

ISSN 1997-1389 (Print)
ISSN 2313-5530 (Online)

**Журнал Сибирского
федерального университета
Биология**

**Journal of Siberian
Federal University
Biology**

2025 18 (2)

ISSN 1997-1389 (Print)
ISSN 2313-5530 (Online)

2025 18(2)

Журнал Сибирского федерального университета Биология

Journal of Siberian Federal University Biology

Издание индексируется Scopus (Elsevier), «Russian Science Citation Index» и «Zoological Record» на платформе «Web of Science» (Clarivate Analytics), Российским индексом научного цитирования (НЭБ), представлено в международных и российских информационных базах: Ulrich's periodicals directory, ProQuest, EBSCO (США), Google Scholar, Centre for Agriculture and Biosciences International (CABI), DOAJ, КиберЛенинка. Включено в список Высшей аттестационной комиссии «Рецензируемые научные издания, входящие в международные реферативные базы данных и системы цитирования».

**Журнал Сибирского федерального университета. Биология.
Journal of Siberian Federal University. Biology.**

Учредитель: Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Сибирский федеральный университет» (СФУ)

Главный редактор: *М.И. Гладышев*. Редактор *А.В. Прохоренко*.
Корректор *Т.Е. Бастрыгина*. Компьютерная верстка *Е.В. Гревцовой*

№ 2. 30.06.2025. Индекс: 42325. Тираж: 1000 экз.

Свободная цена

Адрес редакции и издательства:
660041 г. Красноярск, пр. Свободный, 82, стр. 24, ауд. 117.

Отпечатано в типографии Издательства БИК СФУ
660041 г. Красноярск, пр. Свободный, 82а.

*Свидетельство о регистрации СМИ ПИ № ФС 77-28725 от 29.06.2007 г.,
выданное Федеральной службой по надзору в сфере массовых коммуникаций,
связи и охраны культурного наследия.*

<http://journal.sfu-kras.ru>

Подписано в печать 27.06.2025. Формат 60x90/8. Усл. печ. л. 9,6.
Уч.-изд. л. 9,1. Бумага тип. Печать офсетная. Тираж 1000 экз. Заказ № 23375.

Возрастная маркировка в соответствии с Федеральным законом № 436-ФЗ: 16+

CHIEF EDITOR

Michail Gladyshev, Corresponding Member of RAS, Professor, Institute of Biophysics SB RAS, Siberian Federal University, Krasnoyarsk, Russia.

SCIENCE EDITOR

Elena Kravchuk, Institute of Biophysics SB RAS, Krasnoyarsk, Russia

EDITORIAL BOARD

- Sergey Bartsev, Institute of Biophysics SB RAS, Krasnoyarsk, Russia
- Andrey Degermendzhy, Institute of Biophysics SB RAS, Krasnoyarsk, Russia
- Nikolay Gaevsky, Siberian Federal University, Krasnoyarsk, Russia
- Viktor Glupov, Institute of Systematics and Ecology of Animals SB RAS, Novosibirsk, Russia
- Malcolm Hughes, University of Arizona, Tucson, USA
- Mikhail Karpinsky, Russian Federal Research Institute of Fisheries and Oceanography, Moscow, Russia
- Valentina Kratasyuk, Siberian Federal University, Krasnoyarsk, Russia
- John Lee, University of Georgia, Athens, USA
- Elena Muratova, Institute of Forest SB RAS, Krasnoyarsk, Russia
- Vitaliy Semenchenko, Scientific and Practical Center of the National Academy of Sciences of Belarus for Bioresources, Minsk, Belarus
- Nadezhda Sushchik, Institute of Biophysics SB RAS, Krasnoyarsk, Russia
- Sabu Thomas, Mahatma Gandhi University, Kottayam, India
- Aristidis Tsatsakis, University of Crete, Heraklion, Greece
- Eugene Vaganov, Siberian Federal University, Krasnoyarsk, Russia
- Tatiana Volova, Institute of Biophysics SB RAS, Krasnoyarsk, Russia
- Egor Zadereev, Institute of Biophysics SB RAS, Krasnoyarsk, Russia

