genetics. *Vavilov Journal of Genetics and Breeding*, 2013, vol. 17, no. 4/2, pp. 1003–1014 (in Russian).
14. Izhevsky S. S. Negative consequences of the use of pesticides. *Protection and Quarantine of Plants*, 2006, no. 5, pp. 16–19 (in Russian).
15. Sroslova A. A., Postnova M. V., Zimina Yu. A. Features of adaptation of living organisms. *Bulletin of the Volga. Episode 11. Natural Sciences*, 2017, vol. 7, no. 4, pp. 32–38 (in Russian).
16. Zasukhina G. D. Adaptive response – general biological regularity: Facts, hypotheses, questions. *Radiation Biology. Radioecology*, 2008, vol. 48, no. 4, pp. 464–473 (in Russian).
17. Naumov M. M., Zimina T. V., Khryukina E. I., Ryabchinskaya T. A. The role of multifunctional plant growth regulators in overcoming herbicidal stress. *Agrochemistry*, 2019, no. 5, pp. 21–28 (in Russian). <https://doi.org/10.1134/S0002188119050077>
18. Selezneva E. S. Analysis of the effect of benzotriazole on some morphophysiological parameters of *Allium fistulosum*. *Samara Scientific Bulletin*, 2019, vol. 8, no. 1 (26), pp. 105–109 (in Russian).
19. Nefedieva E. E. *Physiological and biochemical processes and morphogenesis in plants after the action of pulsed pressure on seeds*. Thesis Diss. Dr. Sci. (Biol.). Moscow, 2011. 45 p. (in Russian).

## Reference

1. Pobezhimova T. P., Korsukova A. V., Dorofeev N. V., Grabelnykh O. I. Physiological effects of triazole fungicides in plants. *Izvestiya Vuzov. Prikladnaya Khimiya i Biotekhnologiya* [Proceedings of Universities. Applied Chemistry and Biotechnology], 2019, vol. 9, no. 3, pp. 461–476 (in Russian). <https://doi.org/10.21285/2227-2925-2019-9-3-461-476>
2. Komarova O. P., Zemlyanitsyna S. V. Reduction of pesticide load as a basis for ecological safety of rural territories. *Fundamental Research*, 2020, no. 3, pp. 54–59 (in Russian). <https://doi.org/10.17513/fr.42699>
3. Zakharchenko V. A. Features of the manifestation of risks of chemical pollution associated with the use of pesticides. *Protection and Quarantine of Plants*, 2017, no. 6, pp. 3–7 (in Russian).
4. Petrova M. O., Chermenskaya T. D. Search for pesticide residues in agricultural products – the way to safe food. *Interdisciplinary scientific and applied journal "Biosphere"*, 2019, vol. 11, no. 1, pp. 40–47 (in Russian).
5. Krotova L. A., Chibis S. P. Ecological and genetic influence of chemical compounds on plant adaptation. *Modern Problems of Science and Education*, 2017, no. 6. Available at: <https://science-education.ru/ru/article/view?id=27139> (accessed January 12, 2023).



20. Ditchenko T. I., Yurin V. B., Golubovich V. P., Kudryashov A. P. Molecular mechanisms of membranotropic action of 1,2, 4-triazole derivatives. *Scientific Notes of BSU*, 2002, no. 1 (4), pp. 11–18 (in Russian).
21. Ditchenko T. I., Golubovich V. P., Yurin V. M., Figlovsky V. A., Kudryashov A. P. Analysis of sodium-potassium selectivity of plant cell plasma membrane under the action of triazole fungicides. *Bulletin of BSU. Ser. 2*, 2002, no. 1, pp. 29–32 (in Russian).
22. Ditchenko T. I., Kudryashov A. P., Yurin V. M. Modification of proton pump activity of plant cell plasmalemma under the action of 1,2,4-triazole derivatives. *Reports of NAS B*, 2002, vol. 46, no. 1, pp. 78–82 (in Russian).
23. Selezneva E. S., Tengaev E. I. On the use of analysis of physico-chemical parameters of xenobiotics in environmental monitoring. *Izvestiya Samara Scientific Center of the Russian Academy of Sciences*, 2010, vol. 12, no. 1 (4), pp. 1149–1152 (in Russian).
24. Popov V. N., Antipina O. V. Features of low-temperature adaptation of heat-loving plants. In: *Intensification and optimization of the production process of agricultural plants: Materials of the International scientific and practical conference*. Oryol, Oryol Agrarian University Publ., 2009, pp. 128–132 (in Russian).

Поступила в редакцию 12.04.2023; одобрена после рецензирования 21.05.2023; принята к публикации 01.07.2023  
The article was submitted 12.04.2023; approved after reviewing 21.05.2023; accepted for publication 01.07.2023





Известия Саратовского университета. Новая серия. Серия: Химия. Биология. Экология. 2024. Т. 24, вып. 1. С. 96–102

*Izvestiya of Saratov University. Chemistry. Biology. Ecology*, 2024, vol. 24, iss. 1, pp. 96–102

<https://ichbe.sgu.ru>

<https://doi.org/10.18500/1816-9775-2024-24-1-96-102>, EDN: VSGUGA

Научная статья

УДК 595.753

## Новые сведения по распространению цикадовых (Insecta, Homoptera, Cicadinea) в Приамурье (Хабаровский край) на особо охраняемых территориях



В. В. Дубатовол<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>ФГУ «Заповедное Приамурье», Россия, 680038, г. Хабаровск, ул. Серышева, д. 60, офис 507

<sup>2</sup>Институт систематики и экологии животных СО РАН, Россия, 630091, г. Новосибирск, ул. Фрунзе, д. 11

Дубатовол Владимир Викторович, доктор биологических наук, <sup>1</sup>ведущий научный сотрудник; <sup>2</sup>ведущий научный сотрудник лаборатории филогении и фауногенеза, [vdubat@mail.ru](mailto:vdubat@mail.ru), <https://orcid.org/0000-0001-7687-2102>

**Аннотация.** Распространение цикадовых на территории Хабаровского края изучено очень слабо, в отличие от Амурской области и Приморского края. По результатам сборов в особо охраняемых природных территориях Хабаровского края впервые для Приамурья приводятся *Ledra auditura* (Ledridae) (также впервые указывается с востока Забайкальского края из Приаргунья), *Glossocratus foveolatus* (Cicadellidae), *Eoscartopsis assimilis* (Cercopidae), *Taihorina geisha* (Machaerotidae), *Cicadetta yezoensis* (Cicadidae), *Delphax maritima* (Delphacidae), *Mysidioides sapporensis*, *Losbanosia hibarensis*, *Zoraida albicans*, *Z. horishana* (Derbidae), *Cixidia ussuriensis*, *Kosalya flavostrigata* (Achilidae), *Saigona ussuriensis* (Dictyopharidae), *Limois emelianovi* (Fulgoridae).

**Ключевые слова:** Cicadinea, Homoptera, Auchenorrhyncha, Хабаровский край

**Благодарности.** Автор признателен В. К. Зинченко (Институт систематики и экологии животных Сибирского отделения РАН, Новосибирск) за сборы *Zoraida albicans* из Пивани, сотруднику Заповедного Приамурья (Хабаровск) Ю. Н. Кя и жителям пос. Киселёвка М. З. и С. А. Мищенко – за сбор *Cicadetta yezoensis*.

**Для цитирования:** Дубатовол В. В. Новые сведения по распространению цикадовых (Insecta, Homoptera, Cicadinea) в Приамурье (Хабаровский край) на особо охраняемых территориях // Известия Саратовского университета. Новая серия. Серия: Химия. Биология. Экология. 2024. Т. 24, вып. 1. С. 96–102. <https://doi.org/10.18500/1816-9775-2024-24-1-96-102>, EDN: VSGUGA

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

Article

### New information on the distribution of cicads (Insecta, Homoptera, Cicadinea) in the Amur river basin (Khabarovskii krai) in specially protected areas

V. V. Dubatolov<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Federal State Institution “Zapovednoe Priamurye”, 60, office 507 Serysheva St., Khabarovsk 680038, Russia

<sup>2</sup>Institute of Systematics and Ecology of Animals, Siberian Branch of Russian Academy of Sciences, 11 Frunze St., Novosibirsk 630091, Russia

Vladimir V. Dubatolov, [vdubat@mail.ru](mailto:vdubat@mail.ru), <https://orcid.org/0000-0001-7687-2102>

**Abstract.** The distribution of cicadas in the Khabarovskii Krai has been studied very poorly, in contrast to the Amurskaya Oblast' and Primorskii Krai. *Ledra auditura* (Ledridae) (also recorded from the eastern part of Zabaikal'skii Krai, the Argun River basin), *Glossocratus foveolatus* (Cicadellidae), *Eoscartopsis assimilis* (Cercopidae), *Taihorina geisha* (Machaerotidae), *Cicadetta yezoensis* (Cicadidae), *Delphax maritima* (Delphacidae), *Mysidioides sapporensis*, *Losbanosia hibarensis*, *Zoraida albicans*, *Z. horishana* (Derbidae), *Cixidia ussuriensis*, *Kosalya flavostrigata* (Achilidae), *Saigona ussuriensis* (Dictyopharidae), *Limois emelianovi* (Fulgoridae) are recorded for the first time in the River Amur basin from Khabarovskii Krai.

**Keywords:** Cicadinea, Homoptera, Auchenorrhyncha, Khabarovskii Krai

**Acknowledgements:** The author is thankful to Dr. Vadim K. Zinchenko (Institute of Systematics and Ecology of Animals, Siberian Branch of Russian Academy of Sciences, Novosibirsk) for specimens of *Zoraida albicans* from Pivan, to Mr. Yurii N. Kya (Zapovednoe Priamur'ye, Khabarovsk) and to residents of the village Kiselevka, Margarita Z. and S. A. Mistshenko – for specimens of *Cicadetta yezoensis*.

**For citation:** Dubatolov V. V. New information on the distribution of cicads (Insecta, Homoptera, Cicadinea) in the Amur river basin (Khabarovskii krai) in specially protected areas. *Izvestiya of Saratov University. Chemistry. Biology. Ecology*, 2024, vol. 24, iss. 1, pp. 96–102 (in Russian). <https://doi.org/10.18500/1816-9775-2024-24-1-96-102>, EDN: VSGUGA

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



## Введение

Ко времени написания определителя цикадовых Дальнего Востока России [1] из всех регионов этой территории практически полностью неизученным оказался юг Хабаровского края, включавший в то время также Еврейскую АО. К сожалению, к концу второго десятилетия XXI в. изученность Среднего и Нижнего Приамурья по цикадовым не стала многим лучше. Тем не менее, исследованием этой группы насекомых на территории Большехехцирского заповедника занимался студент из Нижнего Новгорода А. М. Ковалёв. В 1971 г. он целенаправленно проводил сборы цикадовых, обойдя вокруг почти всю территорию заповедника. Определение сборов осуществлялось им, вероятно, под руководством Г. А. Ануфриева и, скорее всего, полностью контролировалось руководителем. Материалы работы были переданы в Большехехцирский заповедник и приведены в Летописи природы за 1971–1972 гг., книга 2. В 2006 г. автор провёл коррекцию представленного заповеднику списка по опубликованному определителю Г. А. Ануфриева и А. Ф. Емельянова [1]; этот список включал 102 вида из семейств Cicadellidae (88 видов), Membracidae (2 вида), Cercopidae (1 вид), Aphrophoridae (7 видов), Delphacidae (1 вид) и Cixiidae (3 вида). В 2005–2023 гг., особенно в последние годы, автор, в рамках мониторинга всех насекомых Большехехцирского заповедника, а в последние 8 лет – территорий «Заповедного Приамурья», проводил сбор и определение наиболее легко определяемых видов цикадовых. При этом, как и следовало предполагать, многие обычные виды уже были известны по работе А. М. Ковалёва. Обновлённый список этих насекомых Большехехцирского заповедника приводится в [2]. Удивительно, что в сборы А. М. Ковалёва не попало значительное число особо заметных в заповеднике в 2005–2020 гг. видов из семейств Ledridae, Aphrophoridae (включая массовый *Cnemidanomia lugubris* Leth.), Cicadidae, Derbidae, Achilidae и Fulgoridae.

## Материалы и методы

В настоящую работу включены только те виды цикадовых, которые легко определяются и до сих пор не указывались для Хабаровского края (не включая территорию Еврейской АО)

в научной литературе. Сборы проводились автором на свет и с помощью укусов сачком с короткой (в травостое) или длинной, до 5 м, ручкой (в кронах деревьев и высоких кустарников) в основном на особо охраняемых природных территориях, к которым согласно Федеральному закону РФ «Об особо охраняемых природных территориях» №33-ФЗ от 14.03.1995 г. относятся заповедники, природные парки, заказники, установленные решениями правительства РФ. Фамилия автора в списке материала не приводится, остальные сборщики указаны (рисунок).

