

# ИЗВЕСТИЯ ВЫСШИХ УЧЕБНЫХ ЗАВЕДЕНИЙ ПОВОЛЖСКИЙ РЕГИОН

## ЕСТЕСТВЕННЫЕ НАУКИ

№ 1 (37)

2022

## СОДЕРЖАНИЕ

### ФИЗИОЛОГИЯ И БИОХИМИЯ РАСТЕНИЙ

- Теплицкая Д. Г., Карпова Г. А.* Влияние регуляторов роста на метаболическую активность семян *Triticum aestivum* L. и *Hordeum sativum* L. при прорастании ..... 3
- Исламгулова Р. Р., Новиков Н. Н., Серегина И. И.* Активность амилолитических и антиоксидантных ферментов (каталаз, пероксидаз) при солодоращении зерна ячменя в зависимости от размера зерновок и применяемых фиторегуляторов ..... 13

### БОТАНИКА

- Лихачев С. В.* Экологическая оценка изменения активности представителей сегетальной флоры вблизи г. Перми ..... 29
- Годин В. Н., Архипова Т. В., Ботов Г. К.* Семенная продуктивность *Heracleum sibiricum* (Ariaceae) в Московской области ..... 39

### ЭКОЛОГИЯ

- Сотникова Ю. М., Гризориади А. С., Федяев В. В., Гарипова М. И., Фархутдинов Р. Г.* Оценка влияния биопрепаратов на морфометрические и физиологические показатели растений-ремедиантов в условиях нефтяного загрязнения почв ..... 51
- Иванов А. И., Миронова А. А., Ермолаева А. А.* Влияние фактора увлажнения на расселение микоризообразующих агарикомицетов в условиях памятника природы регионального значения «Никоновский бор» ..... 64

### МЕТОДИКА НАУЧНЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ

- Ualiyeva D.A., Ivanov A.Yu., Ermakov O.A.* Development of PCR-RFLP test system for identification of mitochondrial lineages of the marsh frog of *Pelophylax ridibundus* complex in Kazakhstan ..... 76
- Луконина С. А., Ермаков О. А.* ПЦР-ПДРФ идентификация митохондриальных линий ящерицы Линдгольма *Darevskia lindholmi* (Sauria, Lacertidae) ..... 85

# UNIVERSITY PROCEEDINGS

## VOLGA REGION

### NATURAL SCIENCES

№ 1 (37)

2022

## CONTENTS

### PHYSIOLOGY AND BIOCHEMISTRY OF PLANTS

- Teplitskaya D.G., Karpova G.A.* Effects of growth regulators on metabolic activity of *Triticum aestivum* L. and *Hordeum sativum* L. seeds during germination..... 3
- Islamgulova R.R., Novikov N.N., Seregina I.I.* The activity of amylolytic and antioxidant enzymes (catalases, peroxidases) during malting of barley grain depending on the grains' size and the applied phytohormones ..... 13

### BOTANY

- Lihachev S.V.* Ecological assessment of segetal flora activity's change near Perm ..... 29
- Godin V.N., Arkhipova T.V., Botov G.K.* Seed production of *Heracleum sibiricum* (Apiaceae) in Moscow region ..... 39

### ECOLOGY

- Sotnikova Yu.M., Grigoriadi A.S., Fedyaev V.V., Garipova M.I., Farkhutdinov R.G.* The effect's evaluation of biological products on the morphometric and physiological parameters of plants-remediants in conditions of soil oil pollution ..... 51
- Ivanov A.I., Mironova A.A., Ermolaeva A.A.* The effect of the moisture factor on the settling of mycorrhiza forming agaricomycetes in the conditions of the natural monument of regional significance "Nikonovsky Bor" ..... 64

### RESEARCH METHODOLOGY

- Ualiyeva D.A., Ivanov A.Yu., Ermakov O.A.* A development of a PCR-RFLP test system for the identification of mitochondrial lines of the *Pelophylax ridibundus* lake frog in Kazakhstan ..... 76
- Lukonina S.A., Ermakov O.A.* The PCR-RFLP identification of mitochondrial lines *Darevskia lindholmi* (Sauria, Lacertidae) ..... 85

# ФИЗИОЛОГИЯ И БИОХИМИЯ РАСТЕНИЙ

---

## PHYSIOLOGY AND BIOCHEMISTRY OF PLANTS

УДК 581.14

doi:10.21685/2307-9150-2022-1-1

### Влияние регуляторов роста на метаболическую активность семян *Triticum aestivum* L. и *Hordeum sativum* L. при прорастании

Д. Г. Теплицкая<sup>1</sup>, Г. А. Карпова<sup>2</sup>

<sup>1,2</sup>Пензенский государственный университет, Пенза, Россия

<sup>1</sup>Darya1991@yandex.ru, <sup>2</sup>pollylina@mail.ru

**Аннотация.** *Актуальность и цели.* Переход ортодоксальных семян от состояния вынужденного покоя к прорастанию определяется их метаболическим статусом, при котором стимулирующий фактор способен оказать влияние, а семя способно на него ответить. Первые ответные реакции растительного организма при экзогенном воздействии на семена регистрируются при их прорастании. Анализ физиолого-биохимических процессов, наблюдаемых на данном этапе онтогенеза, способен дать оценку эффективности используемого регулятора роста. Цель исследований – изучение влияния регуляторов роста Рибав-Экстра, Эпин-Экстра, Мивал-Агро и Крезацин на метаболическую активность семян *Triticum aestivum* L. и *Hordeum sativum* L. *Материалы и методы.* Исследования проведены с использованием семян яровой пшеницы (*Triticum aestivum* L.), сорт Экада 113 и ярового ячменя (*Hordeum sativum* L.), сорт Сурский фаворит. Обработку семян проводили путем намачивания в чашках Петри (50–100 шт.) на фильтровальной бумаге в растворах регуляторов роста следующих концентраций:  $3 \cdot 10^{-4}$  л/л (Рибав-Экстра),  $5 \cdot 10^{-4}$  л/л (Эпин-Экстра), 0,5 г/л (Мивал-Агро),  $1 \cdot 10^{-3}$  л/л (Крезацин). Темпы поступления воды определяли по степени набухания семян по У. Руге в изложении О. А. Вальтера и других в интервале до 48 ч. Активность пероксидазы (ПО) – спектрофотометрическим методом (Verian Cary 50) с экстракцией фермента из растительного материала фосфатным буфером. Регистрацию значений проводили в сухих зерновках и через 4, 8, 12 и 24 ч от начала набухания. *Результаты.* При набухании зерновок пшеницы и ячменя, как в контрольном варианте, так и в вариантах с регуляторами роста, сохраняется классическая тенденция поступления воды, имеющая трехфазный характер. Окончание первого этапа набухания, соответствующего 60 % влажности зерновок пшеницы и влажности зерновок ячменя, отмечено в контрольных вариантах через 10 и 14 ч от начала эксперимента. Переход к прорастанию, обусловленный достижением порогового значения 74 % (пшеница) зафиксирован через 36 ч набухания. Обработка зерновок препаратами Крезацин и Рибав-Экстра приводит к сокращению временного промежутка прохождения основных этапов набухания семян на 2–24 ч. Активность пероксидазы

в зерновках ячменя и пшеницы через 4 ч набухания в контрольных вариантах возрастает в 1,6 и 1,9 раза и поступательно увеличивается в изучаемом интервале времени (24 ч). Под действием регуляторов роста показатели активности ПО в зерновках пшеницы превышают контрольные значения в 2,0–3,2 раза (4 ч), 1,9–3,1 раза (8–24 ч); в зерновках ячменя – в 2,7–4,3 раза (4 ч), 2,2–3,3 раза (8 ч), 1,9–3,1 раза (12 ч), 1,9–2,0 раза (24 ч). **Выводы.** Обработка семян регуляторами роста приводит к сокращению временного промежутка прохождения основных этапов прорастания, что вызывает активацию метаболических процессов. Повышение содержания пероксидазы может послужить критерием оценки эффективности препаратов в процессе набухания семян.

**Ключевые слова:** регуляторы роста, набухаемость семян при прорастании, активность пероксидазы

**Для цитирования:** Теплицкая Д. Г., Карпова Г. А. Влияние регуляторов роста на метаболическую активность семян *Triticum aestivum* L. и *Hordeum sativum* L. при прорастании // Известия высших учебных заведений. Поволжский регион. Естественные науки. 2022. № 1. С. 3–12. doi:10.21685/2307-9150-2022-1-1

### **Effects of growth regulators on metabolic activity of *Triticum aestivum* L. and *Hordeum sativum* L. seeds during germination**

**D.G. Teplitskaya<sup>1</sup>, G.A. Karpova<sup>2</sup>**

<sup>1,2</sup>Penza State University, Penza, Russia

<sup>1</sup>Darya1991@yandex.ru, <sup>2</sup>pollylina@mail.ru

**Abstract. Background.** The transition of orthodox seeds from the state of induced dormancy to germination is determined by their metabolic status, when a stimulant is able to exert influence and a seed is able to respond to it. The first responses of the plant under exogenous influence on seeds are registered during germination. The analysis of physiological and biochemical processes observed at this stage of ontogenesis can help evaluate the effectiveness of the growth regulator used. The purpose of the study is to investigate the effect of Ribav-Extra, Epin-Extra, Mival-Agro and Cresacin on the metabolic activity *Triticum aestivum* L. and *Hordeum sativum* L. seeds. **Materials and methods.** The study was conducted with the use of spring wheat (*Triticum aestivum* L.), variety Ekada 113 and spring barley (*Hordeum sativum* L.), variety Sura Favorite. Seeds were treated by soaking in Petri dish (50–100 pieces) on filter paper in growth regulator, the concentration was as follows:  $3 \cdot 10^{-4}$  l/l (Ribav-Extra),  $5 \cdot 10^{-4}$  l/l (Epin-Extra), 0.5 g/l (Mival-Agro),  $1 \cdot 10^{-3}$  l/l (Cresacin). Water entry rate was determined by the degree of seed swelling according to W. Ruge as described by O. Walter in the interval of up to 48 hours. Peroxidase (PO) activity was determined by a spectrophotometric method (Verian Cary 50) with enzyme extraction from plant material with phosphate buffer. The results were recorded and after 4, 8, 12 and 24 hours from the beginning of swelling in dry grains. **Results.** Swelling of wheat and barley grains both in check variation and in variants with growth regulators follows the classical tendency of a three-phase water inflow. The end of the first swelling stage corresponding to 60 % moisture rate of wheat grains and moisture rate of barley grains was observed in check variants after 10 and 14 hours from the beginning of the experiment, respectively. The transition to germination, due to the threshold value of 74 % (wheat) was recorded after 36 hours of swelling. Krezacin and Ribav-Extra grain treatment shortens the time span of the main seed swelling stages by 2–24 hours. Peroxidase activity in barley and wheat grains after 4 hours of swelling in the check variations increased 1.6 and 1.9 times and

increased progressively in the studied time interval of 24 hours. With the use of growth regulators the indices of PO activity in wheat grains exceed the control values by 2.0–3.2 times (4 hours), 1.9–3.1 times (8–24 hours); in barley grains by 2.7–4.3 times (4 hours), 2.2–3.3 times (8 hours), 1.9–3.1 times (12 hours), 1.9–2.0 times (24 hours). *Conclusions.* Growth regulators seed treatment shortens the time interval of the main stages of germination, which leads to the activation of metabolic processes. The increase in peroxidase rate may be a criterion to estimate the effectiveness of the preparations in the process of seed swelling.

**Keywords:** growth regulators, seed swelling during germination, peroxidase activity

**For citation:** Teplitskaya D.G., Karpova G.A. Effects of growth regulators on metabolic activity of *Triticum aestivum* L. and *Hordeum sativum* L. seeds during germination. *Izvestiya vysshikh uchebnykh zavedeniy. Povolzhskiy region. Estestvennye nauki = University proceedings. Volga region. Natural sciences.* 2022;(1):3–12. (In Russ.). doi:10.21685/2307-9150-2022-1-1

## Введение

Процесс прорастания семян зависит от метаболического состояния, которое обусловлено возможностью семени реагировать на воздействие стимулирующего фактора. Начальным этапом выхода семени из состояния покоя и его прорастания является процесс набухания, заключающийся в поступлении воды в структуры семени. Каждый этап набухания характеризуется определенным уровнем гидратации, запускающим соответствующие метаболические процессы.

В процессе набухания происходит синтез активных форм кислорода в результате совокупности окислительно-восстановительных реакций в митохондриях. Это обуславливает активизацию антиоксидантной системы, ключевым звеном которой выступает пероксидаза, катализирующая реакции окисления свободных радикалов, что в результате приводит к стимуляции дыхательной функции митохондрий.

Согласно литературным данным внешние воздействия способствуют сокращению во времени этапов набухания и повышению активности пероксидазы [1].

Детальное изучение и анализ изменений показателей степени набухаемости и активности пероксидазы в прорастающих семенах при воздействии регуляторов роста позволит применять данные препараты для направленного влияния на метаболическую активность семян в процессе прорастания.

## Материалы и методы

Для решения поставленных задач проводились лабораторные опыты на базе кафедры «Общая биология и биохимия» ФГБОУ ВО «Пензенский государственный университет» в 2017–2019 гг.

Исследования проведены с использованием семян яровой пшеницы (*Triticum aestivum* L.), сорт Экада 113 и ярового ячменя (*Hordeum sativum* L.), сорт Сурский фаворит. Обработку семян проводили путем намачивания в чашках Петри (50–100 шт.) на фильтровальной бумаге в растворах регуляторов роста следующих концентраций:  $3 \cdot 10^{-4}$  л/л (Рибав-Экстра),  $5 \cdot 10^{-4}$  л/л (Эпин-Экстра), 0,5 г/л (Мивал-Агро),  $1 \cdot 10^{-3}$  л/л (Крезацин). Контрольную партию семян намачивали дистиллированной водой.

Темпы поступления воды определяли по степени набухания семян по У. Руге в изложении О. А. Вальтера с соавторами в интервале до 48 ч.

Активность пероксидазы определяли спектрофотометрическим методом (Verian Cary 50, США) по регистрации оптической плотности при длине волны 470 нм. Экстракцию фермента из растительного материала проводили фосфатным буфером. Активность пероксидазы (ПО) определяли по скорости окисления гваякола в присутствии  $H_2O_2$  и выражали в единицах на 1 г сырой массы в минуту. Регистрацию значений проводили в сухих зерновках и через 4, 8, 12 и 24 ч от начала набухания.

Эксперимент включал в себя проведение и анализ изучаемых параметров в 3-кратной повторности. Выборочная повторность в опытах составляла от 50 до 100 единиц прорастающих зерновок.

Достоверность полученных данных подтверждена результатами статистической обработки [2].

### Результаты и обсуждение

Семена зерновых культур относятся к типу ортодоксальных семян, способных долгое время сохранять жизнеспособность при влажности 6–10 %, так как при их созревании теряется значительная часть влаги [3].

Процесс водопоступления, обеспечивающий набухание семян, можно разделить на следующие этапы: 1) быстрое поступление воды; 2) медленное поступление воды (лаг-период); 3) начало прорастания и связанное с ним ускоренное поступление воды [4].

Каждый из этапов процесса характеризуется определенным уровнем гидратации, при котором запускаются соответствующие метаболические реакции и физиологические функции, как в зародыше семени, так и в эндосперме или щитке.

Установлено, что при достижении семенами оводненности 18–20 % активизируется синтез аминокислот, связанный, в свою очередь, с модификацией ферментных систем, в результате чего происходит индукция дыхания, определяемая на данном этапе анаэробными процессами гликолиза и цикла Кребса. Значительный рост интенсивности дыхания за счет окончательной структуризации митохондрий наблюдается при достижении семенами влажности 45 %. Дальнейшее увеличение уровня гидратации (45–55 %) запускает синтез белков, сопряженный с началом процессов транскрипции и активного функционирования рибосом. Далее наблюдается расщепление питательных веществ семени гидролитическими ферментами. Подготовка к процессу прорастания и общая активация метаболизма регистрируется при достижении уровня влажности семян, равного 60 % [5].

Непосредственно прорастание у зерновок пшеницы и ячменя наблюдается при степени оводненности 72–74 % [6].

В проведенных нами исследованиях установлено, что при набухании зерновок пшеницы и ячменя в контрольном и опытных вариантах прослеживается классическая тенденция поступления воды, имеющая трехфазный характер.

В первые 12 ч от момента намачивания измерения проводились с интервалом в 1 ч с регистрацией показателей в одно и то же время. Затем

определение веса зерновок шло через 14, 24, 27, 30, 36 и 48 ч от начала эксперимента, что было обусловлено переходом в стадию медленного поступления воды, когда разница массы зерновок изменялась менее значительно.

Через час после намачивания влажность зерновок пшеницы в контрольном варианте увеличилась на 14,8 %, и в дальнейшем наблюдалось быстрое ее повышение (рис. 1).

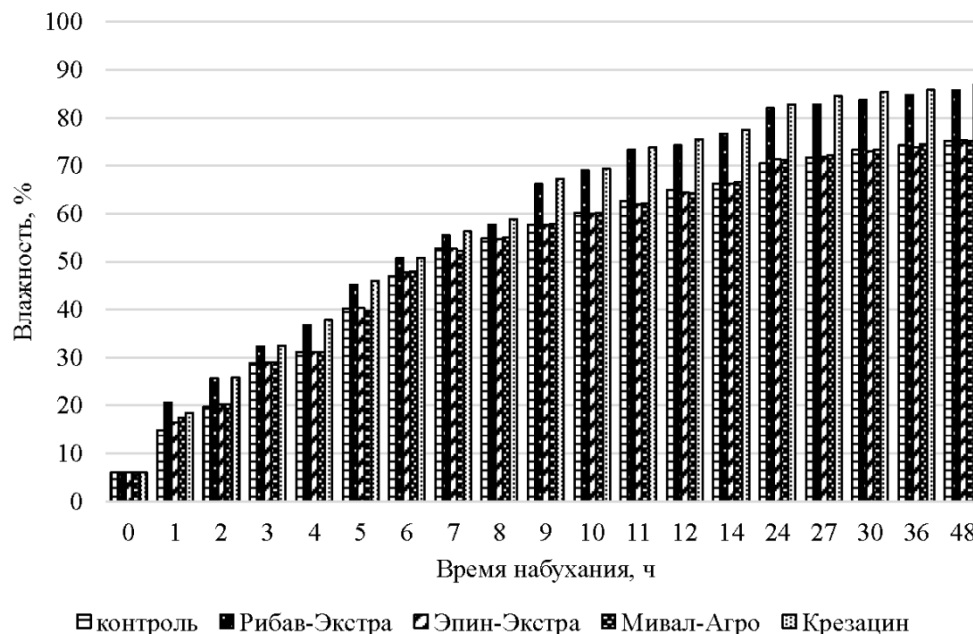


Рис. 1. Степень набухания (влажность) зерновок пшеницы, %

Через 5 ч изучаемый показатель достигал значений 40 %. Через 10 ч зарегистрировано окончание этапа быстрого поступления воды с фиксацией степени набухания 60 %. Лаг-период в контрольном варианте длился практически до завершения измерений: через 36 ч после начала эксперимента влажность зерновок достигла значений 74,5 %, через 48 ч – 75,2 %. Согласно литературным данным после достижения определенного уровня гидратации следует этап начала прорастания [5].

При анализе результатов в вариантах с регуляторами роста Эпин-Экстра и Мивал-Агро установлено, что данные препараты не оказывают влияния на скорость процесса набухания, за исключением первого часа измерений, где влажность зерновок была на 1,6–2,7 % выше контрольных значений ( $p < 0,05$ ).

Динамика степени набухания в вариантах с Крезацином и Рибавом-Экстра значительно отличалась от контроля. Так, через 1 ч от момента намачивания зерновок их влажность уже достигала значений 18,5–20,6 %, т.е. соответствовала первому пороговому уровню запуска метаболических процессов в семени. Быстрое поступление воды, характерное для первого этапа набухания, завершалось уже через 8 ч, где показатели влажности соответствовали 57,7 % (Рибав-Экстра) и 58,8 % (Крезацин), т.е. были близки 60 % уровню влажности. Второй этап или медленное поступление воды (лаг-период) сокращался до трех-четырех часов. Через 11 ч после намачивания

влажность зерновок в варианте с Крезацином составляла 73,8 %, в варианте с Рибавом-Экстра – 74,3 % через 12 ч. Таким образом, уже через 14 ч в зерновках, обработанных данными препаратами, могли быть сформированы все системы, определяющие начало прорастания семян.

Темпы поступления воды в зерновки ячменя были ниже, чем в зерновках пшеницы (рис. 2). Быстрое поступление воды в контрольном варианте завершалось через 14 ч после начала эксперимента, степень гидратации составляла 59,5 %. Далее темпы поступления воды в семена замедлялись, через 48 ч после намачивания оводненность составила 70,7 %.

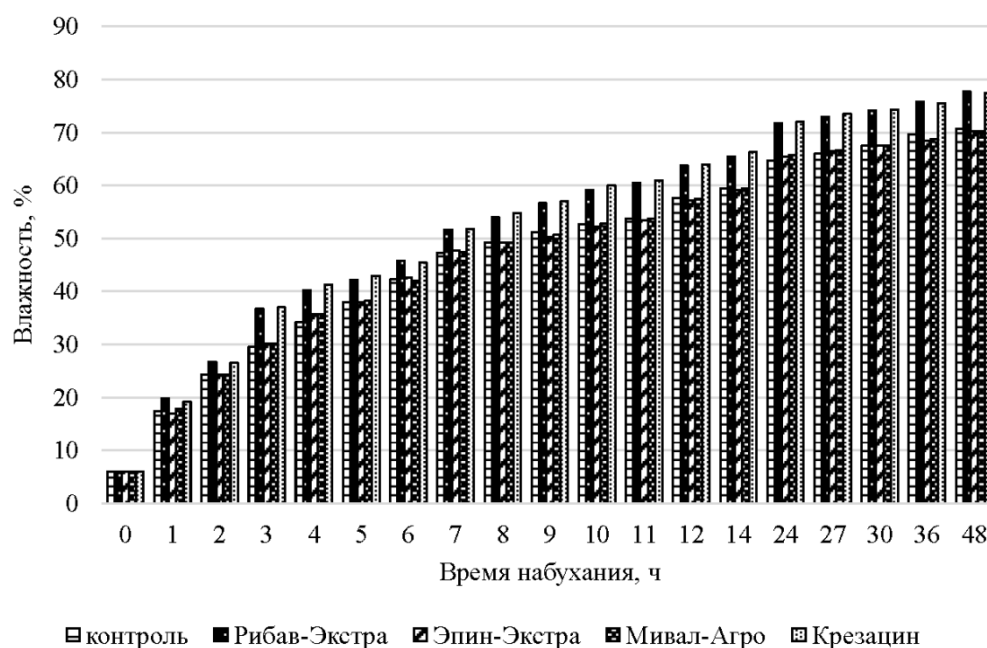


Рис. 2. Степень набухания (влажность) зерновок ячменя, %

Препараты Эпин-Экстра и Мивал-Агро не оказали влияния на темпы поступления воды в семена ячменя – значения влажности соответствовали ее значениям в контрольных образцах.

Обработка зерновок ячменя регуляторами Крезацин и Рибав-Экстра способствовала сокращению этапов прорастания аналогично эксперименту с зерновками пшеницы. Этап быстрого поступления воды в варианте с Крезацином завершался через 10 ч после намачивания (влажность составляла 60,0 %), в варианте с Рибавом-Экстра – через 11 ч (влажность 60,5 %).

Степень гидратации для перехода семян к прорастанию (74,2 % – Рибав-Экстра и 74,3 % – Крезацин) была достигнута через 30 ч после начала эксперимента. Через 48 ч оводненность семян ячменя, обработанных Крезацином, составила 77,5 %, Рибавом-Экстра – 77,7 %.

Полученные данные согласуются с данными, описанными в литературе. Отмечено, что сокращение этапов набухаемости во времени может свидетельствовать об активном гидролизе углеводов и возрастании сосущей силы семян [7].



В период покоя для семян пшеницы и ячменя характерно состояние гипоболизма вследствие низкого содержания воды. Это, в свою очередь, приводит к инактивации ферментных комплексов. Однако уже с первых часов набухания в семенах проявляется функциональная активность ферментов, в частности пероксидазы, которая катализирует реакции окисления свободных радикалов, что в результате приводит к стимуляции дыхательной функции митохондрий [1].

Активность ПО измеряли в сухих зерновках пшеницы и ячменя и в процессе набухания через 4, 8, 12 и 24 ч.

В зерновках пшеницы в контрольном варианте активность ПО через 4 ч после намачивания составляла 66,4 ед./г · мин, что превышало активность фермента в сухих семенах в 1,9 раза (34,1 ед./г · мин). В процессе повышения степени гидратации показатель активности ПО поступательно увеличивался в течение всего периода измерений. Так, через 8 ч после намачивания активность фермента составила 75,5 ед./г · мин, через 12 ч – 79,4 ед./г · мин и через 24 ч – 82,4 ед./г · мин (табл. 1).

Таблица 1

Активность пероксидазы в зерновках пшеницы  
(ед./1 г сырой массы · мин)

Вариант	Время набухания, ч				
	сухая зерновка	4	8	12	24
Контроль	34,12 ± 0,25	66,42 ± 0,36	75,54 ± 0,67	79,44 ± 0,24	82,38 ± 0,42
Рибав-Экстра	–	174,66 ± 1,03	188,28 ± 0,28	201,06 ± 0,55	210,84 ± 0,42
Эпин-Экстра	–	132,78 ± 0,79	141,54 ± 0,24	149,82 ± 0,61	157,98 ± 1,97
Мивал-Агро	–	144,54 ± 0,31	155,34 ± 0,55	165,96 ± 0,18	174,12 ± 0,12
Крезацин	–	215,46 ± 0,28	232,20 ± 1,43	246,42 ± 0,10	257,52 ± 0,12

На основании полученных результатов можно сделать вывод том, что наиболее интенсивно активность ПО возрастала в первые 8 ч после намачивания. В дальнейшем, несмотря на увеличение абсолютных значений, скорость синтеза снижалась.

В вариантах с регуляторами роста сохранялась линейная зависимость возрастания активности пероксидазы, но интенсивность процесса существенно увеличивалась.

Обработка регулятором роста Эпин-Экстра способствовала повышению активности пероксидазы в 3,9 раза через 4 ч (132,8 ед./г · мин) относительно сухих зерновок. Относительно контрольного варианта превышение значения составило 100 %. В последующие часы измерений активность пероксидазы в семенах после обработки препаратом Эпин-Экстра превышала значения контрольных зерновок на 87,0–91,7 %.

Обработка препаратом Мивал-Агро способствовала увеличению активности ПО через 4 ч после намачивания в 4,2 раза по сравнению с активностью данного фермента в сухих зерновках. Наблюдалось повышение изучаемого показателя на 105,6–117,6 % относительно контроля в интервале от 8 до 24 ч после начала набухания.

Регулятор роста Рибав-Экстра увеличивал активность изучаемого фермента на 149,2–163,0 % в течение периода измерений. Обработка препаратом Крезацин способствовала увеличению активности ПО на 207,4–224,4 % относительно контроля. Увеличение изучаемого показателя через 4 ч после намачивания относительно сухих зерновок составило в варианте с Рибавом-Экстра 5,2 раза и в варианте с Крезацином 6,3 раза.

Таким образом, все регуляторы роста способствовали статистически значимому ( $p < 0,05$ ) увеличению активности ПО относительно контрольного варианта.

Активность пероксидазы в сухих зерновках ячменя составляла 32,5 ед./г · мин. В контрольном варианте через 4 ч после намачивания наблюдалось увеличение показателя в 1,6 раза (50,5 ед./г · мин), через 8 ч активность фермента составляла 69,7 ед./г · мин, через 12 ч – 79,3 ед./г · мин и через 24 ч – 86,6 ед./г · мин (табл. 2). Таким образом, аналогично эксперименту с зерновками пшеницы, наибольшая скорость образования пероксидазы наблюдалась в течение 8 ч с момента начала набухания.

Таблица 2

Активность пероксидазы в зерновках ячменя  
(ед./1 г сырой массы · мин)

Вариант	Время набухания, ч				
	сухая зерновка	4	8	12	24
Контроль	32,46 ± 0,14	50,52 ± 0,24	69,72 ± 0,16	79,32 ± 0,06	86,58 ± 0,21
Рибав-Экстра	–	170,22 ± 0,16	187,20 ± 0,42	200,88 ± 0,75	210,30 ± 0,16
Эпин-Экстра	–	134,82 ± 0,42	147,06 ± 0,38	152,64 ± 0,10	163,92 ± 0,22
Мивал-Агро	–	145,50 ± 0,16	158,16 ± 0,24	169,06 ± 0,15	173,64 ± 0,21
Крезацин	–	216,90 ± 0,10	230,46 ± 0,16	249,06 ± 0,36	259,14 ± 0,15

При обработке Эпином-Экстра активность изучаемого фермента повышалась в семенах через 4 ч после намачивания в 4,2 раза по сравнению с сухими зерновками. Относительно контрольного варианта активность пероксидазы увеличивалась на 89,3–166,8 %.

Применение регулятора роста Мивал-Агро вызывало повышение изучаемого параметра в семенах через 4 ч после начала эксперимента в 4,5 раза относительно сухих зерновок. По сравнению с контрольным вариантом наблюдалось увеличение активности пероксидазы на 100,5–188,0 %.

Наибольшую эффективность продемонстрировали препараты Рибав-Экстра и Крезацин. Относительно контрольного варианта регулятор Рибав-Экстра вызывал повышение активности изучаемого фермента на 142,8–236,9 %, Крезацин – на 199,3–329,3 %. Через 4 ч с момента начала эксперимента активность пероксидазы в данных вариантах относительно сухих зерновок возрастала в 5,3 и 6,7 раза соответственно.

На обеих культурах максимальные превышения контрольных значений под действием регуляторов роста фиксировались через 4 ч набухания зерновок. Далее стимулирующее воздействие несколько снижалось на зерновках ячменя, а на зерновках пшеницы данная динамика была менее выраженной.

Полученные нами результаты согласуются с данными литературы. Установлено, что внешние воздействия способствуют увеличению активности фермента пероксидазы в зерновках пшеницы в 4–5 раз [1].

Результаты корреляционно-регрессионного анализа выявили прямую зависимость между активностью пероксидазы и энергией прорастания, которая является важным показателем, определяющим посевные качества семян и характеризующим в значительной степени плотность агроценозов. Получены следующие результаты анализа для пшеницы:

$r = 0,7738$ , уравнение регрессии:  $y = 0,0527x + 75,136$  (12 ч набухания);

$r = 0,7705$ , уравнение регрессии:  $y = 0,0501x + 75,181$  (24 ч набухания);

для ячменя:

$r = 0,7045$ , уравнение регрессии:  $y = 0,052x + 76,44$  (12 ч набухания);

$r = 0,7027$ , уравнение регрессии:  $y = 0,0512x + 76,156$  (24 ч набухания).

Таким образом, обработка семян регуляторами роста Рибав-Экстра и Крезацин способствует сокращению во времени этапов набухания, что в итоге может приводить к активизации метаболических процессов под действием данных препаратов. Повышение содержания пероксидазы под действием регуляторов роста может послужить критерием оценки эффективности препаратов в процессе набухания семян.

### Список литературы

1. Рогожин В. В., Курилюк Т. Т., Рогожина Т. В. Об участии оксидоредуктаз в механизмах покоя и прорастания зерновок у пшеницы // *Сельскохозяйственная биология*. 2012. № 1. С. 60–65.
2. Доспехов Б. А. *Методика полевого опыта*. М., 1985. 351 с.
3. Обручева Н. В., Антипова О. В. Физиология инициации прорастания семян // *Физиология растений*. 1997. Т. 44, № 3. С. 287–302.
4. Рогожин В. В., Рогожина Т. В. Физиолого-биохимические механизмы прорастания зерновок пшеницы // *Вестник Алтайского государственного университета*. 2011. № 8. С. 17–21.
5. Obroucheva N. V. *Seed germination: a guide to the early stages*. Leiden : Backhuys Publishers, 1999.
6. Обручева Н. В. Переход от гормональной к негормональной регуляции на примере выхода семян из покоя и запуска прорастания // *Физиология растений*. 2012. № 4. С. 591–600.
7. Казакова А. С., Куриленко Т. К. Обоснование режимов предпосевной обработки семян ячменя в электротехнологиях на основе регистрации микрофенологических фаз их прорастания // *Вестник аграрной науки Дона*. 2018. № 4. С. 50–56.

### References

1. Rogozhin V.V., Kurilyuk T.T., Rogozhina T.V. On the participation of oxidoreductases in the mechanisms of dormancy and germination of grains in wheat. *Sel'skokhozyaystvennaya biologiya = Agricultural biology*. 2012;(1):60–65. (In Russ.)
2. Dospikhov B.A. *Metodika polevogo opyta = Field experiment methodology*. Moscow, 1985:351. (In Russ.)
3. Obrucheva N.V., Antipova O.V. Physiology of seed germination initiation. *Fiziologiya rasteniy = Plant physiology*. 1997;44(3):287–302. (In Russ.)

4. Rogozhin V.V., Rogozhina T.V. Physiological and biochemical mechanisms of germination of wheat grains. *Vestnik Altayskogo gosudarstvennogo universiteta = Bulletin of Altay State University*. 2011;(8):17–21. (In Russ.)
5. Obroucheva N.V. *Seed germination: a guide to the early stages*. Leiden: Backhuys Publishers, 1999.
6. Obrucheveva N.V. Transition from hormonal to non-hormonal regulation on the example of the exit of seeds from dormancy and the start of germination. *Fiziologiya rasteniy = Plant physiology*. 2012;(4):591–600. (In Russ.)
7. Kazakova A.S., Kurilenko T.K. Substantiation of the modes of presowing treatment of barley seeds in electrical technologies based on the registration of microphenological phases of their germination. *Vestnik agrarnoy nauki Dona = Bulletin of Don Agrarian science*. 2018;(4):50–56. (In Russ.)

#### Информация об авторах / Information about the authors

***Дарья Геннадьевна Теплицкая***

ассистент кафедры общей биологии и биохимии, Пензенский государственный университет (Россия, г. Пенза, ул. Красная, 40)

E-mail: Darya1991@yandex.ru

***Daria G. Teplitskaya***

Assistant of the sub-department of general biology and biochemistry, Penza State University (40 Krasnaya street, Penza, Russia)

***Галина Алексеевна Карпова***

доктор сельскохозяйственных наук, доцент, заведующий кафедрой общей биологии и биохимии, Пензенский государственный университет (Россия, г. Пенза, ул. Красная, 40)

E-mail: pollylina@mail.ru

***Galina A. Karpova***

Doctor of agricultural sciences, associate professor, head of the sub-department of general biology and biochemistry, Penza State University (40 Krasnaya street, Penza, Russia)

**Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов / The authors declare no conflicts of interests.**

**Поступила в редакцию / Received 12.01.2022**

**Поступила после рецензирования и доработки / Revised 26.01.2022**

**Принята к публикации / Accepted 07.02.2022**

**Активность амилолитических и антиоксидантных ферментов  
(каталаз, пероксидаз) при солодоращении зерна ячменя  
в зависимости от размера зерновок  
и применяемых фиторегуляторов**

Р. Р. Исламгулова<sup>1</sup>, Н. Н. Новиков<sup>2</sup>, И. И. Серегина<sup>3</sup>

<sup>1,2,3</sup>Российский государственный аграрный университет – Московская  
сельскохозяйственная академия имени К. А. Тимирязева, Москва, Россия

<sup>1</sup>17regin@mail.ru, <sup>2</sup>tshanovikov@gmail.com, <sup>3</sup>seregina.i@inbox.ru

**Аннотация.** *Актуальность и цели.* Солодоращение, в процессе которого в прорастающем зерне ячменя существенно возрастает активность различных ферментов, имеет важное значение в пивоваренном производстве. При прорастании семян ячменя в стандартных условиях происходит образование активного комплекса ферментов амилаз, протеаз, цитаз, оксидоредуктаз, осуществляющих растворение клеток эндосперма и превращение запасных веществ в растворимые соединения. Было выявлено, что фиторегуляторы активизируют процессы прорастания и активность ферментов. Показано, что активность ферментов в процессе солодоращения также зависит от размеров зерновок и может быть повышена при использовании фиторегуляторов. В связи с этим целью наших исследований являлось изучение активности ферментного комплекса зерна ячменя при солодоращении в зависимости от размера зерновок и применяемых фиторегуляторов эпин-экстра, циркона и силипланта. *Материалы и методы.* Объектом исследований являлось зерно пивоваренного ячменя сорта «Надежный» урожая 2017 г., выращенное на выровненном агрофоне полевой экспериментальной базы Московского НИИСХ «Немчиновка». Почва экспериментального участка дерново-подзолистая среднесуглинистая. В исследованиях проводили фракционирование зерна по толщине зерновок с помощью набора сит. Оценивали химический состав зерна методом БИК-анализа. Проводили определение активности амилолитических ферментов, каталаз и пероксидаз. Каталитическую активность изоформ указанных ферментов при pH = 5,5, 7,0, 8,0 выявляли с использованием фосфатной буферной системы (1/15 М фосфатный буфер). Активность ферментов в проросшем зерне определяли после удаления ростков и корешков. Действие фиторегуляторов на процесс солодоращения зерна ячменя оценивали после 1-часового замачивания зерновок в растворах регуляторных препаратов производства АНО «НЭСТ М» силипланта, эпин-экстра и циркона. Норма расхода препаратов – 0,1 мл на 1 л обессоленной воды. *Результаты и выводы.* В опытах по фракционированию зерна пивоваренного ячменя в зависимости от толщины зерен установлено, что в покоящихся зерновках более мелкой по толщине зерен фракции (2,2–2,5 мм) повышено содержание водорастворимых белков, а в зерне проростков этой фракции выявлена высокая активность кислых, нейтральных и щелочных  $\alpha$ -амилаз. Вместе с тем в проросших зерновках наиболее крупной по толщине зерен фракции (>3 мм) отмечалась высокая активность кислых  $\beta$ -амилаз и каталаз, а также кислых, нейтральных и щелочных пероксидаз. Выявленные особенности указанных зерновых фракций улучшали пивоваренные свойства зерна. При изучении действия ферментов в условиях кислот (pH = 5,5), нейтральной (pH = 7) и щелочной (pH = 8) среды выяснено, что как в покоящемся, так и проросшем зерне ячменя наиболее высокую активность имели кислые изоферменты  $\alpha$ - и  $\beta$ -амилаз, а также нейтральные и щелочные изоферменты

каталаз и пероксидаз. Под влиянием фиторегулятора циркона активность кислых, нейтральных и щелочных форм пероксидаз в зерне 7-суточных проростков ячменя повышалась на 43–81 %, а под действием эпин-экстра – на 28–60 %.