CONTENTS

Nikolay I. Bykov, Natalia V. Rygalova and Anna A. Shigimaga Dendrochronological Dating of Maximum Snow Avalanches in the Chuya River Basin (Altai).....	153
Elena M. Sayenko and Alena A. Shirokaya First Data on the Duck Mussel <i>Anodonta anatina</i> (Linnaeus, 1758) (Bivalvia, Unionidae) in the Irkut River, Eastern Siberia, Russia	174
Ekaterina V. Rud', Maria A. Tarasova, Maxim A. Savitsky, Vyacheslav M. Kurchenko and Andrew V. Kuznetsov Response of the Rotifer <i>Philodina cf. megalotrocha</i> (Ehrenberg, 1832) from Water Bodies in the Mountainous Crimea to Artificial Physical Stimuli	190
Kristina M. Shchepetkova, Ekaterina G. Batotsyrenova, Vadim A. Kashuro and Sergey E. Khalchitskiy Biochemical Aspects of Mercury Neurotoxicity in an Experimental Study.....	206
Oleg A. Zavyalov, Erlan S. Medetov and Yakov Y. Kurilkin Selenium and Zinc Supplements Combined with Methionine: Effects on Blood Element Profiles, Meat Production and Quality in Aberdeen-Angus Bulls with Selenium and Zinc Imbalance	216
Svetlana V. Prudnikova, Evgeniy G. Kiselev, Aleksey V. Demidenko and Tatiana G. Volova Microbiological Status of the Pilot Production Facility for Degradable Polyhydroxyalkanoates	236
Tatiana G. Volova, Aleksey V. Demidenko, Alexey E. Dudaev, Evgeniy G. Kiselev, Svetlana V. Prudnikova, Aleksey G. Sukovatyi and Ekaterina I. Shishatskaya Biodegradable Poly-3-Hydroxybutyrate-Based Film Packaging Synthesized from Waste Fish Oil: Production and Properties	249

СОДЕРЖАНИЕ

Н. И. Быков, Н. В. Рыгалова, А. А. Шигимага Дендрохронологическое датирование максимальных снежных лавин в бассейне р. Чуя (Алтай).....	153
Е. М. Саенко, А. А. Широкая Первые данные об утиной беззубке <i>Anodonta anatina</i> (Linnaeus, 1758) (Bivalvia, Unionidae) реки Иркут, Восточная Сибирь, Россия	174
Е. В. Рудь, М. А. Тарасова, М. А. Савицкий, В. М. Курченко, А. В. Кузнецов Реакция коловратки <i>Philodina cf. megalotrocha</i> (Ehrenberg, 1832) из водоёмов горного Крыма на искусственные физические воздействия	190
К. М. Щепеткова, Е. Г. Батоцыренова, В. А. Кашуро, С. Е. Хальчицкий Биохимические аспекты нейротоксичности ртути в экспериментальном исследовании	206
О. А. Завьялов, Е. С. Медетов, Я. Я. Курилкин Влияние добавок селена и цинка в комплексе с метионином на элементный состав крови, мясную продуктивность и качество мяса бычков абердин-ангусской породы с выявленным дисбалансом селена и цинка в организме	216
С. В. Прудникова, Е. Г. Киселев, А. В. Демиденко, Т. Г. Волова Микробиологический статус Опытного биотехнологического производства разрушаемых полигидроксиалканоатов.....	236
Т. Г. Волова, А. В. Демиденко, А. Е. Дудаев, Е. Г. Киселев, С. В. Прудникова, А. Г. Суковатый, Е. И. Шишацкая Пленочная упаковка из разрушаемого поли-3-гидроксibuтирата, синтезированного на отходах рыбопереработки: получение и характеристики	249

EDN: XLCXHW

УДК 902.674:551.578.483(282.256.115)

Dendrochronological Dating of Maximum Snow Avalanches in the Chuya River Basin (Altai)

Nikolay I. Bykov*,
Natalia V. Rygalova and Anna A. Shigimaga
Institute for Water and Environmental Problems SB RAS
Barnaul, Russian Federation