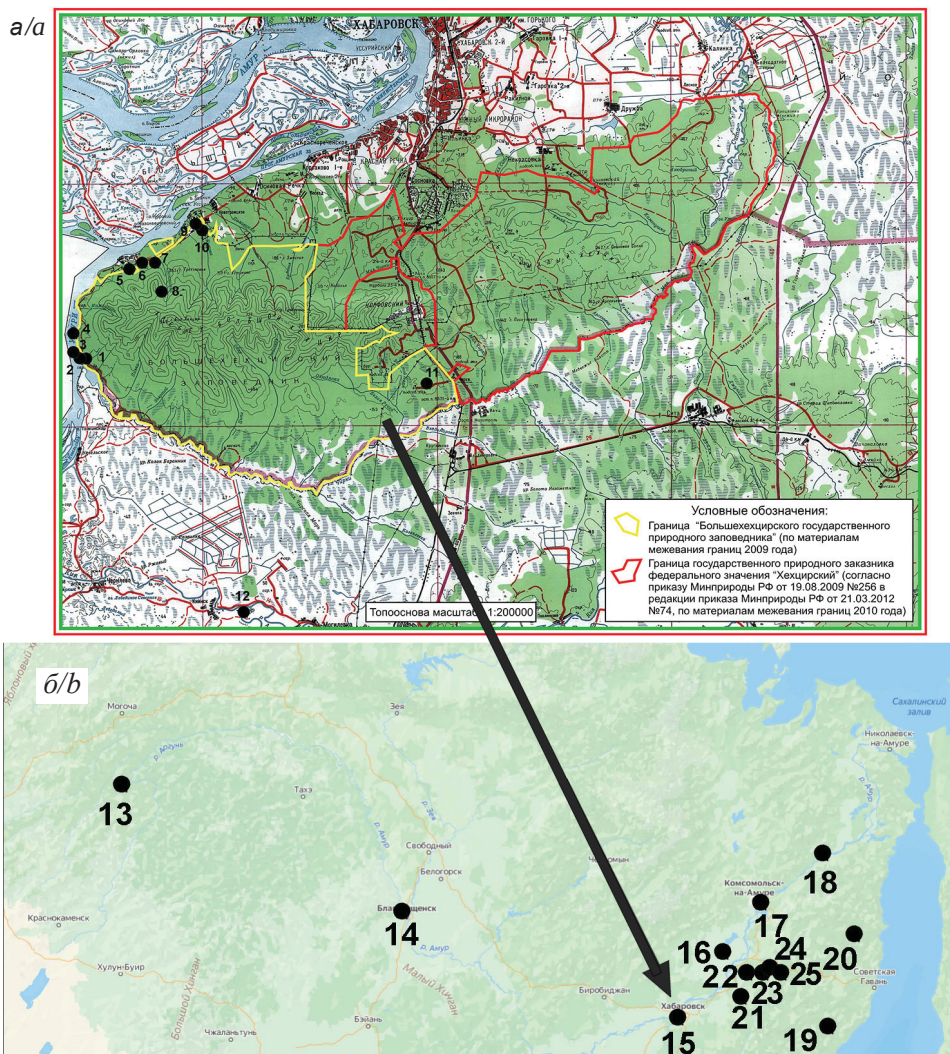
## Обзор видов

### Семейство Ledridae – цикадки-ледриды

*Ledra auditura* Walker, 1858

**Материал. Большехехцирский заповедник:** окрестности кордона Чирки, скалы по берегу реки Уссури, 48° 11' 40" с. ш., 134° 40' 28" в. д., в светоловушку, 12-13.07.2018 – 1♂; окрестности кордона Чирки, пляж реки Уссури, в светоловушку, 20-21.07.2011 – 1♂; близ устья ручья Куркуниха, дубовый лес у склона, 48° 12' 29" с. ш., 134° 40' 14" в. д., в светоловушку, 7-8.09.2023 – 1 экз.; ручей Соснинский, 48° 16' 15" с. ш., 134° 46' 19" в. д., 100 м над уровнем моря, в светоловушку, 11-12.08.2016 – 2♀; Бычиха, 48° 17' 56" с. ш., 134° 49' 19" в. д., на свет, 3.07.2005 – 1♂, 12.07.2005 – 1♂, 16.07.2005 – 1♂, 8.08.2005 – 2♂, 31.08-1.09.2007 – 1♀, 2-3.09.2007 – 1♀, 17-18.07.2016 – 1♂, 1♀, 19-20.07.2016 – 1♂, 26-27.06.2018 – 1♂, 1-2.07.2018 – 1♂, 13-14.07.2021 – 1♀, 21-22.07.2021 – 1♂, 22-23.07.2021 – 1♂, 5-6.07.2022 – 1♂, 7-8.07.2022 – 1♂, 14-15.07.2022 – 1♀, 19-20.07.2023 – 1 экз., 13-14.08.2023 – 1 экз., 16-17.08.2023 – 1 экз.; Бычиха и окрестности, 48° 17'-18' с. ш., 134° 49'-50' в. д., укос, 30.06.2020 – 1♀; **нижнее течение реки Амур:** Киселёвка, 51° 24' 12" с. ш., 138° 59' 29" в. д., школа, на свет, 4-5.08.2010 – 1♂, 5-6.08.2010 – 1♂; **Северо-Восточный Сихотэ-Алинь:** Ботчинский заповедник, окрестности кордона Тёплый Ключ, между ручьями Солончаковый и Моховой, 48° 17' 44"-48" с. ш., 139° 33' 43"-34' 28" в. д., долинный лиственный лес, укос, 16.09.2015 – 1♀; **Амурская область:** ЮЗ окраина города Благовещенск, Верхнеблаговещенское, агробиостанция, на свет, 6.07.1996 – 1♂; **Забайкальский край:** заказник «Реликтовые дубы», нижнее течение реки Будюмкан, 5 км выше устья, большая поляна в лиственном лесу, зимовье, на свет, 27.07.2002 – 1♂.

**Распространение.** Отмечался для Амурской области, Приморского края, Китая, Кореи и



Карта сборов цикадовых в Большехехцирском заповеднике и его окрестностях (а) и в бассейне реки Амур и в Северо-Восточном Сихотэ-Алине (б): 1 – кордон Чирки; 2 – пляж реки Усури в окрестностях кордона Чирки; 3 – скалы на берегу реки Усури в окрестностях кордона Чирки; 4 – ручей Куркуниха; 5 – Казакевичево; 6 – пункт пограничного контроля Казакевичево (сборы на свет); 7 – ручей Соснинский, 100 м над уровнем моря; 8 – кордон Соснинский, 450 м над уровнем моря; 9 – Бычиха, контора заповедника (основные сборы на свет); 10 – Бычиха, сборы в дневное время; 11 – 2 км западнее посёлка Чирки; 12 – протока Разбой в долине реки Кия близ Киинского; 13 – заказник «Реликтовые дубы» в нижнем течении реки Будюмкан; 14 – Верхнеблаговещенское на западной окраине Благовещенска; 15 – Большехехцирский заповедник; 16 – Болоньский заповедник, кордон Кирпу; 17 – Пивань близ Комсомольска-на-Амуре; 18 – Киселёвка; 19 – Ботчинский заповедник, кордон Тёплый Ключ и его окрестности; 20 – Тумнинский заказник, кордон Абуа; Анюйский национальный парк: 21 – озеро Гасси, залив Петра Великого, 22 – кордон Кон, 23 – кордон Нило, 24 – кордон Мухе, 25 – кордон Богбасу

Figure. Map of collection places of cicadas in Bolshehekhtsyrskii Nature Reserve and its environs (a) and in the Amur River Basin and North-Eastern Sikhote-Alin (b): 1 – kordon Chirki; 2 – river Ussuri sandy bank in kordon Chirki environs; 3 – rocks along the Ussuri River bank in kordon Chirki environs; 4 – Kurkunikha rivulet; 5 – Kazakevitshevo; 6 – Kazakevitshevi (collecting by light); 7 – Sosninskii rivulet, 100 m above sea level; 8 – Sosninskii kordon, 450 m above sea level; 9 – Bychikha, (collecting by light); 10 – Bychikha, collecting during daytime; 11 – 2 km west from Chirki village; 12 – Razboi channel of the river Kiya near Kiinsk; 13 – Nature Reserve «Relic Oaks» in the Budyumkan river low flow; 14 – Verkhneblagoveshchenskoe at west suburbs of Blagoveshchensk; 15 – Nature Reserve Bolshehekhtsyrskii; 16 – Nature Reserve Bolonskii, kordon Kirpu; 17 – Pivan in Komsomolsk-na-Amure suburbs; 18 – Kiselevka; 19 – Nature Reserve Botchinskii, kordon Tyoplyi Klyutch and its environs; 20 – Nature Reserve Tumninskii, kordon Abua; Nature Reserve Anuiskii: 21 – Lake Gassi, Peter the Great Bay, 22 – kordon Kon, 23 – kordon Nilo, 24 – kordon Mukhe, 25 – kordon Bogbasu



Японии [1]. Широко распространён в Приамурье на север вплоть до границы многопородных широколиственных лесов; встречается также на северо-восточном склоне Сихотэ-Алиня, на юге Амурской области и на востоке Забайкалья.

Семейство Cicadellidae – цикадки

*Glossocratus foveolatus* Fieber, 1866

**Материал. Большехехцирский заповедник:** Бычиха, 48° 17' 25-36" с. ш., 134° 49' 40-47" в. д., укос по траве и кустам, 22.06.2018 – 1♀, 16.07.2019 – 1♀, 27.06.2020 – 1♀, 10.06.2022 – 1♀, 22.06.2022 – 1♀, 23.06.2022 – 1♀, 28.06.2022 – 1♀.

**Распространение.** Редок, встречается в Венгрии, на юге европейской части бывшего СССР, в Казахстане, Афганистане, Монголии, Южной Сибири (включая Забайкалье), Приморье [1]. В Приамурье собран впервые. Приурочен к лугам, хотя в 2018 г. был выкошен с нижней части лиственной древесной кроны. Вид невозможно спутать с любой другой цикадкой, так как теменная часть головы у него листовидно уплощена и сильно вытянута вперёд.

Семейство Cercopidae – цикадки-церкопиды  
*Eoscartopsis assimilis* (Uhler, 1896)

**Материал. Большехехцирский заповедник:** ручей Соснинский, 48° 16' 15" с. ш., 134° 46' 19" в. д., 100 м над уровнем моря, в светоловушка, 29-30.07.2020 – 7♂, 4♀, 21-22.07.2021 – 3 экз.; Бычиха и окрестности, укос, 1.09.2018 – 1♀, 15.07.2019 – 1♂, 25.08.2019 – 2♀, 16.07.2020 – 1♂, 28.07.2010 – 1♀, 2.07.2021 – 2 экз., 13.07.2021 – 1 экз., 20.07.2021 – 1 экз., 6.07.2022 – 2♀, 7.07.2022 – 1 экз., 10.07.2022 – 2♂, 2.08.2022 – 1 экз.; Бычиха, на свет, 2-3.07.2022 – 1 экз.; южные окрестности Большехехцирского заповедника, долина реки Кия близ Киинска, протока Разбой, укос, 15.07.2021 – 1 экз.; **Аньюйский национальный парк:** озеро Гасси, залив Петра Великого, опушка разреженного осинового леса, 49° 03,89' с. ш., 139° 32,22' в. д., в светоловушка, 19.07.2019 – 1♂.

**Распространение.** Нередок, на территории России указывался с юга Приморского края и Южных Курил; помимо этого встречается в Северо-Восточном Китае, на Тайване, в Корее и Японии [1]. Найден в укусах по влажным придорожным лугам, в разреженных пойменных лесах и под пологом смешанного широколиственного леса. Помимо этого, отмечался с территории Большехехцирского заповедника в сборах А. М. Ковалёва 1971–1972 гг. (Летопись Природы, том 2) как *Paracercopsis fusca* Melichar.

Семейство Machaerotidae

*Taihorina geisha* Schumacher, 1915

**Материал. Большехехцирский заповедник:** окрестности кордона Чирки, укос, 24.08.2007 – 1♂, 4.09.2007 – 1♀.

**Распространение.** На территории России отмечался только для юга Приморского края, а также для Восточного Китая, Тайваня и Кореи [1]. В Приамурье найден впервые.

Семейство Cicadidae – певчие цикады

*Cicadetta yezoensis* (Matsumura, 1898) – цикада хоккайдская

**Материал. Большехехцирский заповедник:** окрестности кордона Чирки, 48° 10-12' с. ш., 134° 40-41' в. д., 9.08.2006 – 1♀; Казакевичево, 3.08.2016 – 1♂ (Ю. Н. Кя); **нижнее течение реки Амур:** Киселёвка, середина 08.2009 – 1♀ (С. А. и М. З. Мищенко).

**Распространение.** Широко распространён от гор Тянь-Шаня через горы Южной Сибири (Алтай, Саяны, Забайкалье) и Монголию до Северо-Восточного Китая, Кореи и Японии [1]. На территории российского Дальнего Востока ранее отмечался в Амурской области, Приморском крае, юге Сахалина, Южных Курилах [1]. Так же собран О. Куберской в Комсомольском заповеднике [3]. В Приамурье отмечен вплоть до северных пределов многопородных широколиственных лесов.

Семейство Delphacidae – цикадки-свиноушки

*Delphax maritima* Anufriev, 1977

**Материал. Большехехцирский заповедник:** Бычиха, 48° 17' 56" с. ш., 134° 49' 18" в. д., на свет, 14-15.07.2021 – 1 экз.; **Аньюйский национальный парк:** озеро Гасси, залив Петра Великого, опушка разреженного осинового леса, 49° 03,89' с. ш., 139° 32,22' в. д., в светоловушка, 19.07.2019 – 1♂.

**Распространение.** Известен из Приморского края, Южных Курил, а также Центральной и Восточной Монголии и Японии [1]. В Приамурье собран впервые.

Семейство Derbidae – цикадки-дербиды

*Mysidioides sapporoensis* (Matsumura, 1900)

**Материал. Большехехцирский заповедник:** близ устья ручья Куркуниха, дубовый лес у склона, 48° 12' 29" с. ш., 134° 40' 14" в. д., в светоловушка, 25-26.08.2021 – 1 экз.; нижнее течение ручья Соснинский, 48° 16' 15" с. ш., 134° 46' 19" в. д., 100 м н.у.м., в светоловушка, 23-24.08.2008 – 1♂, 11-12.08.2016 – 1♀, 26-27.08.2019 – 1♀, 12-13.08.2020 – 1♂1♀, 15-16.09.2020 – 1♀; Бы-



чиха, 48° 17' 56" с. ш., 134° 49' 18" в. д., на свет, 13.08.2006 – 1♀; там же, в светоловушку, 15-16.09.2020 – 1♀; окрестности Бычихи, просека в лесу, 48° 17' 08-18" с. ш., 134° 49' 12-53" в. д., укос, вечером, 19.08.2007 – 4♀; **Аньюйский национальный парк:** кордон Нило, опушка леса, в светоловушку, 12-13.07.2022 – 1 экз.; устье руч. Мухе, в светоловушку, 3-4.08.2021 – 4 экз., 5-6.09.2022 – 4 экз.; кордон Богбасу, 49° 22' 29-39" с. ш., 137° 42' 43-51" в. д., укос, 14.09.2017 – 3 экз.; в светоловушку, 13-14.09.2017 – 1♂1♀, 6-7.09.2018 – 4♀; 26-27.08.2019 – 2♂; окрестности кордона Богбасу, смешанный широколиственный лес над трассой, в светоловушку, 13-14.09.2017 – 1♀, 26-27.08.2019 – 4♂3♀, 4-5.08.2021 – 4 экз.; **нижнее течение реки Амур:** Киселёвка, долинный широколиственный лес, в светоловушку, 28-29.08.2008 – 7♂3♀; **Северо-Восточный Сихотэ-Алинь:** Тумнинский заказник, кордон Абуа, 50° 00' 47-50" с. ш., 139° 56' 18-42" в. д., укос, 13.09.2018 – 1♂.