**Ключевые слова:** пивоваренный ячмень, фракционирование зерна по толщине зерновок, химический состав зерна, активность амилаз, каталаз, пероксидаз в прорастающем зерне

**Благодарности:** исследования проводились с участием сотрудников и оборудования Учебно-научного Центра коллективного пользования «Сервисная лаборатория комплексного анализа химических соединений» РГАУ – МСХА имени К. А. Тимирязева, авторы статьи выражают огромную благодарность ректору РГАУ – МСХА имени К. А. Тимирязева академику РАН, доктору сельскохозяйственных наук, профессору В. И. Трухачеву, исполняющему обязанности директора Института агробιοтехнологии, доктору сельскохозяйственных наук, профессору С. Л. Белоухову, заведующему кафедрой химии, доктору сельскохозяйственных наук, доценту И. И. Дмитриевской, заведующему кафедрой агрономической, биологической химии и радиологии, доктору биологических наук, профессору С. П. Торшину, кандидату химических наук, доценту А. В. Жевнерову за помощь и поддержку проведенных исследований.

**Для цитирования:** Исламгулова Р. Р., Новиков Н. Н., Серегина И. И. Активность амилотических и антиоксидантных ферментов (каталаз, пероксидаз) при солодоращении зерна ячменя в зависимости от размера зерновок и применяемых фиторегуляторов // Известия высших учебных заведений. Поволжский регион. Естественные науки. 2022. № 1. С. 13–28. doi:10.21685/2307-9150-2022-1-2

## The activity of amyolytic and antioxidant enzymes (catalases, peroxidases) during malting of barley grain depending on the grains' size and the applied phyto regulators

R.R. Islamgulova<sup>1</sup>, N.N. Novikov<sup>2</sup>, I.I. Seregina<sup>3</sup>

<sup>1,2,3</sup>Russian State Agrarian University – Moscow Timiryazev  
Agricultural Academy, Moscow, Russia

<sup>1</sup>17regin@mail.ru, <sup>2</sup>tshanovikov@gmail.com, <sup>3</sup>seregina.i@inbox.ru

**Abstract. Background.** Malting, during which the activity of various enzymes significantly increases in the germinating barley grain, is of great importance in the brewing industry. During the germination of barley seeds under standard conditions, the formation of an active complex of enzymes amylases, proteases, cytases, oxidoreductases, dissolving endosperm cells and converting reserve substances into soluble compounds. It was found that phyto regulators activate germination processes and enzyme activity. It has been shown that the activity of enzymes in the process of malting also depends on the grains' size and can be increased with the use of phyto regulators. The purpose of the research is to study the activity of the enzyme complex of barley grain during malting, depending on the size of the grains and the applied phyto regulators epin-extra, zircon and siliplant. *Materials and methods.* The object of the research is the grain of “Nadezhniy” malting barley harvested in 2017, grown on a leveled agrobacground of the field experimental base of Moscow Research Institute of Agriculture “Nemchinovka”. The soil of the experimental plot is soddy-podzolic medium loamy. In the studies, the grain was fractionated according to the thickness of the grains using a set of sieves. The chemical composition of the grain was evaluated by NIR analysis. The activity of amyolytic enzymes, catalases and peroxidases was determined. The catalytic activity of the isoforms of these enzymes at pH = 5.5, 7.0, 8.0 was detected using a phosphate buffer system (1/15 M phosphate buffer). The activity of

enzymes in the germinated grain was determined after the removal of sprouts and roots. The effect of phyto regulators on the process of malting barley grain was evaluated after 1-hour soaking of grains in solutions of regulatory preparations produced by ANO "NEST-M" siliplant, epin-extra and zircon. The consumption rate of drugs is 0.1 ml per 1 liter of demineralized water. *Results and conclusions.* In experiments on grain fractionation of brewing barley, depending on the thickness of the grains, it was found that in the dormant grains of a fraction that is finer in grain thickness (2.2–2.5 mm), the content of water-soluble proteins is increased, and in the seedling grain of this fraction, a high activity of acidic, neutral and alkaline  $\alpha$ -amylases. At the same time, in the germinated caryopses of the fraction with the largest grain thickness (>3 mm), a high activity of acid  $\beta$ -amylases and catalases, as well as acidic, neutral, and alkaline peroxidases, was noted. The identified features of these grain fractions improved the brewing properties of the grain. When studying the action of enzymes in acidic (pH = 5.5), neutral (pH = 7) and alkaline (pH = 8) environments, it was found that both in resting and germinated barley grains, acid isoenzymes  $\alpha$ - and  $\beta$ -amylases, as well as neutral and alkaline isoenzymes of catalase and peroxidase. Under the effect of the phyto regulator zircon, the activity of acidic, neutral and alkaline forms of peroxidases in the grain of 7-day-old barley seedlings increased by 43–81 %, and under the action of epin-extra, by 28–60 %.

**Keywords:** malting barley, grains fractionation by their thickness, chemical composition of grain, activity of amylases, catalases, peroxidases in germinating grain

**Acknowledgments:** the research was carried out with the participation of employees and equipment of the Educational and Scientific Center for Collective Use "Service Laboratory for the Comprehensive Analysis of Chemical Compounds" of the Russian State Agrarian University – Moscow Timiryazev Agricultural Academy, the authors extend gratitude to the rector of the Russian State Agrarian University – Moscow Timiryazev Agricultural Academy, academician of the Russian Academy of Sciences, doctor of agricultural sciences, professor V.I. Trukhachev, to the acting director of Institute of Agrobiotechnologies, doctor of agricultural sciences, professor S.L. Belopukhov, to the head of the sub-department of chemistry, doctor of agricultural sciences, associate professor I.I. Dmitriyevskaya, to the head of the sub-department of agronomic, biological chemistry and radiology, doctor of biological sciences, professor S.P. Norshin, to the candidate of chemical sciences, associate professor A.V. Zhevnerov for helping and supporting the research.

**For citation:** Islamgulova R.R., Novikov N.N., Seregina I.I. The activity of amylolytic and antioxidant enzymes (catalases, peroxidases) during malting of barley grain depending on the grains' size and the applied phyto regulators. *Izvestiya vysshikh uchebnykh zavedeniy. Povolzhskiy region. Estestvennye nauki = University proceedings. Volga region. Natural sciences.* 2022;(1):13–28. (In Russ.). doi:10.21685/2307-9150-2022-1-2

## Введение

В пивоваренном производстве важное значение имеет процесс солодоращения, в ходе которого при стандартных условиях проводится проращивание зерна ячменя с целью образования активного комплекса ферментов амилаз, протеаз, цитаз, оксидоредуктаз, осуществляющих растворение клеток эндосперма и превращение запасных веществ в растворимые соединения.

При увеличении влажности прорастающего зерна вначале происходит активация гидролитических ферментов в щитке зародыша и затем в клетках алейронового слоя, в результате чего инициируется их проникновение в эндосперм, в котором под действием амилаз крахмал превращается в растворимые углеводы, а с участием протеолитических ферментов запасные белки

гидролизуются до аминокислот. Цитазы осуществляют гидролиз структурных полисахаридов клеточных стенок и таким образом усиливают проникновение в клетки эндосперма амилаз и протеаз [1–4].

Из амилолитических ферментов наиболее сильным действием на крахмал в прорастающих зерновках обладают  $\alpha$ -амилазы, которые синтезируются в алейроновых клетках и представлены несколькими изоферментами.  $\beta$ -амилазы локализованы главным образом в эндосперме, где они связаны с молекулами запасных белков. В непроросшем зерне эти ферменты составляют 70–90 % общей амилазной активности, а в прорастающем зерне возрастает доля  $\alpha$ -амилаз (до 70–90 % общей активности амилаз). При засушливых условиях и усилении режимов азотного, фосфорного и калийного питания растений в непроросшем и прорастающем зерне ячменя активность  $\alpha$ -амилаз повышается, а  $\beta$ -амилаз – несколько снижается [5–9].

В ходе солодоращения в прорастающем зерне ячменя существенно возрастает активность протеолитических ферментов, которые расщепляют запасные белки до аминокислот, необходимых для питания дрожжей в процессе брожения. Наиболее высокая активность этих ферментов отмечается на 5–7 сут прорастания зерна [10–14].

В процессе солодоращения важные функции выполняют ферменты антиоксидантного действия – пероксидазы и каталазы. Пероксидазы катализируют окисление пероксидом водорода в прорастающем зерне большого набора органических веществ, участвуя таким образом в активации процесса прорастания и снижении окислительного воздействия пероксида водорода на липидные группировки клеточных мембран. Защитная функция каталазы осуществляется в ходе реакции разложения пероксида водорода на воду и кислород. В зерновках, сформировавшихся во влажных условиях, повышена активность каталаз, но в определенной степени понижена пероксидазная активность. При усилении азотного, фосфорного, калийного питания растений ячменя формируется зерно, в котором в ходе солодоращения возрастает активность пероксидаз [15–18].

В ходе исследований показано, что активность ферментов в процессе солодоращения зависит от размеров зерновок и может быть повышена при использовании фиторегуляторов. Активизация прорастания и повышение активности амилаз, протеаз, антиоксидантных ферментов в прорастающем зерне наблюдались при замачивании зерновок ячменя в растворах эпинэкстра, новосила, кварцетина, крезацина, АП Субтилина А и др. [19–22].

Целью наших исследований было выяснение влияния размеров зерновок на химический состав и способность к солодоращению зерна ячменя сорта «Надежный», которая оценивалась по активности амилаз и ферментов антиоксидантного действия – каталаз и пероксидаз. В связи с важной ролью пероксидаз зерна в активации солодоращения и защите от пероксидного окисления клеточных мембран изучалась также возможность усиления действия этих ферментов при применении фиторегуляторов.

### **Материалы и методы**

В качестве объекта исследования было использовано зерно пивоваренного ячменя сорта «Надежный» урожая 2017 г., выращенное на выровненном



агрофоне полевой экспериментальной базы Московского НИИСХ «Немчиновка». Почва экспериментального участка дерново-подзолистая среднесуглинистая, содержание гумуса – 2 %,  $pH_{KCl}$  – 5,9;  $N_T$  – 1,9,  $S$  – 13 мг-экв./100 г;  $P_2O_5$  – 270,  $K_2O$  – 110 мг/кг почвы (по Кирсанову).

Фракционирование зерна по толщине зерновок проводили с помощью набора сит, химический состав оценивали методом БИК-анализа. Активность амилолитических ферментов определяли методом йод-крахмальной пробы, каталаз – по Баху и Опарину [15], пероксидаз – методом пероксидного окисления тирозина [9]. Каталитическую активность изоформ указанных ферментов при  $pH = 5,5, 7,0, 8,0$  выявляли с использованием фосфатной буферной системы (1/15 М фосфатный буфер).

Зерновки ячменя проращивали на воде в течение 3, 5, 7 сут при температуре 12–14 °С. Активность ферментов в проросшем зерне определяли после удаления ростков и корешков. Действие фиторегуляторов на процесс солодоращения зерна ячменя оценивали после 1-часового замачивания зерновок в растворах регуляторных препаратов производства АНО «НЭСТ М» силипланта, эпин-экстра и циркона. Норма расхода препаратов – 0,1 мл на 1 л обессоленной воды.

Статистическую оценку экспериментальных данных выполняли методом дисперсионного анализа с применением компьютерной программы “Straz” (версия 2.1 информационно-вычислительного центра РГАУ – МСХА имени К. А. Тимирязева, 1989–1991).

### Результаты и обсуждение

Зерно урожая 2017 г. разделяли на фракции по толщине зерновок. Оно характеризовалось хорошими показателями пивоваренных свойств: пленчатость – 8,3 %, натура – 735 г/л, масса 1000 зерен – 50 г, способность прорастания – 98,4 %, экстрактивность – 81,5 %, количество мелких зерен – 0,4 %. Наибольшую долю составляли фракции с толщиной зерновок 2,8–3 мм (54,3 %) и 2,5–2,8 мм (34,8 %), тогда как зерновки толщиной 2,2–2,5 мм – 4,9 % и наиболее крупные зерновки толщиной более 3 мм – 5,6 % (табл. 1).

Таблица 1

Химический состав фракций зерна ячменя сорта «Надежный», различающихся по толщине зерновок (% сухой массы)

Толщина зерновок, мм	Доля фракции, %	Содержание белков	Крахмал	Клетчатка	Сырой жир
2,2–2,5	4,9	9,7	56,8	2,7	2,4
2,5–2,8	34,8	9,4	56,7	2,9	2,3
2,8–3	54,3	9,1	56,1	2,4	1,7
>3	5,6	10,2	56,0	2,4	1,9
НСР <sub>05</sub>	1,2	0,5	0,5	0,2	0,3

Самые крупные зерновки ячменя толщиной >3 мм имели наибольшее содержание белков 10,2 %, по сравнению с более мелкими фракциями зерна

увеличение произошло в 1,05–1,12 раза при  $НСР_{05} = 0,5$ . При этом в самой крупной фракции зерна получено меньшее содержание крахмала 56,0 %, которое возросло на 0,8 % при  $НСР_{05} = 0,5$  по сравнению с самой маленькой фракцией зерна (2,2–2,5 мм). Содержание сырого жира составило 1,9 %, против 2,4 % в самой мелкой фракции зерна (при  $НСР_{05} = 0,3$ ). Содержание клетчатки с самой крупной фракцией зерна составило 2,4 %, против 2,7 % во фракции 2,2–2,5 мм (при  $НСР_{05} = 0,2$ ). Было выявлено, что наибольшая по массе фракция зерна с толщиной зерновок 2,8–3 мм имела пониженное содержание всех указанных химических компонентов. Показано, что в этой фракции зерновок содержание белка составило 9,1 %, содержание крахмала – 56,1 %, содержание клетчатки – 2,4 %, содержание сырого жира – 1,7 %. Достоверные различия были получены только по содержанию белка. В целом можно отметить, что основные фракции зерна с толщиной зерновок 2,5–3 мм имели содержание белков и крахмала не ниже нормативных требований к пивоваренному ячменю.

В более мелком зерне с толщиной зерновок 2,2–2,5 мм было достоверное повышение содержания легкорастворимых (водорастворимых 10,5 % при  $НСР_{05} = 0,5$  и глобулинов 12,5 % при  $НСР_{05} = 0,6$ ) и неэкстрагируемых белков 15,4 % при  $НСР_{05} = 0,6$  по сравнению с более крупными фракциями зерна. При этом показано достоверное понижение количества глютелинов до 28,5 % при  $НСР_{05} = 1,5$  (табл. 2). Во всех других зерновых фракциях состав белков изменялся в сторону понижения концентрации легкорастворимых и неэкстрагируемых белков и повышения содержания глютелинов, что снижало пивоваренные свойства зерна, так как уменьшение концентрации легкорастворимых белков ухудшает свойства солода, а увеличение количества глютелинов замедляет растворение эндосперма при солодоращении. Так, в самых крупных фракциях зерна более 3 мм получено наименьшее количество водорастворимых белков 9,4 и 9,2 % соответственно при  $НСР_{05} = 0,5$ , неэкстрагируемых белков 13,5 и 13,4 % соответственно при  $НСР_{05} = 0,6$ . При этом содержание глютелинов получено наиболее среди всех фракций зерновок и составило 31,8 и 32,0 % при  $НСР_{05} = 1,5$ . Таким образом, между указанными самыми крупными фракциями достоверных различий не получено. Содержание гордеинов белка изменялось недостоверно, так как их количество не зависит ни от условий выращивания, ни от условий хранения зерна.

Таблица 2

Содержание белковых фракций в зерновках ячменя, различающихся по толщине (азот фракций в % от общего белкового азота)

Толщина зерновок, мм	Водорастворимые белки	Глобулины	Гордеины	Глутелины	Неэкстрагируемые белки
2,2–2,5	10,5	12,5	33,1	28,5	15,4
2,5–2,8	9,7	11,3	34,6	31,6	12,8
2,8–3	9,4	11,1	34,2	31,8	13,5
>3	9,2	11,5	33,9	32,0	13,4
$НСР_{05}$	0,5	0,6	1,7	1,5	0,6

В покое и проросшем зерне ячменя выявлена высокая активность кислых  $\alpha$ - и  $\beta$ -амилаз и более низкая активность нейтральных и щелочных форм этих ферментов (табл. 3, 4). В покое зерне активность кислых  $\alpha$ - и  $\beta$ -амилаз была получена 3,8–4,7 и 31,1–48,4 мг гидролизованного крахмала за 1 мин в расчете на 1 г сухой массы соответственно. В то время как активность нейтральных и щелочных  $\alpha$ -амилаз снижалась в среднем на 20–30 % по сравнению с активностью кислых  $\alpha$ -амилаз, а активность нейтральных и щелочных  $\beta$ -амилаз снижалась в 2–2,6 раз по сравнению с активностью кислых  $\beta$ -амилаз. Было установлено, что по мере возрастания крупности зерновок в покое зерне активность кислых и нейтральных  $\alpha$ -амилаз повышалась, а в проросшем зерне снижалась. Активность щелочных  $\alpha$ -амилаз в покое зерне повышалась во фракциях мелких (толщиной 2,2–2,5 мм) и крупных (толщиной >3 мм) зерновок и составила 3,4 и 3,9 мг гидролизованного крахмала за 1 мин в расчете на 1 г сухой массы соответственно, тогда как в проросшем зерне была повышена в наиболее мелких зерновках от 36 до 251 мг гидролизованного крахмала за 1 мин в расчете на 1 г сухой массы по сравнению с наиболее крупными зерновками с 66,1 до 125 мг гидролизованного крахмала за 1 мин в расчете на 1 г сухой массы в зависимости от продолжительности проращивания.

Таблица 3

Активность  $\alpha$ -амилаз в зерне ячменя (мг гидролизованного крахмала за 1 мин в расчете на 1 г сухой массы) в различных фракциях зерновок

Толщина зерновок, мм	Покоящееся зерно	Продолжительность проращивания зерна		
		3 сут	5 сут	7 сут
Кислые $\alpha$ -амилазы (pH = 5,5)				
2,2–2,5	3,8	91,0	322	612
2,5–2,8	4,1	95,2	172	561
2,8–3	4,2	91,3	207	512
>3	4,7	92,5	317	326
НСР <sub>05</sub>	0,2	4,6	13	25
Нейтральные $\alpha$ -амилазы (pH = 7,0)				
2,2–2,5	2,9	105,6	156	313
2,5–2,8	3,2	89,5	142	220
2,8–3	3,3	96,1	148	226
>3	3,5	107,4	139	196
НСР <sub>05</sub>	0,2	4,9	7	12
Щелочные $\alpha$ -амилазы (pH = 8,0)				
2,2–2,5	3,4	36,0	90	251
2,5–2,8	2,9	57,2	103	122
2,8–3	3,1	70,7	105	145
>3	3,9	66,1	92	125
НСР <sub>05</sub>	0,1	2,9	5	8

Таблица 4

Активность  $\beta$ -амилаз в зерне ячменя (мг гидролизованного крахмала за 1 мин в расчете на 1 г сухой массы) в различных фракциях зерновок

Толщина зерновок, мм	Покоящееся зерно	Продолжительность проращивания зерна		
		3 сут	5 сут	7 сут
Кислые $\beta$ -амилазы (pH = 5,5)				
2,2–2,5	31,1	69,5	72,7	81,6
2,5–2,8	28,9	54,9	69,4	104,6
2,8–3	29,5	58,9	71,0	146,3
>3	48,4	70,3	78,0	154,6
HCP <sub>05</sub>	1,7	3,2	3,6	6,1
Нейтральные $\beta$ -амилазы (pH = 7,0)				
2,2–2,5	17,8	43,0	52,3	62,9
2,5–2,8	16,1	35,5	45,4	76,9
2,8–3	16,6	30,3	43,0	65,4
>3	18,9	40,8	49,1	64,1
HCP <sub>05</sub>	0,9	1,9	2,2	3,4
Щелочные $\beta$ -амилазы (pH = 8,0)				
2,2–2,5	18,2	34,2	38,1	42,7
2,5–2,8	15,9	25,9	34,5	51,0
2,8–3	16,5	26,9	39,8	54,9
>3	19,7	29,1	33,9	41,7
HCP <sub>05</sub>	0,8	1,5	1,8	2,4

Сопоставляя амилазную активность в зерновках ячменя разных размеров, можно отметить, что во фракции проросшего мелкого зерна с толщиной зерновок 2,2–2,5 мм (зерно 7-суточных проростков) была получена повышенная активность  $\alpha$ -амилаз, которая составила от 612 мг гидролизованного крахмала за 1 мин в расчете на 1 г сухой массы для кислых  $\alpha$ -амилаз до 251 мг гидролизованного крахмала за 1 мин в расчете на 1 г сухой массы для щелочных  $\alpha$ -амилаз, но сниженная  $\beta$ -амилазная активность (от 81,6 до 42,2 мг) гидролизованного крахмала за 1 мин в расчете на 1 г сухой массы, что в целом не улучшало пивоваренные свойства зерна. С другой стороны, проросшие зерновки самой крупной зерновой фракции (с толщиной зерновок более 3 мм) характеризовались более низкой активностью всех форм  $\alpha$ -амилаз от 25,0 до 125,0 мг гидролизованного крахмала за 1 мин в расчете на 1 г сухой массы и щелочных  $\beta$ -амилаз (41,7 мг гидролизованного крахмала за 1 мин в расчете на 1 г сухой массы), что явно ухудшало их пивоваренные показатели. Вместе с тем основные по массе фракции зерна с толщиной зерновок 2,5–3 мм при проращивании в течение 7 сут имели достаточно высокую активность как  $\alpha$ -амилаз от 145 до 512 мг гидролизованного крахмала за 1 мин в расчете на 1 г сухой массы, так и  $\beta$ -амилаз от 54,9 до 146,3 мг гидролизованного крахмала за 1 мин в расчете на 1 г сухой массы.

Активность всех форм  $\beta$ -амилаз в покоящемся зерне была повышена в мелких и крупных зерновках от 0,34–0,49 мг гидролизованного крахмала за

1 мин в расчете на 1 г сухой массы (активность кислых форм  $\beta$ -амилаз) до 1,15–1,16 мг гидролизованного крахмала за 1 мин в расчете на 1 г сухой массы (активность щелочных  $\beta$ -амилаз). В проросшем зерне 7-суточных проростков для кислых, нейтральных и щелочных амилаз получены разные результаты. Активность кислых  $\beta$ -амилаз возрастала по мере увеличения размеров зерновок с 81,6 до 154,6 мг гидролизованного крахмала за 1 мин в расчете на 1 г сухой массы (почти в 2 раза при  $\text{НСР}_{05} = 6,1$ ). Активность нейтральных форм этих ферментов была повышена в зерновой фракции с толщиной зерновок 2,5–2,8 мм, щелочных форм – понижена в мелких и крупных зерновках, однако данные изменения недостоверны.

В отличие от амилаз в покоем зерне была понижена активность кислых и повышена активность нейтральных и щелочных каталаз (табл. 5). Активность кислых каталаз составила 0,34–0,43 мккат в расчете на 1 г сухой массы, нейтральных каталаз – 1,05–1,12 мккат в расчете на 1 г сухой массы, щелочных каталаз – 1,09–1,12 мккат в расчете на 1 г сухой массы. Причем более высокая активность кислых каталаз была характерна для фракций наиболее крупных и мелких зерен 0,34 и 0,43 мккат в расчете на 1 г сухой массы соответственно при  $\text{НСР}_{05}$  0,03, в то время как активность нейтральных и щелочных каталаз не зависела от размера зерновок. Такая же закономерность отмечалась и в проросшем зерне. По активности нейтральных и щелочных каталаз в покоем и прорастающем зерне фракции с разной толщиной зерновок существенно не различались. В зерне 7-суточных проростков активность кислых каталаз возрастала в 4–7 раз, а нейтральных и щелочных каталаз – в среднем в 2 раза.

Таблица 5

Активность каталаз в зерне ячменя в разных фракциях зерновок  
(мг гидролизованного крахмала за 1 мин в расчете на 1 г сухой массы)  
в разных фракциях зерновок

Толщина зерновок, мм	Покоящееся зерно	Продолжительность проращивания зерна		
		3 сут	5 сут	7 сут
1	2	3	4	5
Кислые каталазы (pH = 5,5)				
2,2–2,5	0,34	0,79	0,93	1,55
2,5–2,8	0,19	0,57	0,87	1,37
2,8–3	0,21	0,76	0,89	1,41
>3	0,43	0,89	1,05	1,78
$\text{НСР}_{05}$	0,03	0,08	0,09	0,15
Нейтральные каталазы (pH = 7,0)				
2,2–2,5	1,09	1,72	2,05	2,19
2,5–2,8	1,05	1,69	1,96	2,16
2,8–3	1,08	1,71	1,99	2,17
>3	1,12	1,76	2,06	2,29
$\text{НСР}_{05}$	0,11	0,17	0,20	0,22

Окончание табл. 5

1	2	3	4	5
Щелочные каталазы (рН = 8,0)				
2,2–2,5	1,15	1,83	2,12	2,26
2,5–2,8	1,09	1,76	2,03	1,98
2,8–3	1,11	1,78	2,06	2,19
>3	1,16	1,85	2,16	2,31
НСР <sub>05</sub>	0,11	0,18	0,21	0,22

В покоящемся и прорастающем зерне ячменя относительно меньше была активность кислых пероксидаз с 0,8 до 1,7 мккат в расчете на 1 г сухой массы и значительно выше нейтральных пероксидаз с 2,6 до 3,4 мккат в расчете на 1 г сухой массы и щелочных пероксидаз с 3,4 до 5,1 мккат в расчете на 1 г сухой массы (табл. 6). К седьмым суткам прорастания активность всех пероксидаз увеличивалась в 5–7 раз. Повышенная активность кислых пероксидаз выявлена в наиболее крупных зерновках и составила 25,1 мккат в расчете на 1 г сухой массы при НСР<sub>05</sub> 1, тогда как в других зерновых фракциях она была примерно на одном уровне. При прорастании активность нейтральных и щелочных пероксидаз была минимальной в мелком зерне и достоверно возрастала по мере увеличения размеров зерновок. Максимальная активность нейтральных и щелочных пероксидаз была получена в самой большой фракции зерновок. Она составила 26,1 и 30,4 мг гидролизованного крахмала за 1 мин в расчете на 1 г сухой массы соответственно.

Таким образом, можно отметить, что в зерне 7-суточных проростков фракции мелких зерновок была повышена активность кислых и щелочных каталаз, но понижена активность нейтральных и щелочных пероксидаз, поэтому данная зерновая фракция имела средние показатели антиоксидантной защиты. Лучшие показатели имела фракция самых крупных зерновок, в которых при прорастании была повышена активность кислых и щелочных каталаз, а также кислых, нейтральных и щелочных пероксидаз. Однако эта фракция составляла лишь 5,6 % от общей массы зерна, тогда как основная масса зерна была представлена фракциями с толщиной зерновок 2,5–3 мм, которые характеризовались средними, но достаточно высокими показателями активности каталаз и пероксидаз.

Учитывая важную роль пероксидаз в активации процесса прорастания зерна и антиоксидантной защите клеточных мембран, нами выяснялась возможность усиления активности этих ферментов под действием фиторегуляторов – эпин-экстра, циркона и силипланта. Зерновки ячменя в течение 1 ч замачивали в водных растворах указанных фиторегуляторов и затем проращивали в течение 3, 5 и 7 сут при температуре 12–14 °.

Наиболее сильное действие на пероксидазы прорастающего зерна ячменя оказывал циркон, который на 7 сут проращивания повышал в зерновках активность кислых форм этих ферментов по сравнению с контролем (вариант без фиторегуляторов) на 70,2 %, нейтральных пероксидаз – на 81,3 %, щелочных – на 43,8 % (табл. 7). Под воздействием эпин-экстра усиление пероксидазной активности в прорастающем зерне было существенно ниже: кислых

пероксидаз – на 36,2 %, нейтральных – на 60 %, щелочных – на 28,6 %. Силиплант существенно не влиял на активность пероксидаз в зерне 7-суточных проростков ячменя.

Таблица 6

Влияние размера зерновок на активность пероксидаз в зерне ячменя  
(мккат в расчете на 1 г сухой массы)

Толщина зерновок, мм	Покоящееся зерно	Продолжительность проращивания зерна		
		3 сут	5 сут	7 сут
Кислые пероксидазы (pH = 5,5)				
2,2–2,5	0,8	1,8	3,0	4,8
2,5–2,8	0,9	1,9	2,2	4,7
2,8–3	0,9	2,0	3,0	4,7
>3	1,7	3,7	5,9	25,1
НСР <sub>05</sub>	0,1	0,2	0,4	1,0
Нейтральные пероксидазы (pH = 7,0)				
2,2–2,5	2,6	6,6	9,4	15,8
2,5–2,8	3,4	8,2	11,4	17,7
2,8–3	3,4	9,0	19,6	24,0
>3	3,4	10,7	18,3	26,1
НСР <sub>05</sub>	0,3	0,9	1,5	1,7
Щелочные пероксидазы (pH = 8,0)				
2,2–2,5	3,4	9,3	15,1	20,8
2,5–2,8	4,3	9,3	14,4	21,8
2,8–3	4,3	10,5	21,1	27,3
>3	5,1	11,9	26,9	30,4
НСР <sub>05</sub>	0,4	1,0	1,9	0,9

Таким образом, по показателям химического состава и активности амилаз, каталаз, пероксидаз в покоящемся и проросшем зерне ячменя от основной массы зерна существенно отличались фракции более мелких (толщиной 2,2–2,5 мм) и крупных (толщиной >3 мм) зерновок. В более мелкой фракции зерна отмечалось повышенное содержание водорастворимых и неэкстрагируемых белков, глобулинов, но была понижена концентрация глютелинов, что положительно влияло на пивоваренные свойства зерна. Кроме того, в покоящемся зерне этой фракции была повышена активность щелочных  $\alpha$ -амилаз, нейтральных и щелочных  $\beta$ -амилаз, кислых каталаз, но снижена активность кислых и нейтральных  $\alpha$ -амилаз, нейтральных и щелочных пероксидаз. В проросшем зерне указанной фракции выявлена высокая активность кислых, нейтральных и щелочных  $\alpha$ -амилаз и пониженная активность нейтральных пероксидаз, кислых и щелочных  $\beta$ -амилаз. Повышение активности рассматриваемых ферментов в проросшем зерне ускоряло солодоращение, а снижение их активности замедляло этот процесс.

Таблица 7

Влияние фиторегуляторов на активность пероксидаз  
в прорастающем зерне ячменя (мккат в расчете на 1 г сухой массы)

Фиторегуляторы	Продолжительность проращивания зерна		
	3 сут	5 сут	7 сут
Кислые пероксидазы (pH = 5,5)			
Без фиторегуляторов	1,9	3,0	4,7
Эпин-экстра	2,3	4,3	6,4
Циркон	2,6	4,5	8,0
Силиплант	2,1	3,0	4,8
НСР <sub>05</sub>	0,1	0,2	0,3
Нейтральные пероксидазы (pH = 7,0)			
Без фиторегулятора	2,6	4,9	8,0
Эпин-экстра	4,0	6,1	12,8
Циркон	5,2	6,3	14,5
Силиплант	2,6	5,9	8,0
НСР <sub>05</sub>	0,2	0,3	0,5
Щелочные пероксидазы (pH = 8,0)			
Без фиторегулятора	4,3	6,1	11,2
Эпин-экстра	5,3	8,3	14,4
Циркон	6,6	10,6	16,1
Силиплант	4,4	7,6	11,3
НСР <sub>05</sub>	0,3	0,4	0,7

В наиболее крупных зерновках по сравнению с основными по массе фракциями зерна ячменя содержалось больше белков и была повышена активность кислых, нейтральных и щелочных форм  $\alpha$ - и  $\beta$ -амилаз, кислых каталаз, кислых и щелочных пероксидаз. В проросших зерновках данной фракции отмечалась высокая активность кислых  $\beta$ -амилаз и каталаз, а также кислых, нейтральных и щелочных пероксидаз, но пониженная активность кислых и нейтральных  $\alpha$ -амилаз и щелочных  $\beta$ -амилаз.

Оценивая в целом уровень активности амилаз, каталаз и пероксидаз в условиях кислой (pH = 5,5), нейтральной (pH = 7) и щелочной (pH = 8) среды, можно отметить, что как в покое, так и проросшем зерне ячменя наиболее высокую активность имели кислые изоферменты  $\alpha$ - и  $\beta$ -амилаз, а также нейтральные и щелочные изоферменты каталаз и пероксидаз.

В опытах с проростками пивоваренного ячменя было установлено заметное действие на активность пероксидаз в зерне проростков фиторегулятора циркона, который повышал активность кислых, нейтральных и щелочных пероксидаз (на 43–81 %). Отмечено также высокое действие на указанные ферменты фиторегулятора эпин-экстра, который повышал активность всех форм пероксидаз на 28–60 %. Полученные данные свидетельствуют о том, что указанные фиторегуляторы активизируют процесс прорастания зерна и таким образом могут ускорять его солодоращение, а также развитие проростков при выращивании ячменя на семена.



### Заключение

1. В опытах с фракционированием зерна пивоваренного ячменя в зависимости от толщины зерен установлено, что по показателям химического состава и активности амилаз, каталаз, пероксидаз в покоящихся и проросших зерновках существенно отличались фракции более мелких (толщиной 2,2–2,5 мм) и крупных (толщиной >3 мм) зерен, которые составляли сравнительно небольшую долю в общей зерновой массе (10,5 %).

2. В ходе исследований было выяснено, что в покоящихся зерновках более мелкой по толщине зерен фракции повышено содержание водорастворимых белков, а в зерне проростков выявлена высокая активность кислых, нейтральных и щелочных  $\alpha$ -амилаз. В проросших зерновках наиболее крупной по толщине зерен фракции отмечалась высокая активность кислых  $\beta$ -амилаз и каталаз, а также кислых, нейтральных и щелочных пероксидаз. Выявленные особенности указанных зерновых фракций улучшали пивоваренные свойства зерна ячменя.

3. Изучение действия ферментов в условиях кислой (pH = 5,5), нейтральной (pH = 7) и щелочной (pH = 8) среды показало, что как в покоящемся, так и проросшем зерне ячменя наиболее высокую активность имели кислые изоферменты  $\alpha$ - и  $\beta$ -амилаз, а также нейтральные и щелочные изоферменты каталаз и пероксидаз.