Received 22.11.2024, received in revised form 20.06.2025, accepted 23.06.2025

Abstract. The present study reports dendrochronological dating of maximum snow avalanches in nine avalanche paths of the Chuya River basin (Central Altai). Special aspects of using various markers for the dendrochronological method of avalanche dating were determined. The study revealed patterns of avalanche activity in the avalanche paths and the frequency of the largest avalanches. In most of the avalanche paths studied, 3–4-year avalanche return periods were calculated, and in some, return periods reached 10 years. The study found that the use of the integrated indicator, called the dendrochronological index of avalanche activity, should be limited to individual avalanche paths, and it is ineffective to use it for generalizing over the study area, where there are various constant factors of avalanche formation in local avalanche paths. Only in individual cases, the causes (factors) of avalanches can be determined using the dendrochronological method.

Keywords: dendrochronology, dendrochronological index of avalanche activity, Central Altai, Chuya, snow avalanches, tree rings.

Acknowledgements. The study was supported by the grant of the Russian Science Foundation No. 24–27–00123 “Response of avalanches in the inland mountainous area to climate change”, <https://rscf.ru/project/24–27–00123/>

Citation: Bykov N. I., Rygalova N. V., Shigimaga A. A. Dendrochronological dating of maximum snow avalanches in the Chuya River basin (Altai). J. Sib. Fed. Univ. Biol., 2025, 18(2), 153–173. EDN: XLCXHW



© Siberian Federal University. All rights reserved

This work is licensed under a Creative Commons Attribution-NonCommercial 4.0 International License (CC BY-NC 4.0).

* Corresponding author E-mail address: nikolai_bykov@mail.ru

ORCID: 0000-0003-3756-1859 (Bykov N.); 0000-0002-0078-6133 (Rygalova N.)

Дендрохронологическое датирование максимальных снежных лавин в бассейне р. Чуя (Алтай)

Н. И. Быков, Н. В. Рыгалова, А. А. Шигимага
*Институт водных и экологических проблем СО РАН
Российская Федерация, Барнаул*

Аннотация. Выполнено дендрохронологическое датирование максимальных снежных лавин в девяти лавиносборах бассейна р. Чуя (Центральный Алтай). Определены особенности использования различных маркеров для дендрохронологического метода датирования лавин. Выявлены закономерности лавинной активности в изученных лавиносборах и частота схода наиболее крупных лавин. В большинстве исследованных лавиносборов отмечена 3–4-летняя ритмичность лавинных процессов, а в отдельных 10-летняя. Установлено, что применение комплексного индикационного показателя, названного дендрохронологическим индексом лавинной активности, ограничено отдельными лавиносборами, а его обобщение для исследуемого района неэффективно в силу разнообразия постоянных факторов лавинообразования в местных лавиносборах. Определение причин (факторов) схода снежных лавин на основе дендрохронологического метода возможно лишь в отдельных случаях.

Ключевые слова: дендрохронология, дендрохронологический индекс лавинной активности, Центральный Алтай, Чуя, снежные лавины, годовые кольца.

Благодарности. Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда № 24–27–00123 «Реакция лавиносборов внутриконтинентальной горной области на изменения климата», <https://rscf.ru/project/24–27–00123/>

Цитирование: Быков Н. И. Дендрохронологическое датирование максимальных снежных лавин в бассейне р. Чуя (Алтай) / Н. И. Быков, Н. В. Рыгалова, А. А. Шигимага // Журн. Сиб. федер. ун-та. Биология, 2025. 18(2). С. 153–173. EDN: XLCXHW

Введение

Снежные лавины – характерное природное явление для горных территорий, в которых формируется снежный покров (Гляциологический..., 1984). Причины их возникновения разнообразны. Они включают как постоянные (высота, крутизна и экспозиция склонов, их ориентация относительно основного направления переноса воздушных масс), так и переменные факторы лавинообразования (интенсивность снегопадов, продолжительность и сила ветра, температура воздуха и снега, структура снеж-

ной толщи и т.д.). Соотношение этих факторов образует пеструю картину лавинной активности (дальность схода, частота схода в сезонном и многолетнем разрезах) не только в пределах горной физико-географической области или района, но даже в пределах горной долины. Нередки случаи, когда на протяжении десятков лет не отмечается синхронного схода лавин даже в соседних лавиносборах. Бурное развитие дистанционного зондирования Земли за последние десятилетия решает данную задачу лишь частично, поскольку его период иногда

меньше, чем период схода максимальных лавин. Поэтому сохраняется востребованность индикационных методов реконструкции данных о лавинной активности в конкретных лавиносборах.