**Распространение.** Ранее был известен в России из Амурской области, Приморского края и с острова Кунашир, а также из Японии и Китая, включая остров Тайвань [1]. В Хабаровском крае обитает как на территории Среднего Приамурья, так и на северо-востоке Сихотэ-Алиня. В Большехехцирском заповеднике – наиболее обычный вид семейства; отмечен в укусах по лесным опушкам и на зарастающей минполозе под пологом широколиственного леса, на лугах; также прилетает на свет. Имаго попадались с середины августа до середины сентября.

*Losbanosia hibarensis* (Matsumura, 1935)

**Материал. Большехехцирский заповедник:** кордон Чирки, крыльцо домика, 48° 11' 07" с. ш., 134° 41' 01" в. д., в паутине, 15.09.2014 – 1♂; Бычиха, 48° 17' 56" с. ш., 134° 49' 18" в. д., на свет, 15.08.2006 – 1 экз. визуально, конец 08.2008 – 1 экз. визуально; там же, 48° 17' 55" с. ш., 134° 49' 20" в. д., в паутине, 18.08.2015 – 1♂, 19.08.2015 – 2♂, 20.08.2015 – 1♂, 23.08.2015 – 1♂, 30.08.2015 – 4♂, 29.08.2017 – 2♂, 24.10.2017 – 1♂, 25.10.2017 – 1♂, 12.VIII 2020 – 1♂.

**Распространение.** До сих пор был известен только из Южного Приморья, Кореи и Японии [1]. Иногда прилетает на свет, что отмечалось автором как на юге Приморского края, так и в Большехехцирском заповеднике, но чаще всего эти цикадки попадались на опушке широколиственного леса запутанными в паутине; имаго летают с середины августа и при хорошей погоде до середины третьей декады октября.

*Zoraida albicans* Anufriev, 1968

**Материал. Большехехцирский заповедник:** Бычиха, 48° 17' 56" с. ш., 134° 49' 18" в. д., на свет, 25-26.07.2015 – 1♂; Бычиха, 48° 17' 55" с. ш., 134° 49' 20" в. д., в паутине, 27.08.2015 – 1♂; **нижнее течение реки Амур:** окрестности Комсомольска-на-Амуре, Пивань, 50° 31' с. ш., 137° 04' в. д., 29.07.2014 – 2♂ (В. К. Зинченко).

**Распространение.** Ранее был известен из Южного Приморья, Кореи и Японии [1]. В последние годы найден в нескольких местах Хабаровского края: в окрестностях Хабаровска и Комсомольска-на-Амуре.

*Zoraida horishana* Matsumura, 1914

**Материал. Большехехцирский заповедник:** Бычиха, 48° 17' 55" с. ш., 134° 49' 20" в. д., в паутине, 27.08.2020 – 1♂.

**Распространение.** Обитает в Приморском крае России, а также в Китае, Кореи и Японии [1]. В Бычихе найден в паутине на опушке леса.

Семейство Achilidae – цикадки-ахилиды  
*Cixidia ussuriensis* (Kusnezov, 1928)

**Материал. Большехехцирский заповедник:** кордон Соснинский, 48° 14' 18" с. ш., 134° 46' 45" в. д., 450 м н. у. м., смешанный лес, в светоловушку, 15-16.07.2010 – 1♂; Бычиха, 48° 17' 56" с. ш., 134° 49' 18" в. д., на свет, 12-13.07.2020 – 1♂, 21-22.07.2020 – 1♂, 22-23.07.2020 – 1♂, 25-26.07.2020 – 1♂, 14-15.07.2021 – 2 экз., 20-21.07.2021 – 2 экз., 5-6.07.2022 – 1 экз., 7-8.07.2022 – 1 экз., 31.07-1.08.2022 – 1 экз., 1-2.08.2022 – 1 экз.; окрестности Бычихи, укос, 23.07.2021 – 1 экз.; **Аньюйский национальный парк:** долина реки Анюй, кордон Нило, 49° 15' 08" с. ш., 137° 16' 03" в. д., в светоловушку, 20-21.07.2020 – 1♂; кордон Богбасу, над трассой, в светоловушку, 4-5.08.2021 – 1 экз.; **Северо-Восточный Сихотэ-Алинь:** Тумнинский заказник, кордон Абуа, 50° 00' 47-50" с. ш., 139° 56' 18-42" в. д., в укос, 13.09.2018 – 1♂; там же, в домике на окне, 30.07.2021 – 1 экз.; там же, склон горы, дубняк, в светоловушку, 29-30.07.2021 – 1 экз.

**Распространение.** Ранее был известен только с территории Приморского края России [1]. В Хабаровском крае широко распространён на территории Среднего Приамурья, а также на северо-восточном склоне Сихотэ-Алиня. Метопы у собранных экземпляров вся светлая, с очень маленькими участками затемнения вдоль внутренних краёв боковых килей в верхней части.

*Kosalya flavostrigata* Distant, 1906

**Материал. Большехехцирский заповедник:** кордон Чирки, дубовый лес, 48° 11' 36" с. ш.,



134° 41' 12" в. д., в светоловушка, 21-22.08.2023 — 1 экз.; Бычиха, 48° 17' 56" с. ш., 134° 49' 18" в. д., на свет, 13-14.08.2023 — 1 экз., 16-17.08.2023 — 1 экз., 22-23.08.2023 — 1 экз., 23-24.08.2023 — 1 экз., 29-30.08.2023 — 2 экз.; **Анюйский национальный парк:** кордон Богбасу, пойменный лес, в светоловушка, 6-7.09.2022 — 1 экз.

**Распространение.** В России до сих пор приводился только из Приморского края; помимо этого, встречается в Корее, Китае (Тайвань) и Индии [1]. В Приамурье найден впервые; в Большехехцирском заповеднике до 2023 г. не отмечался. Обладает характерной внешностью: крылья темно-коричневые, почти чёрные, а тело ярко оранжевое; среднеспинка с крупными чёрными пятнами.

Семейство Dictyophoridae – цикадки-носатки

*Saigona ussuriensis* (Lethierry, 1878)

**Материал. Большехехцирский заповедник:** Бычиха, 48° 17' 25-36" с. ш., 134° 49' 40-47" в. д., укос, 22.06.2018 – 1♂; **Северо-Восточный Сихотэ-Алинь:** Тумнинский заказник, кордон Абуа, 50° 00' 47-50" с. ш., 139° 56' 18-42" в. д., укос, 14.09.2018 – 1♂.

**Распространение.** На территории России отмечен в Амурской области и Приморском крае [1], а также на северо-востоке Китая (Гирич и Хэйлунцзян) и в Японии [4]. На территории Хабаровского края найден впервые, отмечен как в долине реки Амур, так и на северо-востоке Сихотэ-Алиня. Хорошо отличается светло-зелёным цветом метопы.

Семейство Fulgoridae – фонарницы

*Limois emelianovi* Oshanin, 1908

**Материал. Большехехцирский заповедник:** кордон Чирки, дубовый лес, 48° 11' 36" с. ш., 134° 41' 12" в. д., в светоловушка, 4-5.09.2007 – 4 экз., 16-17.09.2012 – 1♀; кордон Чирки, пойменный лес, 48° 11' 07" с. ш., 134° 41' 01" в. д., в светоловушка, 15-16.09.2014 – 1♂; на свет, 16-17.09.2017 – 1♂, 25-26.08.2011 – 1 экз.; близ устья ручья Куркуниха, дубовый лес у склона, 48° 12' 29" с. ш., 134° 40' 14" в. д., в светоловушка, 7-8.09.2023 – 4 экз.; Казакевичево, 48° 16' 13" с. ш., 134° 45' 29" в. д., на свет, 1-2.09.2007 – 1 экз., 4-5.09.2007 – 1 экз. (Долгих), 20-21.09.2008 – 1 экз., 18-19.10.2009 – 1♂; Бычиха, 48° 17' 56" с. ш., 134° 49' 18" в. д., на свет, 1-2.09.2005 – 1 экз., 22.08.2006 – 2 экз., 31.08.2006 – 1 экз., 27-28.08.2020 – 1 экз., 31.08-1.09.2021 – 2 экз., 27-28.09.2021 – 1 экз.,

30.09.2021 – 1 экз., 30-31.08.2022 – 1 экз., 31.08-1.09.2022 – 1 экз., 1-2.09.2022 – 1 экз., 2-3.09.2022 – 1 экз., 22-23.08.2023 – 1 экз., 23-24.08.2023 – 1 экз., 24-25.08.2023 – 1 экз., 6-7.09.2023 – 1 экз., 7-8.09.2023 – 1 экз., 11-12.-09.2023 – 1 экз., 12-13.09.2023 – 2 экз., 13-14.09.2023 – 1 экз., 18-19.09.2023 – 3 экз., 27-28.09.2023 – 2 экз.; Бычиха, 48° 17' 55" с. ш., 134° 49' 20" в. д., в светоловушка, 12.09.2005 – 1 экз., 13.09.2005 – 1 экз., 15.09.2005 – 1 экз., 18.09.2005 – 3 экз., 20.09.2005 – 1 экз., 23.09.2005 – 1 экз., 1-2.10.2016 – 1♂; окрестности Бычихи, 48° 17' 25-36" с. ш., 134° 49' 40-47" в. д., укос, 20.08.2007 – 1 экз.; ~2 км W пос.Чирки, лес S дороги, в светоловушка, 16-17.09.2021 – 1 экз.; **Болоньский заповедник:** кордон Кирпу, 49° 30' с. ш., 136° 02' в. д., поляна, на свет, 13-14.09.2016 – 1 экз.; там же, рёлка, в светоловушка, 22-23.08.2017 – 2 экз.; **Анюйский национальный парк:** кордон Кон, 49° 15' 26" с. ш., 136° 42' в. д., на свет, 6-7.09.2017 – 3 экз.; кордон Богбасу, 49° 22' 39-29" с. ш., 137° 42' 43-51" в. д., на свет, 13-14.09.2017 – 2 экз., там же, в светоловушка, 6-7.09.2018 – 1 экз., 6-7.09.2022 – 3 экз.; долина реки Анюй, кордон Нило, 49° 15' 08" с. ш., 137° 16' 03" в. д., в светоловушка, 24-25.09.2020 – 1 экз.; **нижнее течение реки Амур:** окрестности г. Комсомольск-на-Амуре, Пивань, 50° 31' с. ш., 137° 04' в. д., опушка леса, на свет, 26-27.08.2009 – 2♂; там же, в светоловушка, 27-28.08.2009 – 2♂.

**Распространение.** Ранее был известен только с юга Приморского края, Кореи и Китая [1]. На самом деле вид широко распространён по всей территории Среднего Приамурья до Комсомольского района включительно. Летит на свет с третьей декады августа до начала октября.

#### Список литературы

1. Ануфриев Г. А., Емельянов А. Ф. Подотряд Cicadinea (Auchenorrhyncha) – Цикадовые // Определитель насекомых Дальнего Востока России. Т. II. Равнокрылые и полужесткокрылые. Л. : Наука, Ленингр. отд-ние, 1988. С. 12–495.
2. Дубатов В. В. Большехехцирский заповедник. Насекомые (Insecta). Список видов насекомых, зарегистрированных на территории Большехехцирского заповедника и в его ближайших окрестностях. 2020. URL: [https://szmn.eco.nsc.ru/Insecta\\_Great\\_Khekhtsyr/](https://szmn.eco.nsc.ru/Insecta_Great_Khekhtsyr/) (дата обращения: 20.05.2023).



3. Платошкина Н. Почти как в басне Крылова // Тихоокеанская звезда. Экология. 24 августа 2019 г. URL: [http://toz.su/archive/?ELEMENT\\_ID=145768](http://toz.su/archive/?ELEMENT_ID=145768) (дата обращения: 20.05.2023).
4. Liang Ai-Ping, Song Zhi-Shun. Revision of the Oriental and eastern Palaearctic planthopper genus *Saigona* Matsumura, 1910 (Hemiptera: Fulgoroidea: Dictyopharidae), with descriptions of five new species // *Zootaxa*. 2006. Vol. 1333. P. 25–54.
- (Hemiptera)]. Leningrad, Nauka, 1988, pp. 12–495 (in Russian).
2. Dubatolov V. V. Great *Khekhtsyur Nature Reserve. Insects (Insecta). Insect species list recorded on the territory of the Great Khekhtsyur Nature Reserve and its environs*. 2020. Available at: [https://szmn.eco.nsc.ru/Insecta\\_Great\\_Khekhtsyur/](https://szmn.eco.nsc.ru/Insecta_Great_Khekhtsyur/) (accessed May, 20, 2023).
3. Platoshkina N. Almost like in Krylov's fable. *Tikhookeanskaya Zvezda. Ekologiya*. August, 24, 2019. Available at: [https://toz.su/archive/?ELEMENT\\_ID=145768](https://toz.su/archive/?ELEMENT_ID=145768) (accessed May, 20, 2023) (in Russian).
4. Liang Ai-Ping, Song Zhi-Shun. Revision of the Oriental and eastern Palaearctic planthopper genus *Saigona* Matsumura, 1910 (Hemiptera: Fulgoroidea: Dictyopharidae), with descriptions of five new species. *Zootaxa*, 2006, vol. 1333, pp. 25–54.