4. В опытах с проростками пивоваренного ячменя установлено заметное влияние на активность пероксидаз фиторегулятора циркона, под действием которого активность кислых, нейтральных и щелочных форм этих ферментов в зерне 7-суточных проростков возрастала на 43–81 %, и фиторегулятора эпин-экстра, повышавшего активность всех форм пероксидаз на 28–60 %.

### Список литературы

1. Гамзаева Р. С. Динамика активности амилотических ферментов в прорастающих зерновках ярового ячменя, выращенного на возрастающих дозах азотных удобрений // Научное обеспечение развития АПК в условиях импортозамещения : сб. тр. науч. конф. СПб., 2018. С. 9–11.
2. Кисилева Т. Ф., Миллер Ю. Ю., Гребенникова Ю. В. [и др.]. Техника и технология пищевых производств // Техника и технология пищевых производств. 2016. № 1. С. 11–17.
3. Кунце В., Мит Г. О. Технология солода и пива. СПб. : Профессия, 2003. 911 с.
4. Нарцисс Л., Куреленкова А. А. Краткий курс пивоварения. СПб. : Профессия, 2007. 640 с.
5. Новиков Н. Н. Биохимия растений. М. : ЛЕНАНД, 2021. 680 с.
6. Новиков Н. Н., Соловьева Н. Е. Формирование пивоваренных свойств зерна ячменя в зависимости от режима питания и применения фиторегуляторов при выращивании на дерново-подзолистой почве // Известия Тимирязевской сельскохозяйственной академии. 2020. Вып. 2. С. 5–19.
7. Хозиев О. А., Хозиев А. М., Цугкиева В. Б. Технология пивоварения. СПб. ; М. ; Краснодар : Лань, 2016. 560 с.
8. Delcour J. A., Verschaeve S. G. Malt diastatic power. Part 1. A modified EBC diastatic power assay for the selective estimation of  $\alpha$ -amylase activity. Time and temperature dependence of the release of reducing sugars // J. Inst. Brew. 1987. № 93. P. 296–301.
9. Sopanen T., Lauriere C. Release and activity of bound beta-amylase in a germinating barley grain // Plant Physiology. 1989. Vol. 89. P. 244–249.

10. Новиков Н. Н., Соловьева Н. Е. Влияние режима питания и фиторегуляторов (новосил, эпин) на качество зерна и состав белков пивоваренного ячменя при выращивании на дерново-подзолистой почве // Известия Тимирязевской сельскохозяйственной академии. 2019. Вып. 3. С. 5–18.
11. Новиков Н. Н., Соловьева Н. Е. Формирование качества зерна пивоваренного ячменя в зависимости от режима питания и применения фиторегуляторов при выращивании на дерново-подзолистой почве // Агрохимия. 2019. № 2. С. 43–51.
12. Новиков Н. Н., Соловьева Н. Е. Формирование качества зерна пивоваренного ячменя в зависимости от режима питания и применения фиторегуляторов при выращивании на дерново-подзолистой почве // Безопасность и качество сельскохозяйственного сырья и продовольствия : сб. ст. Всерос. науч.-практ. конф. М. : ЭЙПиСиПабблишинг, 2020. С. 53–57.
13. Полевой В. В., Саламатова Т. С. Физиология роста и развития растений. Л. : ЛГУ, 1991. 240 с.
14. Worbel R., Jones V. L. Appearance of endoproteolytic enzymes during the germination of barley // Plant Physiol. 1992. № 100. P. 1508–1516.
15. Новиков Н. Н., Таразанова Т. В. Лабораторный практикум по биохимии растений. М. : Изд-во РГАУ – МСХА им. К. А. Тимирязева, 2012. 97 с.
16. Новиков Н. Н. Биохимические основы формирования качества продукции растениеводства : учеб. пособие. М. : Изд-во РГАУ – МСХА им. К. А. Тимирязева, 2014. 194 с.
17. Рожанская О. А., Королев К. Г., Шилова Т. В. [и др.]. Регуляция солодоращения с помощью нанобиокмполитов // Сибирский вестник сельскохозяйственной науки. 2014. № 6. С. 103–109.
18. Mahmoudi T., Oveisi M. R., Jannat B. [et al.]. Antioxidant activity of Iranian barley grain cultivars and their malts // African Journal of Food Science. 2015. Vol. 9. P. 534–539.
19. Витол И. С., Карпиленко Г. П. Белково-протеиназный комплекс ячменя, выращенного на разном агрофоне с применением препаратов регуляторного действия // Прикладная биохимия и микробиология. 2007. № 3. С. 356–364.
20. Гайда В. К., Верхотуров В. В. Применение способов интенсификации солодоращения для повышения качества солода // Известия Иркутского государственного университета. 2008. № 2. С. 78–80.
21. Ермолаева Г. А., Будакова Э. Д. Получение пивоваренного солода с применением биокатализаторов из ячменя Республики Башкортостан // Пиво и напитки. 2008. № 5. С. 34–36.
22. Соловьева Н. Е., Новиков Н. Н. Формирование пивоваренных свойств зерна ячменя в зависимости от режима питания и применения фиторегуляторов при выращивании на дерново-подзолистой почве // Бутлеровские сообщения. 2019. Т. 59, № 8. С. 124–131.
23. Новиков Н. Н. Новый метод определения активности пероксидаз в растениях // Известия Тимирязевской сельскохозяйственной академии. 2016. Вып. 3. С. 36–46.

## References

1. Gamzaeva R.S. Dynamics of activity of amylolytic enzymes in germinating grains of spring barley grown on increasing doses of nitrogen fertilizers. *Nauchnoe obespechenie razvitiya APK v usloviyakh importozameshcheniya: sb. tr. nauch. konf. = Scientific support for the development of the agro-industrial complex in the context of import substitution: proceedings*. Saint-Petersburg, 2018:9–11. (In Russ.)
2. Kisileva T.F., Miller Yu.Yu., Grebennikova Yu.V. [et al.]. Technique and technology of food production. *Tekhnika i tekhnologiya pishchevykh proizvodstv = Technique and technology of food production*. 2016;(1):11–17. (In Russ.)

3. Kuntse V., Mit G.O. *Tekhnologiya soloda i piva = Malt and beer technology*. Saint-Petersburg: Professiya, 2003:911. (In Russ.)
4. Nartsiss L., Kurelenkova A.A. *Kratkiy kurs pivovareniya = A short course in brewing*. Saint-Petersburg: Professiya, 2007:640. (In Russ.)
5. Novikov N.N. *Biokhimiya rasteniy = Plant biochemistry*. Moscow: LENAND, 2021: 680. (In Russ.)
6. Novikov N.N., Solov'eva N.E. Formation of the brewing properties of barley grain depending on the diet and the use of phyto regulators when grown on soddy-podzolic soil. *Izvestiya Timiryazevskoy sel'skokhozyaystvennoy akademii = Proceedings of Timiryazev Agricultural Academy*. 2020;(2):5–19. (In Russ.)
7. Khoziev O.A., Khoziev A.M., Tsugkueva V.B. *Tekhnologiya pivovareniya = Brewing technology*. Saint-Petersburg; Moscow; Krasnodar: Lan', 2016:560. (In Russ.)
8. Delcour J.A., Verschaeve S.G. Malt diastatic power. Part 1. A modified EBC diastatic power assay for the selective estimation of p-amylase activity. Time and temperature dependence of the release of reducing sugars. *J. Inst. Brew.* 1987;(93):296–301.
9. Sopanen T., Lauriere S. Release and activity of bound beta-amylase in a germinating barley grain. *Plant Physiology*. 1989;89:244–249.
10. Novikov N.N., Solov'eva N.E. The effect of diet and phyto regulators (Novosil, Epin) on grain quality and protein composition of malting barley when grown on soddy-podzolic soil. *Izvestiya Timiryazevskoy sel'skokhozyaystvennoy akademii = Proceedings of Timiryazev Agricultural Academy*. 2019;(3):5–18. (In Russ.)
11. Novikov N.N., Solov'eva N.E. Formation of the brewing properties of barley grain depending on the diet and the use of phyto regulators when grown on soddy-podzolic soil. *Agrokhimiya = Agrochemistry*. 2019;(2):43–51. (In Russ.)
12. Novikov N.N., Solov'eva N.E. Formation of the brewing properties of barley grain depending on the diet and the use of phyto regulators when grown on soddy-podzolic soil. *Bezopasnost' i kachestvo sel'skokhozyaystvennogo syr'ya i prodovol'stviya: sb. st. Vseros. nauch.-prakt. konf. = Safety and quality of agricultural raw materials and food: proceedings of the All-Russian scientific and practical conference*. Moscow: EyPiSi-Publishing, 2020:53–57. (In Russ.)
13. Polevoy V.V., Salamatova T.S. *Fiziologiya rosta i razvitiya rasteniy = Physiology of plant growth and development*. Leningrad: LGU, 1991:240. (In Russ.)
14. Worbel R., Jones B.L. Appearance of endoproteolytic enzymes during the germination of barley. *Plant Physiol.* 1992;(100):1508–1516.
15. Novikov N.N., Tarazanova T.V. *Laboratornyy praktikum po biokhimii rasteniy = Laboratory workshop on plant biochemistry*. Moscow: Izd-vo RGAU – MSKhA im. K.A. Timiryazeva, 2012:97. (In Russ.)
16. Novikov N.N. *Biokhimicheskie osnovy formirovaniya kachestva produktsii rasteniyevodstva: ucheb. posobie = Biochemical bases for the formation of the quality of crop production: textbook*. Moscow: Izd-vo RGAU – MSKhA im. K.A. Timiryazeva, 2014: 194. (In Russ.)
17. Rozhanskaya O.A., Korolev K.G., Shilova T.V. [et al.]. Malting regulation with nanobiocomposites. *Sibirskiy vestnik sel'skokhozyaystvennoy nauki = Siberian bulletin of agricultural sciences*. 2014;(6):103–109. (In Russ.)
18. Mahmoudi T., Oveisi M.R., Jannat B. [et al.]. Antioxidant activity of Iranian barley grain cultivars and their malts. *African Journal of Food Science*. 2015;9:534–539.
19. Vitol I.S., Karpilenko G.P. Protein-proteinase complex of barley grown on different agricultural background with the use of drugs of regulatory action. *Prikladnaya biokhimiya i mikrobiologiya = Applied Biochemistry and Microbiology*. 2007;(3):356–364. (In Russ.)
20. Gayda V.K., Verkhoturov V.V. Application of methods of intensification of malting to improve the quality of malt. *Izvestiya Irkutskogo gosudarstvennogo universiteta = Proceedings of Irkutsk State University*. 2008;(2):78–80. (In Russ.)

21. Ermolaeva G.A., Budakova E.D. Obtaining brewing malt using biocatalysts from barley of the Republic of Bashkortostan. *Pivo i napitki = Beer and drinks*. 2008;(5):34–36. (In Russ.)
22. Solov'eva N.E., Novikov N.N. Formation of the brewing properties of barley grain depending on the diet and the use of phyto regulators when grown on soddy-podzolic soil. *Butlerovskie soobshcheniya = Butlerov bulletin*. 2019;59(8):124–131. (In Russ.)
23. Novikov N.N. A new method for determining the activity of peroxidases in plants. *Izvestiya Timiryazevskoy sel'skokhozyaystvennoy akademii = Proceedings of Timiryazev Agricultural Academy*. 2016;(3):36–46. (In Russ.)

#### **Информация об авторах / Information about the authors**

##### ***Регина Рафиковна Исламгулова***

аспирант, Российский государственный аграрный университет – Московская сельскохозяйственная академия имени К. А. Тимирязева (Россия, г. Москва, ул. Тимирязевская, 49)

E-mail: 17regin@mail.ru

##### ***Regina R. Islamgulova***

Postgraduate student, Russian State Agrarian University – Moscow Timiryazev Agricultural Academy (49 Timiryazevskaya street, Moscow, Russia)

##### ***Николай Николаевич Новиков***

доктор биологических наук, профессор, профессор кафедры агрономической, биологической химии и радиологии, Российский государственный аграрный университет – Московская сельскохозяйственная академия имени К. А. Тимирязева (Россия, г. Москва, ул. Тимирязевская, 49)

E-mail: tshanovikov@gmail.com

##### ***Nikolai N. Novikov***

Doctor of biological sciences, professor, professor of the sub-department of agronomic, biological chemistry and radiology, Russian State Agrarian University – Moscow Timiryazev Agricultural Academy (49 Timiryazevskaya street, Moscow, Russia)

##### ***Инга Ивановна Серегина***

доктор биологических наук, доцент, профессор кафедры агрономической, биологической химии и радиологии, Российский государственный аграрный университет – Московская сельскохозяйственная академия имени К. А. Тимирязева (Россия, г. Москва, ул. Тимирязевская, 49)

E-mail: seregina.i@inbox.ru

##### ***Inga I. Seregina***

Doctor of biological sciences, associate professor, professor of the sub-department of agronomic, biological chemistry and radiology, Russian State Agrarian University – Moscow Timiryazev Agricultural Academy (49 Timiryazevskaya street, Moscow, Russia)

**Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов / The authors declare no conflicts of interests.**

**Поступила в редакцию / Received 19.01.2022**

**Поступила после рецензирования и доработки / Revised 14.02.2022**

**Принята к публикации / Accepted 09.03.2022**

УДК 574.41+574.32(470.53)  
doi:10.21685/2307-9150-2022-1-3

### Экологическая оценка изменения активности представителей сеgetальной флоры вблизи г. Перми

С. В. Лихачев

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

slichachev@yandex.ru

**Аннотация.** *Актуальность и цели.* Изучение активности сеgetальных видов позволяет выявить процессы, которые происходят в агроландшафтах. По этой причине целью исследований являлся сравнительный ретроспективный экологический анализ активности представителей сеgetальной флоры территории Пермского района к юго-западу от г. Перми. *Материалы и методы.* Исследования основаны на описании сеgetальной флоры сельскохозяйственных угодий окрестностей г. Перми в 2020 г. и их сравнении с результатами, полученными А. А. Хребтовым в 1923 г. Применен семейственно-видовой анализ, экологические индексы и шкалы, а также предложенный нами показатель активности сеgetальных видов. *Результаты.* В 1923 г. разнообразие сеgetальной флоры сельскохозяйственных угодий окрестностей г. Перми включало 173 вида, 127 родов из 33 семейств. В настоящее время оно насчитывает 193 вида, 135 родов из 31 семейства. Преобладают семейства *Compositae*, *Leguminosae*, *Gramineae*, *Cruciferae*, *Caryophyllaceae*, *Labiatae*, *Polygonaceae*. Отмечено увеличение видовой (6,4 ед.) и родовой (4,5 ед.) насыщенности семейств. В 1923 г. видовая насыщенность семейств составляла 5,2 ед., а родовая насыщенность – 3,8 ед. Видовая насыщенность родов за период с 1923 по 2020 г. осталась без изменений и составила 1,4 ед. По сравнению с 1923 г. не обнаружено 13 видов растений. В соответствии с предложенной нами шкалой оценки активности 56 видов существенно снизили свою активность, а у 19 видов она возросла. Флористический анализ показал высокую степень сходства (индекс Жаккара – 79,4 %; индекс Чекановского – Сёренсена – 88,5 %) сравниваемого флористического разнообразия. Значение индекса Шеннона – Уивера не изменилось и составило 4,7 ед. Анализ с помощью шкал Г. Элленберга показал полное совпадение экологических характеристик. *Выводы.* За прошедшие сто лет произошел ряд изменений в видовом разнообразии сеgetальной флоры. Причиной такого процесса является изменение технологий и спектра возделываемых культур. Применение индекса активности позволило выявить исчезнувшие или существенно снизившие свою активность виды. Освободившиеся экологические ниши были заняты другими видами, большинство из которых являются апофитами.

**Ключевые слова:** сеgetальная флора, видовое разнообразие, экологическая характеристика, встречаемость, обилие

**Для цитирования:** Лихачев С. В. Экологическая оценка изменения активности представителей сеgetальной флоры вблизи г. Перми // Известия высших учебных заведений. Поволжский регион. Естественные науки. 2022. № 1. С. 29–38. doi:10.21685/2307-9150-2022-1-3

## Ecological assessment of segetal flora activity's change near Perm

S.V. Lihachev

Perm State Agro-Technological University, Perm, Russia

slichachev@yandex.ru

**Abstract.** *Background.* The research of segetal species' activity reveals the processes taking place on agricultural land. The purpose of the study is a comparative, retrospective, environmental analysis of the activity of segetal species in Perm region South-West of Perm. *Materials and methods.* In 2020, segetal flora of agricultural land near Perm was described. The results of 2020 were compared with the results of 1923 obtained by A.A. Khrebtov. The studies used floristic analysis, environmental indicators. An indicator of activity of segetal species is proposed. *Results.* In 1923, 173 species of weeds (127 genera, 33 families) were discovered on agricultural lands near Perm. Currently, 193 species have been identified (135 genera, 31 families). Mostly they are *Compositae*, *Leguminosae*, *Gramineae*, *Cruciferae*, *Caryophyllaceae*, *Labiatae*, *Polygonaceae*. The species saturation of families (6.4) and the generic saturation of families (4.5) increased. In 1923, the species saturation of families was 5.2 units, and the generic saturation was 3.8 units. The species saturation of genera (from 1923 to 2020) has not changed (1.4). In 2020, 13 species of plants were not found. An activity analysis of weed species was carried out according to our indicator. 56 species greatly reduced their activity, in 19 activity increased greatly. Floristic analysis showed a high degree of similarity between 1923 and 2020 (Jacquard index – 79.4 %; Chekanovsky – Sørensen index – 88.5 %). The Shannon – Weaver index was unchanged (4.7). The analysis was carried out using G. Ellenberg's environmental indicators. He showed a complete coincidence of environmental characteristics. *Conclusions.* Over the past hundred years, there have been a number of changes in the diversity of segetal species. The reason is the change in technology and cultivated crops. The use of the activity index made it possible to identify departed species, and species that decreased activity. The vacated ecological niche was occupied by other species. Most of them are apophytes.

**Keywords:** segetal flora, species diversity, environmental characteristics, occurrence, abundance

**For citation:** Lihachev S.V. Ecological assessment of segetal flora activity's change near Perm. *Izvestiya vysshikh uchebnykh zavedeniy. Povolzhskiy region. Estestvennye nauki = University proceedings. Volga region. Natural sciences.* 2022;(1):29–38. (In Russ.). doi:10.21685/2307-9150-2022-1-3

Сегетальной флорой называется исторически сложившаяся совокупность сорных видов растений, населяющих какую-либо территорию. Разнообразие и активность сорных видов в большей мере зависит от культуры земледелия (технических средств, структуры посевных площадей, качества посевного материала, интенсивности ведения хозяйства и т.д.). С течением времени видовое разнообразие и активность сегетальных видов изменяются. Часто отмечается уменьшение видового разнообразия и увеличение активности определенных видов, что получило название сегетализации [1].

Активность растений в основном складывается из двух компонентов: постоянство (встречаемость), проективное покрытие (обилие). Если рассматривать активность сорных видов, то существенную роль играет ярус. В оценке агрофитоценотической активности сорных видов часто используются шкалы обилия А. И. Мальцева [2], Браун-Бланке [3], а также применяется комплексная оценка с использованием показателей обилия и постоянства [4].

Я. П. Дидух пришел к выводу, что активность целесообразно рассматривать не в комплексе, т.е. перемножением показателей встречаемости и проективного покрытия, а отдельно [5]. Однако сеgetальная флора является крайне динамичной, поэтому расчет комплексного показателя и применение специальной интегрированной шкалы активности может быть вполне оправданным.

Представляют интерес ретроспективные экологические исследования растительных сообществ [6, 7], а также сеgetальной флоры. Данные о разнообразии сорных растений, встречаемости и обилии отдельных видов в посевах полевых культур в разные годы для территории Пермского края и Предуралья приведены в работах П. В. Сюзёва [8], А. А. Хребтова [9], Д. Ф. Федюнькина и Н. А. Пономарёва [10], А. С. Кольцова [11]. Имеются подробные данные о разнообразии, встречаемости и обилии сорных видов на территории Липовой горы (г. Пермь) [9].

Целью исследований являлся сравнительный ретроспективный экологический анализ активности представителей сеgetальной флоры территории Пермского района, примыкающей к юго-западной окраине г. Перми.

### Материалы и методы

Исследования сеgetальной флоры проведены на сельскохозяйственных территориях в Пермском районе на юго-западе относительно г. Перми. В 2020 г. описано более 30 агрофитоценозов на площади примерно 100 га по методике А. И. Мальцева [2]. Для тех видов, которые встречались единично и только на краях полей, обилие принималось равным нулю. Результаты описаний сравнивались с данными А. А. Хребтова [9]. Для сопоставления русского и латинского наименований видов растений с современными использованы определители В. П. Сюзёва [8] и П. Ф. Маевского (2014) [12].

В анализе нами предложено использовать интегральный показатель фитоценотической активности (далее активности) сеgetальных видов, основанный на умножении показателя обилия (по Мальцеву, в баллах) на встречаемость (%). Поскольку максимальное обилие составляет 4 балла, а встречаемость 100 %, то максимальное значение показателя активности составит 400 ед. Такой уровень активности конкретного вида может быть выявлен на конкретном участке, но маловероятен для флоры в целом. Нами предложена шкала, в которой высокоактивными считаются виды с показателем активности >240 ед.; среднеактивными – 81–240 ед.; малоактивными – 21–80 ед.; неактивными ≤20 ед. Виды относили к неактивным, если их встречаемость была менее 20 %, а обилие на уровне единичных экземпляров.

Оценка сходства флористического разнообразия проведена с помощью коэффициента Жаккара и Чекановского – Сёренсена, видовое разнообразие оценено по индексу Шеннона – Уивера. Перечень видов проанализирован с использованием шкал Г. Элленберга [13], на основании чего дана экологическая оценка условий произрастания.

### Результаты и обсуждение

В 1923 г. сеgetальная флора включала 173 вида, 127 родов из 33 семейств. Результаты семейственно-видового анализа представлены в табл. 1. Для сеgetальной флоры характерны невысокие значения таксономических

пропорций. Родовая и видовая насыщенность семейств составляла 3,8 и 5,2 ед. соответственно, видовая насыщенность родов – 1,4 ед.

Таблица 1

## Видовое разнообразие сеgetальной флоры

Семейство	1923 г. [9]			2020 г.		
	Число		Активные виды, %	Число		Активные виды, %
	родов	видов		родов	видов	
1. <i>Compositae</i>	22	27	33	24	33	70
2. <i>Leguminosae</i>	7	17	71	7	20	95
3. <i>Caryophyllaceae</i>	12	16	38	10	13	77
4. <i>Cruciferae</i>	14	15	53	16	17	59
5. <i>Gramineae</i>	13	14	71	17	20	85
6. <i>Polygonaceae</i>	6	9	44	6	11	45
7. <i>Labiatae</i>	6	9	22	9	12	67
8. <i>Scrophulariaceae</i>	6	8	63	5	7	86
9. <i>Rosaceae</i>	3	7	71	4	8	100
10. <i>Boraginaceae</i>	6	6	67	6	7	86
11. <i>Umbelliferae</i>	6	6	67	7	7	100
12. <i>Chenopodioideae</i>	3	6	83	3	6	100
13. <i>Ranunculaceae</i>	2	4	50	2	4	75
14. <i>Rubiaceae</i>	1	3	67	1	3	67
15. <i>Plantaginaceae</i>	1	3	67	1	3	67
16. <i>Violaceae</i>	1	3	33	1	2	50
17. <i>Primulaceae</i>	2	2	100	1	1	100
18. <i>Crassulaceae</i>	1	2	50	1	2	100
19. <i>Equisetaceae</i>	1	2	0	1	2	50
20. <i>Amaranthaceae</i>	1	1	100	1	1	100
21. <i>Dipsacaceae</i>	1	1	0	1	1	100
22. <i>Convolvulaceae</i>	1	1	0	1	1	0
23. <i>Geraniaceae</i>	1	1	100	1	1	0
24. <i>Dennstaedtiaceae</i>	1	1	100	–	–	–
25. <i>Caprifoliaceae</i>	1	1	100	1	1	100
26. <i>Hypericaceae</i>	1	1	100	1	1	100
27. <i>Onagraceae</i>	1	1	100	2	3	100
28. <i>Campanulaceae</i>	1	1	100	1	1	100
29. <i>Urticaceae</i>	1	1	0	1	2	50
30. <i>Papaveraceae</i>	1	1	0	2	2	50
31. <i>Euphorbiaceae</i>	1	1	100	1	1	100
32. <i>Cuscutaceae</i>	1	1	100	–	–	–
33. <i>Polemoniaceae</i>	1	1	100	–	–	–
Сумма	127	173	54	135	193	77



По видовому разнообразию преобладали семейства – *Compositae* (27 видов), *Leguminosae* (17 видов), *Caryophyllaceae* (16 видов), *Cruciferae* (15 видов), *Gramineae* (14 видов). В общем видовом разнообразии представители этих пяти семейств занимают 51 %.

Среди 79 активных видов (46 % от общего числа видов) доминируют представители семейства *Compositae* (18 видов), *Caryophyllaceae* (10 видов), *Labiatae* (7 видов), *Cruciferae* (7 видов), что составляет 53 % от числа активных видов и 24 % от общего числа видов.

В настоящее время видовое разнообразие сеgetальной флоры окрестностей г. Перми насчитывает 193 вида, 135 родов из 31 семейства. Преобладают семейства *Compositae* (33 вида), *Leguminosae* (20 видов), *Gramineae* (20 видов), *Cruciferae* (17 видов), *Caryophyllaceae* (13 видов), *Labiatae* (12 видов), *Polygonaceae* (11 видов). Виды этих семейств составляют 65 % от всего разнообразия. Среди 45 видов (23 % видового разнообразия) активных видов выделились семейства *Compositae* (10 видов), *Cruciferae* (7 видов), *Polygonaceae* (6 видов), что составляет 51 % от числа активных видов и 12 % от общего числа видов. За рассматриваемый период в два раза уменьшилась доля активных видов в общем разнообразии, так, в 1923 г. этот показатель составил 46 %, а в 2019 г. – 23 %.

По сравнению с 1923 г. в агрофитоценозах не обнаружены представители *Dennstaedtiaceae* (ранее отмечался *Pteridium aquilinum* (L.) Kuhn s. l. с встречаемостью 1 %), *Cuscutaceae* (ранее отмечалась *Cuscuta europea* L. с встречаемостью 5 %), *Polemoniaceae* (ранее отмечался *Polemonium caeruleum* L. с встречаемостью 1,3 %). Отмечено увеличение видовой насыщенности (6,4 ед.) и родовой насыщенности (4,5 ед.) семейств на фоне снижения активности отдельных ранее распространенных видов. В 1923 г. видовая насыщенность семейств составляла 5,2 ед., а родовая насыщенность семейств – 3,8 ед. Видовая насыщенность родов за период с 1923 по 2020 г. осталась без изменений и составила 1,4 ед.

Динамика видового разнообразия и фитоценотической активности сеgetальных видов объясняется изменением структуры посевных площадей и разнообразия возделываемых культур, а также в целом культуры земледелия. В 1923 г. большую долю посевных площадей занимала озимая рожь, далее следовали яровые зерновые культуры (яровая пшеница, овес, ячмень), лен, конопля, бобовые, клубне- и корнеплоды и клевер. В настоящее время доля озимой ржи существенно снизилась, перестали возделываться такие культуры, как лен и конопля. Существенно выросла доля многолетних трав и их разнообразие, в частности, возделываются люцерна посевная (*Medicago sativa* L.), донник лекарственный (*Melilotus officinalis* (L.) Pallas), козлятник восточный (*Galega orientalis* Lam.), лядвенец рогатый (*Lotus corniculatus* L.), а также злаково-бобовые смеси. С середины XX в. на протяжении недолгого времени на полях возделывался *Heracleum sosnowskyi* Manden, однако в настоящее время этот вид включен в перечень инвазивных и произрастает вдоль дорог и на краях полей (встречаемость 6 %), особенно с многолетними травами. В качестве засорителей на полях встречаются *Melilotus albus* (L.) Medik. (4 %), *Medicago falcata* L. (10 %) *Galega orientalis* Lam. (10 %). В связи с увеличением доли многолетних трав часто на этих полях можно обнаружить в качестве апофитов *Ajuga reptans* L., *Bromopsis inermis* (Leyss.) Holub,

*Geum urbanum* L., *Epilobium palustre* L., *E. hirsutum* L., *Medicago falcata* L., *Persicaria minor* (Huds.) Opiz, *P. maculosa* Gray., *Poa pratensis* L., *Prunella vulgaris* L., *Pilosella officinarum* F.W. Schultz et Sch. Bip., *Tanacetum vulgare* L., *Viscaria vulgaris* Bernh. Вблизи фермы КРС обнаружено несколько экземпляров *Phalaris canariensis* L., дальнейшее распространение которого не выявлено. Козлятник восточный в настоящее время увеличивает свое присутствие не только в агрофитоценозах, но и луговых и лесных фитоценозах рассматриваемой территории. На отдельных участках отмечается распространение чистотела большого *Chelidonium majus* L. (встречаемость до 6 %).

Оценка активности на основании только встречаемости не позволяет ранжировать виды достаточно объективно. Для дальнейшего анализа используем значение активности (рис. 1).

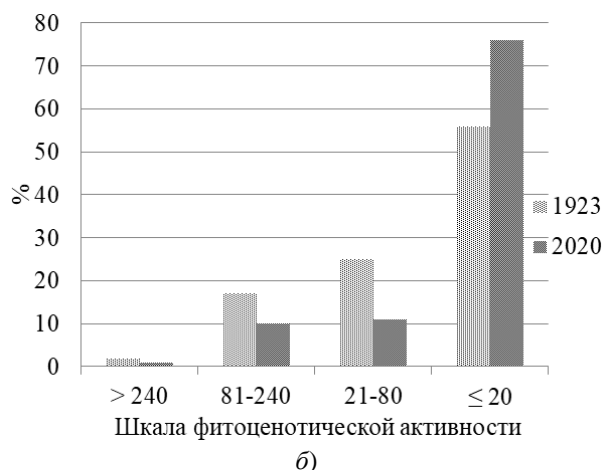
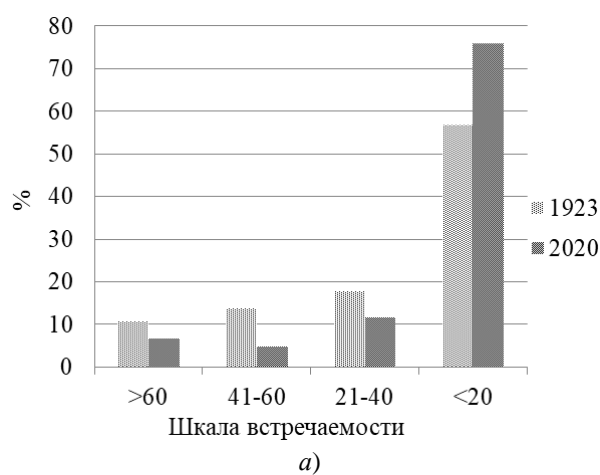


Рис. 1. Распределение видового разнообразия в соответствии со шкалой встречаемости (а) и активности (б)

На основании ранжирования и ретроспективного сравнения целесообразно выделить пять групп видов: 1) виды, которые больше не встречаются; 2) виды, активность которых уменьшилась; 3) виды, активность которых не

изменилась; 4) виды, активность которых увеличилась; 5) виды, которые появились вновь.

Наибольшую активность в 1923 г. проявляли *Cirsium incanum* (S.G. Gmel.) Fisch. (267 ед.), *Chenopodium album* L. Aggr. (280 ед.), *Elytrigia repens* (L.) Nevski (280 ед.), *Viola tricolor* L. (244 ед.), а в 2020 г. – *Cirsium arvense* (L.) Scop. (259 ед.), *Tripleurospermum inodorum* (L.) Sch. Bip. (252 ед.). Доля активных видов в 1923 г. составила 44 % (117 видов), а в 2020 г. – 24 % (45 видов). На момент 1923 г. *Cirsium incanum* (S.G. Gmel.) и *Cirsium arvense* (L.) Scop. рассматривались как один вид, поэтому практически невозможно судить о динамике фитоценотической активности данных видов.

По сравнению с 1923 г. не выявлены следующие виды (в скобках указана встречаемость в 1923 г.): *Lychnis flos-cuculi* L. (18,2 %), *Fagopyrum esculentum* Moench (7,7 %), *Scrophularia nodosa* L., *Pteridium aquilinum* (L.) Kuhn s. l. (0,8 %), *Cuscuta europea* L. (5 %), *Androsace septentrionalis* L. (3,9 %), *Polemonium caeruleum* L. (1,3 %), *Silene noctiflora* L. (10,9 %), *Gnaphalium sylvaticum* L. (2,9 %), *Spergularia rubra* (L.) J. et C. Presl (23,1 %), *Vaccaria hispanica* (Mill.) Rauschert (3,2 %), *Viola canina* L. (1,3 %), *Stachys annua* (L.) L. (2,1 %).

Выявлено 56 видов, активность которых существенно снизилась: *Achillea millefolium* L., *Alchemilla* sp., *Apera spica-venti* (L.) Beauv., *Brassica campestris* L., *Brunnera sibirica* Steven, *Capsella bursa-pastoris* (L.) Medik., *Carduus crispus* L., *Centaurea cyanus* L., *C. phrygia* L., *C. scabiosa* L., *Cerastium fontanum* Baumg., *Chenopodium album* L. Aggr., *Cirsium incanum* (S.G. Gmel.) Fisch., *Crepis tectorum* L., *Consolida regalis* Gray, *Dianthus deltoids* L., *Elytrigia repens* (L.) Nevski, *Equisetum pratense* Ehrh., *Erisimum cheiranthoides* L., *Fallopia convolvulus* (L.) A. Löve, *Galeopsis ladanum* L., *G. spesiosa* Mill., *G. tetrahit* L., *Gnaphalium uliginosum* L., *Gypsophila muralis* L., *Knautia arvensis* (L.) J.M. Coult., *Lappula squarrosa* (Retz.) Dumort., *Lapsana communis* L., *Lathyrus pratensis* L., *Leontodon autumnalis* L., *Leucanthemum vulgare* Lam., *Matricaria discoidea* DC., *Myosotis arvensis* (L.) Hill., *Neslia paniculata* (L.) Desv., *Odontites vulgaris* Moench, *Pastinaca sativa* L., *Phleum pratense* L., *Pimpinella saxifraga* L., *Plantago major* L., *Polygonum aviculare* L. s. str., *Potentilla anserina* L., *Rorippa palustris* (L.) Bess., *Rumex acetosella* L., *Scleranthus annuus* L., *Sedum telephium* L., *Silene pratensis* (Rafn) Godr., *S. vulgaris* (Moench.) Garcke., *Spergularia rubra* (L.) J. et C. Presl, *Stachys palustris* L., *Trifolium medium* L., *T. repens* L., *Urtica dioica* L., *Veronica serpyllifolia* L., *Vicia cracca* L., *Viola arvensis* Murray, *V. tricolor* L.

Несмотря на изменения в культуре земледелия, экологические ниши, освобожденные в результате снижения фитоценотической активности вышеперечисленных видов, были заняты 19 видами, активность которых возросла (в скобках указана: активность в 1923 г. / активность в 2020 г.): *Artemisia absinthium* L. (0/45), *Avena fatua* L. s. l. (14/100), *Barbarea arcuata* (Opiz ex J. Presl et C. Presl) Reichb. (8/44), *Brassica juncea* (L.) Czern. (6/21), *Bunias orientalis* L. (29/64), *Cirsium arvense* (L.) Scop. (0/259), *Convolvulus arvensis* L. (77/198), *Linaria vulgaris* Mill. (100/210), *Echinochloa crus-galli* (L.) Beauv. (3/150), *Equisetum arvense* L. (108/156), *Erodium cicutarium* (L.) L' Herit (9/145), *Fumaria officinalis* L. (28/145), *Galium aparine* L. (122/231), *Glechoma hederacea* L. (90/186), *Raphanus raphanistrum* L. (9/110), *Thlaspi arvense* L.

(18/102), *Tripleurospermum inodorum* (L.) Sch. Bip. (112/252), *Tussilago farfara* L. (74/132), *Stellaria graminea* L. (99/234). Увеличение видового разнообразия произошло в основном за счет малоактивных видов, чаще всего апофитов.

Выявлены и те виды, активность которых практически не изменилась: *Fagopyrum tataricum* (L.) Gaertn., *Mentha arvensis* L., *Persicaria lapathifolia* (L.) Delarbre, *Ranunculus repens* L., *Sinapis arvensis* L., *Sonchus arvensis* L., *Spergula arvensis* L., *Stellaria media* (L.) Vill. s. l., *Taraxacum officinale* Wigg., *Vicia hirsuta* (L.) Gray. Можно сказать, что именно эти виды проявляют наиболее высокие адаптивные свойства к изменению агроэкологических условий.

Выявлена высокая степень сходства видового разнообразия 1923 г. и 2020 г. Значение индекса Жаккара составило 79,4 % ед. для общего перечня и 89,1 % при сравнении перечней активных видов, аналогичные результаты получены при расчете индекса Чекановского – Сёренсена – 88,5 и 94,2 % соответственно. Индекс Шеннона – Уивера является мерой разнообразия, учитывающей не только количество видов, но и их встречаемость. Значение данного индекса как в 1923 г., так и в 2020 г. составило 4,7 ед. Несмотря на то, что общее количество видов в 2020 г. оказалось выше, многие из них имеют очень низкую активность.

Экологический анализ перечня видов (по шкалам Элленберга) показал, что в 1923 и в 2020 г. наиболее распространены виды, предпочитающие среднюю степень увлажнения почв (4 и 5 категория); умеренно- или высокоплодородные почвы (6 категория), реакцию среды от слабо-кислой до слабощелочной, избегающие сильнокислые почвы (7 категория); по требованиям к интенсивности освещения от теневыносливых до сильно светолюбивых (6, 7 и 8 категории).

### Заключение

1. Сравнительный анализ результатов исследований, проведенных А. А. Хребтовым в 1923 г. и нами в 2020 г., показал изменение активности представителей сегетальной флоры. В 1923 г. выявлено 137 видов из 127 родов и 33 семейств, а в настоящее время 193 вида из 135 родов из 31 семейства. Отмечено увеличение видовой (от 5,2 до 6,4 ед.) и родовой (от 3,8 до 4,5 ед.) насыщенности семейств.

2. По сравнению с 1923 г. не обнаружено 13 видов, 56 видов существенно снизили свою активность. Освободившиеся экологические ниши были заняты 19 видами, активность которых возросла, а также за счет внедрения ранее не проявлявших свою активность, неактивных и малоактивных в фитоценоотическом отношении видов, прежде всего апофитов. Несмотря на увеличение видового разнообразия в основном за счет апофитов, число фитоценоотически активных видов существенно сократилось.

3. Ретроспективное сравнение видового разнообразия (1923 г. и 2020 г.) показало высокую степень сходства видового разнообразия активных сегетальных видов (индекс Жаккара – 89,1 %; индекс Чекановского – Сёренсена – 94,2 %).

### Список литературы

1. Кондратков П. В., Третьякова А. С. Сегетальная флора Свердловской области // Вестник Оренбургского государственного педагогического университета. 2019. № 3. С. 26–37.

2. Марков М. В. Агрофитоценология. Казань : Изд-во Казанского ун-та, 1972. 272 с.
3. Braun-Blanquet J. Pflanzensociologie. 3 Aufl. Wien, 1964. 865 p.
4. Палкина Т. А. Флористический состав сорного компонента агроценозов на территории Рязанской области // Известия Тимирязевской сельскохозяйственной академии. 2011. № 4. С. 44–55.
5. Дидух Я. П. Проблемы активности видов растений // Ботанический журнал. 1982. Т. 67, № 7. С. 925.
6. Кошкин А. В., Никольский А. Н., Бочкарев Д. В. Изменение экологических условий как фактор динамики биоценотического состава растительности лугов // Известия высших учебных заведений. Поволжский регион. Естественные науки. 2020. № 1. С. 46–56.
7. Лихачев С. В. Элементы структуры засоренности агрофитоценозов ФГУП УОХ «Липовая гора» // Пермский аграрный вестник : сб. науч. тр. LXVII Всерос. науч.-практ. конф. молодых ученых, аспирантов, студентов. Пермь : Пермская ГСХА, 2008. С. 4–5.
8. Сюзев П. В. Конспект флоры Урала в пределах Пермской губернии. М. : И. Н. Кушнерев и К°, 1912. 206 с.
9. Хребтов А. А. Сорные растения, аборигены и колонисты в районе Липовой горы близ г. Перми // Известия Биологического научно-исследовательского института и биологической станции при Пермском университете. 1924. Т. 2, вып. 9. С. 377–386.
10. Федюнькин Д. Ф., Пономарев Н. А. Засоренность посевов, почв и семян и некоторые приемы борьбы с сорняками в условиях Молотовской области // Труды Молотовского сельскохозяйственного института имени Д. Н. Прянишникова. Молотов, 1957. Т. 15. С. 11–131.
11. Кольцов А. С. Некоторые особенности мер борьбы с сорняками в условиях Предуралья // Материалы научно-производственной конференции по борьбе с сорно-полевой растительностью. Киров, 1974. С. 94–98.
12. Маевский П. Ф. Флора средней полосы Европейской части России. 11-е изд. М. : Товарищество научных изданий КМК, 2014. 635 с.
13. Ellenberg H. Zeigerwerte der Gefasspflanzen Mitteleuropas. Gottingen : Goltze, 1974. 97 p.

### References

1. Kondratkov P.V., Tret'yakova A.S. Segetal flora of Sverdlovsk region. *Vestnik Orenburgskogo gosudarstvennogo pedagogicheskogo universiteta = Bulletin of Orenburg State Pedagogical University*. 2019;(3):26–37. (In Russ.)
2. Markov M.V. *Agrofitotsenologiya = Agrophytocenology*. Kazan: Izd-vo Kazanskogo un-ta, 1972:272. (In Russ.)
3. Braun-Blanquet J. *Pflanzensociologie. 3 Aufl.* Wien, 1964:865.
4. Palkina T.A. Floristic composition of the weed component of agrocenoses in the territory of the Ryazan region. *Izvestiya Timiryazevskoy sel'skokhozyaystvennoy akademii = Proceedings of Timiryazev Agricultural Academy*. 2011;(4):44–55. (In Russ.)
5. Didukh Ya.P. Problems of activity of plant species. *Botanicheskiy zhurnal = Botanical journal*. 1982;67(7):925. (In Russ.)
6. Koshkin A.V., Nikol'skiy A.N., Bochkarev D.V. Changes in ecological conditions as a factor in the dynamics of the biocenotic composition of meadow vegetation. *Izvestiya vysshikh uchebnykh zavedeniy. Povolzhskiy region. Estestvennye nauki = University proceedings. Volga region. Natural sciences*. 2020;(1):46–56. (In Russ.)
7. Likhachev S.V. Elements of the structure of weed infestation of agrophytocenoses in "Lipovaya Gora". *Permskiy agrarnyy vestnik: sb. nauch. tr. LXVII Vseros. nauch.-prakt. konf. molodykh uchennykh, aspirantov, studentov = Perm agrarian bulletin: proceedings of the 67<sup>th</sup> All-Russian scientific and practical conference of young scientists, postgraduate students, students*. Perm: Permskaya GSKhA, 2008:4–5. (In Russ.)

8. Syuzev P.V. *Konspekt flory Urala v predelakh Permskoy gubernii = Synopsis of the flora of the Urals within Perm province*. Moscow: I.N. Kushnerev i K<sup>o</sup>, 1912:206. (In Russ.)
9. Khrebtov A.A. Undesirable plant, aborigines and colonists in the Lipovaya Gora region near Perm. *Izvestiya Biologicheskogo nauchno-issledovatel'skogo instituta i biologicheskoy stantsii pri Permskom universitete = Proceedings of biological scientific and research institute and biological station of Perm University*. 1924;2(9):377–386. (In Russ.)
10. Fedyun'kin D.F., Ponomarev N.A. Infestation of crops, soils and seeds and some methods of undesirable plant control in the conditions of the Molotov region. *Trudy Molotovskogo sel'skokhozyaystvennogo instituta imeni D.N. Pryanishnikova = Proceedings of Molotov Agricultural Institute named after D.N. Pryanishnikov*. Molotov, 1957;15: 11–131. (In Russ.)
11. Kol'tsov A.S. Some features of weed control measures in the Cis-Urals. *Materialy nauchno-proizvodstvennoy konferentsii po bor'be s sorno-polevoy rastitel'nost'yu = Proceedings of scientific and practical conference on the on undesirable plants control*. Kirov, 1974:94–98. (In Russ.)
12. Maevskiy P.F. *Flora sredney polosy Evropeyskoy chasti Rossii. 11-e izd. = Flora of the middle zone of the European part of Russia. The 11<sup>th</sup> edition*. Moscow: Tovarishestvo nauchnykh izdaniy KMK, 2014:635. (In Russ.)
13. Ellenberg H. *Zeigerwerte der Gefasspflanzen Mitteleuropas*. Gottingen: Goltze, 1974:97.

#### Информация об авторах / Information about the authors

##### **Сергей Васильевич Лихачев**

кандидат сельскохозяйственных наук,  
доцент, доцент кафедры экологии,  
Пермский государственный аграрно-  
технологический университет имени  
академика Д. Н. Прянишникова (Россия,  
г. Пермь, ул. Петропавловская, 23)

E-mail: slichachev@yandex.ru

##### **Sergej V. Lihachev**

Candidate of agricultural sciences, associate  
professor, associate professor of the  
sub-department of ecology, Perm State  
Agro-Technological University  
(23 Petropavlovskaya street, Perm,  
Russia)

**Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов / The authors declare no conflicts of interests.**

**Поступила в редакцию / Received 08.04.2021**

**Поступила после рецензирования и доработки / Revised 20.01.2022**

**Принята к публикации / Accepted 06.02.2022**

УДК 581.6:582.893:581.141:58.08  
doi:10.21685/2307-9150-2022-1-4

## Семенная продуктивность *Heracleum sibiricum* (Apiaceae) в Московской области

В. Н. Годин<sup>1</sup>, Т. В. Архипова<sup>2</sup>, Г. К. Ботов<sup>3</sup>

<sup>1,2,3</sup>Московский педагогический государственный университет, Москва, Россия

<sup>1</sup>godinvn@yandex.ru, <sup>2</sup>tv.arkhipova@mpgu.su, <sup>3</sup>grishenka.botov@gmail.com

**Аннотация.** *Актуальность и цели.* *Heracleum sibiricum* формирует три типа цветков – обоеполые, тычиночные и пестичные и четыре типа особей по степени разветвленности соцветий (двойные зонтики на побегах I, I–II, I–III и I–IV порядков ветвления), которым соответствуют три типа синфлоресценций: единственный терминальный двойной зонтик, кисть из двойных зонтиков и метелка из двойных зонтиков. Данные о семенной продуктивности *H. sibiricum* отрывочны. Цель данной работы – изучение семенной продуктивности *Heracleum sibiricum* в Московской области с учетом степени разветвленности его синфлоресценций. *Материалы и методы.* Исследования проводили в естественных условиях Московской области с 2018 по 2021 г. по общепринятым методикам изучения семенного размножения растений. *Результаты.* Семенная продуктивность двойных зонтиков последовательно уменьшается с возрастанием порядка побега, на котором они образуются, однако потенциальная и реальная семенная продуктивность терминальных зонтиков всегда выше, чем отдельных двойных зонтиков на побегах следующих порядков. У особей с разной степенью разветвленности синфлоресценций семенная продуктивность двойных зонтиков на побегах одного порядка ветвления закономерно увеличивается с возрастанием разветвленности побеговой системы. Вклад семенной продуктивности двойных зонтиков в общую семенную продуктивность особей с увеличением степени разветвленности побеговой системы закономерно меняется: участие терминальных двойных зонтиков уменьшается, двойных зонтиков на побегах II и III порядков постепенно увеличивается за счет возрастания их числа. *Выводы.* *Heracleum sibiricum* характеризуется высокой потенциальной и реальной семенной продуктивностью (до 9800 семян в расчете на особь) и долей обоеполых и пестичных цветков, образующих полноценные и выполненные семена (96–98 %), что обеспечивает успешное семенное возобновление вида в естественных условиях произрастания.

**Ключевые слова:** *Heracleum sibiricum*, Apiaceae, семенная продуктивность

**Для цитирования:** Годин В. Н., Архипова Т. В., Ботов Г. К. Семенная продуктивность *Heracleum sibiricum* (Apiaceae) в Московской области // Известия высших учебных заведений. Поволжский регион. Естественные науки. 2022. № 1. С. 39–50. doi:10.21685/2307-9150-2022-1-4

## Seed production of *Heracleum sibiricum* (Apiaceae) in Moscow region

V.N. Godin<sup>1</sup>, T.V. Arkhipova<sup>2</sup>, G.K. Botov<sup>3</sup>

<sup>1,2,3</sup>Moscow State Pedagogical University, Moscow, Russia

<sup>1</sup>godinvn@yandex.ru, <sup>2</sup>tv.arkhipova@mpgu.su, <sup>3</sup>grishenka.botov@gmail.com

**Abstract.** *Background.* *Heracleum sibiricum* forms three types of flowers: perfect, staminate, and pistillate. Four types of *H. sibiricum* individuals have been identified according to

the degree of branching of the inflorescence (double umbels on shoots of I, I–II, I–III, and I–IV orders of branching), which correspond to three types of synflorescences: a single terminal double umbel, a raceme of double umbels, and a panicle of double umbels. Data on the seed set of *H. sibiricum* are fragmentary. The purpose of this research is to study the seed production of *Heracleum sibiricum* in the Moscow region, taking into account the degree of branching of its synflorescences. *Materials and methods.* Our studies were carried out in natural conditions of Moscow region from 2018 to 2021 according to generally accepted methods of studying plant seed sets. *Results.* The seed production of double umbels consistently decreases with an increase in the order of the shoot on which they are formed. However, the number of ovules and seed production of terminal umbels is always higher than that ones of individual double umbels on shoots of the following orders. In individuals with different degrees of synflorescences branching, the seed production of double umbels on shoots of the same branching order naturally increases with increasing branching of the shoot system. The contribution of the seed production of double umbels to the total seed production of individuals with an increase in the degree of branching of the shoot system naturally changes. The proportion of seeds from terminal double umbels decreases, but number of seeds from double umbels on shoots of II and III orders gradually increases due to an increase in their number. *Conclusions.* *Heracleum sibiricum* is characterized by high number of ovules and seed set (up to 9800 seeds per individual) and the proportion of perfect and pistillate flowers forming full seeds (96–98 %). These characteristics ensure its successful seed reproduction in natural conditions.

**Keywords:** *Heracleum sibiricum*, Apiaceae, seed production

**For citation:** Godin V.N., Arkhipova T.V., Botov G.K. Seed production of *Heracleum sibiricum* (Apiaceae) in Moscow region. *Izvestiya vysshikh uchebnykh zavedeniy. Povolzhskiy region. Estestvennye nauki = University proceedings. Volga region. Natural sciences.* 2022;(1):39–50. (In Russ.). doi:10.21685/2307-9150-2022-1-4

### Введение

Род *Heracleum* L. – один из крупных родов сем. Апиáceе, в котором насчитывается от 120 до 130 видов [1]. Семенная продуктивность – важный показатель существования вида в естественных условиях произрастания. Согласно данным литературы, у представителей рода *Heracleum* исследователи отмечают довольно высокую степень завязываемости семян, которая колеблется от 32,9 до 84,5 % в зависимости от видовой принадлежности [2–4]. Как отмечает К. Г. Ткаченко [4], снижение семенной продуктивности у изученных им видов данного рода происходит за счет образования большого числа щуплых семян. Такие невыполненные семена появляются в результате разрастания неопыленной завязи цветков, что может быть вызвано разными неблагоприятными факторами окружающей среды. Однако зачастую это может быть результатом методологического просчета исследователей, изучавших семенную продуктивность у представителей сем. Апиáceе. Как показали Р. Е. Левина [5] и наши исследования на примере *Aegopodium podagraria* L. [6], при выявлении потенциальной семенной продуктивности не следует учитывать тычиночные цветки, которые *a priori* не способны формировать семена.

В качестве объекта наших исследований выбран *Heracleum sibiricum* L. (борщевик сибирский) – двулетнее или многолетнее полурозеточное длительно вегетирующее травянистое растение со стержнекорневой системой, моно- или поликарпик [7]. *H. sibiricum* обладает еврозападносибирским ареалом, который охватывает Скандинавию, всю Восточную Европу, включая



европейскую часть России, Предкавказье, Западную Сибирь, Монголию. *H. sibiricum* – лугово-лесной мезофит, встречается от лесотундры до Средиземноморья, в горах поднимается до лесного пояса. По нашим данным [8], в Московской области у *H. sibiricum* формируются три типа цветков – обоеполые, тычиночные и пестичные. Нами также выявлено четыре варианта особей *H. sibiricum* по степени разветвленности соцветий (двойные зонтики на побегах I, I-II, I-III и I-IV порядков ветвления), которым соответствуют три типа синфлоресценций: единственный терминальный двойной зонтик, кисть из двойных зонтиков и метелка из двойных зонтиков [9]. Согласно данным литературы, семенная продуктивность одной особи *H. sibiricum* колеблется в довольно широких пределах: всего 400 семян [10], от 1000 до 1800 семян [7], но может достигать 5000–8000 семян [11, 12]. Однако данных о завязываемости семян у этого вида в доступной нам литературе не обнаружено. В связи с этим цель нашей работы – изучение семенной продуктивности *Heracleum sibiricum* в Московской области с учетом степени разветвленности его синфлоресценций.

### Материалы и методика

Изучение семенной продуктивности *H. sibiricum* проводили в естественных условиях Московской области (окрестности п. Павловская Слобода) с 2018 по 2021 г., полученные материалы обрабатывали в камеральных условиях. Основные исследования проведены в ценопопуляции, описанной в условиях разнотравно-купыревого луга, где проективное покрытие *H. sibiricum* достигало 10 %. При изучении семенной продуктивности *H. sibiricum* использовали общепринятые методики [2, 5, 13–16]. С целью характеристики семенной продуктивности у *H. sibiricum* определяли потенциальную семенную продуктивность (число семязачатков на особь), реальную семенную продуктивность (число спелых неповрежденных завязавшихся семян на особь) и процентное соотношение между этими показателями – процент завязывания семян или процент семенификации. Для этого на 20 модельных особях в естественных местообитаниях учитывали число всех двойных зонтиков в синфлоресценции, число лучей и простых зонтиков на побегах всех порядков ветвления. Число семязачатков в гинецее у всех представителей сем. *Ariaceae* строго фиксировано – два, так как у большинства видов этого семейства плод сухой колонковидный вислоплодник, распадающийся на два мерикарпия, которые в дальнейшем мы будем называть семенами. Подсчитывали число всех завязавшихся плодов в пределах как простых зонтиков, так и в пределах двойных зонтиков на побегах всех порядков ветвления в фазу молочно-восковой спелости, когда нет потерь от осыпания, и хорошо отличаются завязавшиеся плоды от недоразвитых и сформированные семена от недоразвитых семязачатков в пределах плода.

Все полученные данные обработаны методами вариационной статистики [17]. Для каждого изучаемого признака определяли пределы варьирования (min–max), среднее значение ( $M$ ), его ошибку ( $m$ ). Сравнение средних арифметических проводили с помощью  $t$ -критерия Стьюдента.

### Результаты и обсуждение

Наши исследования семенной продуктивности *H. sibiricum* в Московской области показали следующее. Последовательность формирования и

созревания плодов в синфлоресценции находится в прямой зависимости от последовательности цветения двойных зонтиков [18, 19]. Первыми начинают развиваться и созревают плоды в терминальных двойных зонтиках, затем в двойных зонтиках на побегах более высоких порядков. Временной разрыв между созреванием плодов в терминальном двойном зонтике и в двойном зонтике на побегах II порядка составляет от 5 до 12 дней. В пределах двойных зонтиков на побегах одного порядка ветвления формирование плодов, как и их цветение, происходит синхронно [18, 19]. По мере созревания плодов окраска их меняется от зеленой к желто-коричневой. Спустя 35–40 дней после начала формирования плодов они созревают и еще через 10–15 дней начинают осыпаться даже при слабом ветре.

Анализ полученных данных, представленных в табл. 1, показывает, что количественные показатели семенной продуктивности (число семязачатков и число завязавшихся семян) напрямую зависят от степени разветвленности синфлоресценций *H. sibiricum*. С другой стороны, в целом можно констатировать очень высокую завязываемость семян у данного вида, которая варьировала от 91,4 до 100 %. Рассмотрим более подробно компоненты семенной продуктивности у особей, отличающихся по разветвленности их синфлоресценций.

Таблица 1

Семенная продуктивность особей *Heracleum sibiricum*  
с разным типом строения синфлоресценций

Признак	Min–max	$M \pm m$
1	2	3
<b>Особи с зонтиками на побегах I порядка</b>		
Терминальные двойные зонтики на главных побегах		
Число терминальных двойных зонтиков, шт.	1	1
Число простых зонтиков в терминальном зонтике, шт.	13–19	16,0 ± 1,5
Число семязачатков в простом зонтике, шт.	22–54	36,0 ± 6,1
Число семян в простом зонтике, шт.	22–53	35,5 ± 6,0
Число семязачатков в терминальном зонтике, шт.	286–1026	591,0 ± 134,8
Число семян в терминальном двойном зонтике, шт.	286–1007	581,5 ± 131,5
Процент семенификации, %	96,4–100	98,6 ± 0,7
<b>Особи с зонтиками на побегах I–II порядка</b>		
Терминальные двойные зонтики на главных побегах		
Число терминальных двойных зонтиков, шт.	1	1
Число простых зонтиков в терминальном зонтике, шт.	13–26	19,1 ± 0,7
Число семязачатков в простом зонтике, шт.	10–60	36,4 ± 3,1
Число семян в простом зонтике, шт.	9–60	35,4 ± 3,1
Число семязачатков в терминальном зонтике, шт.	210–1404	697,0 ± 70,5
Число семян в терминальном двойном зонтике, шт.	189–1380	678,9 ± 70,5
Процент семенификации, %	90,0–100	96,7 ± 0,6

## Продолжение табл. 1

1	2	3
<b>Двойные зонтики на побегах II порядка</b>		
Число двойных зонтиков, шт.	1–4	2,1 ± 0,2
Число простых зонтиков в двойном зонтике, шт.	12–21	15,8 ± 0,5
Число семязачатков в простом зонтике, шт.	6–38	20,6 ± 2,1
Число семян в простом зонтике, шт.	5–37	20,0 ± 2,1
Число семязачатков в двойном зонтике, шт.	102–760	331,1 ± 40,7
Число семян в двойном зонтике, шт.	85–756	322,0 ± 40,7
Процент семенификации, %	83,3–100	96,3 ± 1,0
<b>В целом на особь</b>		
Число семязачатков, шт.	876–2892	1425,2 ± 122,7
Число семян, шт.	841–2892	1386,7 ± 121,8
Процент семенификации, %	92,0–100	97,1 ± 0,4
<b>Особи с зонтиками на побегах I–III порядков</b>		
<b>Терминальные двойные зонтики на главных побегах</b>		
Число терминальных двойных зонтиков, шт.	1	1
Число простых зонтиков в терминальном зонтике, шт.	17–21	19,3 ± 0,7
Число семязачатков в простом зонтике, шт.	28–72	49,7 ± 6,6
Число семян в простом зонтике, шт.	27–72	49,0 ± 6,8
Число семязачатков в терминальном зонтике, шт.	578–1440	958,7 ± 130,4
Число семян в терминальном двойном зонтике, шт.	561–1440	945,7 ± 134,5
Процент семенификации, %	95,2–100	98,1 ± 0,8
<b>Двойные зонтики на побегах II порядка</b>		
Число двойных зонтиков, шт.	2–4	2,8 ± 0,3
Число простых зонтиков в двойном зонтике, шт.	16–19	17,7 ± 0,5
Число семязачатков в простом зонтике, шт.	16–60	40,3 ± 5,7
Число семян в простом зонтике, шт.	14–60	39,3 ± 5,9
Число семязачатков в двойном зонтике, шт.	256–960	714,0 ± 97,8
Число семян в двойном зонтике, шт.	224–960	696,3 ± 100,8
Процент семенификации, %	87,5–100	96,3 ± 1,6
<b>Двойные зонтики на побегах III порядка</b>		
Число двойных зонтиков, шт.	1–3	2,2 ± 0,3
Число простых зонтиков в двойном зонтике, шт.	12–16	14,0 ± 0,7
Число семязачатков в простом зонтике, шт.	0–28	14,7 ± 4,6
Число семян в простом зонтике, шт.	0–27	13,5 ± 4,3
Число семязачатков в двойном зонтике, шт.	0–416	214,7 ± 68,7
Число семян в двойном зонтике, шт.	0–384	197,7 ± 64,5
Процент семенификации, %	0–96,4	60,9 ± 17,6

Продолжение табл. 1

1	2	3
<b>В целом на особь</b>		
Число семязачатков, шт.	1356–5920	3456,0 ± 565,2
Число семян, шт.	1239–5780	3350,5 ± 566,2
Процент семенификации, %	91,4–99,3	96,1 ± 1,1
<b>Особь с зонтиками на побегах I–IV порядков</b>		
<b>Терминальные двойные зонтики на главных побегах</b>		
Число терминальных двойных зонтиков, шт.	1	1
Число простых зонтиков в терминальном зонтике, шт.	20–21	20,7 ± 0,2
Число семязачатков в простом зонтике, шт.	38–80	58,7 ± 7,2
Число семян в простом зонтике, шт.	37–79	57,7 ± 7,2
Число семязачатков в терминальном зонтике, шт.	760–1680	1213,3 ± 149,4
Число семян в терминальном двойном зонтике, шт.	740–1659	1192,7 ± 149,4
Процент семенификации, %	97,4–98,8	98,1 ± 0,2
<b>Двойные зонтики на побегах II порядка</b>		
Число двойных зонтиков, шт.	3–4	3,7 ± 0,2
Число простых зонтиков в двойном зонтике, шт.	19–20	19,3 ± 0,2
Число семязачатков в простом зонтике, шт.	28–64	47,7 ± 5,6
Число семян в простом зонтике, шт.	26–64	46,8 ± 5,8
Число семязачатков в двойном зонтике, шт.	560–1280	921,0 ± 108,6
Число семян в двойном зонтике, шт.	520–1280	904,8 ± 113,6
Процент семенификации, %	92,6–100	97,6 ± 1,0
<b>Двойные зонтики на побегах III порядка</b>		
Число двойных зонтиков, шт.	4–5	4,3 ± 0,2
Число простых зонтиков в двойном зонтике, шт.	13–16	14,7 ± 0,5
Число семязачатков в простом зонтике, шт.	24–42	32,0 ± 2,9
Число семян в простом зонтике, шт.	23–42	31,2 ± 3,1
Число семязачатков в двойном зонтике, шт.	312–576	468,0 ± 41,4
Число семян в двойном зонтике, шт.	299–570	455,5 ± 43,7
Процент семенификации, %	92,9–100	97,0 ± 1,0
<b>Двойные зонтики на побегах IV порядка</b>		
Число двойных зонтиков, шт.	1–4	2,3 ± 0,5
Число простых зонтиков в двойном зонтике, шт.	10–12	11,0 ± 0,3
Число семязачатков в простом зонтике, шт.	6–10	9,0 ± 0,6
Число семян в простом зонтике, шт.	5–10	8,0 ± 0,7
Число семязачатков в двойном зонтике, шт.	60–120	99,7 ± 8,6
Число семян в двойном зонтике, шт.	50–110	88,7 ± 9,4
Процент семенификации, %	75,0–100	88,1 ± 3,1

Окончание табл. 1

1	2	3
В целом на особь		
Число семязачатков, шт.	4644–9930	6889,3 ± 782,7
Число семян, шт.	4492–9862	6728,7 ± 813,7
Процент семенификации, %	93,2–99,8	97,2 ± 0,9

**Примечание.** Условные обозначения: min–max – минимальные и максимальные значения признака;  $M$  – среднее арифметическое значение признака;  $m$  – его ошибка.

Двойные зонтики на побегах I–IV порядков вносят разный вклад в общую семенную продуктивность особей, различающихся строением синфлоресценций (рис. 1).

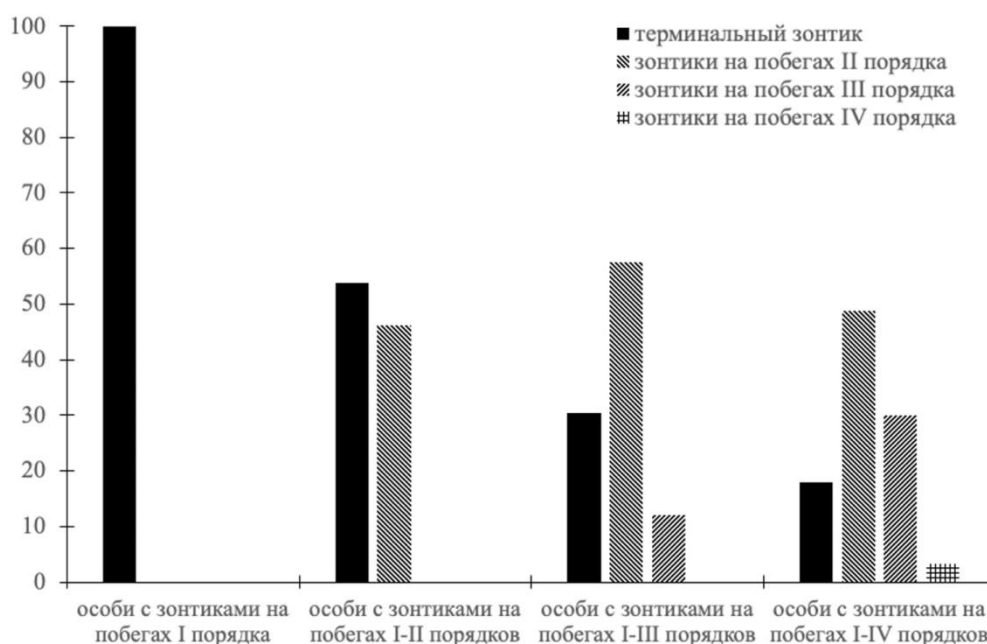


Рис. 1. Вклад двойных зонтиков на побегах разного порядка в семенную продуктивность у особей с разной степенью разветвленности синфлоресценций у *Heracleum sibiricum*

**Примечание.** Условные обозначения: по оси абсцисс – типы особей по степени разветвленности синфлоресценций, по оси ординат – доля (в процентах) семенной продуктивности двойных зонтиков в зависимости от порядка побега, на котором они формируются.

Терминальные двойные зонтики – самые крупные двойные зонтики в синфлоресценции у всех особей *H. sibiricum*. В сравнении с другими двойными зонтиками в них формируется максимальное число семязачатков, из которых образуется максимальное число полноценных семян (в расчете на отдельный зонтик). При этом отмечается увеличение как потенциальной, так

и реальной семенной продуктивности терминальных двойных зонтиков с увеличением степени разветвленности синфлоресценций (табл. 1). Так, например, число семязачатков в терминальном двойном зонтике у неразветвленных особей в два раза меньше, чем у таких же зонтиков у особей с самой разветвленной побеговой системой. Однако процент семенификации цветков в терминальных двойных зонтиках не зависит от особенностей строения синфлоресценций и составляет около 98 %.

Количественные показатели двойных зонтиков на побегах II порядка всегда меньше, чем терминальных двойных зонтиков: в первых образуется на 25–50 % меньше семязачатков, чем у вторых (табл. 1). Это обусловлено как общим уменьшением размерных показателей двойных зонтиков на побегах II порядка в сравнении с терминальными двойными зонтиками, так и увеличением доли тычиночных цветков у первых и связанным с этим снижением числа обоеполых и пестичных цветков, которые способны завязывать плоды и формировать семена. Однако в связи с тем, что в синфлоресценции образуется несколько (до 6) двойных зонтиков на побегах II порядка и всегда единственный терминальный двойной зонтик, вклад последнего в общую семенную продуктивность особи снижается (рис. 1). У особей с двойными зонтиками на побегах II порядка наблюдается такая же закономерность, как и у терминальных двойных зонтиков: с возрастанием степени разветвленности синфлоресценций параметры потенциальной и реальной семенной продуктивности увеличиваются. Например, число семязачатков в двойных зонтиках на побегах II порядка у особей с двумя порядками ветвления главного побега почти в три раза меньше, чем у таких же зонтиков у особей с самыми разветвленными синфлоресценциями: 331,1 и 912,0 соответственно.

С увеличением порядка побега в синфлоресценции происходит дальнейшее уменьшение как размерных показателей двойных зонтиков на побегах III порядка по сравнению с зонтиками на побегах предыдущего порядка, так и показателей их семенной продуктивности. Например, реальная семенная продуктивность двойных зонтиков на побегах III порядка на 50–70 % меньше, чем реальная семенная продуктивность двойных зонтиков на побегах II порядка. Следует отметить, что встречаются особи *H. sibiricum*, у которых двойные зонтики на побегах III порядка образуют исключительно тычиночные цветки. Иными словами, у таких особей семена формируются только в двойных зонтиках на побегах I и II порядков. Именно этим объясняется довольно сильное варьирование показателей семенной продуктивности у двойных зонтиков на побегах III порядка и значительно более низкие у них параметры завязываемости семян: 60,9 % в среднем при широком варьировании от 0 до 96,4 %. Если сравнивать особи с разной степенью разветвленности синфлоресценций, то отмечается указанная выше закономерность в увеличении показателей семенной продуктивности с возрастанием степени разветвленности побеговой системы (табл. 1): двойные зонтики на побегах III порядка у самых разветвленных особей формируют более чем в два раза больше семязачатков, чем такие же зонтики у менее разветвленных особей. В этом же направлении изменяется вклад двойных зонтиков на побегах III порядка в общую семенную продуктивность особи (рис. 1). Если у особей с двойными зонтиками на побегах I–III порядков доля семян в двойных зонтиках побегах III порядка составляет лишь 12 % от общего числа образуемых особью семян,

то в случае особей с двойными зонтиками на побегах I–IV порядков – увеличивается до 30 %. Данный факт обусловлен тем, что хотя число цветков, дающих семена, в зонтиках на побегах II порядка выше, чем в двойных зонтиках на побегах III порядка, однако общее число таких двойных зонтиков на побегах III порядка на 60 % больше, чем на побегах II порядка.

Двойные зонтики на побегах IV порядка, как и в целом особи с таким вариантом строения синфлоресценций, встречаются довольно редко. У таких зонтиков продолжается последовательное уменьшение как размерных показателей, так и параметров семенной продуктивности в сравнении с двойными зонтиками на побегах III порядка. Последнее обусловлено значительным увеличением числа тычиночных цветков и соответственно снижением числа обоеполых цветков, способных формировать семена. Тем не менее даже в двойных зонтиках на побегах IV порядка образуются полноценные семена и процент семенификации довольно высокий – 88,1 % в среднем (табл. 1).

Общее число семян, образуемых особью, напрямую зависит от особенностей строения синфлоресценции. Если процент семенификации особей с разной степенью разветвленности побеговой системы варьирует незначительно, то потенциальная и реальная семенная продуктивность изменяется кардинально. Неразветвленные особи образуют от 286 до 1007 семян. Увеличение общего числа обоеполых и пестичных цветков за счет возрастания числа двойных зонтиков на побегах разных порядков ветвления способствует формированию более высокой семенной продуктивности. Например, у самых разветвленных особей число семян в расчете на особь может достигать 9862. На наш взгляд именно этим обусловлен такой большой разброс литературных данных о числе образуемых *H. sibiricum* семян.

Семенное возобновление – преобладающий способ самоподдержания популяций *H. sibiricum*. Вегетативное размножение у этого вида возможно только путем партикуляции особей в сенильном периоде онтогенеза и малоэффективно [7]. Образование большого числа семян обеспечивает успешное существование вида в разных типах сообществ, где он может быть ассектатором, доминантом, создателем и эдификатором на протяжении довольно обширного ареала от лесотундры до субтропиков. *H. sibiricum* произрастает на материковых лугах лесной зоны, в прирусловой и центральной частях поймы, среди кустарников по берегам рек, на опушках и на лужайках влажных лесов, в светлых березово-осиновых и березово-еловых лесах, вдоль обочин дорог, на межах, мусорных местах около селений [7].

### Заключение

1. Изучаемый вид характеризуется высокой потенциальной и реальной семенной продуктивностью (до 9800 семян в расчете на особь) и долей обоеполых и пестичных цветков, образующих полноценные и выполненные семена (96–98 %), что определяется степенью разветвленности синфлоресценций.

2. В пределах особи параметры семенной продуктивности двойных зонтиков последовательно уменьшаются с возрастанием порядка побега, на котором они образуются, однако потенциальная и реальная семенная продуктивность терминальных зонтиков всегда выше, чем отдельных двойных зонтиков на побегах следующих порядков.