## References

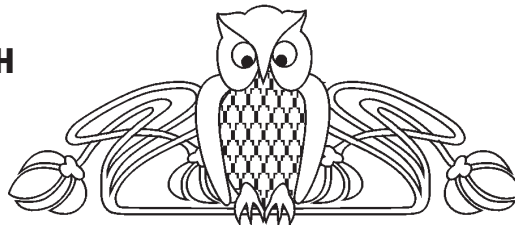
Поступила в редакцию 20.09.2023; одобрена после рецензирования 08.10.2023; принята к публикации 09.10.2023  
The article was submitted 20.09.2023; approved after reviewing 08.10.2023; accepted for publication 09.10.2023



Известия Саратовского университета. Новая серия. Серия: Химия. Биология. Экология. 2024. Т. 24, вып. 1. С. 103–110  
*Izvestiya of Saratov University. Chemistry. Biology. Ecology*, 2024, vol. 24, iss. 1, pp. 103–110  
<https://ichbe.sgu.ru> <https://doi.org/10.18500/1816-9775-2024-24-1-103-110>, EDN: VDDJXB

Научная статья  
УДК 574.1.574.32.581.93

## Адвентивный компонент банка семян некоторых лесных сообществ островов реки Волги



О. Н. Торгашкова✉, Д. И. Ефимова, Е. О. Татьяна

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

Торгашкова Ольга Николаевна, кандидат биологических наук, доцент кафедры ботаники и экологии, [torgaschkova88@mail.ru](mailto:torgaschkova88@mail.ru), <https://orcid.org/0000-0002-3478-5526>,

Ефимова Дарья Игоревна, студент кафедры ботаники и экологии, [darya-efimova99@mail.ru](mailto:darya-efimova99@mail.ru), <https://orcid.org/0000-0002-9190-8887>

Татьянина Екатерина Олеговна, студент кафедры ботаники и экологии, [katya.tatyanins@mail.ru](mailto:katya.tatyanins@mail.ru), <https://orcid.org/0000-0003-0546-9126>

**Аннотация.** Представлены результаты изучения адвентивного компонента банка семян острова Дубовая грива долины реки Волги в окрестностях города Саратова. В составе банка семян исследованных лесных сообществ зарегистрированы семена 12 видов адвентивных растений. Все выявленные семена принадлежат видам растений, относящихся к одному отделу Magnoliophyta, 8 семействам и 12 родам. Ведущую роль в таксономическом спектре адвентивных видов банка семян играет семейство Asteraceae (42 %). По отношению к экологическим режимам господствует мезофитная мезотрофная (63,6%) гелиофитная группировка растений. В основном встречаются виды северо-американского происхождения (60%). Существенную роль играют травянистые однолетники (33% видов) и деревья (34%). Значительное влияние на состав семенных банков оказал непреднамеренный занос на данную территорию семян растений, являющихся «беженцами из культуры». Большинство адвентивных растений, представленных как вегетирующими особями, так и семенами, внедрились в естественные ценозы, а в некоторых случаях даже частично преобразовали их структуру, что связано с их репродуктивным потенциалом и способностью конкурировать с представителями аборигенной флоры естественных местообитаний. На исследованной территории выявлены очаги концентрации семян заносных растений в разных сообществах, сплошное размещение (*Acer negundo*, *Bidens frondosa* и *Populus alba*), дизъюнктивное (*Fraxinus pennsylvanica*, *Parthenocissus quinquefolia*, *Echinocystis lobata*, *Impatiens glandulifera*), спорадическое – *Ambrosia trifida*, *Artemisia sieversiana*, *Crataegus sanguinea*, *Inula caspica* и *Ulmus pumila*. С увеличением площади увеличивается число адвентивных видов, представленных в банке семян, но уменьшается количество семян.

**Ключевые слова:** банк семян, адвентивные виды, биоразнообразие, инвазительность, инвазивность

**Для цитирования:** Торгашкова О. Н., Ефимова Д. И., Татьяна Е. О. Адвентивный компонент банка семян некоторых лесных сообществ островов реки Волги // Известия Саратовского университета. Новая серия. Серия: Химия. Биология. Экология. 2024. Т. 24, вып. 1. С. 103–109. <https://doi.org/10.18500/1816-9775-2024-24-1-103-110>, EDN: VDDJXB

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

Article

### Adventive component of the seed bank of some forest communities of the Volga River islands

O. N. Torgashkova✉, D. I. Efimova, E. O. Tatyanina

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

Olga N. Torgashkova, [torgaschkova88@mail.ru](mailto:torgaschkova88@mail.ru), <https://orcid.org/0000-0002-3478-5526>

Daria I. Efimova, [darya-efimova99@mail.ru](mailto:darya-efimova99@mail.ru), <https://orcid.org/0000-0002-9190-8887>

Ekaterina O. Tatyanina, [katya.tatyanins@mail.ru](mailto:katya.tatyanins@mail.ru), <https://orcid.org/0000-0003-0546-9126>

**Abstract.** The paper presents the results of studying the adventive component of the seed bank of the Oak Mane Island of the Volga River Valley in the vicinity of the city of Saratov. Seeds of 12 species of adventitious plants were registered in the seed bank of the studied forest communities. All identified seeds belong to plant species belonging to one department of Magnoliophyta, 8 families and 12 genera. The Asteraceae family plays a leading role in the taxonomic spectrum of adventitious seed bank species (42%). Mesophytic mesotrophic (63.6%) heliophytic grouping of plants dominates in relation to ecological regimes. Mostly there are species of North American origin (60%). Herbaceous annuals (33% of species) and trees (34%) play a significant role. A significant impact on the composition of seed banks was caused by the unintentional entry of seeds of plants that are “refugees from culture” into this territory. Most adventitious plants, represented by both vegetating individuals and





seeds, have penetrated into natural cenoses, and in some cases even partially transformed their structure, which is due to their reproductive potential and ability to compete with representatives of the native flora of natural habitats. In the studied area, foci of the concentration of seeds of drift plants in different communities were revealed, in continuous placement (*Acer negundo*, *Bidens frondosa* and *Populus alba*), disjunctive (*Fraxinus pennsylvanica*, *Parthenocissus quinquefolia*, *Echinocystis lobata*, *Impatiens glandulifera*), sporadic – *Ambrosia trifida*, *Artemisia sieversiana*, *Crataegus sanguinea*, *Inula caspica* and *Ulmus pumila*. An increase in the number of adventitious species presented in the seed bank was recorded, but the number of seeds decreased.

**Keywords:** seed bank, adventitious species, biodiversity, invasiveness

**For citation:** Torgashkova O. N., Efimova D. I., Tatianina E. O. Adventive component of the seed bank of some forest communities of the Volga River islands. *Izvestiya of Saratov University. Chemistry. Biology. Ecology*, 2024, vol. 24, iss. 1, pp. 103–110 (in Russian). <https://doi.org/10.18500/1816-9775-2024-24-1-103-110>, EDN: VDDJXB

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

## Введение

Банк семян является совокупностью ценопопуляций растений в латентном состоянии, находящихся в почве, процессы формирования и функционирования которых находятся в тесном взаимодействии с остальными компонентами биогеоценоза. Свойство семян сохраняться в почве длительное время выработалось у определенной группы растений как приспособление для сохранения вида [1] и в условиях глобальной адвентизации естественного растительного покрова в значительной мере определяет развитие флоры и растительности региона [2]. Процессы биологических инвазий являются одной из серьезнейших угроз стабильности и целостности лесных экосистем, ведут к утрате региональной специфики и служат источником их трансформации. Долины рек, вследствие высокой динамичности абиотических факторов и естественной нестабильности экосистем, восприимчивы к адвентивным видам растений. Наиболее интенсивно инвазия адвентивных видов в долинах рек идет на территориях, подверженных антропогенной деятельности. Во многих регионах России ведется работа по изучению трансформированной флоры [3–9], так как формирование информационной базы данных адвентивных видов региона является основой для решения многих вопросов любых уровней организации живых организмов.

Последствия внедрения чужеродных видов растений разнообразны и трудно прогнозируемы. Они могут приводить к существенным экологическим сдвигам в природных экосистемах, вызывая обеднение видового разнообразия аборигенной флоры, гибридизацию и появление более стойких инвазионных растений. Потенциал инвазительности сообществ определяется сочетанием разных абиотических и биотических барьеров, которым противопоставляется репродуктивный потенциал – один из признаков

инвазивности внедряющегося вида. Формирование адвентивной фракции банка семян островных лесных фитоценозов проходит в условиях, присущих территории смен гидрологических условий. Знания о распространении семян чужеродных растений на территории островов долины реки Волги требуются для прогноза скорости и направлений иммиграции.

В настоящее время все естественные лесные фитоценозы в разной степени подвержены прямому или косвенному воздействию антропогенных факторов, что часто приводит к исчезновению видов аборигенной флоры и способствует распространению адвентивных видов растений, составляющих конкуренцию аборигенным. Часто адвентивные виды растений присутствуют в сообществах только в виде жизнеспособных семян, которые в значительной мере определяют состав последующих фитоценозов, особенно при различного рода воздействиях. В связи с этим одной из главных задач сохранения фиторазнообразия является его инвентаризация, включающая в себя изучение банка семян исследуемой территории, что позволит определить направления дальнейшего преобразования растительного покрова островов реки Волги в условиях антропогенной нагрузки.

## Материалы и методы

Исследование банка семян проводилось в лесных сообществах острова Дубовая грива долины реки Волги в окрестностях города Саратова. Изучение качественного и количественного состава банка семян проводилось методом лабораторного проращивания [1]. В лесных сообществах было отобрано 130 образцов почв. Эти сообщества были детально исследованы и описаны.

Номенклатура видов приведена по сводке П. Ф. Маевского [10]. Анализ жизненных форм проводился по И. Г. Серебрякову [11].



Распределение видов по ценоморфам и экоморфам и ботанико-географический анализ флоры приводится по сводке Н. М. Матвеева [12]. Виды сравнивались по способам заноса и степени натурализации [13, 14]. При таксации почв основным руководством была «Классификация и диагностика почв СССР» [15] с дополнениями и изменениями под редакцией В. А. Болдырева [16].

Коэффициент сходства Серенсена ( $K_s$ ) рассчитывался по формуле:

$$K_s = \frac{2c}{a + b},$$

где  $a$  – число видов в одной флоре,  $b$  – число видов в другой флоре,  $c$  – число видов, общих для двух флор.

Коэффициент таксономического сходства банков семян Брея–Кертиса ( $K_{B-C}$ ) рассчитывался по формуле:

$$K_{B-C} = \frac{2\sum N_{\min}}{N_a + N_b},$$

где  $N_a$  – общая сумма количественных показателей первой флоры,  $N_b$  – общая сумма количественных показателей,  $\sum N_{B-C}$  – сумма наименьших значений количественных показателей [17].

## Результаты и их обсуждение

Исследованные пойменные лесные массивы, приуроченные к аллювиальным почвам, имеют значительное распространение в районе исследования. Для острова характерны эколого-генетические смены лесных сообществ, что напрямую связано с режимом увлажнения, мощностью аллювия и гранулометрическим составом почв. Дубравы расположены на повышенных участках островов, затапливаемых на непродолжительное время, вязовники – на участках, затапливаемых на более длительное время, на территориях слабого и сильного затопления островов наблюдается постепенная смена дубовых и вязовых сообществ на белотопольники. В данных сообществах сформировались аллювиальные (пойменные) почвы, характеризующиеся регулярным затоплением паводковыми водами и отложением на поверхности почв свежих слоев аллювия. Приуроченную часть островов занимают вязовники на аллювиальных слоистых суглинистых почвах и белотопольники на аллювиальных глеевых супесчаных почвах, центральную часть – дубравы на аллювиальных суглинистых слоистых почвах [16].

В дубравах мощность почвенного горизонта максимальная, в осокорниках, белотопольниках и ивняках почвенный слой практически отсутствует. Мощность лесной подстилки велика в дубравах, в вязовниках подстилка выражена слабо, а в осокорниках и ивняках подстилки практически нет, на более возвышенных участках местами встречается дерновый войлок.

Во всех исследованных лесных фитоценозах обнаружено незначительное число всходов и подраста деревьев (*Fraxinus pennsylvanica*, *Ulmus glabra*, *Quercus robur*, *Acer negundo*, *Salix alba* и *Populus alba*). Кустарниковый ярус наиболее представлен в дубравах и состоит из *Crataegus sanguinea*, *Corylus avellana*, *Euonymus verrucosa* и других. В вязовниках кустарники встречаются в меньшем количестве и представлены *Rosa spinosissima*, *Rubus caesius*. В остальных сообществах кустарниковый ярус отсутствует.

Изученные лесные сообщества характеризуются значительным видовым разнообразием (до 25 видов). Всего в фитоценозах обнаружено 60 видов растений. Среди них встречаются типично лесные растения, например, *Convallaria majalis*, *Stellaria holostea*, *Aristolochia clematitis*, *Rubus caesius*, но в значительном количестве встречаются представители других ценоморф.

Всего в фитоценозах обнаружены семена 27 видов растений. Почвенный запас жизнеспособных семян дубрав включает максимальное количество семян (13600 шт./м<sup>2</sup>) – 15 видов. Древесные виды представлены семенами *Acer negundo*, *Ulmus glabra*, *Quercus robur*, *Salix alba* и *Populus alba*. Диаспоры *Rubus caesius*, *Stellaria holostea* и *Equisetum arvense* обнаружены во всех слоях почвы и являются местными. Семена *Bidens tripartita* и *B. frondosa*, *Dryopteris cristata* обнаружены в нижних слоях почвы в небольшом количестве и вероятнее всего являются реликтовыми, так как взрослые особи не встречаются в травяном ярусе фитоценозов. В подстилке обнаружены семена *Artemisia sieversiana*, *Stellaria holostea*, *Plantago major* и *Mentha arvensis*, которые являются местными. Почвенный банк семян дубрав содержит в своем составе семена видов растений, в основном не встречающихся в фитоценозах ( $K_s = 0,2$ ).

Значительное число жизнеспособных семян обнаружено в вязовниках (11 видов, 11600 шт./м<sup>2</sup>) и в белотопольниках (13 видов, 11400 шт./м<sup>2</sup>). Древесные виды в вязовниках представлены



семенами *Acer negundo*, *Ulmus glabra*, *U. pumila*, *Quercus robur*, *Fraxinus pennsylvanica*, *Salix alba* и *Populus alba*, обнаруженными в подстилке. Семена *Dryopteris cristata* встречаются практически во всех слоях почвы, в нижних слоях почвы обнаружены диаспоры *Aristolochia clematitidis* и *Stellaria holostea*, это дает возможность предположить, что данные семена являются реликтовыми. В верхних слоях почвы встречаются местные семена *Galium aparine*, взрослые особи которого обнаружены в травяном ярусе сообщества. Видовой состав почвенного банка семян вязовников значительно отличается от видового состава фитоценозов ( $K_s = 0,1$ ).