3. У особей с разной степенью разветвленности синфлоресценций параметры семенной продуктивности двойных зонтиков на побегах одного порядка ветвления закономерно увеличиваются с возрастанием разветвленности побеговой системы.

4. Вклад семенной продуктивности двойных зонтиков в общую семенную продуктивность особей с увеличением степени разветвленности побеговой системы закономерно меняется: участие терминальных двойных зонтиков уменьшается, двойных зонтиков на побегах II и III порядков постепенно увеличивается за счет возрастания их числа.

#### Список литературы

1. Plunkett G. M., Pimenov M. G., Reduron J. P. [et al.] *Apiaceae* // *Flowering Plants. Eudicots*. 2018. Vol. 15. P. 9–206.
2. Тюрина Е. В. Интродукция зонтичных в Сибири. Новосибирск : Наука, 1978. 240 с.
3. Ткаченко К. Г. Семенная продуктивность и качество семян у некоторых видов рода *Heracleum* L., интродуцированных в Ленинградскую область // *Растительные ресурсы*. 1985. Т. 21, вып. 3. С. 309–315.
4. Ткаченко К. Г. Особенности цветения и семенная продуктивность некоторых видов *Heracleum* L., выращенных в Ленинградской области // *Растительные ресурсы*. 1989. Т. 25, вып. I. С. 52–61.
5. Левина Р. Е. Репродуктивная биология семенных растений (Обзор проблемы). М. : Наука, 1981. 96 с.
6. Годин В. Н., Архипова Т. В. Семенная продуктивность *Aegopodium podagraria* (Apiaceae) в Московской области // *Известия высших учебных заведений. Поволжский регион. Естественные науки*. 2019. № 3. С. 5–15.
7. Сацыперова И. Ф. Борщевик сибирский // *Биологическая флора Московской области*. М. : МГУ, 1975. Вып. 2. С. 124–136.
8. Godin V. N., Ialamova Z. I. Sexual types of flowers morphology in *Heracleum sibiricum* (Apiaceae) // *BIO Web of Conferences*. 2020. Vol. 24. P. 00025.
9. Годин В. Н., Архипова Т. В., Яламова Ж. И. Проявление полового полиморфизма в соцветиях *Heracleum sibiricum* (Apiaceae) в Московской области // *Ботанический журнал*. 2021. Т. 106, № 6. С. 540–555.
10. Работнов Т. А., Ларин И. В., Агабян Ш. М. [и др.]. *Umbelliferae – Зонтичные* // *Кормовые растения сенокосов и пастбищ СССР*. М. ; Л. : Государственное изд-во сельскохозяйственной литературы, 1956. Т. 3. С. 87–192.
11. Скрябин Н. С., Вишневецкая В. И., Мейснер А. Ф. Агротехника луговодства и новых кормовых культур. Горский : ОГИЗ, 1940. 208 с.
12. Работнов Т. А. Луговые сорняки и методы борьбы с ними. М. : Сельхозгиз, 1949. 245 с.
13. Работнов Т. А. Итоги изучения семенного размножения растений на лугах СССР // *Ботанический журнал*. 1969. Т. 54, № 6. С. 817–833.
14. Вайнагий И. В. Методика статистической обработки материала по семенной продуктивности *Potentilla aurea* L. // *Растительные ресурсы*. 1973. Т. 9, № 2. С. 287–296.
15. Вайнагий И. В. О методике изучения семенной продуктивности растений // *Ботанический журнал*. 1974. Т. 59, № 6. С. 826–831.
16. Тюрина Е. В. К методике определения семенной продуктивности видов сем. Apiaceae // *Растительные ресурсы*. 1984. Т. 20, вып. 4. С. 572–577.
17. Sokal R. R., Rohlf F. J. *Biometry: the principles and practice of statistics in biological research*. New York : W. H. Freeman and Co, 2012. 937 p.
18. Годин В. Н., Архипова Т. В., Яламова Ж. И. Биология цветения *Heracleum sibiricum* (Apiaceae) в Московской области // *Известия высших учебных заведений. Поволжский регион. Естественные науки*. 2021. № 2. С. 14–25.



19. Годин В. Н., Перкова Т. В. Биология цветения и половой полиморфизм у видов семейства Апиáceе (Московская область) // Ботанический журнал. 2017. Т. 102, № 1. С. 35–47.

### References

1. Plunkett G.M., Pimenov M.G., Reduron J.P. [et al.] Apiaceae. *Flowering Plants*. Eudicots. 2018;15:9–206.
2. Tyurina E.V. *Introduktsiya zontichnykh v Sibiri = Introduction of umbellate in Siberia*. Novosibirsk: Nauka, 1978:240. (In Russ.)
3. Tkachenko K.G. Seed production and quality of seeds in some species of *Heracleum* L., introduced into Leningrad region. *Rastitel'nye resursy = Plant resources*. 1985;21(3): 309–315. (In Russ.)
4. Tkachenko K.G. Features of flowering and seed production of some species of *Heracleum* L. grown in Leningrad region. *Rastitel'nye resursy = Plant resources*. 1989;25(1): 52–61. (In Russ.)
5. Levina R.E. *Reproduktivnaya biologiya semennykh rasteniy (Obzor problemy) = Reproductive biology of seed plants (a review of issue)*. Moscow: Nauka, 1981:96. (In Russ.)
6. Godin V.N., Arkhipova T.V. Seed production *Aegopodium podagraria* (Apiaceae) in Moscow region. *Izvestiya vysshikh uchebnykh zavedeniy. Povolzhskiy region. Estestvennye nauki = University proceedings. Volga region. Natural sciences*. 2019;(3):5–15. (In Russ.)
7. Satsyperova I.F. *Heracleum sibiricum*. *Biologicheskaya flora Moskovskoy oblasti = Biological flora in Moscow region*. Moscow: MGU, 1975;(2):124–136. (In Russ.)
8. Godin V.N., Yalamova Z.I. Sexual types of flowers morphology in *Heracleum sibiricum* (Apiaceae). *BIO Web of Conferences*. 2020;24:00025.
9. Godin V.N., Arkhipova T.V., Yalamova Zh.I. The manifestation of polymorphism in the inflorescences of *Heracleum sibiricum* (Apiaceae) in Moscow region. *Botanicheskii zhurnal = Botanical journal*. 2021;106(6):540–555. (In Russ.)
10. Rabotnov T.A., Larin I.V., Agabanyan Sh.M. [et al.]. *Umbelliferae – umbellate. Kormovye rasteniya senokosov i pastbishch SSSR = Forage plants of hayfields and pastures of the USSR*. Moscow; Leningrad: Gosudarstvennoe izd-vo sel'skokhozyaystvennoy literatury, 1956;3:87–192. (In Russ.)
11. Skryabin N.S., Vishnevskaya V.I., Meysner A.F. *Agrotekhnika lugovodstva i novykh kormovykh kul'tur = Agricultural technology of grassland and new fodder crops*. Gorshiy: OGIZ, 1940:208. (In Russ.)
12. Rabotnov T.A. *Lugovye sornyaki i metody bor'by s nimi = Meadow weeds and methods of dealing with them*. Moscow: Sel'khozgiz, 1949:245. (In Russ.)
13. Rabotnov T.A. Results of the study of seed propagation of plants in the meadows of the USSR. *Botanicheskii zhurnal = Botanical journal*. 1969;54(6):817–833. (In Russ.)
14. Vaynagi I.V. The method of statistical processing of material on *Potentilla aurea* L. seed productivity. *Rastitel'nye resursy = Plant resources*. 1973;9(2):287–296. (In Russ.)
15. Vaynagi I.V. On the method of studying the seed productivity of plants. *Botanicheskii zhurnal = Botanical journal*. 1974;59(6):826–831. (In Russ.)
16. Tyurina E.V. On the method of determining Apiaceae seed productivity. *Rastitel'nye resursy = Plant resources*. 1984;20(4):572–577. (In Russ.)
17. Sokal R.R., Rohlf F.J. *Biometry: the principles and practice of statistics in biological research*. New York: W.H. Freeman and Co, 2012:937.
18. Godin V.N., Arkhipova T.V., Yalamova Zh.I. Biology of flowering *Heracleum sibiricum* (Apiaceae) in Moscow region. *Izvestiya vysshikh uchebnykh zavedeniy. Povolzhskiy region. Estestvennye nauki = University proceedings. Volga region. Natural sciences*. 2021;(2):14–25. (In Russ.)

19. Godin V.N., Perkova T.V. Biology of flowering and sexual polymorphism in species of *Apiaceae* (Moscow region). *Botanicheskiy zhurnal = Botanical journal*. 2017;102(1): 35–47. (In Russ.)

#### **Информация об авторах / Information about the authors**

***Владимир Николаевич Годин***

доктор биологических наук, доцент,  
профессор кафедры ботаники,  
Московский педагогический  
государственный университет (Россия,  
г. Москва, ул. Малая Пироговская, 1,  
корп. 1)

E-mail: godinvn@yandex.ru

***Vladimir N. Godin***

Doctor of biological sciences, associate  
professor, professor of the sub-department  
of botany, Moscow State Pedagogical  
University (building 1, 1 Malaya  
Pirogovskaya street, Moscow, Russia)

***Татьяна Валентиновна Архипова***

кандидат сельскохозяйственных наук,  
доцент кафедры ботаники, Московский  
педагогический государственный  
университет (Россия, г. Москва,  
ул. Малая Пироговская, 1, корп. 1)

E-mail: tv.arkhipova@mpgu.su

***Tatiana V. Arkhipova***

Candidate of agricultural sciences,  
associate professor of the sub-department  
of botany, Moscow State Pedagogical  
University (building 1, 1 Malaya  
Pirogovskaya street, Moscow, Russia)

***Григорий Константинович Ботов***

студент, Московский педагогический  
государственный университет (Россия,  
г. Москва, ул. Малая Пироговская, 1,  
корп. 1)

E-mail: grishenka.botov@gmail.com

***Grigori K. Botov***

Student, Moscow State Pedagogical  
University (building 1, 1 Malaya  
Pirogovskaya street, Moscow, Russia)

**Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов / The authors declare no conflicts of interests.**

**Поступила в редакцию / Received 16.11.2021**

**Поступила после рецензирования и доработки / Revised 15.01.2022**

**Принята к публикации / Accepted 28.02.2022**

УДК 581.1

doi:10.21685/2307-9150-2022-1-5

## Оценка влияния биопрепаратов на морфометрические и физиологические показатели растений-ремедиантов в условиях нефтяного загрязнения почв

Ю. М. Сотникова<sup>1</sup>, А. С. Григориади<sup>2</sup>, В. В. Федяев<sup>3</sup>,  
М. И. Гарипова<sup>4</sup>, Р. Г. Фархутдинов<sup>5</sup>

<sup>1,2,3,4,5</sup>Башкирский государственный университет, Уфа, Россия

<sup>1</sup>sotnikova-bashedu@mail.ru, <sup>2</sup>nysha111@yandex.ru, <sup>3</sup>vadim.fedyayev@gmail.com,

<sup>4</sup>margaritag@list.ru, <sup>5</sup>frg2@mail.ru

**Аннотация.** *Актуальность и цели.* Растения толерантные к многочисленным загрязняющим веществам окружающей среды часто используются в фиторемедиации, однако при высоких концентрациях загрязнителя в почве у растений нарушаются рост и развитие. В этой связи представляется важным поиск препаратов способных повысить устойчивость растений к действию поллютантов. Одним из таких способов является подбор комплекса биопрепаратов, который сочетает способность к деградации нефти и стимулированию роста растений. Целью данного исследования являлась сравнительная оценка влияния комплексов биопрепаратов на ростовые и физиологические показатели растений, растущих в условиях почвенного нефтяного загрязнения. *Материалы и методы.* В серую лесную почву вносили нефть в концентрации 4 % от сухой массы почвы. После равномерного распределения поллютанта в почве вносили в нее биопрепараты «Ленойл», «Елена» и «Азолен» и затем сажали семена люцерны и ржи. Проводили сравнительную оценку влияния биопрепаратов, а также комплексов препаратов «Ленойл + Елена» и «Ленойл + Азолен» на морфометрические и физиологические показатели растений. *Результаты и выводы.* Биопрепарат «Елена» показал наибольшее ростостимулирующее воздействие на растения люцерны посевной и ржи посевной в условиях нефтяного загрязнения в концентрации 4 %. В меньшей степени на ростовые показатели растений повлияли препараты «Ленойл» и «Азолен». Применение биопрепаратов приводило к увеличению содержания хлорофилла *a* и *b*, каротиноидов и активности фермента каталазы. Установлена видовая специфичность действия биопрепаратов на физиологические показатели, так при применении биопрепарата «Елена» была выше концентрация хлорофиллов *a*, *b* и каротиноидов у люцерны посевной, представителя семейства – Бобовых, а при использовании биопрепарата «Азолен» лучше были показатели у ржи посевной, которая относится к семейству Злаковые. Применение биопрепаратов «Елена» и «Азолен» после использования препарата «Ленойл» приводило к снижению активности ростовых процессов у исследуемых растений.

**Ключевые слова:** фиторемедиация, нефтяное загрязнение почвы, биопрепараты, содержание хлорофилла и каротиноидов, активность каталазы

**Для цитирования:** Сотникова Ю. М., Григориади А. С., Федяев В. В., Гарипова М. И., Фархутдинов Р. Г. Оценка влияния биопрепаратов на морфометрические и физиологические показатели растений-ремедиантов в условиях нефтяного загрязнения почв // Известия высших учебных заведений. Поволжский регион. Естественные науки. 2022. № 1. С. 51–63. doi:10.21685/2307-9150-2022-1-5

## **The effect's evaluation of biological products on the morphometric and physiological parameters of plants-remediants in conditions of soil oil pollution**

**Yu.M. Sotnikova<sup>1</sup>, A.S. Grigoriadi<sup>2</sup>, V.V. Fedyaev<sup>3</sup>,  
M.I. Garipova<sup>4</sup>, R.G. Farkhutdinov<sup>5</sup>**

<sup>1,2,3,4,5</sup>Bashkir State University, Ufa, Russia

<sup>1</sup>sotnikova-bashedu@mail.ru, <sup>2</sup>nysha111@yandex.ru, <sup>3</sup>vadim.fedyaev@gmail.com,  
<sup>4</sup>margaritag@list.ru, <sup>5</sup>frg2@mail.ru

**Abstract.** *Background.* Plants are tolerant to numerous environmental pollutants and are often used in phytoremediation strategies, but high pollutant concentrations disrupt the growth and development of the plants themselves. In this regard, it seems important to use additional methods for increasing the resistance of plants to the action of pollutants. One of these methods is the use of biological products based on hydrocarbon-oxidizing microorganisms, which combine the ability to destroy oil and stimulate plant growth in the same bacterial culture. The purpose of this study was a comparative assessment of the effect of biological products on the growth rates of phytoremediated plants under conditions of soil oil pollution. *Materials and methods.* Oil was added to the gray forest soil at a concentration of 4 % of the dry mass of the soil. After the uniform distribution of the pollutant in the soil, biopreparations “Lenoil”, “Elena” and “Azolene” were introduced into it, and then alfalfa and rye seeds were planted. A comparative assessment of the effect of biopreparations, as well as complexes of drugs “Lenoil + Elena” and “Lenoil + Azolene” on the morphometric parameters of plants was carried out. *Results and conclusions.* Biopreparation “Elena” showed the greatest growth-stimulating effect on plants of alfalfa and rye in conditions of oil pollution at a concentration of 4 %. To a lesser extent, the growth performance of plants was influenced by the preparations “Lenoil” and “Azolene”. The use of biological products led to an increase in the content of chlorophyll *a* and *b*, carotenoids, and the activity of the enzyme catalase. The species specificity of the action of biological products on physiological indicators was established, so when using the biological product “Elena”, the concentration of chlorophylls *a*, *b* and carotenoids was higher in alfalfa, a representative of the family – Legumes, and when using the biological product “Azolene”, indicators were better in rye, which belongs to the Cereals family. The use of biological products “Elena” and “Azolene” after using the drug “Lenoil” led to a decrease in the activity of growth processes in the studied plants.

**Keywords:** phytoremediation, soil oil pollution, biological products, chlorophyll and carotenoid content, catalase activity

**For citation:** Sotnikova Yu.M., Grigoriadi A.S., Fedyaev V.V., Garipova M.I., Farkhutdinov R.G. The effect's evaluation of biological products on the morphometric and physiological parameters of plants-remediants in conditions of soil oil pollution. *Izvestiya vysshikh uchebnykh zavedeniy. Povolzhskiy region. Estestvennye nauki = University proceedings. Volga region. Natural sciences.* 2022;(1):51–63. (In Russ.). doi:10.21685/2307-9150-2022-1-5

## Введение

Известно, что достаточно результативными в процессах деструкции углеводородов нефти являются микроорганизмы представители р. *Pseudomonas* [1, 2]<sup>1</sup>. Бактерии р. *Pseudomonas* входят в состав ряда биопрепаратов, применяемых для очистки от нефтяного загрязнения почвы и водных объектов [2–4]. Кроме того, среди углеводородоокисляющих микроорганизмов есть штаммы, которые благодаря синтезу различных биологически активных веществ (фитогормонов, витаминов, вторичных метаболитов и пр.) стимулируют рост и развитие растений-фиторемедиантов, которые необходимы для поглощения из почвы и аккумуляции некоторых неорганических загрязнителей [5–8], в первую очередь тяжелых металлов, попадающих в почву при нефтяном загрязнении. Совместное применение фиторемедиантов с микробными препаратами является важным приемом интенсивной рекультивации земель [9–13]. Эффективность некоторых препаратов была доказана в ряде исследований [7, 8, 11–18]. К примеру, биопрепараты «Елена» и «Азолен» оказывают ростостимулирующее воздействие на растения, тем самым повышая продуктивность некоторых культур, увеличивая урожайность и повышая сопротивляемость к различным заболеваниям. Препарат «Ленойл» проявил себя как один из эффективных деструкторов нефти и нефтепродуктов. Его применение увеличивает степень разложения поллютанта практически до 75 % [19].

Целью данного исследования являлась сравнительная оценка влияния биопрепаратов на ростовые и физиологические показатели растений-ремедиантов, растущих в условиях почвенного нефтяного загрязнения.

## Материалы и методы

В ходе предварительных исследований нами было установлено, что наиболее устойчивые к 4 % нефтяному почвенному загрязнению рожь посевная (*Secale cereale* L.) сорта «Татьяна» и люцерна посевная (*Medicago sativa* L.) сорта «Надежда» [20].

Лабораторные опыты проводили на серых лесных почвах, которые были отобраны для исследований в северо-восточной части Уфимского района Республики Башкортостан. Пробы почв отбирали согласно требованиям, описанным в ГОСТ 17.4.4.02.–2017<sup>2</sup>. Почву измельчали, просеивали через сито 3 мм. Почва имела следующие агрохимические и агроэкологические показатели: гумусовый горизонт серого цвета, мощностью 25–30 см, содержание гумуса 4–5 %, реакция слабо-кислая (рН 5,0–6,0).

В почву вносили товарную нефть в концентрации 4 % от сухой массы почвы [17]. Почву увлажняли до 60 % полной влагоемкости почвы, тщательно перемешивали и поддерживали влажность на протяжении всего периода выращивания растений. Затем в течение 72 ч вегетационные сосуды с почвой находились при комнатной температуре для полного распределения нефти

<sup>1</sup> ГОСТ Р ИСО 18763–2019. Качество почвы. Определение токсического воздействия загрязняющих веществ на всхожесть и рост на ранних стадиях высших растений.

<sup>2</sup> ГОСТ 17.4.4.02.–2017. Охрана природы. Почвы. Методы отбора и подготовки проб для химического, бактериологического, гельминтологического анализа.

в почве. Затем, спустя 30 сут, в нее вносили согласно инструкции производителя биопрепараты «Ленойл», «Елена» и «Азолен» в виде суспензии с титром  $1 \cdot 10^9$  КОЕ/мл (колониеобразующих единиц в 1 мл), из расчета 0,3 мл на 100 г сухой почвы. В почву вносили семена исследуемых растений в соответствии с рекомендациями для каждой культуры [21], а также с учетом требований ГОСТ Р ИСО 18769–2019 и ГОСТ Р ИСО 22030–2009<sup>1</sup>. Опытными вариантами служили растения, выращенные с использованием биопрепаратов, а в качестве контроля использовали вариант с растениями, выращенными на почве, загрязненной нефтью в концентрации 4 %.

Растения в течение 30 дней выращивали в сосудах объемом 0,5 л, при 12-часовом светопериоде, интенсивности освещения 30 клк и температуре воздуха 22–25 °С и затем проводили сравнительную оценку влияния биопрепаратов «Ленойл», «Елена» и «Азолен» на морфометрические показатели растений.

Другая серия экспериментов проводилась после сравнительной оценки влияния каждого препарата на ростовые показатели растений с целью оценки комплексного влияния биопрепаратов на рост и массу побегов и корней растений-фиторемедиантов. Схема подготовки почвы, ее загрязнения нефтью была такой же, как описано выше. Спустя 30 сут проводили биодegradацию нефти, содержащейся в почве, с помощью биопрепарата «Ленойл». Затем в часть сосудов добавляли препараты «Елена» или «Азолен» согласно рекомендации производителя, высаживали семена ржи и люцерны и спустя 30 сут оценивали морфометрические показатели. Опытными вариантами служили комплексы «Ленойл + Елена» и «Ленойл + Азолен» и вариант только с биопрепаратом «Ленойл».

В состав биопрепарата «Ленойл»® – NORD, СХП (производитель ЗАО НПП «Биомедхим» ТУ 9291-007-33822935–2014) входят бактерии *Pseudomonas turukhanskensis* ИБ 1.1 (титр не менее  $1 \cdot 10^8$  КОЕ/г), этот биопрепарат предназначен для биологической обработки нефтезагрязненных почв и восстановления продуктивности рекультивируемых почв [4, 11, 13, 16, 18].

«Азолен» – микробиологическое удобрение (*Azotobacter vinelandii* ИБ 4–8 ·  $10^9$  КОЕ/мл) с ростостимулирующими свойствами и азотфиксирующей способностью [11, 13, 16, 18].

Биопрепарат «Елена» (*Pseudomonas aureofaciens* ИБ 51 титр 2–3 ·  $10^9$  КОЕ/мл) рекомендуется производителем для повышения урожайности, ускорения созревания урожая, стимулирования роста корней и образования зеленой массы, повышения устойчивости растений к заболеваниям, засухе, заморозкам, оздоровления и восстановления плодородия земли и для защиты от корневых, стеблевых и плодовых инфекций [11, 13, 16, 18].

Определение содержания хлорофиллов *a* и *b*, каротиноидов проводили, используя спектрофотометрический метод. Измерения проводили на спектрофотометре СФ-2000 (Россия) в 100 % ацетоновой вытяжке при максимумах поглощения: 662 и 644 нм для хлорофилла *a* и *b* соответственно и 440,5 нм – для каротиноидов [19].

---

<sup>1</sup> ГОСТ Р ИСО 18763–2019. Качество почвы. Определение токсического воздействия загрязняющих веществ на всхожесть и рост на ранних стадиях высших растений ; ГОСТ Р ИСО 22030–2009. Качество почвы. Биологические методы. Хроническая фитотоксичность в отношении высших растений.

Для определения активности каталазы растительные ткани растирали и гомогенизировали в буферном растворе при 4 °С. После экстракции гомогенат центрифугировали при 10 000 g в течение 20 мин (центрифуга MiniSpin Eppendorf, Germany). В супернатанте спектрофотометрически определяли активность фермента (Спектрофотометр СФ-2000, Россия). Каждый эксперимент проводился в 3–4 биологических и 5–10 химических повторах. Статистическую обработку полученных результатов проводили с использованием пакета прикладных программ Statistica 10.0, рассчитывали средние значения, стандартные отклонения и доверительный интервал. Для оценки достоверности различий при нормальном распределении использовали *t*-критерий Стьюдента (обозначение в таблицах (\*)). Статистически значимыми считали различия при  $p < 0,05$ .

### Результаты исследований

Предварительно нами было установлено, что устойчивый рост растений ржи и люцерны в течение месяца возможен в почве, в которую вносили нефть в концентрации до 4 %. При использовании биопрепарата «Елена» все морфометрические показатели у растений люцерны посевной были выше показателей контрольного варианта (табл. 1). Так, сырая масса побега была больше в 8,8 раза, сырая масса корней больше в 5,8 раза вариантов без внесения препарата. Длина надземной части увеличилась в 1,6 раза и длина корневой части в 4,8 раза по сравнению с контролем.

Таблица 1

Сравнительная оценка морфометрических показателей растений люцерны посевной и ржи посевной на фоне применения биопрепаратов

Исследуемые части	Показатели	ПсН (контроль)	ПсН + «Ленойл»	ПсН + «Елена»	ПсН + «Азолен»
Люцерна					
Надземная часть	Длина, см	2,8 ± 0,2	4,0 ± 0,4*	4,6 ± 0,4*	4,2 ± 0,4*
	Сырая масса, г	1,1 ± 0,05	7,8 ± 0,6*	9,7 ± 0,7*	7,6 ± 0,6*
Корневая часть	Длина, см	0,83 ± 0,1	2,2 ± 0,2*	4,0 ± 0,4*	3,2 ± 0,3*
	Сырая масса, г	0,25 ± 0,01	0,74 ± 0,01	1,45 ± 0,1*	0,73 ± 0,01
Рожь					
Надземная часть	Длина, см	8,00 ± 0,5	11,25 ± 0,8*	16,00 ± 0,9*	12,3 ± 0,8*
	Сырая масса, г	2,31 ± 0,2	3,77 ± 0,3	6,50 ± 0,5*	4,77 ± 0,3*
Корневая часть	Длина, см	7,00 ± 0,5	8,56 ± 0,7	13,00 ± 0,8*	8,3 ± 0,7
	Сырая масса, г	0,47 ± 0,01	1,3 ± 0,1*	2,31 ± 0,2*	1,36 ± 0,1*

**Примечание.** Представлены средние значения ± стандартная ошибка; \* – отмечены значимо разные средние значения ( $p \leq 0,05$ , *t*-критерий); ПсН – почва с нефтью.

Меньший ростостимулирующий эффект наблюдался при внесении в загрязненную почву биопрепаратов «Ленойл» и «Азолен». Длина надземной части была выше в варианте с «Азоленом», в меньшей степени в варианте

с «Ленойлом» (в 1,5 и 1,4 раза больше, чем в контроле). Длина корней также была увеличена в 3,9 раза при использовании «Азолена» и в 2,7 раза при использовании «Ленойла» в отличие от растений контрольного варианта (табл. 1). При сравнении других параметров (сырая масса побегов и корней) препараты «Ленойл» и «Азолен» проявили практически одинаковое ростостимулирующее воздействие. Сырая масса надземной части была выше контрольного варианта в 7,0 раза, сырая масса корней – в 3,0 раза (табл. 1).

Длина побегов и корней у растений ржи посевной в варианте с «Еленой» в 2,0 раза превышала значения данного параметра в контрольном варианте (табл. 1). Сырая масса побегов и корней также была выше контроля в 2,8 и 4,9 раза соответственно.

В вариантах использования препаратов «Ленойл» и «Азолен» длина надземной и корневой частей не отличалась между собой, но была больше, чем в контрольном варианте (длина побега в 1,5 раза, длина корней в 1,2 раза). Однако при оценке параметров сырой массы побегов и корней биопрепарат «Азолен» проявил лучший ростостимулирующий эффект, чем «Ленойл». Так, сырая масса побегов была больше в 2,1 раза, а сырая масса корней в 2,9 раза по сравнению с контролем. В варианте с «Ленойлом» данные показатели превышали контрольные в 1,6 и 2,7 раза соответственно.

Определение содержания пигментов (хлорофиллов *a* и *b*, каротиноидов) в растениях люцерны и ржи показало, что применение биопрепаратов способствует увеличению их содержания по сравнению с растениями контрольного варианта, росшими на почве с нефтью, но без внесения биопрепаратов (табл. 2). Установлена специфичность действия биопрепаратов. Так, препарат «Елена» стимулировал образование пигментов у растений люцерны, а препарат «Азолен» – в большей степени у растений ржи. Известно, что в технологии фиторекультивации предпочтение отдают ассоциированным с растениями, так называемым PGPR-бактериям (от англ. *Plant growth promoting rhizobacteria*), оказывающим стимулирующее влияние на рост растений [1, 15]. В нашем случае также важным является подбор такого микробного препарата, который совместно с микроорганизмами ризосферы растений будет играть ведущую роль в деградации нефтяных токсикантов в процессе рекультивации почвы.

Под действием поступающих в клетки растений поллютантов нефти в растительной клетке происходит образование активных форм кислорода и, следовательно, интенсификация процессов перекисного окисления липидов [22]. Поддержание окислительно-восстановительного равновесия в клетках за счет ферментов антиоксидантов является необходимым условием выживания растений в условиях нефтяного загрязнения. Известно, что каталаза имеет низкое сродство к субстрату и начинает работать только при достаточно высоком содержании  $H_2O_2$  в тканях [3], и мы можем предположить, в какой части растения происходит активный синтез АФК.

Активность каталазы у люцерны при применении биопрепаратов в большей степени возрастала в побегах растений по сравнению с контрольным вариантом (табл. 2). В корнях растений люцерны установлено, что при применении биопрепарата «Елена» происходит снижение активности фермента почти в 3 раза по сравнению с контролем, а при применении препарата «Азолен» – наоборот, увеличение активности фермента каталазы в 2 раза.



У растений ржи активность фермента каталазы в надземной части так же возрасла, как и у люцерны, но в корнях растений ржи, росших в условиях нефтяного загрязнения, мы установили снижение активности фермента во всех вариантах обработки (табл. 2). Полученные результаты наглядно демонстрируют роль биопрепаратов по снижению негативного действия нефтяного загрязнения на фотосинтезирующий аппарат и активации одного из ферментов антиоксидантной системы растения.

Таблица 2

Содержание пигментов и активность каталазы у растений люцерны посевной и ржи посевной на фоне применения биопрепаратов

Вариант	Хлорофилл <i>a</i> , мг/г сырой массы	Хлорофилл <i>b</i> , мг/г сырой массы	Каротиноиды, мг/г сырой массы	Активность каталазы, моль H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> / мин	
				побег	корень
Люцерна					
ПсН (контроль)	0,81 ± 0,09	0,65 ± 0,02	0,34 ± 0,02	0,51 ± 0,04	0,32 ± 0,02
ПсН + «Ленойл»	1,63 ± 0,02*	1,3 ± 0,07 *	0,44 ± 0,03*	1,26 ± 0,22*	0,45 ± 0,04*
ПсН + «Елена»	2,16 ± 0,12*	1,73 ± 0,09*	0,62 ± 0,06*	1,96 ± 0,11*	0,12 ± 0,06*
ПсН + «Азолен»	1,98 ± 0,16*	1,45 ± 0,12*	0,69 ± 0,08*	1,77 ± 0,09*	0,64 ± 0,05*
Рожь					
ПсН (контроль)	0,3 ± 0,01	0,15 ± 0,04	0,08 ± 0,006	1,55 ± 0,21	0,41 ± 0,02*
ПсН + «Ленойл»	0,47 ± 0,03*	0,23 ± 0,01*	0,07 ± 0,001	2,2 ± 0,13*	0,12 ± 0,006*
ПсН + «Елена»	0,66 ± 0,05*	0,39 ± 0,07*	0,15 ± 0,012*	3,8 ± 0,26*	0,19 ± 0,012*
ПсН + «Азолен»	1,24 ± 0,91*	0,87 ± 0,09*	0,24 ± 0,015*	4,1 ± 0,24*	0,35 ± 0,009*

**Примечание.** Представлены средние значения ± стандартная ошибка; \* – отмечены значимо разные средние значения ( $p \leq 0,05$ , *t*-критерий); ПсН – почва с нефтью.

Таким образом, использование биопрепаратов «Ленойл», «Елена» и «Азолен» для стимулирования роста фиторемедиантов в условиях нефтяного загрязнения показало, что их применение оказывает определенное ростостимулирующее действие на растения. Наиболее эффективным оказалось дополнительное внесение в почву биопрепарата «Елена», однако данный биопрепарат не обладает выраженной способностью к деструкции нефти [11].

Учитывая рекомендации и большой опыт производителя по применению биопрепарата «Ленойл» для рекультивации нефтезагрязненных почв [1, 7, 11, 23], мы перешли к другой схеме обработки почвы, в которой биопрепаратом «Ленойл» обрабатывали почву для деструкции нефти, а затем высевали растения люцерны и ржи на фоне применения биопрепаратов «Елена» или «Азолен», обладающих ростостимулирующим действием<sup>1</sup>. Дозы внесения в почву были использованы, которые рекомендованы производителем биопрепаратов.

<sup>1</sup> ГОСТ 17.4.4.02–2017. Охрана природы. Почвы. Методы отбора и подготовки проб для химического, бактериологического, гельминтологического анализа; ГОСТ Р ИСО 18763–2019. Качество почвы. Определение токсического воздействия загрязняющих веществ на всхожесть и рост на ранних стадиях высших растений.

Внесение комплексов биопрепаратов «Ленойл + Елена» и «Ленойл + Азолен» в почву и рост растений люцерны в течение 30 сут в условиях 4 % нефтяного загрязнения почвы показало, что их применение приводит к снижению активности ростовых процессов по сравнению с вариантом, где обработка проводилась только препаратом «Ленойл» (табл. 3).

Таблица 3

Изменение морфометрических показателей у растений люцерны посевной и ржи посевной при использовании комплексов биопрепаратов

Исследуемые части	Показатели	Ленойл	Ленойл + Азолен	Ленойл + Елена
Люцерна				
Надземная часть	Длина, см	3,25 ± 0,3	2,37 ± 0,2*	3,41 ± 0,2
	Сырая масса, г	2,88 ± 0,2	1,34 ± 0,1*	1,62 ± 0,1*
Корневая часть	Длина, см	4,69 ± 0,3	2,87 ± 0,2*	3,44 ± 0,4*
	Сырая масса, г	1,99 ± 0,2	0,7 ± 0,03*	1,32 ± 0,1*
Рожь				
Надземная часть	Длина, см	34,11 ± 1,3	31,61 ± 2,2	33,21 ± 2,8
	Сырая масса, г	8,4 ± 0,1	8,56 ± 0,4	9,37 ± 0,1*
Корневая часть	Длина, см	18,41 ± 1,2	16,71 ± 1,2	18,21 ± 1,9
	Сырая масса, г	2,83 ± 0,2	3,92 ± 0,4*	2,02 ± 0,03

**Примечание.** Представлены средние значения ± стандартная ошибка; \* – отмечены значимо разные средние значения ( $p \leq 0,05$ ,  $t$ -критерий).

Снижение скорости роста происходило в зависимости от варианта обработки препаратом и части растения (табл. 3). Так, по длине надземной части растений люцерны вариантов «Ленойл + Елена» были сопоставимы с вариантом «Ленойл», но имели меньшую сырую массу корней на 44 %, а в варианте «Ленойл + Азолен» по длине и по массе надземной части значения были на 27 и 55 % меньше растений варианта «Ленойл» (табл. 3). В вариантах обработок комбинациями препаратов «Ленойл + Елена» и «Ленойл + Азолен» длина корней была меньше на 27 и 60 % по сравнению с вариантом «Ленойл». Биомасса корней также отличалась в меньшую сторону от варианта «Ленойл». Накопление биомассы было меньше на 65 % в вариантах обработки «Ленойл + Азолен», а в вариантах «Ленойл + Елена» – на 29 %.

Растения ржи по сравнению с растениями люцерны иначе реагировали на внесение комплексов биопрепаратов в почву (табл. 3). Варианты «Ленойл + Елена» и «Ленойл + Азолен» достоверно не отличались по морфометрическим показателям от варианта обработки – биопрепаратом «Ленойл». Длина корней растений ржи, обработанных комплексами биопрепаратов, была меньше длины корней варианта «Ленойл» на 1–9 %. Сырая масса побегов в комбинированных обработках биопрепаратами была выше значений варианта «Ленойл», особенно в варианте «Ленойл + Елена» на 11,5 %. Сырая масса корней в варианте «Ленойл + Азолен» была больше на 38 % данного показателя варианта «Ленойл». Но при обработках почвы комбинацией

биопрепаратов «Ленойл + Елена» мы отмечаем снижение накопления биомассы по сравнению с вариантом «Ленойл» на 29 %.

Таким образом, результаты исследований применения в рекомендуемых производителем дозировках комбинаций биопрепаратов «Ленойл + Елена» и «Ленойл + Азолен» и применение только биопрепарата-деструктора нефти «Ленойл» показывают, что использование комплексов биопрепаратов приводило к снижению ростовых процессов у исследуемых растений. Это может быть обусловлено или высокой дозой вносимых биопрепаратов, или межвидовой конкуренцией микроорганизмов, входящих в состав разных био-препаратов [6, 9, 24].

### Заключение

По результатам проведенного исследования по изучению влияния био-препаратов на растения люцерны посевной и ржи посевной в условиях нефтяного загрязнения почвы в концентрации 4 % лучшее ростостимулирующее действие оказал препарат «Елена». В меньшей степени на стимуляцию ростовых процессов растений оказали препараты «Ленойл» и «Азолен». Нами установлена специфичность действия биопрепаратов на физиологические показатели разных видов растений. Так, при применении биопрепарата «Елена» была выше концентрация хлорофиллов *a*, *b* и каротиноидов у люцерны посевной, представителя семейства – Бобовых (Fabaceae), а при использовании биопрепарата «Азолен» лучше были показатели у ржи посевной, которая относится к семейству Злаковые (Poaceae). Аналогичные данные были получены нами при определении активности фермента каталазы. Следовательно, при подборе биопрепарата для стимулирования ростовых процессов у фиторе-медиантов необходимо учитывать особенности микробно-растительных взаимоотношений. Эту необходимость наглядно показали наши эксперименты по применению биопрепаратов «Елена» или «Азолен» после использования препарата «Ленойл», когда мы наблюдали снижение активности ростовых процессов по сравнению с вариантом без применения биопрепаратов «Елена» или «Азолен». Представляется важным дальнейшее изучение микробно-растительных систем для разработки эффективной технологии рекультивации нефтезагрязненных земель.

### Список литературы

1. Bakaeva M., Kuzina E., Vysotskaya L. [et al.]. Capacity of *Pseudomonas* strains to degrade hydrocarbons, produce auxins and maintain plant growth under normal conditions and in the presence of petroleum contaminants // *Plants*. 2020. № 9. P. 379.
2. Коршунова Т. Ю., Рафикова Г. Ф., Кузина Е. В. [и др.]. Бактерии рода *Pseudomonas* для агробιοтехнологии и природоохранной деятельности. М. : Наука, 2020. 247 с.
3. Dat J., Vandenabeele S., Vranova E. [et al.]. Dual action of active oxygen species during plant stress responses // *Cell. Mol. Life Sci.* 2000. Vol. 57. P. 779–795.
4. Коршунова Т. Ю., Четвериков С. П., Валиуллин Э. Г. [и др.]. Биотехнологический потенциал бактерии *Pseudomonas* sp. ИБ-1.1 как основы полифункционального био-препарата // *Известия вузов. Прикладная химия и биотехнология*. 2016. № 1. С. 93–99.

5. Ojewumi M. E., Okeniyi J. O., Ikotun J. O. [et al.]. Bioremediation: data on *Pseudomonas aeruginosa* effects on the bioremediation of crude oil polluted soil // *Data in Brief*. 2018. Vol. 19. P. 101–113.
6. Turkovskaya O., Muratova A. Plant-bacterial degradation of polyaromatic hydrocarbons in the rhizosphere // *Trends in Biotechnology*. 2019. Т. 37, № 9. P. 926–930.
7. Коршунова Т. Ю., Силищев Н. Н., Галимзянова Н. Ф. [и др.]. Биофунгицид «Елена» для протравливания семян ячменя ярового и его влияние на урожайность и устойчивость к болезням // *Башкирский химический журнал*. 2007. Т. 14, № 4. С. 92–94.
8. Макарова Л. Е., Дударева Л. В., Семёнова Н. В. [и др.]. Возможные пути деструкции полиароматических углеводородов нефти некоторыми видами бактерий-нефтедеструкторов, выделенными из эндо- и ризосферы растений // *Прикладная биохимия и микробиология*. 2017. Т. 53, № 1. С. 76–81.
9. Al-Dhabaan F. A. Morphological, biochemical and molecular identification of petroleum hydrocarbons biodegradation bacteria isolated from oil polluted soil in Dhahran, Saud Arabia // *Saudi J. Biol. Sci.* 2018. Vol. 26, № 6. P. 1247–1252.
10. Maksimov I. V., Veselova S. V., Nuzhnaya T. V. [et al.]. Plant growth-promoting bacteria in regulation of plant resistance to stress factors // *Russian Journal of Plant Physiology*. 2015. Т. 62, № 6. P. 715–726.
11. Коршунова Т. Ю., Силищев Н. Н., Логинов О. Н. [и др.]. Влияние биоудобрения «Азолен» на урожайность яровой пшеницы и ее устойчивость к фитопатогенам // *Вестник Башкирского университета*. 2007. Т. 12, № 3. С. 34–35.
12. Коршунова Т. Ю., Четвериков С. П., Валиуллин Э. Г. [и др.]. Влияние бактериальных препаратов на содержание нефтепродуктов и численность микроорганизмов в отвалах отработанной отбеливающей глины // *Экология и промышленность России*. 2016. № 20. С. 25–31.
13. Патент 2539148 Российская Федерация. Способ очистки почв от нефти в условиях низких положительных температур психротолерантными бактериями *Pseudomonas* sp. ИБ-1.1 / Логинов О. Н., Четвериков С. П., Коршунова Т. Ю., Валиуллин Э. Г., Бакаева М. Д., Фарухшин Д. Ф. ; № 2013138963/13 ; заявл. 20.08.2013 ; опубл. 10.01.2015, Бюл. № 1.
14. Бакаева М. Д., Коршунова Т. Ю., Столярова Е. А. Влияние микроорганизмов с разным набором свойств на содержание нефтепродуктов в почве и морфометрические показатели растений // *Известия Уфимского научного центра Российской академии наук*. 2021. № 2. С. 74–78.
15. Коршунова Т. Ю., Бакаева М. Д., Логинов О. Н. Полифункциональные биопрепараты-нефтедеструкторы: влияние на растения и содержание нефти в почве // *Экология и промышленность России*. 2018. Т. 22, № 9. С. 18–22.
16. Логинов О. Н., Силищев Н. Н., Бойко Т. Ф. [и др.]. Биорекультивация: микробиологические технологии очистки нефтезагрязненных почв и техногенных отходов. М. : Наука, 2009. 112 с.
17. Турковская О. В., Муратова А. Ю., Дубровская Е. В. [и др.]. Фиторемедиационный потенциал сорго веничного для очистки земель от углеводородов нефти и тяжелых металлов // *Аграрный научный журнал*. 2020. № 12. С. 50–54.
18. Четвериков С. П., Валиуллин Э. Г., Гареева Э. Р. [и др.]. Биоремедиация замасленного грунта с помощью микробиологических препаратов // *Вестник Башкирского университета*. 2013. Т. 18, № 3. С. 723–725.
19. Третьяков Н. Н. Практикум по физиологии растений. М. : Колос, 1990. 283 с.
20. Сотникова Ю. М., Григориади А. С., Хисамов Р. Р. [и др.]. Влияние предпосевной обработки семян люцерны посевной препаратом Елена на повышение ее устойчивости к загрязнению почвы нефтепродуктами // *Известия Оренбургского государственного аграрного университета*. 2020. № 5. С. 79–83.

21. Фирсов И. П., Соловьев А. М., Трифонова М. Ф. Технология производства продукции растениеводства. М. : КолосС, 2006. 472 с.
22. Kolesnichenko V. V., Kolesnichenko A. V. The influence of high Cd<sup>2+</sup> concentration on antioxidant system of wheat etiolated shoots with different length // *Journal of Stress Physiology & Biochemistry*. 2011. Vol. 7, № 3. P. 212–221.
23. Ветрова А. А., Иванова А. А., Филонов А. Е. [и др.]. Биодеструкция нефти отдельными штаммами и принципы составления микробных консорциумов для очистки окружающей среды от углеводородов нефти // *Известия Тульского государственного университета. Естественные науки*. 2013. Вып. 2, ч. 1. С. 241–257.
24. Архипова Т. Н., Веселов С. Ю., Мелентьев А. И. [и др.]. Влияние микроорганизмов, продуцирующих цитокинины, на рост растений // *Биотехнология*. 2006. № 4. С. 50–55.

### References

1. Bakaeva M., Kuzina E., Vysotskaya L. [et al.]. Capacity of *Pseudomonas* strains to degrade hydrocarbons, produce auxins and maintain plant growth under normal conditions and in the presence of petroleum contaminants. *Plants*. 2020;(9):379.
2. Korshunova T.Yu., Rafikova G.F., Kuzina E.V. [et al.]. *Bakterii roda Pseudomonas dlya agrobiotekhnologii i prirodookhrannoy deyatelnosti = Bacteria of the Pseudomonas for agricultural biotechnology and environmental protection*. Moscow: Nauka, 2020:247. (In Russ.)
3. Dat J., Vandenabeele S., Vranova E. [et al.]. Dual action of active oxygen species during plant stress responses. *Cell. Mol. Life Sci*. 2000;57:779–795.
4. Korshunova T.Yu., Chetverikov S.P., Valiullin E.G. [et al.]. Biotechnological potential of the *Pseudomonas* sp. IB-1.1 bacterium as the basis of a polyfunctional biological product. *Izvestiya vuzov. Prikladnaya khimiya i biotekhnologiya = University proceedings. Applied chemistry and biotechnology*. 2016;(1):93–99. (In Russ.)
5. Ojewumi M.E., Okeniyi J.O., Ikotun J.O. [et al.]. Bioremediation: data on *Pseudomonas aeruginosa* effects on the bioremediation of crude oil polluted soil. *Data in Brief*. 2018; 19:101–113.
6. Turkovskaya O., Muratova A. Plant-bacterial degradation of polyaromatic hydrocarbons in the rhizosphere. *Trends in Biotechnology*. 2019;37(9):926–930.
7. Korshunova T.Yu., Silishchev N.N., Galimzyanova N.F. [et al.]. Biofungicide “Elena” for dressing seeds of spring barley and its effect on yield and disease resistance. *Bashkirskiy khimicheskiy zhurnal = Bashkir chemical journal*. 2007;14(4):92–94. (In Russ.)
8. Makarova L.E., Dudareva L.V., Semenova N.V. [et al.]. Possible pathways for the destruction of oil polyaromatic hydrocarbons by some types of oil-degrading bacteria isolated from the endo- and rhizosphere of plants. *Prikladnaya biokhimiya i mikrobiologiya = Applied biochemistry and microbiology*. 2017;53(1):76–81. (In Russ.)
9. Al-Dhabaan F.A. Morphological, biochemical and molecular identification of petroleum hydrocarbons biodegradation bacteria isolated from oil polluted soil in Dhahran, Saud Arabia. *Saudi J. Biol. Sci*. 2018;26(6):1247–1252.
10. Maksimov I.V., Veselova S.V., Nuzhnaya T.V. [et al.]. Plant growth-promoting bacteria in regulation of plant resistance to stress factors. *Russian Journal of Plant Physiology*. 2015;62(6):715–726.
11. Korshunova T.Yu., Silishchev N.N., Loginov O.N. [et al.]. Effect of biofertilizer “Azulen” on the yield of spring wheat and its resistance to phytopathogens. *Vestnik Bashkirskogo universiteta = Bulletin of Bashkir University*. 2007;12(3):34–35. (In Russ.)
12. Korshunova T.Yu., Chetverikov S.P., Valiullin E.G. [et al.]. Effect of bacterial preparations on the content of oil products and the number of microorganisms in waste bleaching clay dumps. *Ekologiya i promyshlennost' Rossii = Ecology and industry of Russia*. 2016;(20):25–31. (In Russ.)

13. Patent 2539148 Russian Federation. A method for cleaning soils from oil under conditions of low positive temperatures by psychrotolerant bacteria *Rseudomonas* sp. IB-1.1. Loginov O.N., Chetverikov S.P., Korshunova T.Yu., Valiullin E.G., Bakaeva M.D., Farukhshin D.F.; No. 2013138963/13; appl. 20.08.2013; publ. 10.01.2015, bull. № 1. (In Russ.)
14. Bakaeva M.D., Korshunova T.Yu., Stolyarova E.A. Influence of microorganisms with different sets of properties on the content of oil products in the soil and morphometric parameters of plants. *Izvestiya Ufimskogo nauchnogo tsentra Rossiyskoy akademii nauk = Proceedings of Ufa scientific center of the Russian Academy of Sciences*. 2021;(2): 74–78. (In Russ.)
15. Korshunova T.Yu., Bakaeva M.D., Loginov O.N. Polyfunctional biopreparations-oil destructors: impact on plants and oil content in soil. *Ekologiya i promyshlennost' Rossii = Ecology and industry of Russia*. 2018;22(9):18–22. (In Russ.)
16. Loginov O.N., Silishchev N.N., Boyko T.F. [et al.]. *Biorekul'tivatsiya: mikrobiologicheskie tekhnologii ochkistki neftezagryaznennykh pochv i tekhnogennykh otkhodov = Bioreclamation: microbiological technologies for cleaning oil-contaminated soils and man-made waste*. Moscow: Nauka, 2009:112. (In Russ.)
17. Turkovskaya O.V., Muratova A.Yu., Dubrovskaya E.V. [et al.]. Phytoremediation potential of sorghum for cleaning lands from oil hydrocarbons and heavy metals. *Agrarnyy nauchnyy zhurnal = Agrarian scientific journal*. 2020;(12):50–54. (In Russ.)
18. Chetverikov S.P., Valiullin E.G., Gareeva E.R. [et al.]. Bioremediation of oil-contaminated soil using microbiological preparations. *Vestnik Bashkirskogo universiteta = Bulletin of Bashkir University*. 2013;18(3):723–725. (In Russ.)
19. Tret'yakov N.N. *Praktikum po fiziologii rasteniy = Workshop on plant physiology*. Moscow: Kolos, 1990:283. (In Russ.)
20. Sotnikova Yu.M., Grigoriadi A.S., Khisamov R.R. [et al.]. The effect of pre-sowing treatment of alfalfa seeds with the “Elena” preparation on increasing its resistance to soil pollution with oil products. *Izvestiya Orenburgskogo gosudarstvennogo agrarnogo universiteta = Proceedings of Orenburg State Agrarian University*. 2020;(5):79–83. (In Russ.)
21. Firsov I.P., Solov'ev A.M., Trifonova M.F. *Tekhnologiya proizvodstva produktsii rastenievodstva = Plant production technology*. Moscow: KolosS, 2006:472. (In Russ.)
22. Kolesnichenko V.V., Kolesnichenko A.V. The influence of high Cd<sup>2+</sup> concentration on antioxidant system of wheat etiolated shoots with different length. *Journal of Stress Physiology & Biochemistry*. 2011;7(3):212–221.
23. Vetrova A.A., Ivanova A.A., Filonov A.E. [et al.]. Biodegradation of oil by individual strains and principles of composition of microbial consortiums for cleaning the environment from oil hydrocarbons. *Izvestiya Tul'skogo gosudarstvennogo universiteta. Estestvennye nauki = Proceedings of Tula State University. Natural sciences*. 2013;2(1): 241–257. (In Russ.)
24. Arkhipova T.N., Veselov S.Yu., Melent'ev A.I. [et al.]. The effect of cytokinin-producing microorganisms on plant growth. *Biotekhnologiya = Biotechnology*. 2006;(4): 50–55. (In Russ.)

#### Информация об авторах / Information about the authors

**Юлия Михайловна Сотникова**  
старший преподаватель кафедры  
биохимии и биотехнологии, Башкирский  
государственный университет (Россия,  
г. Уфа, ул. Заки Валиди, 32)

**Yulia M. Sotnikova**  
Senior lecturer of the sub-department  
of biochemistry and biotechnology, Bashkir  
State University (32 Zaki Validi street, Ufa,  
Russia)

E-mail: sotnikova-bashedu@mail.ru

***Анна Сергеевна Гризориади***

кандидат биологических наук, доцент  
кафедры биохимии и биотехнологии,  
Башкирский государственный  
университет (Россия, г. Уфа,  
ул. Заки Валиди, 32)

E-mail: nysha111@yandex.ru

***Anna S. Grigoriadi***

Candidate of biological sciences, associate  
professor of the sub-department  
of biochemistry and biotechnology, Bashkir  
State University (32 Zaki Validi street, Ufa,  
Russia)

***Вадим Валентинович Федяев***

кандидат биологических наук, доцент,  
доцент кафедры биохимии и  
биотехнологии, Башкирский  
государственный университет  
(Россия, г. Уфа, ул. Заки Валиди, 32)

E-mail: vadim.fedyayev@gmail.com

***Vadim V. Fedyaev***

Candidate of biological sciences, associate  
professor, associate professor of the  
sub-department of biochemistry and  
biotechnology, Bashkir State University  
(32 Zaki Validi street, Ufa, Russia)

***Маргарита Ивановна Гарипова***

доктор биологических наук, профессор,  
профессор кафедры биохимии и  
биотехнологии, Башкирский  
государственный университет  
(Россия, г. Уфа, ул. Заки Валиди, 32)

E-mail: margaritag@list.ru

***Margarita I. Garipova***

Doctor of biological sciences, professor,  
professor of the sub-department  
of biochemistry and biotechnology, Bashkir  
State University (32 Zaki Validi street, Ufa,  
Russia)

***Рашид Габдулхаевич Фархутдинов***

доктор биологических наук, профессор,  
профессор кафедры биохимии и  
биотехнологии, Башкирский  
государственный университет  
(Россия, г. Уфа, ул. Заки Валиди, 32)

E-mail: frg2@mail.ru

***Rashit G. Farkhutdinov***

Doctor of biological sciences, professor,  
professor of the sub-department  
of biochemistry and biotechnology, Bashkir  
State University (32 Zaki Validi street, Ufa,  
Russia)

**Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов / The authors declare no conflicts of interests.**

**Поступила в редакцию / Received 07.10.2021**

**Поступила после рецензирования и доработки / Revised 09.11.2021**

**Принята к публикации / Accepted 25.12.2021**

**Влияние фактора увлажнения  
на расселение микоризообразующих агарикомицетов  
в условиях памятника природы регионального значения  
«Никоновский бор»**

**А. И. Иванов<sup>1</sup>, А. А. Миронова<sup>2</sup>, А. А. Ермолаева<sup>3</sup>**

<sup>1,3</sup>Пензенский государственный аграрный университет, Пенза, Россия

<sup>2</sup>Пензенский государственный университет, Пенза, Россия

rcgekim@mail.ru<sup>1</sup>, mironovaanna20@gmail.com<sup>2</sup>, ermolaeva7733@yandex.ru<sup>3</sup>

**Аннотация.** *Актуальность и цели.* Одним из актуальных направлений охраны биологического разнообразия является включение местообитаний редких видов в состав особо охраняемых природных территорий (ООПТ). Опыт создания ООПТ микологической направленности имеется в Пензенской области. Таким объектом является памятник природы регионального значения «Никоновский бор». Целью данной работы было изучение видового состава микоризообразующих агарикомицетов и влияния экологических факторов на расселение этих грибов в пределах данной территории. *Материалы и методы.* Исследования проводились на территории Пензенской области в пределах памятника природы регионального значения «Никоновский бор» в 2016–2021 гг. маршрутным и стационарным методом. При определении грибов использовался метод световой микроскопии. *Результаты.* На территории памятника природы «Никоновский бор» выявлено 107 видов микоризообразующих агарикомицетов. Из них три занесены в Красную книгу Пензенской области, а четыре представляют интерес с точки зрения включения их в ее последующие издания. Установлено, что ведущим абиотическим фактором, определяющим пространственное распределение микоризообразующих агарикомицетов по территории ООПТ, является фактор увлажнения. По отношению к нему эти грибы могут быть разделены на ряд экологических групп: ксерофитов, ксеромезофитов, мезофитов, гигрофитов и ультрагигрофитов. Фактор увлажнения оказывает влияние и на обилие плодовых тел агарикомицетов. Выяснено, что урожайность грибов рассматриваемой группы возрастает в зависимости от условий увлажнения. Минимальной она оказывается в лишайниковых сосняках, средней – в сосняках зеленомошных, максимальной – в березняках долгомошно-сфагновых. Как показали результаты учетов на пробных площадях размером 10 × 100 м, урожайность грибов рассматриваемой группы возрастает в зависимости от условий увлажнения. Минимальной она оказывается в лишайниковых сосняках, средней в сосняках зеленомошных и черничных, максимальной в березняках долгомошно-сфагновых. В связи с различным увлажнением экотопов, к которым приурочены различные типы леса, они существенно отличаются по стабильности плодоношения грибов. Наименьшие колебания их урожайности по годам характерны для самого влажного типа – березняка долгомошно-сфагнутого, наибольшие – для самого сухого – сосняка лишайникового. Сосняки зеленомошные и черничные занимают по этому показателю среднее положение.

**Ключевые слова:** микоризообразующие грибы, памятник природы, увлажнение, сосняки, редкие виды, биоразнообразие

**Для цитирования:** Иванов А. И., Миронова А. А., Ермолаева А. А. Влияние фактора увлажнения на расселение микоризообразующих агарикомицетов в условиях памятника природы регионального значения «Никоновский бор» // Известия высших учебных



## The effect of the moisture factor on the settling of mycorrhiza forming agaricomycetes in the conditions of the natural monument of regional significance “Nikonovsky Bor”

A.I. Ivanov<sup>1</sup>, A.A. Mironova<sup>2</sup>, A.A. Ermolaeva<sup>3</sup>

<sup>1,3</sup>Penza State Agrarian University, Penza, Russia

<sup>2</sup>Penza State University, Penza, Russia

rcgekim@mail.ru<sup>1</sup>, mironovaanna20@gmail.com<sup>2</sup>, ermolaeva7733@yandex.ru<sup>3</sup>

**Abstract.** *Background.* One of the topical areas for the protection of biological diversity is the inclusion of habitats of rare species in the composition of specially protected natural areas (SPNA). There is experience in creating mycological protected areas in Penza region. Such an object is the natural monument of regional significance “Nikonovsky Bor”. The purpose of this work is to study the species composition of mycorrhiza forming agaricomycetes and the influence of environmental factors on the distribution of these fungi within a given territory. *Materials and methods.* The studies were carried out on the territory of the Penza region within the natural monument of regional significance “Nikonovsky Bor” in 2016–2021 route and stationary method. When determining fungi, the method of light microscopy was used. *Results.* 107 species of mycorrhizal forming agaricomycetes have been identified on the territory of the nature monument “Nikonovsky Bor”. Of these, three are listed in the Red Book of Penza region, and four are of interest from the point of view of their inclusion in its subsequent editions. It has been established that the leading abiotic factor determining the spatial distribution of mycorrhizal agaricomycetes on the territory of protected areas is the moisture factor. In relation to it, these fungi can be divided into a number of ecological groups: xerophytes, xero-mesophytes, mesophytes, hygrophytes and ultrahygrophytes. The moisture factor also affects the abundance of fruit bodies of agaricomycetes. It was found out that the yield of mushrooms of the considered group increases depending on the conditions of humidification. It turns out to be minimal in lichen pine forests, average – in green-mossy pine forests, maximum – in long-mossy-sphagnum birch forests. As shown by the results of calculations on trial areas measuring 10 × 100 m, the yield of mushrooms of the considered group increases depending on the conditions of humidification. It turns out to be minimal in lichen pine forests, average in green-mossy and blueberry pine forests, maximum in long-mossy-sphagnum birch forests. Due to the different humidification of ecotopes, which are associated with different types of forests, they differ significantly in the stability of fruiting mushrooms. The smallest fluctuations in their yield over the years are characteristic of the wettest type – longmose-sphagnum birch, the largest – for the driest – lichen pine. The green-mossy and blueberry pine forests occupy an average position according to this indicator.

**Keywords:** mycorrhizal fungi, natural monument, humidification, pine forests, rare species, biodiversity

**For citation:** Ivanov A.I., Mironova A.A., Ermolaeva A.A. The effect of the moisture factor on the settling of mycorrhiza forming agaricomycetes in the conditions of the natural monument of regional significance “Nikonovsky Bor”. *Izvestiya vysshikh uchebnykh zavedeniy. Povolzhskiy region. Estestvennye nauki = University proceedings. Volga region. Natural sciences.* 2022;(1):64–75. (In Russ.). doi:10.21685/2307-9150-2022-1-6

## Введение

Одним из актуальных направлений охраны биологического разнообразия является включение местообитаний редких видов в состав особо охраняемых природных территорий (ООПТ). В отношении животных и растений как за рубежом, так и в России в этом плане накоплен большой практический опыт. Так, для растений была предложена категория ключевой ботанической территории (КБТ), или Important Plant Areas (IPA) и дано ее определение: «Ключевая ботаническая территория – это участок с высоким ботаническим разнообразием и (или) участок, который, по оценке экспертов, поддерживает уникальное сообщество редких, находящихся под угрозой и (или) эндемичных видов растений, и (или) растительное сообщество с большой ботанической ценностью». Соответственно, разработаны рекомендации по выделению КБТ и критерии оценки их природоохранной ценности [1–3]. Данный подход вполне приемлем и с точки зрения охраны грибов. Как показывает анализ литературных данных [4], высокая концентрация редких видов сосудистых растений и грибов нередко имеет место в пределах одних и тех же территорий. Однако это наблюдается не всегда. В отдельных случаях основную природоохранную ценность участка может иметь микобиота. В связи с этим возникает необходимость организации ООПТ микологической направленности или ключевых микологических территорий (КМТ). Необходимость этого рассматривается в работе М. А. Сафонова, Т. И. Сафоновой на примере южного Приуралья [5].

Опыт создания ООПТ микологической направленности имеется в Пензенской области. Одним из таких объектов является памятник природы регионального значения «Никоновский бор». Целью данной работы было изучение видового состава микоризообразующих агарикомицетов и влияния экологических факторов на расселение этих грибов в пределах данной территории.

## Материалы и методы исследования

Материал для исследования микоризообразующих агарикомицетов был собран на территории памятника природы регионального значения «Никоновский бор». Он располагается в Городищенском районе Пензенской области в окрестностях станции Никоново Куйбышевской железной дороги. Площадь объекта составляет 1010 га. Территория «Никоновского бора» приурочена к надпойменным террасам долины р. Суры, сложенным песками с характерным дюнным рельефом. Она покрыта сосновыми лесами, преимущественно культурами различного возраста. Преобладают лишайниковые и лишайниково-зеленомошные сосняки. В междюнных котловинах встречаются фрагменты сосняков черничных и березняков долгомошно-сфагновых. В составе древостоев сосновых лесов принимают участие березы – *Betula pendula* Roth и *Betula pubescens* Ehrh. В сосняках лишайниковых и зеленомошных сосняках их участие незначительно. В междюнных котловинах имеются сфагновые болота, а на территории, прилегающей к пойме, низинные болота, с которыми связаны насаждения *Alnus glutinosa* (L.) Gaertn. в возрасте 80–100 лет.

В почвенном покрове преобладают светло-серые песчаные почвы. В понижениях между дюнами встречаются фрагменты болотных торфяно-глеевых почв. Под ольшаниками в притеррасной пойме распространены пойменно-лесные заболоченные почвы [6].

Памятник природы «Никоновский бор» располагается близко к южной границе ареала перечисленных выше типов сосняков. На данной территории они испытывают существенный дефицит увлажнения. Годовая сумма осадков здесь не превышает 500 мм в год [6]. Положение на прилежащем к пойме р. Суры склоне южной экспозиции увеличивает интенсивность притока солнечной радиации, увеличивает испаряемость и создает еще более сухой микроклимат по сравнению с прилежащей территорией.

Исследования проводились авторами с 2016 и 2021 г. Кроме того, использовались сведения о нахождении некоторых видов агарикомицетов рассматриваемого объекта в предыдущие годы [7].

Для проведения исследований было проложено два маршрута протяженностью около 10 км, охватившие все типы леса, характерные для памятника природы «Никоновский бор». Маршрутные исследования дополнялись стационарными. Пробные площади, размером 10 × 100 м, были заложены в сосняках лишайниковом, зеленомошном и черничном, а также в березняке долгомошно-сфагновом. Для проведения исследований маршруты и пробные площади посещались еженедельно в летний и осенний периоды, когда погодные условия были благоприятны для развития плодовых тел агарикомицетов. Собранные на пробных площадях плодовые тела определялись с использованием соответствующих руководств [8, 9], затем разбирались по видам и взвешивались. После этого от каждого образца отбирались пробы для определения сухого веса. Необходимость этого диктовалась существенными различиями в содержании воды в плодовых телах в зависимости от погодных условий.

Актуальность названий грибов и правильность их написания выверялась в соответствии с базой данных Index Fungorum. Полные названия грибов приводятся в таблице в алфавитном порядке в источнике [10].

### Результаты и обсуждение

Симбиотрофы на изучаемой территории представлены 107 видами. Из них три – *Cortinarius violaceus* (L.) Gray, *Gyroporus cyanescens* (Bull.) Quél. и *Lactarius semisanguifluus* R. Heimet Leclair – являются редкими. Они занесены в Красную книгу Пензенской области [11]. Здесь также обнаружены четыре малоизученных вида, сведения о распространении которых на территории России ограничены [12]. Это *Cortinarius impennis* Fr., *C. isabellinus* (Batsch) Fr., *C. purpurascens* Fr. и *C. pearsonii* P.D. Orton. Эти виды представляют интерес с точки зрения включения их в последующие издания Красной книги Пензенской области. Кроме того, на изучаемой ООПТ выявлено большое количество бореальных видов, которые широко распространены в лесной зоне Русской равнины. Здесь они находятся на южной границе своего распространения. Это *Amanita porphyria* Alb. et Schwein, *Cortinarius alboviolaceus* (Pers.) Fr., *C. armillatus* (Fr.) Fr., *C. caperatus* (Pers.) Fr., *Gomphidius roseus* (Fr.) Oudem, *Lactarius aquizonatus* Kytöv., *L. trivialis* (Fr.) Fr., *Leccinum cyaneobasileucum* Lannoy et Estadès, *L. variicolor* Watling, *L. vulpinum* Watling, *Russula atrirubens* Quél., *R. claroflava* Grove, *R. decolorans* (Fr.) Fr., *R. gracillima* Jul. Schaff., *R. paludosa* Britzelm., *S. variegatus* (Sw.) Richon et Roze.

Таким образом, памятник природы «Никоновский бор» имеет большое значение с точки зрения охраны биологического разнообразия агарикомицетов

и может быть отнесен к ключевым микологическим территориям Пензенской области.

В ходе наблюдений в чистых насаждениях, а также на основе литературных данных [13, 14] установлено, что из них 45 – микоризные спутники сосны, 65 – березы, 11 – дуба, 2 – осины, 11 – ольхи. Для 31 вида установить партнеров по симбиозу не удалось, так как они обнаружены только в насаждениях смешанного состава.

Для изучения степени влияния эдафического фактора и условий увлажнения на микоризообразующие агарикомицеты нами использовалась широко применяемая в лесоводстве и лесоведении эдафическая сетка П. С. Погребняка [15], которая представляет собой классификационную модель местообитаний в координатах четырех типов богатства (трофности) почвы и шести типов увлажнения. Среди экологических факторов, определяющих формирование лесных биогеоценозов, наибольшее значение имеют плодородие и увлажнение почвы [16]. По характеру влияния плодородия почвы местообитания могут быть разделены на олиготрофные, мезотрофные и мегатрофные, по характеру увлажнения – на ксерофильные, мезоксерофильные, мезофильные, мезогигрофильные, гигрофильные и ультрагигрофильные [15].

На территории памятника природы «Никоновский бор» преобладают олиготрофные местообитания, к которым приурочены сосняки и березняки долгомошно-сфагновые, к мегатрофным – ольшанники. Олиготрофные местообитания приурочены к различным условиям увлажнения – от ксерофильных, с которыми связаны сосняки лишайниковые, до гигрофильных, к которым приурочены березняки долгомошно-сфагновые. Мегатрофные местообитания могут быть охарактеризованы как гигрофильные и ультрагигрофильные. В связи с этим ведущим абиотическим фактором, определяющим пространственное распределение микоризообразующих агарикомицетов по территории ООПТ, можно считать фактор увлажнения, к которому грибы изучаемой группы проявляют высокую чувствительность. Среди биотических факторов важнейшим для микоризообразующих грибов является наличие древесного растения, необходимого в качестве партнера по симбиозу.

Наиболее широким распространением и равномерным распределением по территории ООПТ характеризуются виды, образующие микоризы с хвойными и лиственными древесными породами, приспособленные к жизни в различных условиях увлажнения. Это *Amanita citrina* Pers., *A. muscaria* (L.) Lam., *A. pantherina* (DC.) Krombh., *A. rubescens* Pers., *Boletus edulis* Bull., *Cantharellus cibarius* Fr., *Laccaria laccata* (Scop.) Cooke, *Paxillus involutus* (Batsch) Fr., *Russula adusta* (Pers.) Fr., *Chalciporus piperatus* (Bull.) Bataille., *Xerocomus subtomentosus* (L.) Quéf. Они встречаются во всех типах сосняков, а также в березняках и осинниках.

Вторую группу видов образуют грибы, вступающие в симбиоз с одним древесным видом и сопровождающие его в различных местообитаниях. Из микоризных симбионтов сосны это *Suillus luteus* (L.) Roussel, *Tyloporus felileus* (Bull.) P. Karst., *Russula xerampelina* (Schaeff.) Fr.; из микоризных симбионтов березы – *Lactarius necator* (Bull.) Pers., *L. torminosus* (Schaeff.) Gray, *Leccinum scabrum* (Bull.) Gray, *Russula aeruginea* Lindblad ex Fr., *R. heterophylla* (Fr.) Fr., из микоризных симбионтов осины – *Leccinum albstipitatum* den Bakker et Noordel.

Группу ксерофитов составляют виды агарикомицетов, образующие микоризы с сосной в условиях лишайниковых сосняков и развивающиеся в этих условиях с максимальным обилием. Это *Boletus pinophilus* Pilátet Dermek, *Cortinarius cinnamomeoluteus* P.D. Orton, *C. diosmus* Kühner, *C. impennis*, *C. isabellinus*, *C. purpurascens*, *Gyroporus cyanescens*, *Leccinum vulpinum*, *Rhizopogon roseolus* (Corda) Th. Fr., *Tricholoma aequestre* (L.) P. Kumm., *T. focale* (Fr.) Ricken.

Группу ксеромезофитов составляют виды общие для лишайниковых и зеленомошных сосняков, с максимальным обилием развивающихся в сообществах переходного типа – сосняках лишайниково-зеленомошных. Это *Cortinarius hemitrichus* (Pers.) Fr., *C. malachius* (Fr.) Fr., *C. mucosus* (Bull.) J.J. Kickx, *Dermocybe malichoria* (Fr.) Ricken, *Hygrophorus hypothejus* (Fr.) Fr., *Imleria badia* (Fr.) Vizzini, *Lactarius deliciosus* (L.) Gray, *L. rufus* (Scop.) Fr., *L. semisanguifluus*, *Russula chloroides* (Krombh.) Bres., *R. vesca* Fr., *Suillus granulatus* (L.) Roussel, *Tricholoma imbricatum* (Fr.) P. Kumm., *T. portentosum* (Fr.) Quéél., *Tylopilus felleus*.

К группе мезофитов следует отнести виды характерные для сосняков зеленомошных и чернично-моховых, в древостоях которых значительно участие *Betula pubescens*. Индикаторами рассматриваемых местообитаний являются: *Amanita crocea* (Quéél.) Singer, *A. porphyria*, *Cortinarius alboviolaceus*, *C. amoenolens* Rob. Henryex P.D. Orton, *C. allutus* Fr., *C. candelaris* Fr., *C. caperatus*, *C. cinnamomeus* (L.) Gray, *C. flexipes* (Pers.) Fr., *C. hemitrichus*, *C. malachius*, *C. mucosus*, *C. pearsonii*, *C. pholideus* (Lilj.) Fr., *C. pseudocandelaris* (M.M. Moser) M.M. Moser, *C. scaurus* (Fr.) Fr., *Lactarius aquizonatus*, *Lactarius semisanguifluus*, *L. subdulcis*, *L. trivialis*, *L. versipelle* (Fr. et Hök) Snell, *Russula atrirubens*, *R. claroflava*, *R. decolorans*, *R. gracillima*, *R. paludosa*, *Suillus bovinus* (L.) Roussel., *S. variegatus*.

Группу гигрофитов составляют виды характерные для березняков долгомошно-сфагновых. Это *Amanita fulva* Fr., *Cortinarius armillatus*, *C. betuletorum* M.M. Moser, *Hebeloma helodes* J. Favre, *Lactarius camphoratus* (Bull.) Fr., *L. helvus* (Fr.) Fr., *Leccinum cyaneobasileucum*, *L. variicolor*, *Russula betularum* Hora, *R. emetica* (Schaeff.) Pers. Ультрагигрофильным олиготрофом, образующим микоризы с березой в условиях сплавинных болот, является один вид *Leccinum holopus* (Rostk.) Watling.