Древесные виды в белотопольниках представлены семенами *Acer negundo*, *Ulmus glabra*, *Quercus robur*, *Salix alba*, *Populus alba* и

*Fraxinus pennsylvanica*. Существенное количество семян обнаружено в подстилке (*Galium boreale*, *Sonchus arvensis*, *Polygonum dumetorum*, *Bidens tripartita*, *B. frondosa* и *Ranunculus repers*). Семена *Urtica dioica* встречаются практически во всех слоях почвы, что связано со способностью его семян не терять свою жизнеспособность в условиях повышенного увлажнения. Небольшое число заносных семян *Galium mollugo* обнаружено в верхних слоях почвы. Видовой состав банка семян белотопольников в значительной мере отличается от видового состава фитоценоза ( $K_s = 0,1$ ).

Исследованные фитоценозы характеризуются низкими значениями коэффициента таксономического сходства Брея–Кертиса (таблица).

**Таксономическое сходство банков семян изученных фитоценозов**  
Table. Taxonomic similarity of seed banks of the studied phytocenoses

Фитоценоз Phytocenose	Дубравы Oak forests	Вязовники Elm forests	Белотопольники White poplar forests
Дубравы / Oak forests	1		
Вязовники / Elm forests	0,2	1	
Белотопольники / White poplar forests	0,07	0,05	1

Большее значение коэффициента таксономического сходства Брея –Кертиса характерно для дубрав и вязовников, а меньшее – для дубрав и белотопольников, что связано видовой специфичностью банка семян сообществ.

Адвентивная фракция семенного банка представлена семенами 12 видов, что составляет 44,4% от видов, обнаруженных в банке семян всех изученных фитоценозов. Все выявленные семена принадлежат видам растений, относящихся к одному отделу Magnoliophyta, 8 семействам и 12 родам. Ведущую роль в таксономическом спектре адвентивных видов банка семян играет семейство Asteraceae (42%), которое, по литературным данным, является основным поставщиком адвентивных видов во флоре региона, что связано с большой экологической пластичностью и адаптационным потенциалом многих видов сложноцветных. Другие семейства Magnoliophyta представлены одним видом, но следует отметить, что такие семейства, как Cucurbitaceae, Oleaceae и Vitaceae, слабо представлены как в аборигенной флоре области, так и в семенных банках

лесных сообществ региона [18], что определяет специфику адвентивной фракции банков семян района исследования.

Почвенный запас жизнеспособных семян дубрав содержит наибольшее количество семян (3900 шт./м<sup>2</sup>) семи видов. Древесные виды представлены семенами *Acer negundo*, *Populus alba* и *Parthenocissus quinquefolia*. Максимальным числом семян характеризуются *Bidens frondosa* (600 шт./м<sup>2</sup>) и *Artemisia sieversiana* (400 шт./м<sup>2</sup>), семена которых обнаружены в подстилке и слоях почвы до 8 см. Семена *Crataegus sanguinea*, *Bidens frondosa* и *Parthenocissus quinquefolia* обнаружены и встречаются в незначительном количестве, при этом их взрослые особи отсутствуют в изученных сообществах, но встречаются в других фитоценозах островного массива.

В вязовниках также обнаружены семена адвентивных видов растений (8 видов, 3100 шт./м<sup>2</sup>). Древесные виды представлены семенами *Acer negundo*, *Ulmus pumila*, *Fraxinus pennsylvanica* и *Populus alba*. Максимальным числом семян из адвентивной фракции характеризуется *Bidens frondosa* (400 шт./м<sup>2</sup>). Также встречаются в не-

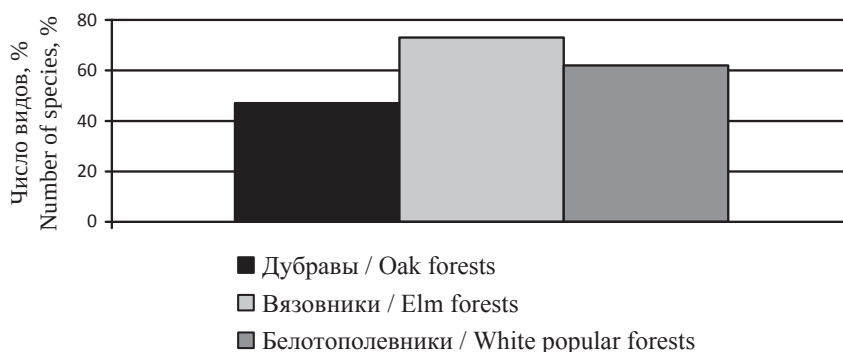


значительном количестве семена *Echinocystis lobata*, единично встречающегося в сообществах, и семена *Ambrosia trifida*, взрослые особи которой не обнаружены в сообществе, но встречаются на открытых участках острова. *Impatiens glandulifera* обнаружена на острове только в виде жизнеспособных семян.

В тополениках обнаружены живые семена восьми адвентивных видов растений (2800 шт./м<sup>2</sup>). Древесные виды представлены семенами *Acer negundo*, *Populus alba*, *Fraxinus*

*pennsylvanica* и *Parthenocissus quinquefolia*. Наибольшее количество семян *Bidens frondosa* (500 шт./м<sup>2</sup>) обнаружено в верхних слоях почвы до 2 см. В незначительном количестве в разных слоях почвы выявлены семена местного для данных сообществ вида *Echinocystis lobata* и заносных на территорию острова видов *Impatiens glandulifera* и *Inula caspica*.

Наибольшим числом адвентивных видов характеризуется семенной банк вязовников (рисунок).



Представленность адвентивных видов в семенных банках фитоценозов, %  
 Fig. The representation of adventitious species in the seed banks of phytocenoses, %

В спектре жизненных форм присутствуют все основные жизненные формы, а значительную роль играют травянистые растения (50%): однолетники – 33% видов и многолетники – 17%. Высокий удельный вес однолетних трав объясняется тем, что большая часть однолетников по своей стратегии являются эксплерентами, для которых характерен захват новых территорий. Семена древесных жизненных форм составляют 42%, при этом деревья составляют 34% от семян адвентивных видов и представлены в основном «беженцами из культуры». Древесные лианы отсутствуют в аборигенной флоре и банках семян лесных фитоценозов, но на островах семена *Parthenocissus quinquefolia* встречаются в большинстве изученных фитоценозов в значительном количестве.

Экологическая структура адвентивной фракции банка семян диктуется условиями среды. По отношению к режиму почвенного увлажнения доминирует мезофитная экологическая группа (67%), которая представлена мезофитами – 42%, гигромезофитами – 25%, что соответствует зонально-региональным особенностям исследуемой территории, а также её экотопической характеристике. На втором месте располагаются

растения сырых местообитаний – 25%. Распределение видов в адвентивной и аборигенной фракциях банка семян совпадает с распределением видов по экологическим группам исследованных фитоценозов в целом.

По отношению к богатству почв на первом месте находятся мезотрофы – растения, развивающиеся на почвах со средним содержанием питательных веществ (50%), достаточно много мегатрофов и эвтрофов, что связано с почвенными условиями района исследования.

В инвазионной фракции флоры преобладают растения открытых и полукрытых местообитаний (92%), что является следствием освещенности древостоя и образованием полян.

Из семян растений, естественный ареал которых далек от Волжского бассейна, встречаются *Acer negundo*, *Bidens frondosa*, *Ambrosia trifida*, *Echinocystis lobata* – виды северо-американского происхождения (60 %). Прослеживается также значительная доля азиатских видов (24%): *Impatiens glandulifera*, *Populus alba* и *Ulmus pumila*. Из адвентивных видов, распространившихся из географически близких регионов, в семенном банке обнаружены семена *Inula caspica*, занесенного с южных территорий.



Пространственно-временной аспект изучения инвазионной фракции почвенного запаса семян отражает степень ее натурализации. По способу иммиграции в банке семян встречаются ксенофиты (25%) и эргазиофиты (75%). Преобладание семян агриофитов (83%) над эпикофитами говорит о том, что большинство адвентивных растений внедрились в естественные ценозы и продолжают расселяться, что связано с их репродуктивным потенциалом и способностью конкурировать с представителями аборигенной флоры естественных местообитаний. Тем не менее, доля эпикофитов представлена в семенных банках, а некоторые из них, например, *Ambrosia trifida*, также прочно вошли в состав некоторых естественных фитоценозов и частично преобразовали их структуру.

Анализ пространственного размещения инвазионной фракции банка семян на исследованной территории выявил очаги концентрации заносных растений в разных сообществах. Для одних видов, встречающихся в семенных банках всех фитоценозов, характерно сплошное размещение (*Acer negundo*, *Bidens frondosa* и *Populus alba*), для других – дизъюнктивное (*Fraxinus pennsylvanica*, *Parthenocissus quinquefolia*, *Echinocystis lobata*, *Impatiens glandulifera*). Спорадическое пространственное размещение в лесных сообществах характерно для *Ambrosia trifida*, *Artemisia sieversiana*, *Crataegus sanguinea*, *Inula caspica* и *Ulmus pumila*. Следует отметить, что с увеличением поемности дубрав, вязовников и белотопольников увеличивается число адвентивных видов, представленных в банке семян, которое составляет соответственно 44, 62 и 67%, но уменьшается количество семян – 28, 26 и 24% от общего количества семян в сообществах. Максимальным количеством семян заносных видов характеризуются дубравы, расположенные на незатапливаемой территории, а максимальным числом видов – лесные фитоценозы, затапливаемые на непродолжительное время.

Следовательно, адвентивный компонент банка семян исследованных лесных сообществ острова Дубовая грива представлен 12 видами растений. Значительное влияние на качественный и количественный состав семенных банков оказал непреднамеренный занос на данную территорию семян разных видов растений, при этом существенную роль играют травянистые однолетники (33% видов)

и деревья (34%), представленные в основном «беженцами из культуры». В основном встречаются виды северо-американского происхождения (60%). Большинство адвентивных растений, представленных как вегетирующими особями, так и семенами, внедрились в естественные ценозы, а в некоторых случаях даже частично преобразовали их структуру. Анализ и выявление закономерностей формирования банка семян адвентивных видов растений отражают динамику преобразования всей флоры исследованной территории. С целью повышения точности прогнозов изменения видового состава сообществ необходимо вести систематический мониторинг формирования и реализации банка семян инвазионных растений и, особенно, семян видов-средообразователей.

#### Список литературы

1. Петров В. В. Банк семян в почвах лесных фитоценозов европейской части СССР. М. : Изд-во Моск. ун-та, 1989. 176 с.
2. Ефимова Д. И., Торгашкова О. Н., Жухарева О. П. Банк семян адвентивных видов растений лесных сообществ Саратовского Правобережья // Изучение водных и наземных экосистем: история и современность : тезисы докладов II Международной научно-практической конференции (5–9 сентября 2022 г., Севастополь). Севастополь : Институт биологии южных морей имени А. О. Ковалевского РАН, 2022. С. 96–97.
3. Кондратюк Е. Н., Тарабрин В. П., Бурда Р. И. Адвентивный и синантропный элементы в формировании современной флоры индустриального региона на юге европейской части СССР // Проблемы изучения адвентивной флоры СССР / отв. ред. В. Н. Тихомиров. М. : Наука, 1989. С. 66–68.
4. Юрченко В. В. Чужеродные виды растений как фактор экологической опасности для экосистем урбанизированных территорий на примере г. Электросталь // Международный школьный научный вестник. 2020. № 1. С. 18–19.
5. Березуцкий М. А. Антропогенная трансформация флоры // Бот. журн. 1999. Т. 84, № 6. С. 8–19.
6. Хмелев К. Ф., Березуцкий М. А. Тенденции антропогенной трансформации локальных флор южной части Приволжской возвышенности // Бот. журн. 1995. Т. 80, № 2. С. 21–30.
7. Дгебуадзе Ю. Ю. Проблемы инвазий чужеродных организмов // Экологическая безопасность и инвазии чужеродных организмов : сб. материалов Всерос. конф. по экологической безопасности (4–5 июня 2002 г., Москва). М. : Ин-т проблем экологии и эволюции РАН, 2002. С. 11–14.