Ультрагигрофильным олиготрофом, образующим микоризы с березой в условиях сплавинных болот, является один вид *Leccinum holopus* (Rostk.) Watling.

Виды микоризообразующих агарикомицетов, обитающих в ольшанниках, можно отнести к двум экологическим группам ультрагигрофитов и гигрофитов. Первую группу составляют представители рода *Alnicola* и *Naucoria*, наиболее устойчивые к переувлажнению. Они развиваются в основании островков, образуемых мощными корневыми лапами деревьев, а при просыхании почвы во время засухи и между ними. Это *Alnicola luteolofibrillosa* Kühner, *Naucoria celluloderma* P.D. Orton, *Naucoria escharioides* (Fr.) P. Kumm., *Naucoria scolecina* (Fr.) Quéél., *Naucoria subconspersa* Kühnerex P.D. Orton. Вторую группу составляют виды, заселяющие не затопляемые весной, наиболее приподнятые части островков. Это *Lactarius obscuratus*

(Lasch) Fr., *Lactarius omphaliiformis* Romagn., *Paxillus rubicundulus* P.D. Orton и *Russula alnetorum* Romagn. Иногда они поселяются и на сильно разложившейся древесине.

Видовой состав симбиотрофов в рассматриваемых лесах характеризуется высокой специфичностью. Все они образуют микоризы только с ольхой клейкой и в других типах леса на территории памятника природы «Никоновский бор» не встречаются. Большинство из них имеют мелкие плодовые тела и развиваются не обильно. В связи с этим учет урожайности их плодовых тел в процессе выполнения работ не проводился.

Фактор увлажнения оказывает влияние не только на видовой состав, но и на обилие плодовых тел агарикомицетов. Как показали результаты учетов на пробных площадях размером 10 × 100 м, урожайность грибов рассматриваемой группы возрастает в зависимости от условий увлажнения. Минимальной она оказывается в лишайниковых сосняках, средней – в сосняках зеленомошных, максимальной – в березняках долгомошно-сфагновых (табл. 1).

Таблица 1

Урожайность микоризообразующих грибов на пробных площадях 10 × 100 м в различных типах леса, г в пересчете на сухое вещество (средние показатели за 2019–2021 гг.)

Виды грибов	Типы леса			
	Сосняк лишайниковый	Сосняк зеленомошный	Сосняк черничный	Березняк долгомошно-сфагновый
1	2	3	4	5
1. <i>Amanita citrina</i>	–	70	264	–
2. <i>A. crocea</i>	–	–	52	–
3. <i>A. fulva</i>	–	–	–	12
4. <i>A. muscaria</i>	–	17	33	–
5. <i>A. pantherina</i>	413	20	–	–
6. <i>A. porphyria</i>	–	–	2	–
7. <i>A. rubescens</i>	100	66,7	–	–
8. <i>Boletus edulis</i>	303	500	451	466
9. <i>B. pinophilus</i>	70	–	–	–
10. <i>Chalciporus piperatus</i>	–	3,3	–	–
11. <i>Cortinarius alboviolaceus</i>	–	–	20	–
12. <i>C. armillatus</i>	–	–	160	15
13. <i>C. caperatus</i>	–	–	1400	–
14. <i>C. cinnamomeoluteus</i>	7	–	–	–
15. <i>C. malachius</i>	–	–	10	–
16. <i>C. mucosus</i>	–	27	3	–
17. <i>C. pearsonii</i>	–	–	16	–

Окончание табл. 1

1	2	3	4	5
18. <i>C. purpurascens</i>	3	–	–	–
19. <i>C. pholideus</i>	–	–	2	–
20. <i>C. raphanoides</i>	–	–	15	–
21. <i>C. raphanoides</i>	–	–	15	–
22. <i>Imleria badia</i>	–	40	–	–
23. <i>Lactarius camphoratus</i>	–	–	146	525
24. <i>L. helvus</i>	–	–	341	718
25. <i>L. necator</i>	–	–	115	2018
26. <i>L. rufus</i>	217	117	–	–
27. <i>L. subdulcis</i>	–	34	65	–
28. <i>L. trivialis</i>	–	75	71	400
29. <i>L. vietus</i>	–	–	1500	1708
30. <i>Leccinumholopus</i>	–	–	–	140
31. <i>L. scabrum</i>	–	–	58	74
32. <i>L. varicolor</i>	–	–	–	200
33. <i>L. versipelle</i>	–	–	–	137
34. <i>Paxillus involutus</i>	40	367	953	1653
35. <i>Russula aeruginea</i>	7,3	27	–	–
36. <i>R. claroflava</i>	–	–	950	95
37. <i>R. betularum</i>	–	–	–	40
38. <i>R. emetica</i>	–	–	76	290
39. <i>R. decolorans</i>	–	–	11	–
40. <i>R. heterophylla</i>	10	23	–	–
41. <i>R. paludosa</i>	–	–	680	500
42. <i>R. xerampelina</i>	16	97	983	–
43. <i>Suillus bovinus</i>	–	–	50	25
44. <i>S. luteus</i>	30	183	–	–
45. <i>S. variegatus</i>	–	75	61	–
46. <i>Tylopilus felleus</i> (Bull.)	67	130	270	–
Всего	1283	1872	8773	9016

Описанные типы сосняков отличаются друг от друга не только видовым составом и урожайностью микоризообразующих агарикомицетов. В связи с различным увлажнением экотопов, к которым они приурочены, эти леса существенно отличаются по стабильности плодоношения грибов. Наименьшие колебания их урожайности по годам характерны для самого влажного типа – березняка долгомошно-сфагнового, наибольшие – для самого сухого – сосняка лишайникового. Сосняки зеленомошные и черничные занимают по этому показателю среднее положение (рис. 1).

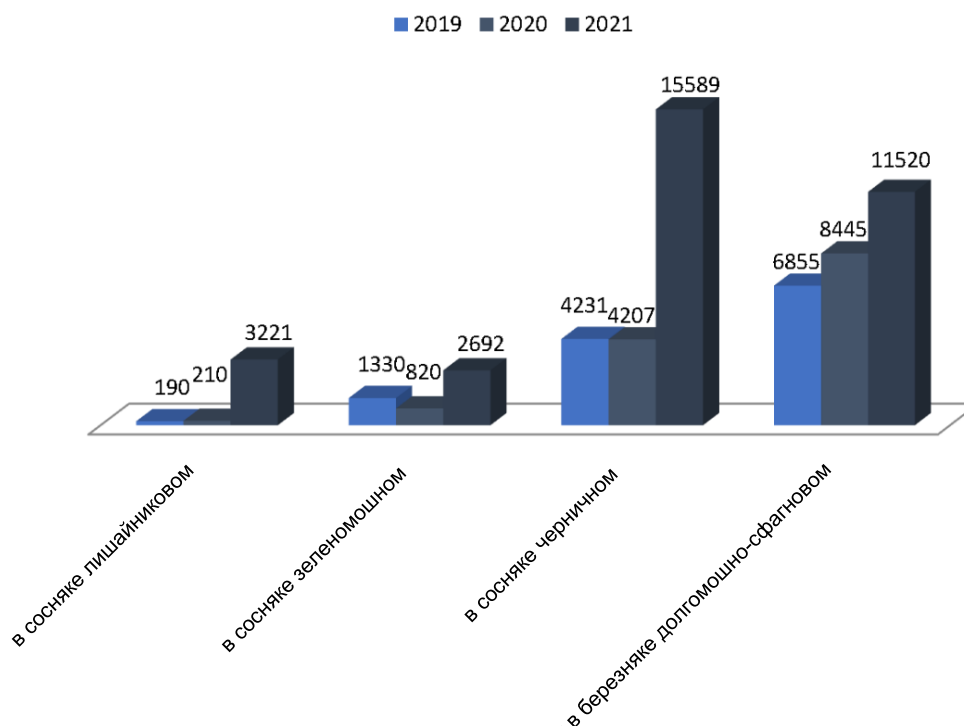


Рис. 1. Колебания урожайности микоризообразующих грибов на разных участках, пробной площади  $10 \times 100$  м, по годам, в г

### Заключение

Микоризообразующие агарикомицеты на изучаемой территории представлены 107 видами. Из них три – *Cortinarius violaceus*, *Gyroporus cyanescens* и *Lactarius semisanguifluus* – занесены в Красную книгу Пензенской области, а *Cortinarius impennis*, *C. isabellinus*, *C. purpurascens* и *C. pearsonii* представляют интерес с точки зрения включения их в ее последующие издания. На изучаемой ООПТ выявлено большое количество бореальных видов, которые широко распространены в лесной зоне Русской равнины. Здесь они находятся на южной границе своего распространения. Таким образом, памятник природы «Никоновский бор» имеет большое значение с точки зрения охраны биологического разнообразия агарикомицетов и может быть отнесен к ключевым микологическим территориям Пензенской области. Ведущим абиотическим фактором, определяющим пространственное распределение микоризообразующих агарикомицетов по территории ООПТ, является фактор увлажнения. По отношению к нему эти грибы могут быть разделены на ряд экологических групп: ксерофитов, ксеромезофитов, мезофитов, гигрофитов и ультрагигрофитов. Фактор увлажнения оказывает влияние на обилие плодовых тел агарикомицетов. Как показали результаты учетов на пробных площадях размером  $10 \times 100$  м, урожайность грибов рассматриваемой группы возрастает в зависимости от условий увлажнения. Минимальной она оказывается в лишайниковых сосняках, средней – в сосняках зеленомошных и черничных, максимальной – в березняках долгомошно-сфагновых. В связи с различным увлажнением экотопов, к которым приурочены различные типы леса,



они существенно отличаются по стабильности плодоношения грибов. Наименьшие колебания их урожайности по годам характерны для самого влажного типа – березняка долгомошно-сфагнового, наибольшие – для самого сухого – сосняка лишайникового. Сосняки зеленомошные и черничные занимают по этому показателю среднее положение.

### Список литературы

1. Олонова М. В., Чжанг Д., Бекет У. Материалы к выделению ключевых ботанических территорий Алтайской горной страны // Вестник Томского государственного университета. Биология. 2013. № 1. С. 59–73.
2. Андерсон С. Идентификация ключевых ботанических территорий: руководство по выбору КБТ в Европе и основы развития этих правил для других регионов мира. М. : Изд-во Представительства Всемирного союза охраны природы (IUSN) для России и стран СНГ, 2003. 39 с.
3. List of rare, threatened and endemic plants in Europe. IUCN Conservation Monitoring Centre, 1983. 357 p.
4. Калинина Л. Б. Агарикоидные грибы широколиственных лесов северо-запада европейской части России : автореф. ... канд. биол. наук. СПб., 2021. 27 с.
5. Сафонов М. А., Сафонова Т. И. Теоретические и практические аспекты сохранения биоразнообразия микобиоты южного Приуралья // Вестник Оренбургского государственного университета. 2010. № 6. С. 29–33.
6. Иванов А. И., Чернышов Н. В., Кузин Е. Н. Природные условия Пензенской области. Современное состояние. Т. 1. Геологическая среда, рельеф, климат, поверхностные воды, почвы, растительный покров. Пенза : РИО ПГСХА, 2017. 234 с.
7. Иванов А. И. К флоре агариковых грибов Пензенской области. III. Новости систематики низших растений. Л. : Наука, Ленинградское отделение, 1983. Т. 20. С. 76–83.
8. Funga Nordica: Agaricoid, boletoid, clavarioid, cyphelloid and gastroid genera. Copenhagen, 2012. 1083 p.
9. Moser M. Die Rohrlinge und Blatterpilze. Kleine Kryptogamenflora Band II b/2. N. Y., 1978. 532 p.
10. Index Fungorum. URL: [indexfungorum.org](http://indexfungorum.org) (дата обращения: 01.12.2021).
11. Красная книга Пензенской области. Т. 1. Грибы, лишайники, мхи, сосудистые растения. Пенза, 2013. 226 с.
12. Нездоймино Э. Л. Семейство паутильниковые. Определитель грибов России. Вып. 1. Порядок агариковые. СПб. : Наука, 1996. 408 с.
13. Шубин В. И. Микотрофность древесных пород, ее значение при разведении леса в таежной зоне. Л. : Наука, 1973. 264 с.
14. Smith S., Read D. J. Mycorrhizal symbiosis. London : Academic Press, 1997. 605 p.
15. Погребняк П. С. Основы лесной типологии. Киев : АН УССР, 1955. 456 с.
16. Бурова Л. Г. Влияние осадков и режима влажности на развитие и распределение макромицетов в широколиственно-еловых лесах Подмоскovie // Микология и фитопатология. 1978. Т. 12, вып. 3. С. 192–195.

### References

1. Olonova M.V., Chzhang D., Beket U. Materials for the selection of key botanical areas of the Altai mountainous country. *Vestnik Tomskogo gosudarstvennogo universiteta. Biologiya = Bulletin of Tomsk State University. Biology*. 2013;(1):59–73. (In Russ.)
2. Anderson S. *Identifikatsiya klyuchevykh botanicheskikh territoriy: rukovodstvo po vyboru KBT v Evrope i osnovy razvitiya etikh pravil dlya drugikh regionov mira = Identification of key botanical areas: a guide to the selection of ITCs in Europe and the basis*

- for the development of these rules for other regions of the world. Moscow: Izd-vo Predstavitel'stva Vsemirnogo soyuza okhrany prirody (IUSN) dlya Rossii i stran SNG, 2003: 39. (In Russ.)
3. *List of rare, threatened and endemic plants in Europe. IUCN Conservation Monitoring Centre*, 1983:357.
  4. Kalinina L.B. Agaricoid fungi of broad-leaved forests of the north-west of the European part of Russia. PhD abstract. Saint Petersburg, 2021:27. (In Russ.)
  5. Safonov M.A., Safonova T.I. Theoretical and practical aspects of biodiversity conservation of mycobiota in the southern Urals. *Vestnik Orenburgskogo gosudarstvennogo universiteta = Bulletin of Orenburg State University*. 2010;(6):29–33. (In Russ.)
  6. Ivanov A.I., Chernyshov N.V., Kuzin E.N. *Prirodnye usloviya Penzenskoy oblasti. Sovremennoe sostoyanie. T. 1. Geologicheskaya sreda, rel'ef, klimat, poverkhnostnye vody, pochvy, rastitel'nyy pokrov = Natural conditions of the Penza region. Current state. Volume 1. Geological environment, relief, climate, surface waters, soils, vegetation cover*. Penza: RIO PGSKhA, 2017:234. (In Russ.)
  7. Ivanov A.I. *K flore agarikovykh gribov Penzenskoy oblasti. III. Novosti sistematiki nizshikh rasteniy = To the flora of agaric fungi of the Penza region. III. News of taxonomy of lower plants*. Leningrad: Nauka, Leningradskoe otdelenie, 1983;20:76–83. (In Russ.)
  8. *Funga Nordica: Agaricoid, boletoid, clavarioid, cyphelloid and gastroid genera*. Copenhagen, 2012:1083.
  9. Moser M. *Die Rohrlinge und Blatterpilze. Kleine Kryptogamenflora Band II b/2*. New York, 1978:532.
  10. *Index Fungorum*. Available at: [indexfungorum.org](http://indexfungorum.org) (accessed 01.12.2021).
  11. *Krasnaya kniga Penzenskoy oblasti. T. 1. Griby, lishayniki, mkhi, sosudistye rasteniya = The Red Book of Penza region. Volume 1. Fungi, lichens, mosses, vascular plants*. Penza, 2013:226. (In Russ.)
  12. Nezdoyminogo E.L. *Semeystvo pautinnikovye. Opredelitel' gribov Rossii. Vyp. 1. Poryadok agarikovye = Gossamer family. Key to mushrooms of Russia. Issue 1. Order agaric*. Saint Petersburg: Nauka, 1996:408. (In Russ.)
  13. Shubin V.I. *Mikotrofnost' drevesnykh porod, ee znachenie pri razvedenii lesa v taizhnoy zone = Mycotrophy of tree species, its importance in forest cultivation in the taiga zone*. Leningrad: Nauka, 1973:264. (In Russ.)
  14. Smith S., Read D.J. *Mycorrhizal symbiosis*. London: Academic Press, 1997:605.
  15. Pogrebnyak P.S. *Osnovy lesnoy tipologii = Fundamentals of forest typology*. Kiev: AN USSR, 1955:456.
  16. Burova L.G. The effect of precipitation and humidity regime on the development and distribution of macromycetes in broad-leaved-spruce forests of Moscow region. *Mikologiya i fitopatologiya = Mikologiya i fitopatologiya*. 1978;12(3):192–195. (In Russ.)

#### Информация об авторах / Information about the authors

**Александр Иванович Иванов**

доктор биологических наук, профессор,  
профессор кафедры селекции,  
семеноводства и биологии растений,  
Пензенский государственный аграрный  
университет (Россия, г. Пенза,  
ул. Ботаническая, 30)

**Alexander I. Ivanov**

Doctor of biological sciences, professor,  
professor of the sub-department of plant  
breeding, seed production and plant biology,  
Penza State Agrarian University  
(30 Botanicheskaya street, Penza,  
Russia)

E-mail: [rcgekim@mail.ru](mailto:rcgekim@mail.ru)

***Анна Андреевна Миронова***

заведующий Гербарием имени  
И. И. Спрыгина кафедры общей  
биологии и биохимии, Пензенский  
государственный университет  
(Россия, г. Пенза, ул. Красная, 40)

E-mail: mironovaanna20@gmail.com

***Anna A. Mironova***

Head of the Herbarium named after  
I.I. Sprygin of the sub-department of general  
biology and biochemistry, Penza State  
University (40 Krasnaya street, Penza,  
Russia)

***Анастасия Александровна Ермолаева***

ассистент кафедры селекции,  
семеноводства и биологии растений,  
Пензенский государственный аграрный  
университет (Россия, г. Пенза,  
ул. Ботаническая, 30)

E-mail: ermolaeva7733@yandex.ru

***Anastasiya A. Ermolaeva***

Assistant of the sub-department of plant  
breeding, seed production and plant biology,  
Penza State Agrarian University  
(30 Botanicheskaya street, Penza,  
Russia)

**Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов / The authors declare no conflicts of interests.**

**Поступила в редакцию / Received 07.02.2022**

**Поступила после рецензирования и доработки / Revised 28.02.2022**

**Принята к публикации / Accepted 11.03.2022**

# МЕТОДИКА НАУЧНЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ

---

## RESEARCH METHODOLOGY

УДК 597.851

doi:10.21685/2307-9150-2022-1-7

### A development of a PCR-RFLP test system for the identification of mitochondrial lines of the *Pelophylax ridibundus* lake frog in Kazakhstan

D.A. Ualiyeva<sup>1</sup>, A.Yu. Ivanov<sup>2</sup>, O.A. Ermakov<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Institute of Zoology, Almaty, Kazakhstan

<sup>2,3</sup>Penza State University, Penza, Russia

<sup>1</sup>daniya.2010@mail.ru, <sup>2</sup>akella58@mail.ru, <sup>3</sup>oaermakov@list.ru

**Abstract.** *Background.* Molecular typing by PCR-RFLP method allows to identify the specific attribution of an organism that has a weak phenotypic difference. The main advantage of this research method is the capacity to analyze a large number of samples without applying the sequencing method. The purpose of the work is to develop a test-system for the identification the matriline of marsh frogs of the *Pelophylax ridibundus* complex from Kazakhstan. *Materials and methods.* The analysis was based on the variability of the primary structure of the mitochondrial gene the second subunit of dehydrogenase (ND2) which is a species-specific marker. Subsequently a search for marker nucleotide substitutions specific for each lineage and recognition sites for the HaeIII and TasI restriction endonucleases was conducted. *Results.* As a result of the research, it was confirmed that on the territory of Kazakhstan inhabiting three main forms of lake frogs where two of them are native (Balkhash, Syrdarya), and invasive Anatolian form – *P. cf. bedriagae*. *Conclusions.* The authors' PCR-RFLP test technique is a straightforward and reliable tool for detecting mitochondrial lineages in the *Pelophylax ridibundus* complex marsh frogs and may be used successfully in mass screening investigations.

**Keywords:** restriction analysis, NADH dehydrogenase (ND2), mitochondrial DNA, *Pelophylax ridibundus* complex

**Acknowledgments:** the authors are grateful to A.G. Kaptyonkina, I.I. Arifullova, F. Sarzhanov, V.A. Khromov, V.N. Krainyuk, A.V. Cherednichenko, T.E. Tarasovskaya, S.V. Titov, V.A. Khromov, S.V. Sraricov and T.N. Dujsebaeva for the help in field trips and sample collection, to S.A. Lukonina for the assistance in lab works.

**Acknowledgments:** this work was supported by the grant project of the Ministry of Education and Science of the Republic of Kazakhstan “Genetic polymorphism and ecological plasticity as the basis of evolutionary welfare and progressive settlement of the marsh frogs of the *Pelophylax ridibundus* complex in Kazakhstan” for 2020-2022 (No. AP08856275).

**For citation:** Ualiyeva D.A., Ivanov A.Yu., Ermakov O.A. A development of a PCR-RFLP test system for the identification of mitochondrial lines of the *Pelophylax ridibundus* lake frog in Kazakhstan. *Izvestiya vysshikh uchebnykh zavedeniy. Povolzhskiy region. Estestvennye nauki = University proceedings. Volga region. Natural sciences.* 2022;(1):76–84. (In Russ.). doi:10.21685/2307-9150-2022-1-7

---

© Уалиева Д. А., Иванов А. Ю., Ермаков О. А., 2022. Контент доступен по лицензии Creative Commons Attribution 4.0 License / This work is licensed under a Creative Commons Attribution 4.0 License.

**Разработка ПЦР-ПДРФ тест-системы  
для идентификации митохондриальных линий озерной лягушки  
комплекса *Pelophylax ridibundus* в Казахстане**

Д. А. Уалиева<sup>1</sup>, А. Ю. Иванов<sup>2</sup>, О. А. Ермаков<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Институт зоологии, Алматы, Казахстан

<sup>2,3</sup>Пензенский государственный университет, Пенза, Россия

<sup>1</sup>daniya.2010@mail.ru, <sup>2</sup>akella58@mail.ru, <sup>3</sup>oaermakov@list.ru

**Аннотация.** *Актуальность и цели.* Молекулярное типирование методом ПЦР-ПДРФ позволяет определить видовую принадлежность организмов, имеющих слабые фенотипические различия. Главное преимущество данного метода – это возможность анализировать значительные по объему выборки без применения методов секвенирования. Авторами была поставлена задача разработать тест-систему для идентификации озерных лягушек комплекса *Pelophylax ridibundus* в Казахстане. *Материалы и методы.* Анализ был основан на изменчивости первичной структуры митохондриального гена – второй субъединицы НАДН-дегидрогеназы, который является видоспецифичным маркером. В дальнейшем был проведен поиск маркерных нуклеотидных замен, специфичных для каждой линии, и сайтов узнавания для эндонуклеаз рестрикции HaeIII и TaqI. *Результаты.* В результате проведенных исследований было подтверждено обитание трех форм озерной лягушки на территории Казахстана, две из которых – нативные (Балхаш, Сырдарья) и инвазивной азиатской формы – *P. cf. bedriagae*. *Выводы.* Разработанная авторами методика ПЦР-ПДРФ анализа представляет собой простой и надежный инструмент для выявления митохондриальных линий у озерных лягушек комплекса *Pelophylax ridibundus* и может успешно использоваться в массовых скрининговых исследованиях.

**Ключевые слова:** рестрикционный анализ, НАДН-дегидрогеназа, митохондриальная ДНК, *Pelophylax ridibundus* комплекс

**Благодарности:** авторы выражают благодарность А. Г. Каптенкиной, И. И. Ариффулловой, Ф. Саржанову, В. А. Хромову, В. Н. Крайнюку, А. В. Чередниченко, Т. Е. Тарасовской, С. В. Титову, В. А. Хромову, С. В. Срарицову и Т. Н. Дуйсебаевой за помощь в проведении экскурсий и сборе проб, С. А. Лукониной за помощь в лабораторных работах.

**Финансирование:** работа выполнена при поддержке гранта № AP08856275 Министерства образования и науки Республики Казахстан «Генетический полиморфизм и экологическая пластичность как основа эволюционного благополучия и прогрессивного расселения болотных лягушек *Pelophylax ridibundus* в Казахстане».

**Для цитирования:** Ualiyeva D.A., Ivanov A.Yu., Ermakov O.A. A development of a PCR-RFLP test system for the identification of mitochondrial lines of the *Pelophylax ridibundus* lake frog in Kazakhstan // Известия высших учебных заведений. Поволжский регион. Естественные науки. 2022. № 1. С. 76–84. doi:10.21685/2307-9150-2022-1-7

### Introduction

*Pelophylax ridibundus* (Pallas, 1771) is a species complex of marsh frogs, occupying territories from Europe and North Africa in the west to Central and Middle Asia in the east [1–3]. Nowadays, the taxonomy of many forms within the complex has not been sufficiently studied, in particular, the marsh frog from the Central Asian region needs to be clarified. Due to its high ecological plasticity, representatives of the *P. ridibundus* complex are adapted to extensive expansions of

new territories. To the territory of Kazakhstan, the marsh frog was unintentionally introduced at the end of the 20th century into the basins of the Irtysh and Ural rivers, as well as into fish farms, which was the beginning of resettlement in the adjacent territories [4–7]. Due to the difficulties in identifying marsh frogs of the *P. ridibundus* complex at the phenotypic level, over the past two decades, many approaches have been taken to study its genetic component.

Molecular genetic analysis of *P. ridibundus* forms was carried out on the basis of mitochondrial genes [8–9]. Several distribution points from the territory of Kazakhstan were also involved in these studies (Atyrau – western Kazakhstan, and Almaty – southeastern Kazakhstan). The results of the analysis showed the presence of two haplogroups on the territory of Kazakhstan – Central Asia 1 and Central Asia 2 with the nominal name *P. sp. novum* [10]. Haplogroup Central Asia 1 represents populations from the southern and eastern part of the Caspian Sea, Iran, Turkmenistan and Uzbekistan, while haplogroup Central Asia 2 included populations from Kyrgyzstan and the adjacent territory of Kazakhstan. Along with this, test systems were also developed for determining the cryptic forms of the marsh frog complex that involved various nuclear DNA (nuDNA) analyses, such as the PCR-RFLP-based method [11], the PCR method based on differences in length of serum albumin intron 1 (SAI-1) sequences [12], and several methods detected variation of microsatellite markers [13–16]. According to our recent studies [17], it was found that 3 forms of the marsh frog live in Kazakhstan, two of which are native: Balkhash form = (Central Asia 2), Syrdarya form – (Middle East) sensu C. Akin [9], and an invasive form *P. cf. bedriagae*. The distribution area of *P. cf. bedriagae* occurs in almost the entire territory of the country from west to east [9]. It has the ranges overlaps with Balkhash form on the east and southeast, and southeast, whereas Syrdarya form occupies the basin of the same name river in the south of Kazakhstan [17].

The purpose of this study is to develop a test system based on restriction analysis of the second subunit of the mitochondrial dehydrogenase gene ND2 for screening identification of Kazakhstani forms of the marsh frog.

### Materials and methods

In total, 89 samples of the marsh frog of the *Pelophylax ridibundus* complex were analyzed from 21 localities in Kazakhstan, collected during the period of field expeditions 2009–2021. The toe clips fixed in 96 % ethanol were used as tissue samples. Extraction of genomic DNA was performed using the standard proteinase K lysing salt method [18]. The ND2 gene sequence was amplified with use of the universal primer ND2L1 5'-AAG CTT TTG GGC CCA TAC CCC-3' [19] and a specific primer ND2H1 5'- GCA AGT CCT ACA GAA ACT GAA G-3' [20]. Reaction mixture (25 µl) contained 50–100 ng of DNA of frogs, 0.5 µM of each primer, 0.2 mM of dNTPs, 1.5 mM of MgCl<sub>2</sub>, 2.5 µl 10 × of PCR buffer (10 mM Tris-HCl, pH 8.3, 50 mM KCl), and 2 units of *Taq* polymerase (Thermo Scientific). PCR was performed at 95 °C for 30 sec, 60 °C (depending on the annealing temperature of primers) for 30 sec, and 72 °C for 90 sec (32 cycles).

Amplification products were exposed to restriction endonucleases BsuRI (HaeIII), and TasI (Tsp509I) (Fermentas). PCR fragments were digested according to the manufacturer's protocol by adding 2 units of enzyme activity directly to aliquots of amplification mixtures (4 µl). Obtained PCR products were

analyzed by electrophoresis in 6 % polyacrylamide gel (glass plate sizes  $8 \times 10$  cm) with further dyeing by ethidium bromide for UV visualization. For molecular weight size markers, we used the DNA kit of pBR322 plasmid processed with restrictase HpaII (pBR/HpaII).

### Results

The length of the amplified product of the mitochondrial ND2 gene was 1170 base pairs (bp), including primers. Analysis of the nucleotide sequence of the gene showed the presence of 6 restriction endonuclease HaeIII ( $GG^VCC$ ) recognition sites, 2 of which were common for all three forms, and 4 sites for the Syrdarya and *P. cf. bedriagae* forms. In view of the insufficiently studied populations of marsh frogs from the territory of Kazakhstan, the “western” form, *P. ridibundus*, was used as a control group (Fig. 1, gel well 1). Upon treatment with HaeIII endonuclease in *P. cf. bedriagae*, 4 restriction sites were found, the fragments of which were digested at different lengths and segregating the form into the two matriline, hereafter named as *P. cf. bedriagae* 1 and *P. cf. bedriagae* 2. *P. cf. bedriagae* 1 is distinguished by the fragment with length of 515 bp, whereas *P. cf. bedriagae* 2, characterized by additional fragments 148 and 367 bp (Fig. 1, gel wells 2–3, respectively). In the Syrdarya form, two slightly different matriline were also noted, which, when treated with restriction enzyme, are split into 5 fragments of different lengths. Indicative length of digested fragment for line Syrdarya 1 was 432 bp, and for Syrdarya 2 were fragments of 375 + 367 and 65 bp respectively (Fig. 1, gel wells 4–5). The Balkhash form has three restriction sites, whereas feature fragment of which is cleaved at length of 511 bp (Fig. 1, gel well 6).

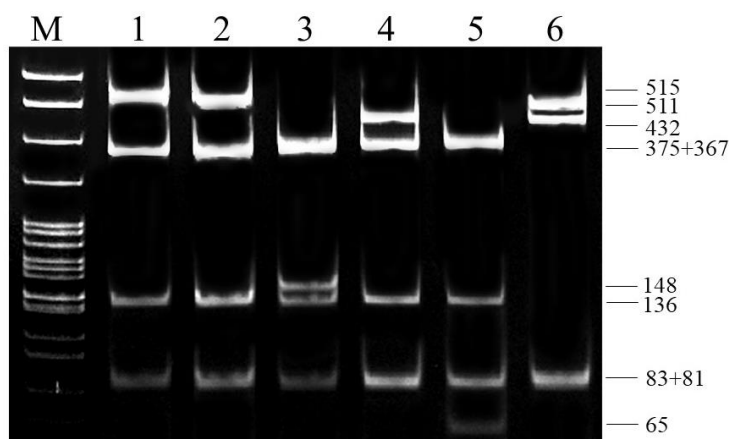


Fig. 1. Electropherogram of the ND2 gene restriction products by HaeIII endonuclease in the identification of three mitochondrial lineages of marsh frog *P. ridibundus complex* in Kazakhstan. Gel wells: 1 – *P. ridibundus*; 2–3 – *P. cf. bedriagae* 1, 2; 4–5 – Syrdarya 1, 2; 6 – Balkhash. On the right side – length of restriction fragment, bp; M – molecular lengths marker pBR/HpaII; Fragments less than 60 bp are not shown on the phoregram

The endonuclease HaeIII enable to identify the native forms but cannot distinguish *P. ridibundus*. Thus, the restriction analysis revealed a variation of the “eastern” form of *P. cf. bedriagae* 2 from Semey, indicated by the 2 additional marker fragments – 148 and 367 bp. The variation of the Syrdarya 2 linethatis characterized by the presence of fragments of 375 + 367 and 65 bp (Table 1).

Table 1

Lengths of the restriction fragments (bp) detected by HaeIII and TasI endonucleases of Kazakhstani marsh frogs

HaeIII endonuclease					
<i>P. ridibundus</i>	<i>P. cf. bedriagae</i> 1	<i>P. cf. bedriagae</i> 2	Syrdarya 1	Syrdarya 2	Balkhash
515	515	–	–	–	511
–	–	–	432	–	432
375	375	375+367	375	375+367	
–	–	148	–	–	–
136	136	136	136	136	
81	81	81	83+81	83+81	83+81
–	–	–	–	65	–
54	54	54	54	52	54
TasI endonuclease					
441	–	–	–	–	–
–	360	360	360	360	360
–	204	204	–	–	204
194	–	–	–	–	–
–	153	153	154	154	153
–	–	–	140	140	140
101+103	–	–	–	–	–
85	85	85	–	–	–
69	–	–	69+73	–	69

Endonuclease TasI (<sup>V</sup>AATT) allows to identify the presence of the control “western form” of *P. ridibundus* among the studied forms. The number of recognition sites for this restriction enzyme in the ND2 gene sequences among the studied lines was 8, 2 of which were common to the three studied lines, the remaining 2–4 in different combinations formed fragments characterizing only of one or another line. A large number of cleavage sites made it possible to obtain specific restriction patterns for each genetic line, which are well visualized on electropherograms in the length zone from 69 to 360 bp (Fig. 2).

The common cleavage fragments for all three lines were 360, 154 + 153 bp. *P. cf. bedriagae* matriline are not distinguishable by the TasI restriction enzyme, therefore fragment lengths were same and had no characteristic features (Fig. 2, gel wells 2–3), however, the Syrdarya 1 line had additional favorable fragment with length 69 + 73 bp. The absence of the 69 and 204 bp fragments for the line of Syrdarya 2 was specific factor (Fig. 2, gel wells 4–5). Balkhash line identified by the fragment of 204 bp in length (Fig. 2, gel well 6).

According to the results of TasI endonuclease analysis, among the studied samples of the Kazakh populations of the marsh frog, the “western” form of *P. ridibundus* was not found. An information about restriction fragments is given in the Table 1.



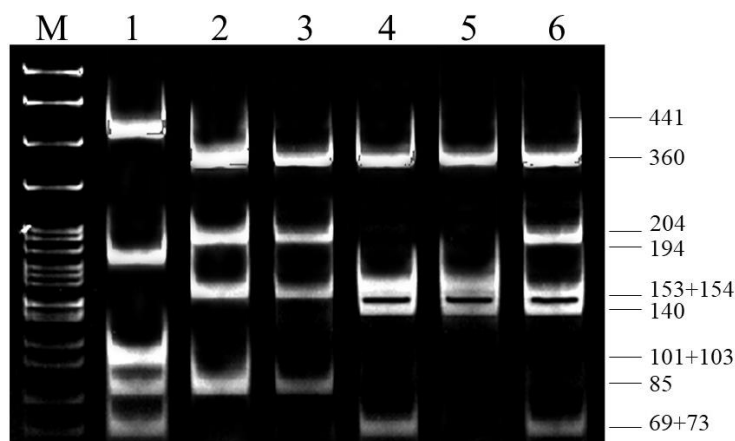


Fig. 2. Electropherogram of the ND2 gene restriction products by *TasI* endonuclease in the identification three mitochondrial lineages of the marsh frog *P. ridibundus complex* in Kazakhstan. Gel wells: 1 – *P. ridibundus*; 2–3 – *P. cf. bedriagae* 1, 2; 4–5 – Syrdarya 1, 2; 6 – Balkhash. On the right side – length of restriction fragment, bp; M – marker of molecular lengths pBR/*HpaII*. Fragments less than 60 bp are not shown on the phoregram

### Conclusions

One of the main advantages of this research method is its low cost, which allows to avoid sequencing stage in some cases. Evaluation of the applicability of the PCR-RFLP method for the identification of mitochondrial lines of the marsh frog of *P. ridibundus complex* showed that nucleotide sequence of the ND2 gene has sufficient variability to allow selection of restriction endonucleases to identify three known lines. Moreover, the developed test-system serves as a universal method for determining the cryptic forms particularly with the overlapped habitats, and can also be used for mass analyses for scientific and monitoring purposes.

### References

1. Borkin L.Ya., Litvinchuk S.N., Rozanov Yu.M. [et al.]. About cryptic species (on the example of amphibians). *Zoologicheskij zhurnal = Zoological journal*. 2004;83(8): 936–960. (In Russ.)
2. Duysebaeva T.N., Berezovikov N.N., Brushko Z.K. [et al.]. Lake frog (*Rana ridibunda* Pallas, 1771) in Kazakhstan: change of range in the 20<sup>th</sup> century and modern distribution of the species. *Sovremennaya gerpetologiya = Modern herpetology*. 2005;3–4: 29–59. (In Russ.)
3. Kuz'min S.L. *Zemnovodnye byvshego SSSR = Amphibians of the former USSR*. Moscow: Tovarishestvo nauchnykh izdaniy KMK, 2012:370. (In Russ.)
4. Kuranova V.N., Yakovlev V.A., Simonov E.P. [et al.]. Diversity, distribution, distribution and conservation status of amphibians in Western Siberia. *Printsipy ekologii = Principles of ecology*. 2016;(3):70. (In Russ.)
5. Lyapkov S.M. Locations of finds and the state of populations of the marsh frog in Kamchatka. *Vestnik Tambovskogo universiteta. Ser.: Estestvennye i tekhnicheskie nauki = Bulletin of Tambov University. Series: Natural and technical sciences*. 2016;21(5): 1821–1824. (In Russ.). doi:10.20310/1810-0198-2016-21-5-1821-1824
6. Lyapkov S.M., Ermakov O.A., Titov S.V. Distribution and origin of two forms of the lake frog *Pelophylax ridibundus complex* (Anura, Ranidae) in Kamchatka according to the analysis of mitochondrial and nuclear DNA. *Zoologicheskij zhurnal = Zoological journal*. 2017;96(11):1384–1391. (In Russ.). doi:10.7868/S0044513417110083

7. Bashinskiy I.V., Osipov F.A., Kuranova V.N. *Pelophylax ridibundus* – lake frog. *Samye opasnye invazionnye vidy Rossii (TOP-100): monografiya = The most dangerous invasive species in Russia (TOP-100): monograph*. Moscow: Tovarishestvo nauchnykh izdaniy KMK, 2018:573–579. (In Russ.)
8. Plötner J., Uzzell T., Beerli P. [et al.]. Wide spread unidirectional transfer of mitochondrial DNA: a case in western Palaearctic water frogs. *Journal of Evolutionary Biology*. 2008;21:668–681. doi:10.1111/j.1420-9101.2008.01527.x
9. Akın C., Bilgin C.C., Beerli P. [et al.]. Phylogeographic patterns of genetic diversity in eastern Mediterranean water frogs have been determined by geological processes and climate change in the Late Cenozoic. *Journal of Biogeography*. 2010;37:2111–2124. doi:10.1111/j.1365-2699.2010.02368.x
10. Akin C. *Molecular evolution and phylogeography of the eastern Mediterranean water frog (Pelophylax) complex*. PhD dissertation. 2015:342.
11. Patrelle C., Ohst T., Picard D. [et al.]. A new PCR-RFLP-based method for an easier systematic affiliation of European water frogs. *Molecular Ecology Resources*. 2011;11: 200–205. doi:10.1111/j.1755-0998.2010.02905.x
12. Hauswaldt J.S., Höer M., Ogielska M. [et al.]. A simplified molecular method for distinguishing among species and ploidy levels in European water frogs (Pelophylax). *Molecular Ecology Resources*. 2012;12:797–805. doi:10.1111/j.1755-0998.2012.03160.x
13. Arioli M., Jakob C., Reyer H.-U. Genetic diversity in water frog hybrids (*Pelophylax esculentus*) varies with population structure and geographic location. *Molecular Ecology*. 2010;19:1814–1828.
14. Leuenberger J., Gander A., Schmidt B.R. [et al.]. Are invasive marsh frogs (*Pelophylax ridibundus*) replacing the native *P. lessonae* / *P. esculentus* hybridogenetic complex in Western Europe? Genetic evidence from a field study. *Conservation Genetics*. 2014;15: 869–878.
15. Herczeg D., Vörös J., Christiansen D.G. [et al.]. Taxonomic composition and ploidy level among European water frogs (Anura: Ranidae: Pelophylax) in eastern Hungary. *Journal of Zoological Systematics and Evolutionary Research*. 2017;55:129–137.
16. Stakh V.O., Strus Iu.M., Khamar I.S. Genetic diversity in population systems of green frogs (*Pelophylax esculentus* complex) in waterbodies of Western Ukraine. *Studia Biol*. 2018;12:17–26.
17. Dujsebajeva T.N., Ivanov A.Yu., Kaptyonkina A.G. [et al.] The marsh frogs (*Pelophylax ridibundus* complex) in Central Kazakhstan: expansion and retreat. *Russian Journal of Ecosystem Ecology*. 2021;6. doi:10.21685/2500-0578-2021-3-3
18. Aljanabi S.M., Martinez I. Universal and rapid salt-extraction of high genomic DNA for PCR-based techniques. *Nucleic Acids Research*. 1997;25:4692–4693.
19. Meyer A. Evolution of mitochondrial DNA in fishes. *Molecular biology frontiers, biochemistry and molecular biology of fishes*. Elsevier Science Publisher, 1993;2:1–38.
20. Litvinchuk S.N., Ivanov A.Yu., Lukonina S.A. [et al.]. A record of alien *Pelophylax* species and widespread mitochondrial DNA transfer in Kaliningradskaya Oblast' (the Baltic coast, Russia). *BioInvasions Records*. 2020;9:599–617. doi:10.3391/bir.2020.9.3.16

### Список литературы

1. Боркин Л. Я., Литвинчук С. Н., Розанов Ю. М. [и др.]. О криптических видах (на примере амфибий) // Зоологический журнал. 2004. Т. 83, № 8. С. 936–960.
2. Дуйсебаева Т. Н., Березовиков Н. Н., Брушко З. К. [и др.]. Озерная лягушка (*Rana ridibunda* Pallas, 1771) в Казахстане: изменение ареала в XX столетии и современное распространение вида // Современная герпетология. 2005. Т. 3–4. С. 29–59.
3. Кузьмин С. Л. Земноводные бывшего СССР. М. : Товарищество научных изданий КМК, 2012. 370 с.

4. Куранова В. Н., Яковлев В. А., Симонов Е. П. [и др.]. Разнообразие, распространение, распределение и природоохранный статус земноводных Западной Сибири // Принципы экологии. 2016. № 3. С. 70.
5. Ляпков С. М. Места находок и состояние популяций озерной лягушки на Камчатке // Вестник Тамбовского университета. Сер.: Естественные и технические науки. 2016. Т. 21, № 5. С. 1821–1824. doi:10.20310/1810-0198-2016-21-5-1821-1824
6. Ляпков С. М., Ермаков О. А., Титов С. В. Распространение и происхождение двух форм озерной лягушки *Pelophylax ridibundus* complex (Anura, Ranidae) на Камчатке по данным анализа митохондриальной и ядерной ДНК // Зоологический журнал. 2017. Т. 96, № 11. С. 1384–1391. doi:10.7868/S0044513417110083
7. Башинский И. В., Осипов Ф. А., Куранова В. Н. *Pelophylax ridibundus* – озерная лягушка // Самые опасные инвазионные виды России (ТОП-100) : монография. М. : Товарищество научных изданий КМК, 2018. С. 573–579.
8. Plötner J., Uzzell T., Beerli P. [et al.]. Wide spread unidirectional transfer of mitochondrial DNA: a case in western Palaearctic water frogs // Journal of Evolutionary Biology. 2008. Vol. 21. P. 668–681. doi:10.1111/j.1420-9101.2008.01527.x
9. Akin C., Bilgin C. C., Beerli P. [et al.]. Phylogeographic patterns of genetic diversity in eastern Mediterranean water frogs have been determined by geological processes and climate change in the Late Cenozoic // Journal of Biogeography. 2010. Vol. 37. P. 2111–2124. doi:10.1111/j.1365-2699.2010.02368.x
10. Akin C. Molecular evolution and phylogeography of the eastern Mediterranean water frog (*Pelophylax*) complex : PhD dissertation. 2015. P. 342.
11. Patrelle C., Ohst T., Picard D. [et al.]. A new PCR-RFLP-based method for an easier systematic affiliation of European water frogs // Molecular Ecology Resources. 2011. Vol. 11. P. 200–205. doi:10.1111/j.1755-0998.2010.02905.x
12. Hauswaldt J. S., Höer M., Ogielska M. [et al.]. A simplified molecular method for distinguishing among species and ploidy levels in European water frogs (*Pelophylax*) // Molecular Ecology Resources. 2012. Vol. 12. P. 797–805. doi:10.1111/j.1755-0998.2012.03160.x
13. Arioli M., Jakob C., Reyer H.-U. Genetic diversity in water frog hybrids (*Pelophylax esculentus*) varies with population structure and geographic location // Molecular Ecology. 2010. Vol. 19. P. 1814–1828.
14. Leuenberger J., Gander A., Schmidt B. R. [et al.]. Are invasive marsh frogs (*Pelophylax ridibundus*) replacing the native *P. lessonae* / *P. esculentus* hybridogenetic complex in Western Europe? Genetic evidence from a field study // Conservation Genetics. 2014. Vol. 15. P. 869–878.
15. Herczeg D., Vörös J., Christiansen D. G. [et al.]. Taxonomic composition and ploidy-level among European water frogs (Anura: Ranidae: *Pelophylax*) in eastern Hungary // Journal of Zoological Systematics and Evolutionary Research. 2017. Vol. 55. P. 129–137.
16. Stakh V. O., Strus Iu. M., Khamar I. S. Genetic diversity in population systems of green frogs (*Pelophylax esculentus* complex) in waterbodies of Western Ukraine // Studia Biol. 2018. Vol. 12. P. 17–26.
17. Dujsebayeva T. N., Ivanov A. Yu., Kaptyonkina A. G. [et al.] The marsh frogs (*Pelophylax ridibundus* complex) in Central Kazakhstan: expansion and retreat // Russian Journal of Ecosystem Ecology. 2021. Vol. 6. doi:10.21685/2500-0578-2021-3-3
18. Aljanabi S. M., Martinez I. Universal and rapid salt-extraction of high genomic DNA for PCR-based techniques // Nucleic Acids Research. 1997. Vol. 25. P. 4692–4693.
19. Meyer A. Evolution of mitochondrial DNA in fishes // Molecular biology frontiers, biochemistry and molecular biology of fishes / ed. by P. W. Hochachka, T. P. Mommsen. Elsevier Science Publisher, 1993. Vol. 2. P. 1–38.
20. Litvinchuk S. N., Ivanov A. Yu., Lukonina S. A. [et al.]. A record of alien *Pelophylax* species and widespread mitochondrial DNA transfer in Kaliningradskaya Oblast' (the Baltic coast, Russia) // BioInvasions Records. 2020. Vol. 9. P. 599–617. doi:10.3391/bir.2020.9.3.16

**Информация об авторах / Information about the authors**

***Дания Ардаковна Уалиева***

младший научный сотрудник лаборатории орнитологии и герпетологии, Институт зоологии (Казахстан, г. Алматы, проспект аль-Фараби, 93)

E-mail: daniya.2010@mail.ru

***Daniya A. Ualiyeva***

Junior researcher of the laboratory of ornithology and herpetology, Institute of Zoology (93 al-Farabi avenue, Almaty, Kazakhstan)

***Александр Юрьевич Иванов***

кандидат биологических наук, преподаватель СПО кафедры зоологии и экологии, Пензенский государственный университет (Россия, г. Пенза, ул. Красная, 40)

E-mail: akella58@mail.ru

***Alexander Yu. Ivanov***

Candidate of biological sciences, lecturer of the sub-department of zoology and ecology, Penza State University (40 Krasnaya street, Penza, Russia)

***Олег Александрович Ермаков***

кандидат биологических наук, доцент, доцент кафедры зоологии и экологии, Пензенский государственный университет (Россия, г. Пенза, ул. Красная, 40)

E-mail: oaermakov@list.ru

***Oleg A. Ermakov***

Candidate of biological sciences, associate professor, associate professor of the sub-department of zoology and ecology, Penza State University (40 Krasnaya street, Penza, Russia)

**Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов / The authors declare no conflicts of interests.**

**Поступила в редакцию / Received 24.01.2022**

**Поступила после рецензирования и доработки / Revised 24.02.2022**

**Принята к публикации / Accepted 11.03.2022**

УДК 598.112

doi:10.21685/2307-9150-2022-1-8

## ПЦР-ПДРФ идентификация митохондриальных линий ящерицы Линдгольма *Darevskia lindholmi* (Sauria, Lacertidae)

С. А. Луконина<sup>1</sup>, О. А. Ермаков<sup>2</sup>

<sup>1,2</sup>Пензенский государственный университет, Пенза, Россия

<sup>1</sup>lanochkal@yandex.ru, <sup>2</sup>oaermakov@list.ru

**Аннотация.** *Актуальность и цели.* Достоверное определение таксонов, имеющих слабые морфологические различия при значительной генетической дифференциации, имеет важное значение для изучения биологического разнообразия. Авторы поставили задачу разработать тест-системы с использованием ПЦР-ПДРФ метода для идентификации митохондриальных линий ящерицы Линдгольма *Darevskia lindholmi* (Szczerbak, 1962) – эндемика Крыма, распространенного исключительно в горной части полуострова. *Материалы и методы.* На основе анализа нуклеотидных последовательностей гена цитохрома *b* митохондриальной ДНК *D. lindholmi* проведен поиск маркерных нуклеотидных замен, специфичных для каждой из линий, и сайтов узнавания рестрикционных эндонуклеаз HaeIII и TasI. *Результаты.* Использование рестриктазы HaeIII позволяет идентифицировать только одну, наиболее дифференцированную линию, в то время как рестриктаза TasI – все три известные митохондриальные линии. *Выводы.* Предлагаемая авторами тест-система является простым и надежным способом идентификации митохондриальных линий ящерицы Линдгольма и может успешно применяться при проведении скрининговых исследований.

**Ключевые слова:** рестрикционный анализ, цитохром *b*, митохондриальная ДНК, *Darevskia (saxicola)* комплекс

**Для цитирования:** Луконина С. А., Ермаков О. А. ПЦР-ПДРФ идентификация митохондриальных линий ящерицы Линдгольма *Darevskia lindholmi* (Sauria, Lacertidae) // Известия высших учебных заведений. Поволжский регион. Естественные науки. 2022. № 1. С. 85–90. doi:10.21685/2307-9150-2022-1-8

## The PCR-RFLP identification of mitochondrial lines *Darevskia lindholmi* (Sauria, Lacertidae)

S.A. Lukonina<sup>1</sup>, O.A. Ermakov<sup>2</sup>

<sup>1,2</sup>Penza State University, Penza, Russia

<sup>1</sup>lanochkal@yandex.ru, <sup>2</sup>oaermakov@list.ru

**Abstract.** *Background.* Reliable identification of animal taxa characterized by weak morphological differences and, at the same time, by significant genetic differentiation is essential condition for the study of biological diversity. The authors set the task of developing test systems using the PCR-RFLP method for the identification of mitochondrial lineages of the Crimean rock lizard *Darevskia lindholmi* (Szczerbak, 1962), an endemic of Crimea, which is distributed exclusively in the mountainous part of the peninsula. *Materials and methods.* Based on the analysis of the nucleotide sequences of the cytochrome *b* gene of the mitochondrial DNA of *D. lindholmi*, a search for marker nucleotide substitutions specific for each lineage and recognition sites for the HaeIII and TasI restriction endonucleases was

carried out. *Results*. The use of the HaeIII restriction enzyme makes it possible to identify only one, the most differentiated lineage, while the TasI restriction enzyme allows an identification of all three known mitochondrial lineages. *Conclusions*. The test system proposed by the authors is a simple and reliable method for identifying mitochondrial lineages of the Crimean rock lizard and can be successfully applied in screening studies.

**Keywords:** restriction analysis, cytochrome *b*, mitochondrial DNA, *Darevskia (saxicola)* complex

**For citation:** Lukonina S.A., Ermakov O.A. The PCR-RFLP identification of mitochondrial lines *Darevskia lindholmi* (Sauria, Lacertidae). *Izvestiya vysshikh uchebnykh zavedeniy. Povolzhskiy region. Estestvennyye nauki = University proceedings. Volga region. Natural sciences*. 2022;(1):85–90. (In Russ.). doi:10.21685/2307-9150-2022-1-8

## Введение

Ящерица Линдгольма, *Darevskia lindholmi* (Szczerbak, 1962) – единственный европейский представитель видового комплекса *Darevskia (saxicola)* и единственный эндемик видового статуса в герпетофауне Крыма [1–3]. В недавней работе [4], по данным анализа митохондриального гена цитохрома *b* (*cyt b*) нами установлено, что *D. lindholmi* обладает сложной генетической структурой. В составе вида обнаружены три митохондриальные линии: Common («общая»), населяющая большую часть территории Горного Крыма, Central («центральная»), обитающая в центральной части Крымских гор, разделяя ареал общей линии на западный и восточный участки, и Southwestern («юго-западная»), встречающаяся только на юго-западном побережье полуострова.

Ящерицы «центральной» линии имеют высокий уровень отличий (генетическая дистанция 4,6 %) от двух других, близких между собой линий (дистанция 0,9 %), характеризуются некоторыми специфическими особенностями фолидоза и, по-видимому, являются отдельным таксоном, по крайней мере, подвидового уровня [4].

В случаях, когда определение таксонов, особенно близкородственных, по морфологическим признакам затруднено, наиболее точным методом идентификации является секвенирование первичных последовательностей генов ядерной и митохондриальной ДНК. Однако для решения рутинных таксономических задач и проведения скринингового анализа выборок оправдано использование методов молекулярной диагностики без применения секвенирования, в том числе метод ПЦР-ПДРФ (полимеразная цепная реакция – полиморфизм длин рестрикционных фрагментов), который заключается в ПЦР-амплификации интересующего фрагмента и его расщеплении соответствующей эндонуклеазой рестрикции. Ранее была показана высокая разрешающая способность этого метода для идентификации трех подвидов прыткой ящерицы, *Lacerta agilis* (Linnaeus, 1758) [5].

Целью настоящей работы является анализ применимости метода ПЦР-ПДРФ для идентификации трех генетически дифференцированных форм ящерицы Линдгольма.

## Материалы и методы

В исследовании использовались образцы тканей (части аутоамированного хвоста ящериц или фаланги пальцев передних конечностей, фиксированные в 96 % этаноле) 413 ящериц из 108 географических локалитетов.

ДНК выделяли стандартным солевым методом с лизированием протеиназой K [6].

Для амплификации гена *cut b* использовалась пара праймеров LgLu – 5'-AACCRCYGTGTGTTCAACTA-3' и RtHr – 5'-GGYTTACAAGACCAGY GCTTT-3' [3]. Режим амплификации: начальная денатурация 95 °С (5 мин), затем 32 цикла (95 °С – 30 с, 58 °С – 30 с, 72 °С – 90 с) и конечная элонгация 72 °С (10 мин). Для приготовления реакционной смеси использовался набор «БиоМастер HS-Тaq ПЦР» (Biolabmix, Russia).

ПЦР-фрагменты для секвенирования выделяли после их фракционирования в 6 % полиакриламидном геле элюцией высокосолевым раствором. Качество и количество ПЦР-продукта оценивали визуально. Секвенирование гена *cut b* 92 образцов ящериц из 60 локалитетов было проведено на автоматическом секвенаторе ABI 3500 (Applied Biosystems) с применением наборов BigDye®Terminator 3.1 (Applied Biosystems) и тех же праймеров, что использовались при амплификации. Последовательности депонированы в GenBank под номерами MT338842–MT338934.

Поиск маркерных замен, специфичных для каждой из митохондриальных линий, и сайтов рестрикции проводили в пакете программ MEGA 7.0.21 [7].

Продукты амплификации подвергали воздействию эндонуклеаз рестрикции *Hae*III и *Tas*I (“Thermo Scientific”). ПЦР-фрагменты гидролизовали в соответствии с протоколом производителя, добавляя 2 единицы активности фермента непосредственно к аликвотам амплификационных смесей (4 мкл). Электрофоретическое разделение фрагментов проводили в 6 % полиакриламидном геле в течение 30 мин (размер стекол 8 × 10 см) с последующим окрашиванием раствором бромистого этидия и визуализацией в УФ-свете. В качестве маркера молекулярных длин использовали набор фрагментов ДНК плазмиды pBR322, обработанной эндонуклеазой рестрикции *Hpa*II (pBR/*Hpa*II).

### Результаты и обсуждение

Длина амплифицированного продукта гена *cut b* составила 1226 пар нуклеотидов (пн), включая праймеры. Обнаружено 80 переменных позиций (7,1 % от общей длины фрагмента), из них 70 парсимони-информативных (6,2 %). У «центральной» линии было выявлено 33 специфические нуклеотидные замены, у «юго-западной» – 3, у «общей» – 4.

Анализ нуклеотидной последовательности *cut b* показал наличие в ней четырех сайтов узнавания рестрикционной нуклеазы *Hae*III (GG<sup>V</sup>CC), три из которых были общими для двух митохондриальных линий («общей» и «юго-западной»). При обработке рестриктазой амплифицированный фрагмент расщепляется у «общей» и «юго-западной» линий, имеющих три сайта узнавания, на четыре фрагмента длиной 667, 339, 136 и 84 пн (рис. 1, лунки геля 1–6).

У ящериц «центральной» линии выявлено два варианта профилей рестрикции. Первый из них обусловлен отсутствием одного из общих для всех линий сайтов узнавания (позиции 703–706), в результате чего образуется характерный фрагмент длиной 423 пн (рис. 1, лунки геля 7 и 8). Второй

вариант, напротив, образуется за счет наличия дополнительного сайта (позиции 301–304), из-за которого фрагмент длиной 667 пн распадается на два схожих по длине фрагмента – 340 и 327 пн (рис. 1, лунка геля 9).

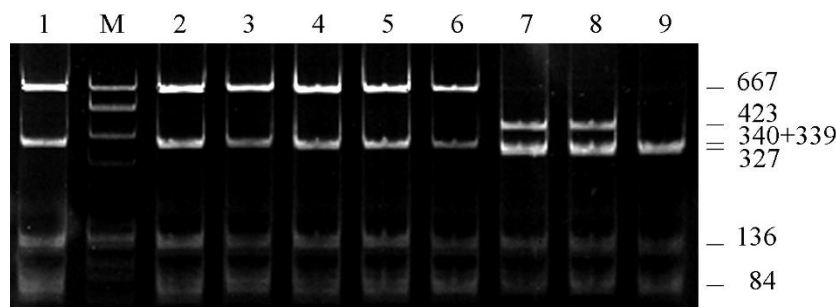


Рис. 1. Электрофореграмма продуктов рестрикции гена *cyt b* эндонуклеазой HaeIII при идентификации трех митохондриальных линий *Darevskia lindholmi*. Лунки геля: 1–3 – «общая» линия, 4–6 – «юго-западная» линия, 7–9 – «центральная» линия. Справа – длины фрагментов рестрикции, пн; М – маркер молекулярных длин рBR/НраII

Использование рестриктазы HaeIII позволяет идентифицировать только «центральную» линию, тогда как «общая» и «юго-западная» линии имеют одинаковые паттерны рестрикции по количеству и подвижности фрагментов.

Для определения всех трех митохондриальных линий ящерицы Линдгольма применялась мелкощепящая рестриктаза TasI (AATT). Количество сайтов узнавания этой рестриктазы в последовательностях гена *cyt b* среди изученных линий составило от 8 до 10, из которых пять являлись общими для трех изученных линий, остальные 3–5 в разных сочетаниях образовывали фрагменты, свойственные только одной из линий. Большое количество сайтов расщепления позволило получить для каждой генетической линии специфичные профили рестрикции, хорошо визуализируемые на электрофореграммах в зоне длин от 200 до 500 пн (рис. 2). Характерными признаками «общей» линии являются фрагменты 281 и 255 пн (лунки геля 1–3), «юго-западной» – 446 и 290 пн (лунки геля 4–6), «центральной» – 446, 281 и 240 пн (лунки геля 7–9) (рис. 2).

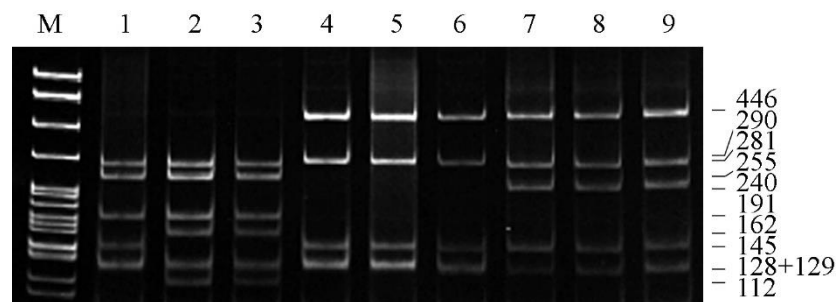


Рис. 2. Электрофореграмма продуктов рестрикции гена *cyt b* эндонуклеазой TasI при идентификации трех митохондриальных линий *Darevskia lindholmi*. Обозначения см. рис. 1



Разработанный подход использован для идентификации особей выборки ящериц Линдгольма ( $n = 413$ ). Выявлено, что 277 проб принадлежат к «общей» линии, 41 проба – к «юго-западной» и 95 – к «центральной». Показано полное совпадение части результатов проведенного рестрикционного анализа ( $n = 92$ ) с результатами идентификации генетических линий этих особей по данным секвенирования.

### Заключение

Оценка применимости ПЦР-ПДРФ метода для идентификации митохондриальных линий ящерицы Линдгольма показала, что разработанная тест-система является относительно простой, недорогой и быстрой и может быть использована для массового анализа в научных и мониторинговых целях, что особенно важно при исследовании контактных зон ареалов линий (либо потенциальных таксонов).

### Список литературы

1. Даревский И. С. Скальные ящерицы Кавказа (Систематика, экология и филогения полиморфной группы кавказских ящериц подрода *Archaeolacerta*). Л. : Наука, 1967. 214 с.
2. MacCulloch R. D., Fu J., Darevsky I. S. [et al.]. Genetic evidence for species status of some Caucasian rock lizards in the *Darevskia saxicola* group // *Amphibia-Reptilia*. 2000. Vol. 21. P. 169–176.
3. Доронин И. В., Туниев Б. С., Кукушкин О. В. Дифференциация и систематика скальных ящериц комплекса *Darevskia (saxicola)* (Reptilia, Lacertidae) по данным морфологического и молекулярного анализов // Труды Зоологического института Российской академии наук. 2013. Т. 317, № 1. С. 54–84.
4. Kukushkin O., Ermakov O., Gherghel I. [et al.]. The mitochondrial phylogeography of the Crimean endemic lizard *Darevskia lindholmi* (Sauria, Lacertidae): Hidden diversity in an isolated mountain system // *Vertebrate Zoology*. 2021. Vol. 71. P. 559–576. URL: <https://doi.org/10.3897/vz.71.e62729>
5. Кукушкин О. В., Ермаков О. А., Иванов А. Ю. [и др.]. Филогеография прыткой ящерицы в Крыму по результатам анализа гена цитохрома *b*: древний рефугиум на полуострове, поздняя экспансия с севера и первые свидетельства гибридизации подвидов *Lacerta agilis tauridica* и *L. a. exigua* (Lacertidae: Sauria) // Труды Зоологического института Российской академии наук. 2020. Т. 324. С. 56–99. URL: <https://doi.org/10.31610/trudyzin/2020.324.1.56>
6. Aljanabi S. M., Martinez I. Universal and rapid salt-extraction of high genomic DNA for PCR-based techniques // *Nucleic Acids Research*. 1997. Vol. 25. P. 4692–4693. URL: <https://doi.org/10.1093/nar/25.22.4692>
7. Kumar S., Stecher G., Tamura K. MEGA7: Molecular Evolutionary Genetics Analysis version 7.0 // *Molecular Biology and Evolution*. 2016. Vol. 33. P. 1870–1874. URL: <https://doi.org/10.1093/molbev/msw054>

### References

1. Darevskiy I.S. *Skal'nye yashcheritsy Kavkaza (Sistematika, ekologiya i filogeniya polimorfnoy gruppy kavkazskikh yashcherits podroda Archaeolacerta) = Rock lizards of the Caucasus (Systematics, ecology and phylogeny of the polymorphic group of Archaeolacerta Caucasian lizards)*. Leningrad: Nauka, 1967:214. (In Russ.)
2. MacCulloch R.D., Fu J., Darevsky I.S. [et al.]. Genetic evidence for species status of some Caucasian rock lizards in the *Darevskia saxicola* group. *Amphibia-Reptilia*. 2000; 21:169–176.

3. Doronin I.V., Tuniev B.S., Kukushkin O.V. Differentiation and taxonomy of *Darevskia (saxicola)* (Reptilia, Lacertidae) rock lizards according to morphological and molecular analyzes. *Trudy Zoologicheskogo instituta Rossiyskoy akademii nauk = Proceedings of Zoological Institute of the Russian Academy of Sciences*. 2013;317(1):54–84. (In Russ.)
4. Kukushkin O., Ermakov O., Gherghel I. [et al.]. The mitochondrial phylogeography of the Crimean endemic lizard *Darevskia lindholmi* (Sauria, Lacertidae): Hidden diversity in an isolated mountain system. *Vertebrate Zoology*. 2021;71:559–576. Available at: <https://doi.org/10.3897/vz.71.e62729>
5. Kukushkin O.V., Ermakov O.A., Ivanov A.Yu. [et al.]. Phylogeography of the quick lizard in the Crimea based on the results of the analysis of the cytochrome b gene: an ancient refugium on the peninsula, late expansion from the north, and the first evidence of subspecies hybridization of *Lacerta agilis tauridica* i L. a. *exigua* (Lacertidae: Sauria). *Trudy Zoologicheskogo instituta Rossiyskoy akademii nauk = Proceedings of Zoological Institute of the Russian Academy of Sciences*. 2020;324:56–99. (In Russ.). Available at: <https://doi.org/10.31610/trudyzin/2020.324.1.56>
6. Aljanabi S.M., Martinez I. Universal and rapid salt-extraction of high genomic DNA for PCR-based techniques. *Nucleic Acids Research*. 1997;25:4692–4693. Available at: <https://doi.org/10.1093/nar/25.22.4692>
7. Kumar S., Stecher G., Tamura K. MEGA7: Molecular Evolutionary Genetics Analysis version 7.0. *Molecular Biology and Evolution*. 2016;33:1870–1874. Available at: <https://doi.org/10.1093/molbev/msw054>

#### Информация об авторах / Information about the authors

**Светлана Александровна Луконина**

аспирант, Пензенский государственный университет (Россия, г. Пенза, ул. Красная, 40)

E-mail: lanochkal@yandex.ru

**Svetlana A. Lukonina**

Postgraduate student, Penza State University (40 Krasnaya street, Penza, Russia)

**Олег Александрович Ермаков**

кандидат биологических наук, доцент, доцент кафедры зоологии и экологии, Пензенский государственный университет (Россия, г. Пенза, ул. Красная, 40)

E-mail: oaermakov@list.ru

**Oleg A. Ermakov**

Candidate of biological sciences, associate professor, associate professor of the sub-department of zoology and ecology, Penza State University (40 Krasnaya street, Penza, Russia)

**Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов / The authors declare no conflicts of interests.**

**Поступила в редакцию / Received 08.02.2022**

**Поступила после рецензирования и доработки / Revised 25.02.2022**

**Принята к публикации / Accepted 11.03.2022**

## **Вниманию авторов!**

Редакция журнала «Известия высших учебных заведений. Поволжский регион. Естественные науки» приглашает специалистов опубликовать на его страницах оригинальные статьи, содержащие новые научные результаты в области биологии, а также обзорные статьи по тематике журнала.

Статьи, ранее опубликованные, а также принятые к опубликованию в других журналах, редколлегией не рассматриваются.

Редакция принимает к рассмотрению статьи, подготовленные с использованием текстового редактора Microsoft Word for Windows (тип файла – RTF, DOC).

Необходимо представить статью в электронном виде (VolgaVuz@mail.ru) и дополнительно на бумажном носителе в двух экземплярах. Оптимальный объем рукописи 10–14 страниц формата А4. Основной шрифт статьи – Times New Roman, 14 pt через полуторный интервал. Статья **обязательно** должна содержать индекс УДК, ключевые слова и развернутую аннотацию объемом от 100 до 250 слов, имеющую четкую структуру **на русском** (Актуальность и цели. Материалы и методы. Результаты. Выводы) **и английском** (Background. Materials and methods. Results. Conclusions) **языках**.

**Обращаем внимание авторов** на то, что в соответствии с этическим кодексом журнала для обеспечения единообразия перевод фамилии, имени, отчества каждого автора на английский язык (в сведениях об авторах и списке литературы) осуществляется автоматически с использованием программы транслитерации в кодировке BGN (сайт translit.ru).

Рисунки и таблицы должны быть размещены в тексте статьи и представлены в виде отдельных файлов (растровые рисунки в формате TIFF, BMP с разрешением 300 dpi, векторные рисунки в формате Corel Draw с минимальной толщиной линии 0,75 pt). Рисунки должны сопровождаться подрисуночными подписями.

**Формулы** в тексте статьи **обязательно** должны быть набраны в редакторе формул Microsoft Word Equation (версия 3.0) или MathType. Символы греческого и русского алфавитов должны быть набраны прямо, нежирно; латинского – курсивом, нежирно; обозначения векторов и матриц – прямо, жирно; цифры – прямо, нежирно. Наименования химических элементов набираются прямо, нежирно. Эти же требования **необходимо** соблюдать и в рисунках. Допускается вставка в текст специальных символов (с использованием шрифтов Symbol).

В списке литературы **нумерация источников** должна соответствовать **очередности ссылок** на них в тексте ([1], [2], ...). Номер источника указывается в квадратных скобках. **Требования к оформлению списка литературы** на русские и иностранные источники: **для книг** – фамилия и инициалы автора, название, город, издательство, год издания, том, количество страниц; **для журнальных статей, сборников трудов** – фамилия и инициалы автора, название статьи, полное название журнала или сборника, серия, год, том, номер, страницы; **для материалов конференций** – фамилия и инициалы автора, название статьи, название конференции, город, издательство, год, страницы.

К материалам статьи **должна** прилагаться следующая информация: фамилия, имя, отчество, ученая степень, звание и должность, место и юридический адрес работы (на русском и английском языках), e-mail, контактные телефоны (желательно сотовые).

Плата с аспирантов за публикацию рукописей не взимается. Рукопись, полученная редакцией, не возвращается. Редакция оставляет за собой право проводить редакторскую и допечатную правку текстов статей, не изменяющую их основного смысла, без согласования с автором.

**Статьи, оформленные без соблюдения приведенных выше требований, к рассмотрению не принимаются.**

**Уважаемые читатели!**

Для гарантированного и своевременного получения журнала **«Известия высших учебных заведений. Поволжский регион. Естественные науки»** рекомендуем вам оформить подписку.

Журнал выходит 4 раза в год по тематике • биология.

Стоимость одного номера журнала – 500 руб. 00 коп.

Для оформления подписки через редакцию необходимо заполнить и отправить заявку в редакцию журнала: тел. +7 (8412) 64-32-89; E-mail: volgavuz@pnzgu.ru

Подписку можно оформить по объединенному каталогу «Пресса России», тематические разделы: «Научно-технические издания. Известия РАН. Известия вузов», «Природа. Мир животных и растений. Экология», «Химия. Нефтехимия. Нефтегазовая промышленность». Подписной индекс – 70238.

**ЗАЯВКА**

Прошу оформить подписку на журнал «Известия высших учебных заведений. Поволжский регион. Естественные науки» на 20\_\_ г.

№ 1 – \_\_\_\_\_ шт., № 2 – \_\_\_\_\_ шт., № 3 – \_\_\_\_\_ шт., № 4 – \_\_\_\_\_ шт.

Наименование организации (полное) \_\_\_\_\_

ИНН \_\_\_\_\_ КПП \_\_\_\_\_

Почтовый индекс \_\_\_\_\_

Республика, край, область \_\_\_\_\_

Город (населенный пункт) \_\_\_\_\_

Улица \_\_\_\_\_ Дом \_\_\_\_\_

Корпус \_\_\_\_\_ Офис \_\_\_\_\_

ФИО ответственного \_\_\_\_\_

Должность \_\_\_\_\_

Тел. \_\_\_\_\_ Факс \_\_\_\_\_ E-mail \_\_\_\_\_

Руководитель предприятия \_\_\_\_\_

(подпись)

(ФИО)

Дата «\_\_\_» \_\_\_\_\_ 20\_\_ г.