8. Сагалаев В. А. К инвентаризации инвазионных видов флоры Волгоградской области // Вестник ТвГУ. Сер. Биология и экология. 2013. Вып. 32, № 31. С. 102–105.
9. Виноградова Ю. К., Майоров С. Р., Хорун Л. В. Чёрная книга флоры Средней России: чужеродные виды растений в экосистемах Средней России. М. : ГЕОС, 2010. 512 с.
10. Маевский П. Ф. Флора средней полосы Европейской части России. 11-е изд. М. : Т-во науч. изд. КМК, 2014. 635 с.
11. Серебряков И. Г. Экологическая морфология растений: Жизненные формы покрытосеменных и хвойных. М. : Высш. школа, 1962. 378 с.
12. Матвеев Н. М. Биоэкологический анализ флоры и растительности (на примере лесостепной и степной зоны) : учеб. пособие. Самара : Изд-во «Самарский университет», 2006. 311 с.
13. Владимиров Д. Р., Вейго Т. У. Некоторые теоретические вопросы адвентивной флоры и ее инвазионного субэлемента // Вестник ВГУ. Сер. География. Геоэкология. 2016. № 3. С. 73–78.
14. Баранова О. Г., Щербakov А. В., Сенатор С. А., Панасенко Н. Н., Сагалаев В. А., Саксонов С. В. Основные термины и понятия, используемые при изучении чужеродной и синатропной флоры // Фиторазнообразия Восточной Европы. 2018. Т. XII, № 4. С. 4–22.
15. Классификация и диагностика почв СССР. М. : Колос, 1977. 224 с.
16. Болдырев В. А. Основные закономерности почвенного покрова Саратовской области : учеб. пособие. Саратов : Сарат. гос. ун-т, 1997. 16 с.
17. Городничев Р. М. Методы экологических исследований. Основы статистической обработки данных : учеб.-метод. пособие. Якутск : Издательский дом СВФУ, 2019. 94 с.
18. Торгашкова О. Н., Воловик Н. С., Попутникова В. Ю. Эколого-генетические ряды лесной растительности островов поймы Волги // Известия Самарского научного центра Российской Академии наук. 2012. Т. 12, № 1 (4). С. 1139–1140.
19. abstracts of the 2nd International Academic Conference (September 5–9, 2022, Sevastopol)]. Sevastopol, A. O. Kovalevsky Institute of Biology of the South Seas of the RAS Publ., 2022, pp. 96–97 (in Russian).
3. Kondratyuk E. N., Tarabarin V. P., Burda R. I. Adventive and synanthropic elements in the formation of the industrial region modern flora in the south of the USSR European part. In: *Problemy izucheniya adventivnoy flory SSSR. Otv. red. V. N. Tikhomirov* [Tikhomirov V. N., ed. Problems of studying the adventitious flora of the USSR]. Moscow, Nauka, 1989, pp. 66–68 (in Russian).
4. Yurchenko V. V. Alien plant species as a factor of environmental hazard for ecosystems of urbanized territories using the example of Elektrostal. *International School Scientific Bulletin*, 2020, no. 1, pp. 18–19 (in Russian).
5. Berezuckij M. A. Anthropogenic transformation of flora. *Botanicheskii Zhurnal*, 1999, vol. 84, no. 6, pp. 8–19 (in Russian).
6. Hmelev K. F., Berezuckij M. A. Trends in anthropogenic transformation of local floras of the southern part of the Volga Upland. *Botanicheskii Zhurnal*, 1995, vol. 80, no. 2, pp. 21–30 (in Russian).
7. Dgebuadze Yu. Yu. Problems of the alien organisms invasions. In: *Ekologicheskaya bezopasnost' i invazii chuzherodnykh organizmov: sb. materialov Vseros. konf. po ekologicheskoy bezopasnosti (4–5 iyunya 2002 g., Moskva)* [Environmental safety and invasions of alien species: Collection of materials of the All-Russian Conference on Environmental Safety (June 4–5, 2002, Moscow)]. Moscow, Institute of Problems of Ecology and Evolution of the Russian Academy of Sciences Publ., 2002, pp. 11–14 (in Russian).
8. Sagalaev V. A. On the inventory of invasive species of the Volgograd region flora. *Bulletin of Tver State University. Series: Biology and Ecology*, 2013, vol. 32, no. 31, pp. 102–105 (in Russian).
9. Vinogradova Yu. K., Majorov S. R., Horun L. V. *Chernaya kniga flory Sredney Rossii: chuzherodnye vidy rasteniy v ekosistemakh Sredney Rossii* [Black Book of the Flora of Central Russia: Alien plant species in the Central Russia ecosystems]. Moscow, GEOS, 2010. 512 p. (in Russian)
10. Maevskiy P. F. *Flora srednej polosity Evropejskoj chasti SSSR* [The central zone flora of the European part of USSR]. Moscow, KMK Scientific Press Ltd., 2006. 900 p. (in Russian).
11. Serebryakov I. G. *Ekologicheskaya morfologiya rasteniy: Zhiznennye formy pokrytosemennykh i khvoynnykh* [Ecological morphology of plants: Life forms of angiosperms and conifers]. Moscow, Vysshaya shkola, 1962. 378 p. (in Russian).
12. Matveev N. M. *Bioekologicheskij analiz flory i rastitel'nosti (na primere lesostepnoj i stepnoj zony): uchebnoe posobie* [Bioecological analysis of flora and vegetation (using the example of forest-steppe and steppe zones): A textbook]. Samara, Izd-vo «Samariskiy universitet», 2006. 311 p. (in Russian).

## References

1. Petrov V. V. *Bank semyan v pochvakh lesnykh fitotsenozov evropejskoj chasti SSSR* [Seed bank in the forest phytocenoses soils in the European part of the USSR]. Moscow, Moscow University Press, 1989. 176 p. (in Russian).
2. Efimova D. I., Torgashkova O. N., Zhuhareva O. P. Seed bank of adventive plant species of forest communities in the Saratov Right Bank. In: *Izucheniye vodnykh i nazemnykh ekosistem: istoriya i sovremennost': Tezisy dokladov II Mezhdunarodnoy nauchno-prakticheskoy konferentsii* [Study of Aquatic and Terrestrial Ecosystems: History and Contemporary State: Book of



13. Vladimirov D. R., Vejgo Tu. Some theoretical issues of adventive flora and its invasive subelement. *Proceedings of Voronezh State University. Series: Geography. Geocology*, 2016, no. 3, pp. 73–78 (in Russian).
14. Baranova O. G., Shcherbakov A. V., Senator S. A., Panasenko N. N., Sagalaev V. A., Saksonov S. V. Basic terms and concepts used in the study of alien and synatropic flora. *Phytodiversity of Eastern Europe*, 2018, vol. 12, no. 4, pp. 4–22 (in Russian).
15. *Klassifikatsiya i diagnostika pochv SSSR* [Classification and diagnostics of soils of the USSR]. Moscow, Kolos, 1977. 224 p. (in Russian).
16. Boldyrev V. A. *Osnovnye zakonomernosti pochvennogo pokrova Saratovskoj oblasti* [Basic patterns of soil cover in the Saratov region]. Saratov, Saratov State University Publ., 1997. 16 p. (in Russian).
17. Gorodnichev R. M. *Metody ekologicheskikh issledovaniy. Osnovy statisticheskoi obrabotki dannykh: uchebno-metodicheskoe posobie* [Methods of environmental research. Fundamentals of statistical data processing: Educational and methodological manual]. Yakutsk, M. K. Ammosov North-Eastern Federal University Publ., 2019. 94 p. (in Russian).
18. Torgashkova O. N., Volovik N. S., Poputnikova V. Yu. Ecological and genetic series of forest vegetation of the Volga floodplain islands. *Izvestia of Samara Scientific Center of the Russian Academy of Sciences*, 2012, vol. 12, no. 1 (4), pp. 1139–1140 (in Russian).

Поступила в редакцию 22.02.2023; одобрена после рецензирования 29.08.2023; принята к публикации 14.11.2023  
The article was submitted 22.02.2023; approved after reviewing 29.08.2023; accepted for publication 14.11.2023



Известия Саратовского университета. Новая серия. Серия: Химия. Биология. Экология. 2024. Т. 24, вып. 1. С. 111–117  
*Izvestiya of Saratov University. Chemistry. Biology. Ecology*, 2024, vol. 24, iss. 1, pp. 111–117  
<https://ichbe.sgu.ru> <https://doi.org/10.18500/1816-9775-2024-24-1-111-117>, EDN: YESMMV

Научная статья  
УДК 574.45 + 574.47



## Влияние рекреации на радиальный прирост сосны обыкновенной

В. С. Симоненков<sup>1</sup>, В. А. Симоненкова<sup>2</sup>✉, С. Р. Гилязиева<sup>1</sup>, Р. Г. Калякина<sup>2</sup>, Е. М. Ангальт<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Оренбургский государственный университет, Россия, 460018, г. Оренбург, просп. Победы, д. 13

<sup>2</sup>Оренбургский государственный аграрный университет, Россия, 460014, г. Оренбург, ул. Челюскинцев, д. 18

Симоненков Владислав Сергеевич, кандидат биологических наук, доцент, доцент кафедры физического воспитания, [simonenkov67@mail.ru](mailto:simonenkov67@mail.ru), <https://orcid.org/0000-0001-6331-5817>

Симоненкова Виктория Анатольевна, кандидат сельскохозяйственных наук, доцент, доцент кафедры лесоводства и лесопаркового хозяйства, [simon\\_vik@mail.ru](mailto:simon_vik@mail.ru), <https://orcid.org/0000-0002-2897-8778>

Гилязиева Светлана Рашитовна, кандидат педагогических наук, доцент, доцент кафедры физического воспитания, [gecean@mail.ru](mailto:gecean@mail.ru), <https://orcid.org/0000-0002-3337-1858>

Калякина Раиля Губайдулловна, кандидат биологических наук, доцент, доцент кафедры лесоводства и лесопаркового хозяйства, [kalyakina\\_railya@mail.ru](mailto:kalyakina_railya@mail.ru), <https://orcid.org/0000-0001-8892-0669>

Ангальт Елена Михайловна, кандидат биологических наук, доцент кафедры лесоводства и лесопаркового хозяйства, [elenaangalt@mail.ru](mailto:elenaangalt@mail.ru), <https://orcid.org/0000-0002-8401-8288>

**Аннотация.** Рассматриваются стадии рекреационной дигрессии различных биогеоценозов в Широковском участковом лесничестве Национального парка «Бузулукский бор» и особенности радиального прироста сосны обыкновенной как доминантного древостоя. Целью работы был сравнительный анализ реакции деревьев сосны обыкновенной в зоне активной рекреации и на ненарушенных участках. Отмечалось наличие или отсутствие подроста, подлеска, определялось проективное покрытие и преобладание растений-индикаторов. На временных пробных площадях проводился подеревный пересчет с выведением усредненных данных. С помощью тепловизора Flir i7 определялось наличие или отсутствие, а также локализация стволовых и корневых гнилей сосны от губки. Отмечено уменьшение общего проективного покрытия живого напочвенного покрова и количества лесных видов, увеличение количества злаковых видов по мере увеличения рекреационной дигрессии. С усилением рекреации исчезает подрост и подлесок. Отмечено, что с увеличением стадий дигрессии появляется однообразность видового состава подлеска, снижается плотность и высота лесной подстилки, увеличивается количество деревьев, зараженных гнилями и заселенных стволовыми вредителями (черный сосновый усач, сосновые лубоеды, шестизубый короед, вершинный короед). Изменения всех компонентов биогеоценоза приводят к потере устойчивости лесного фитоценоза в целом. Даже простое пребывание большого количества людей в лесу приводит к деградации растительных сообществ.  
**Ключевые слова:** рекреация, рекреационная дигрессия, проективное покрытие, радиальный прирост, сосна обыкновенная, тепловизор

**Для цитирования:** Симоненков В. С., Симоненкова В. А., Гилязиева С. Р., Калякина Р. Г., Ангальт Е. М. Влияние рекреации на радиальный прирост сосны обыкновенной // Известия Саратовского университета. Новая серия. Серия: Химия. Биология. Экология. 2024. Т. 24, вып. 1. С. 111–117. <https://doi.org/10.18500/1816-9775-2024-24-1-111-117>, EDN: YESMMV

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

Article

### Influence of recreation on radial growth of the common pine tree

V. S. Simonenkov<sup>1</sup>, V. A. Simonenkova<sup>2</sup>✉, S. R. Gilazieva<sup>1</sup>, R. G. Kalyakina<sup>2</sup>, E. M. Anhalt<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Orenburg State University, 13 Pobeda Ave., Orenburg 460018, Russia

<sup>2</sup>Orenburg State Agrarian University, 18 Chelyuskintsev St., Orenburg 460014, Russia

Vladislav S. Simonenkov, [simonenkov67@mail.ru](mailto:simonenkov67@mail.ru), <https://orcid.org/0000-0001-6331-5817>

Victoria A. Simonenkova, [simon\\_vik@mail.ru](mailto:simon_vik@mail.ru), <https://orcid.org/0000-0002-2897-8778>

Svetlana R. Gilazieva, [gecean@mail.ru](mailto:gecean@mail.ru), <https://orcid.org/0000-0002-3337-1858>

Railya G. Kalyakina, [kalyakina\\_railya@mail.ru](mailto:kalyakina_railya@mail.ru), <https://orcid.org/0000-0001-8892-0669>

Elena M. Anhalt, [elenaangalt@mail.ru](mailto:elenaangalt@mail.ru), <https://orcid.org/0000-0002-8401-8288>





**Abstract.** The article deals with the stages of recreational digression of different biogeocenoses in the Shirokovsky district forestry of the National Park "Buzuluksky Bor" and the peculiarities of radial growth of the common pine as a dominant stand. The aim of the work was to analyze the comparative response of the common pine trees in the zone of active recreation and in undisturbed areas. The presence or absence of undergrowth, understorey, projective cover and dominance of indicator plants were noted. Sub-tree enumeration with averaged data was carried out on temporary sample plots. Using a Flir i7 thermal imager, the presence or absence and localization of stem and root rots of pine from sponges were determined. A decrease in the total projective cover of the living ground cover and the number of forest species was observed, with an increase in the number of cereal species as recreational digression increased. As recreation intensifies, undergrowth and understorey disappears. It was noted that with increasing stages of digression the monotony of undergrowth species composition appears, the density and height of forest litter decreases, the number of trees infected with rots and infested with stem pests (black pine moustache, pine bark beetles, six-toothed bark beetle, apex bark beetle) increases. Changes in all components of biogeocenosis lead to loss of stability of forest phytocenosis as a whole. Even a simple stay of a large number of people in the forest leads to degradation of plant communities.

**Keywords:** recreation, recreational digression, projective cover, radial growth, common pine, thermal imager

**For citation:** Simonenkov V. S., Simonenkova V. A., Gilazieva S. R., Kalyakina R. G., Anhalt E. M. Influence of recreation on radial growth of the common pine tree. *Izvestiya of Saratov University. Chemistry. Biology. Ecology*, 2024, vol. 24, iss. 1, pp. 111–117 (in Russian). <https://doi.org/10.18500/1816-9775-2024-24-1-111-117>, EDN: YESMMV

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

## Введение

В формировании радиального прироста стволовой древесины древесных растений принимают участие геномный состав каждого растения и комплекс абиотических факторов, которые, в свою очередь, не влияют на реальную изменчивость прироста [1, 2]. Лесной фитоценоз, а именно проявляемая в нем конкуренция, влияет прямо и косвенно на значения радиального прироста. Малейшие изменения в абиотической среде могут оказать воздействие на ширину годичного кольца, процентное соотношение ранней и поздней древесины. Особенно сильно на радиальный прирост влияют возраст дерева, динамика гидротермического коэффициента увлажнения Селянинова (ГТК) вегетационного периода, температура и ее отклонения от средней многолетней, влажность воздуха, солнечная активность [3]. Изменчивость радиального прироста под воздействием данных факторов лежит в основе дендрохронологических и дендроклиматических исследований [4]. Часто в лесных массивах особо охраняемых природных территорий вне экологических троп отсутствует оборудованная дорожно-тропиночная сеть, особенно вблизи населенных пунктов. Население, туристы натаптывают свои дорожки, где происходит уплотнение и нарушение обменных процессов в почвах [5–9]. На уплотненных почвах значительно снижается дыхательный коэффициент, возрастает интенсивность дыхания почв с повышением их влажности [10]. Также уплотнение поверхности почвы в корнеобитаемом слое приводит к анаэробным условиям, особенно в периоды сильного увлажнения и

глубокого промерзания почвы [6]. Если рекреационная нагрузка избыточна, то это может привести к уничтожению подстилки и почвенного покрова, подлеска, подроста и кустарникового ярусов [11]. В результате уплотнения почвы возможно повреждение или угнетение корневых систем древесных растений, что ведет к изреживанию крон, суховершинности, резкому падению годичного прироста и массовому усыханию деревьев [12], к появлению инвазии насекомых-вредителей и возбудителей заболеваний, к уменьшению устойчивости, особенно к абиотическим факторам [13, 14,]. Уплотнение почвы ухудшает условия водно-минерального питания дерева, что сильно отражается на его росте, снижается прирост по высоте и диаметру. Известно, что реакция древостоя на рекреационное воздействие проявляется позднее, чем других ярусов растительности [15, 16]. При рекреационных нагрузках больших стадий рекреационной дигрессии наблюдается снижение радиального прироста деревьев [17, 18]. С увеличением рекреационной нагрузки изменяется возрастная структура древостоев, происходит смещение возрастной структуры в сторону молодых [19, 20].

## Материалы и методы

Исследование было проведено в период с 30 июня по 2 июля 2023 г., включало сравнительный анализ реакции деревьев сосны обыкновенной в зоне активной рекреации и на ненарушенных участках. Степень рекреационной нагрузки определялась пятью стадиями рекреационной дигрессии, которые



соответствуют различным этапам трансформаций биоценозов [15, 21, 22]. Отмечалось наличие или отсутствие подроста, подлеска, определялось проективное покрытие и преобладание растений-индикаторов. Временные пробные площади (8 штук) были заложены на территории Широковского участкового лесничества Национального парка «Бузулукский бор», в каждой из них проводился подеревный пересчет с выведением усредненных данных. ВПП №1 – кв. 76, ВПП №2 – кв. 77. Зона средней рекреации. ВПП №3 – кв. 45, ВПП № 4 – кв. 52. Зона сильной рекреации. ВПП № 5 – кв. 74, ВПП № 6 – кв. 89. Зона умеренной рекреации. ВПП № 7 – кв. 90, ВПП № 8 – кв. 91.

Зона особо охраняемая, отсутствие рекреации. С помощью тепловизора Flir i7 определялось наличие или отсутствие, а также локализация стволовых и корневых гнилей сосны от губки.

### Результаты и их обсуждение

Временные пробные площади (ВПП) 1 и 2. Сосняк травяно-мшистый (СТМ). Хозяйственная зона Национального парка. Зона средней рекреации. Очаг корневой губки слабой степени. Возраст 40 лет. Полнота 0,5. Подлесок – вяз гладкий, дуб черешчатый, клен ясенелистный, подрост – сосна обыкновенная – редко (табл. 1).

Таблица 1 / Table 1

Характеристика биогеоценоза (средние данные)  
Characterization of biogeocenosis (average data)

№ ВПП / No. temporary sample area	Высота, м / Height, m	Диаметр, см / Diameter, cm	Освещенность, тыс. лк / Illumination, th. lux	Температура поверхности почвы, °С / Soil surface temperature, °C	Проективное покрытие, % / Projective coverage, %	Рекреацион- ная дигрессия, стадия / Recreational digression, stage
1	21	18	370	23,5	60	III
2	18	16	487	24,5	65	III
3	17	19	1000	30,4	45	IV
4	19	27	450	26	35	IV
5	14	22	796	18,7	70	II
6	17	21	248	21,6	75	II
7	21	16	720	24,8	90	I
8	24	14	94	19,7	95	I

На ВПП 1 и 2 обнаружен очаг корневой губки, вызываемой грибом *Heterobasidion annosum* (Fr.) Bref. Локализация гнили показана на рис. 1.

Временные пробные площади 3 и 4. Сосняк лишайниково-мшистый (СЛМ). Хозяйственная зона Национального парка. Зона сильной рекреации – вблизи поселка Елшанский. Очаг корневой и стволовой губки сильной степени. Возраст 50 лет. Полнота 0,4. Подрост – единично сосна обыкновенная. Подлесок отсутствует (см. табл. 1).

На ВПП 3 и 4 обнаружен очаг корневой губки, вызываемой грибом *Heterobasidion annosum* (Fr.) Bref., и стволовой губки *Phellinus pini* (Fr.) Pil. Локализация гнили показана на рис. 2.

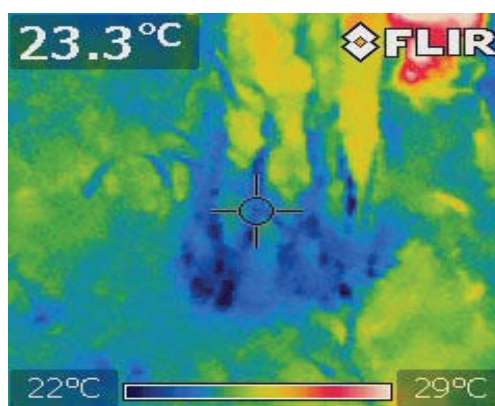


Рис. 1. Расположение корневой гнили в стволе сосны обыкновенной в сосняке травяно-мшистом (ВПП №1) (цвет онлайн)

Fig. 1. Location of root rot in the trunk of common pine in the grass-mossy pine forest (temporary sample area No.1) (color online)

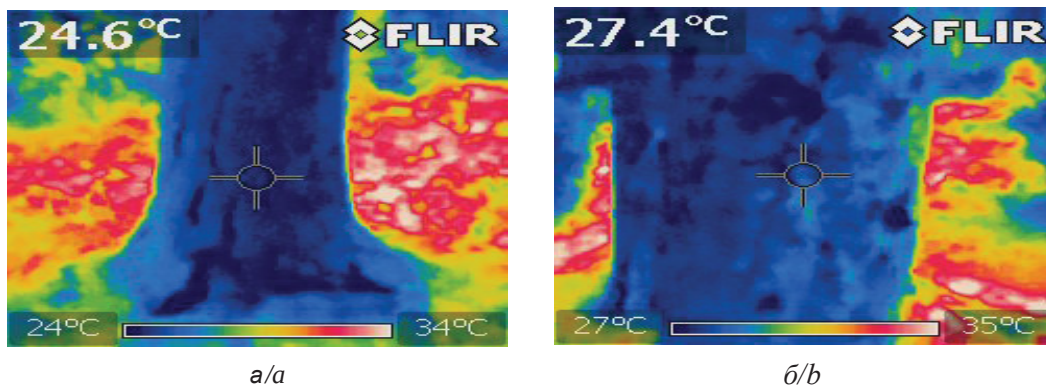


Рис. 2. Расположение гнилей сосны обыкновенной в сосняке лишайниково-мшистом (ВПП № 4):  
*a* – в стволе; *б* – в корнях (цвет онлайн)  
 Fig. 2. Location of rots of common pine in lichen-mossy pine forest (temporary sample area No. 4):  
*a* – in trunk; *b* – in roots (color online)

*Временные пробные площади 5 и 6.* Сосняк ложно-травяной (СЛТ). Зона умеренной рекреации, Рекреационная зона Национального парка. Возраст 55 лет. Полнота 0,1. Подлесок береза бородавчатая, жимолость татарская, крушина ломкая, черемуха обыкновенная, подрост – сосна обыкновенная (см. табл. 1).

*Временные пробные площади 7 и 8.* Сосняк ложно-травяной (СЛТ). Зона отсутствия рекреации. Возраст 40 лет. Полнота 0,7. Подлесок

– вяз гладкий, черемуха обыкновенная, клен татарский, яблоня лесная, бересклет бородавчатый. Подрост – сосна обыкновенная, обилен (см. табл. 1).

Наименьший средний радиальный прирост наблюдается в сосняке лишайниково-мшистом, где стадия рекреационной дигрессии составляет IV, наибольший – в сосняке ложно-травяном, где рекреационная дигрессия I или II стадии (табл. 2).

Таблица 2 / Table 2

**Радиальный прирост сосны обыкновенной при различных стадиях рекреационной дигрессии**  
**Radial growth of common pine at different stages of recreational digression**

№ ВПП / No. temporary sample area	Диаметр, см / Diameter, cm	Возраст, лет / Age, years	Прирост за 5 лет в среднем, мм / Growth over 5 years on average, mm	Прирост за последние 5 лет, мм / Increase over the last 5 years, mm	Средний прирост, мм / Average growth, mm	Рекреационная дигрессия, стадия / Recreational digression, stage
1 СТМ / MGPF	17,5	40	3,31±0,09	2,84±0,02	3,08±0,01	III
2 СТМ / MGPF	15,8	30	3,12±0,07	4,0±0,05	3,56±0,01	III
3 СЛМ / LMPF	18,6	50	2,11±0,08	1,61±0,01	1,86±0,02	IV
4 СЛМ / LMPF	26,5	50	1,68±0,02	3,25±0,03	2,47±0,02	IV
5 СЛТ / FGPF	21,7	55	5,25±0,10	2,03±0,01	3,64±0,01	II
6 СЛТ / FGPF	21,0	55	4,95±0,09	3,98±0,04	4,47±0,01	II
7 СЛТ / FGPF	15,4	40	5,24±0,12	3,9±0,04	4,57±0,02	I
8 СЛТ / FGPF	13,5	40	4,31±0,11	3,31±0,03	3,81±0,01	I



Наиболее тяжелые условия для развития и возобновления сосны имеются в тех участках, которые подвержены сильной рекреации. Стволы сосен корявы, часто искривлены, плохо очищены от сучьев. В окнах имеется редкий и обычно чахлый подрост, естественное возобновление идет очень медленно. Под-

лесок или не развит, или отсутствует. Есть признаки заражения заболеваниями, особенно гнилевыми. Сосны часто заселены черным сосновым усачом *Monochamus galloprovincialis* Oliv. Живой напочвенный покров сильно поврежден, вытопан, местами отсутствует (рис. 3).

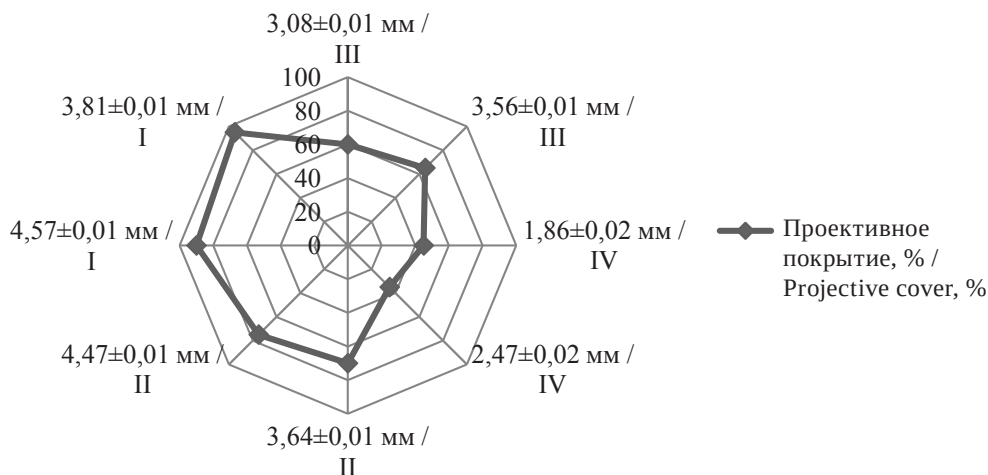


Рис. 3. Средний радиальный прирост сосны обыкновенной и проективное покрытие в зависимости от стадий рекреационной дигрессии

Fig. 3. Average radial growth of common pine and projective cover depending on the stages of recreational digression

На участках, где рекреация умеренная или отсутствует, условия для развития сосны значительно лучше. Самосев сосны, появляющийся в большом количестве, но под сомкнутым пологом гибнет и сохраняется лишь в виде единичных, очень угнетенных деревьев, зато в окнах развивается хорошо, образуя густые благонадежные группы подроста.

В почве ВПП № 3 и 4 произошло уплотнение поверхностных горизонтов по сравнению с ВПП № 7 и 8 более чем в 20 раз. Отмечено уменьшение запаса подстилки: в IV стадии она отсутствовала, в I, II и III стадиях она составляет 2,5, 2,0 и 0,5 см соответственно. Общее проективное покрытие живого напочвенного покрова и количество лесных видов в покрове уменьшается, а количество злаковых видов увеличивается с увеличением стадий рекреационной дигрессии. В подлеске отмечается некоторое однообразие видов, но при высоких стадиях рекреационной дигрессии подлесок отсутствовал.

На участках с III и IV стадиями дигрессии заметно увеличивалось количество деревьев, зараженных гнилями и заселенных стволо-

выми вредителями (черный сосновый усач *Monochamus galloprovincialis* Oliv., сосновые лубоеды *Tomicus piniperda* L. и *Blastophagus minor* Hart., шестизубый короед *Ips sexdentatus* Vorn. Отмечен вершинный короед *Ips acuminatus* Gyll., хотя на ВПП с I и II стадиями рекреационной дигрессии в сосновом древостое он не встречался. В малопосещаемых участках леса тропы составляют не более 5% площади, вблизи поселков – 25%, а в непосредственной близости к жилым домам поселков национального парка – до 75%.

Изменения всех компонентов биогеоценоза приводят к потере устойчивости не только лесной фитоценоз в целом, но более опасны для каждого отдельного дерева. В результате вытаптывания увеличивается твердость почвы, ухудшается питание корней, изменение влажностного и температурного режимов почвы, нарушается скважинность. Значительно снижается количество почвенной макро- и микробиоты. Это влечет за собой нарушения почвенного питания растений и обеспечения водой, корни начинают занимать несвойст-



венное месторасположение. Вблизи поселка Елшанский нами отмечены существенные выходы корней над поверхностью почвы и, как следствие, дальнейшее их повреждение. На сильно измененных рекреацией участках сначала уменьшается количество подроста и подлеска, затем при ухудшении ситуации прекращается самовозобновление древостоя. По мере нарастания поврежденных рекреацией участков в сосновом древостое снижается прирост, деревья начинают суховершинить. Простое пребывание большого количества людей в лесу приводит к деградации растительных сообществ.

### Заключение

Радиальный прирост деревьев не всегда может быть использован как оценочный критерий степени деградации территории под влиянием рекреации. Кроме рекреации необходимо учитывать особенности вегетации сосны обыкновенной в отдельные годы, например, при высоких значениях ГТК и в периоды засух. Участки с IV степенью рекреационной дигрессии имеют ухудшение жизненного состояния основного яруса древостоя, вызывающее снижение радиального прироста. Интенсивное физическое испарение с поверхности почвы на фоне засухи в период формирования годичных колец (май–июнь) обуславливает потери почвенной влаги, что сопровождается явлением выпадающих колец, хорошо фиксируемым в древесно-кольцевых хронологиях. Поскольку климат территории исследования характеризуется повторяющимися засухами, можно предположить, что наиболее опасным для жизненного состояния сосновых древостоев может быть синергетический эффект от влияния повторяющихся засух на фоне возрастающей рекреационной нагрузки.

### Список литературы

1. Ваганов Е. А., Свидерская И. В., Кондратьева Е. Н. Погодные условия и структура годичного кольца деревьев: имитационная модель трахеидограммы // Лесоведение. 1990. № 2. С. 37–45.
2. Шиятов С. Г. Дендрохронология верхней границы леса на Урале. М.: Наука, 1986. 136 с.
3. Кулагин А. Ю., Симоненкова В. А., Симоненков В. С. Радиальный прирост сосны обыкновенной на зональном экотоне леса и степи Южного Предуралья // ЭКОБИОТЕХ. 2020. Т. 3, № 4. С. 673–679.
4. Битвинкас Т. Т. Дендроклиматические исследования. Л.: Гидрометеиздат, 1974. 170 с.
5. Спиридонов Н. В. Влияние уплотнения почвы на прирост деревьев в лесопарках Новосибирского научного центра // Изв. СО АН СССР. Сер. Биол. науки. 1975. № 10, вып. 2. С. 3–8.
6. Таран И. В., Спиридонов Н. В. Устойчивость рекреационных лесов. Новосибирск: Наука. Сиб. отд-ние, 1977. 180 с.
7. Таран И. В. Рекреационные леса Западной Сибири. Новосибирск: Наука. Сиб. отд-ние, 1985. 230 с.
8. Лалетин А. П. Воздействие рекреации на почву и растительность Шушерского бора // Исследование компонентов лесных экосистем: препринт. Красноярск: Ин-т леса и древесины СО АН СССР, 1988. 14 с.
9. Иванов Б. И. Влияние уплотнения на физические свойства серой лесной почвы в лесу при рекреации // Лесоведение. 1990. № 3. С. 58–62.
10. Машинский Л. О. Город и природа (Городские зеленые насаждения). М.: Стройиздат, 1973. 228 с.
11. Карпачевский Л. О. Лес и лесные почвы. М.: Лес. пром-сть, 1981. 264 с.
12. Горышина Т. К. Растение в городе. Л.: ЛГУ, 1991. 148 с.
13. Васильева И. Н. Влияние вытаптывания на физические свойства почвы и корневые системы растений // Лесоводственные исследования в Серебряноборском опытном лесничестве: сб. ст. / отв. ред. В. В. Надеждин. М.: Наука, 1973. С. 36–44.
14. Гласова Н. В., Феклистов П. А. Состояние древостоя рекреационных ельников-черничников // Вестник Поморского ун-та. Сер.: Естественные и точные науки. 2005. Т. 1 (7). С. 61–65.
15. Кузнецов В. А. Почвы и растительность парково-рекреационных ландшафтов Москвы: дис. ... канд. биол. наук. М., 2015. 170 с.
16. Оборин М. С. Особенности анализа рекреационной и антропогенной нагрузки вследствие санаторно-курортной и туристской деятельности // Географический вестник. 2010. № 2. С. 19–24.
17. Киселева В. В., Ломов Д. В., Обиденников В. И., Титов А. П. История и современное состояние сосняков Алексеевской рощи национального парка «Лосинный остров» // Лесоведение. 2010. № 3. С. 42–52.
18. Матвеев С. М., Мироненко А. В., Тимащук Д. А. Лесоводственный и дендроклиматический анализ искусственных сосновых фитоценозов, подверженных рекреационной дигрессии в пригородной зоне г. Воронежа // Журнал Сибирского федерального университета. Биология. 2015. Т. 8, № 4. С. 410–425.
19. Данчева А. В. Влияние рекреационной нагрузки на естественное возобновление сосновых насаждений Казахского мелкосопочника // Аграрный вестник Урала. 2011. № 11 (90). С. 22–23.
20. Рысин Л. П., Рысин С. Л. Урболесоведение. М.: Т-во науч. изд. КМК, 2012. 240 с.

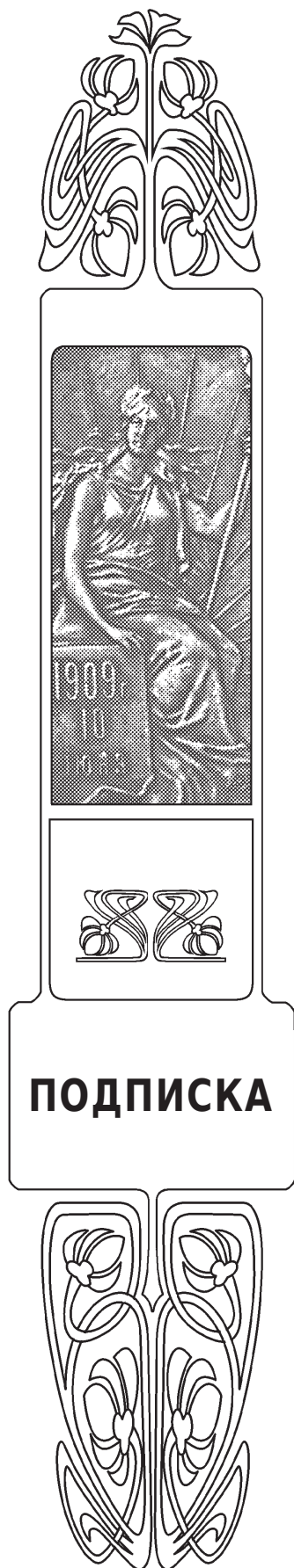


21. Казанская Н. С., Ланина В. В., Марфенин Н. Н. Рекреационные леса. М. : Лес. пром-сть, 1977. 96 с.
22. Динамика и устойчивость рекреационных лесов : сб. ст. / РАН, Ин-т лесоведения. М. : Т-во. науч. изд. КМК, 2006. 165 с.

## References

1. Vaganov E. A., Sviderskaya I. V., Kondratieva E. N. Weather conditions and the structure of the annual tree ring: A simulation model of the tracheidogram. *Forest Science*, 1990, no. 2, pp. 37–45 (in Russian).
2. Shiyatov S. G. *Dendrokronologiya verkhney granitsy lesa na Urale* [Dendrochronology of the upper forest boundary in the Urals]. Moscow, Nauka, 1986. 136 p. (in Russian).
3. Kulagin A. Yu., Simonenkova V. A., Simonenkov V. S. Radial growth of common pine on the zonal ecotone of forest and steppe of the Southern Urals. *ECOBIOTECH Journal*, 2020, vol. 3, no. 4, pp. 673–679 (in Russian).
4. Bitvinkas T. T. *Dendroklimaticheskiye issledovaniya* [Dendroclimatic Studies]. Leningrad, Gidrometeoizdat, 1974. 170 p. (in Russian).
5. Spiridonov N. V. Influence of soil compaction on tree growth in forest parks of the Novosibirsk scientific center. *Izv. SO AS USSR. Ser. Biol. nauki*, 1975, no. 10, iss. 2, pp. 3–8 (in Russian).
6. Taran I. V., Spiridonov N. V. *Ustoychivost' rekreatsionnykh lesov* [Sustainability of Recreational Forests]. Novosibirsk, Nauka, 1977. 180 p. (in Russian).
7. Taran I. V. *Rekreatsionnyye lesa Zapadnoy Sibiri* [Recreational forests of Western Siberia]. Novosibirsk, Nauka, 1985. 230 p. (in Russian).
8. Laletin A. P. Impact of recreation on soils and vegetation of the Shusher boron. In: *Study of Forest Ecosystem Components: Preprint*. Krasnoyarsk, Institute of Forest and Wood, Sib. Branch of the USSR Academy of Sciences, 1988. 14 p. (in Russian).
9. Ivanov B. I. Influence of compaction on physical properties of gray forest soil in the forest under recreation. *Lesovedenie*, 1990, no. 3, pp. 58–62 (in Russian).
10. Mashinsky L. O. *Gorod i priroda (Gorodskiyee zelenyye nasazhdeniya)* [City and Nature (Urban green spaces)]. Moscow, Stroyizdat, 1973. 228 p. (in Russian).
11. Karpachevsky L. O. *Les i lesnyye pochvy* [Forest and Forest Soils]. Moscow, Lesnaya Promyshlennost, 1981. 264 p. (in Russian).
12. Goryshina T. K. *Rasteniye v gorode* [Plant in the City]. Leningrad, Leningrad State University Publ., 1991. 148 p. (in Russian).
13. Vasilieva I. N. Influence of trampling on physical properties of soil and root systems of plants. In: V. V. Nadezhdin, ed. *Forestry Research in Serebryanoborsky Experimental Forestry*. Moscow, Nauka, 1973, pp. 36–44 (in Russian).
14. Glasova N. V., Feklistov P. A. State of the stand of recreational spruce-blackberry forests. *Vestnik. Pomorsky University. Series: Natural and Exact Sciences*, 2005, vol. 1 (7), pp. 61–65 (in Russian).
15. Kuznetsov V. A. *Soils and vegetation of the park-recreational landscapes of Moscow*. Diss. Cand. Sci. (Biol.). Moscow, 2015. 170 p. (in Russian).
16. Oborin M. S. Features of the analysis of recreational and anthropogenic load due to sanatorium-resort and tourist activities. *Geographical Bulletin*, 2010, no. 2, pp. 19–24 (in Russian).
17. Kiseleva V. V., Lomov D. V., Obydennikov V. I., Titov A. P. History and current state of pine forests of Alexeevskaya grove of the national park “Losiny Ostrov”. *Lesovedenie*, 2010, no. 3, pp. 42–52 (in Russian).
18. Matveev S. M., Mironenko A. V., Timashchuk D. A. Forestry and dendroclimatic analysis of artificial pine phytocenoses subjected to recreational digression in the suburban zone of Voronezh. *Journal of the Siberian Federal University. Biology*, 2015, vol. 8, no. 4, pp. 410–425 (in Russian).
19. Dancheva A. V. Influence of recreational load on natural regeneration of pine plantations of the Kazakh shallow pine forest. *Agrarny Vestnik Urala*, 2011, no. 11 (90), pp. 22–23 (in Russian).
20. Rysin L. P., Rysin S. L. *Urbolesovedeniye* [Urbolesology]. Moscow, KMK Scientific Press Ltd., 2012. 240 p. (in Russian).
21. Kazanskaya N. S., Lanina V. V., Marfenin N. N. *Rekreatsionnyye lesa* [Recreational Forests]. Moscow, Lesnaya Promyshlennost, 1977. 96 p. (in Russian).
22. *Dinamika i ustoychivost' rekreatsionnykh lesov: sb. st.* [Dynamics and Stability of Recreational Forests: Coll. arts RAS, Institute of Forestry]. Moscow, KMK Scientific Press Ltd., 2006. 165 p. (in Russian).

Поступила в редакцию 25.11.2023; одобрена после рецензирования 30.11.2023; принята к публикации 01.12.2023  
 The article was submitted 25.11.2023; approved after reviewing 30.11.2023; accepted for publication 01.12.2023



**Подписка на печатную версию**

Подписной индекс издания 36013

Оформить подписку на печатную версию  
можно в интернет-каталоге

ГК «Урал-Пресс» ([ural-press.ru](http://ural-press.ru))

Журнал выходит 4 раза в год

Цена свободная

Электронная версия журнала находится  
в открытом доступе ([ichbe.sgu.ru](http://ichbe.sgu.ru))

**Адрес Издательства**

**Саратовского университета (редакции):**

410012, Саратов, Астраханская, 83

**Тел.:** +7 (845-2) 51-29-94, 51-45-49, 52-26-89

**Факс:** +7 (845-2) 27-85-29

**E-mail:** [publ@sgu.ru](mailto:publ@sgu.ru), [izdat@sgu.ru](mailto:izdat@sgu.ru)

**Адрес редколлегии серии:**

410012, Саратов, Астраханская, 83,

СГУ имени Н. Г. Чернышевского,  
биологический факультет

**Тел./факс:** +7 (845-2) 22-51-38

**E-mail:** [ichbe-sgu@yandex.ru](mailto:ichbe-sgu@yandex.ru)

**Website:** <https://ichbe.sgu.ru>



ISSN 1816-9775 (Print). ISSN 2541-8971 (Online)  
Известия Саратовского университета. Новая серия.  
Серия: Химия. Биология. Экология. 2024. Том 24, выпуск 1

## ИЗВЕСТИЯ САРАТОВСКОГО УНИВЕРСИТЕТА Новая серия

- Серия: Акмеология образования. Психология развития
- Серия: История. Международные отношения
- Серия: Математика. Механика. Информатика
- Серия: Науки о Земле
- Серия: Социология. Политология
- Серия: Физика
- Серия: Филология. Журналистика
- Серия: Философия. Психология. Педагогика
- Серия: Химия. Биология. Экология**
- Серия: Экономика. Управление. Право