Среди таких методов особое место занимает дендрохронологический метод датирования схода лавин (Schweingruber, 1993). С его помощью проводились исследования во многих регионах мира – Казахстане (Zubairov et al., 2019), Чехии (Tumajer, Treml, 2015), США (Martin, Germain, 2016), Канаде (Germain, 2016), Норвегии (Laute, Beylich, 2018), Аргентине (Mundo et al., 2007), Румынии (Pop et al., 2018), Турции (Köse et al., 2010) и других странах. В качестве индикаторов лавин исследователи используют возраст древостоев и вертикальных побегов наклонных деревьев, значения коэффициентов крени (соотношение между шириной годичных колец с креновой и тяговой сторон ствола), наличие компрессионной древесины, прекращение роста деревьев (датирование погибших деревьев, их остатков и механических повреждений), наличие эффектов осветления (резкое усиление прироста в результате ликвидации конкурирующих деревьев) (Kaennel, Schweingruber, 1995), нарушение анатомического строения годичного кольца (травматические смоляные ходы) (Perov et al., 1977; Кравцова, 1971; Турманина, 1979) (рис. 1). Компрессионная древесина отличается от обычной тем, что имеет аномальное строение и состоит из клеток с высокой оптической плотностью. У хвойных пород деревьев она образуется со стороны ствола, обращенной вниз по склону (Kaennel, Schweingruber, 1995). Под креновой стороной понимают часть ствола дерева, обращенную вниз по склону, а под тяговой – в противоположную сторону. Травматические смоляные ходы (см. рис. 1) возникают в древесине в результате напряжений в стволе или повреждения кроны насекомыми (Бенькова, Швейнгрубер, 2004).

Алтай как горный регион характеризуется значительным разнообразием как постоянных, так и переменных факторов лавинообразования (Ревякин, Кравцова, 1977). В его внутренних районах (Центральный Алтай) одной из основных причин схода лавин является трансформация снежной толщи путем ее разрыхления, тогда как в передовых хребтах, преграждающих путь воздушным массам, важнейшим фактором является накопление снежного покрова. В целом на Алтае отсутствуют регулярные плановые наблюдения за лавинными процессами, что обуславливает необходимость изучения их многолетнего режима индикационными методами.

Дендрохронологические исследования лавин Алтая немногочисленны (Быков, 2000). В основном они были приурочены к Центральному Алтаю (Кравцова, 1971; Ревякин, Кравцова, 1977; Ревякин, 1981; Сурнаков, 1985; Королева, 1993; Николаева, Савчук, 2021), и в меньшей степени к Северному (Кравцова, 1971), Северо-Западному (Ревякин, Кравцова, 1977; Быков, 2013; Быков и др., 2024) и Северо-Восточному Алтаю (Сурнаков, 1987). В некоторых работах содержатся не только дендрохронологические данные, но и анализ влияния лавинных процессов на состав и структуру растительных сообществ лавинных аппаратов, что позволяет оценить скорость смены растительного покрова в лавинных коллекциях (Ревякин, Кравцова, 1977; Быков, 2013).

Целью данной работы является анализ радиального прироста в лавиносборах средней части бассейна р. Чуя (Центральный Алтай, правый приток р. Катунь) и дендрохронологическое датирование максимальных лавин в изученных лавиносборах (рис. 2). По условиям лавинной активности исследуемая территория относится к Центральному району Алтая (Ревякин, Кравцова, 1977), который характеризуется особым сочетанием

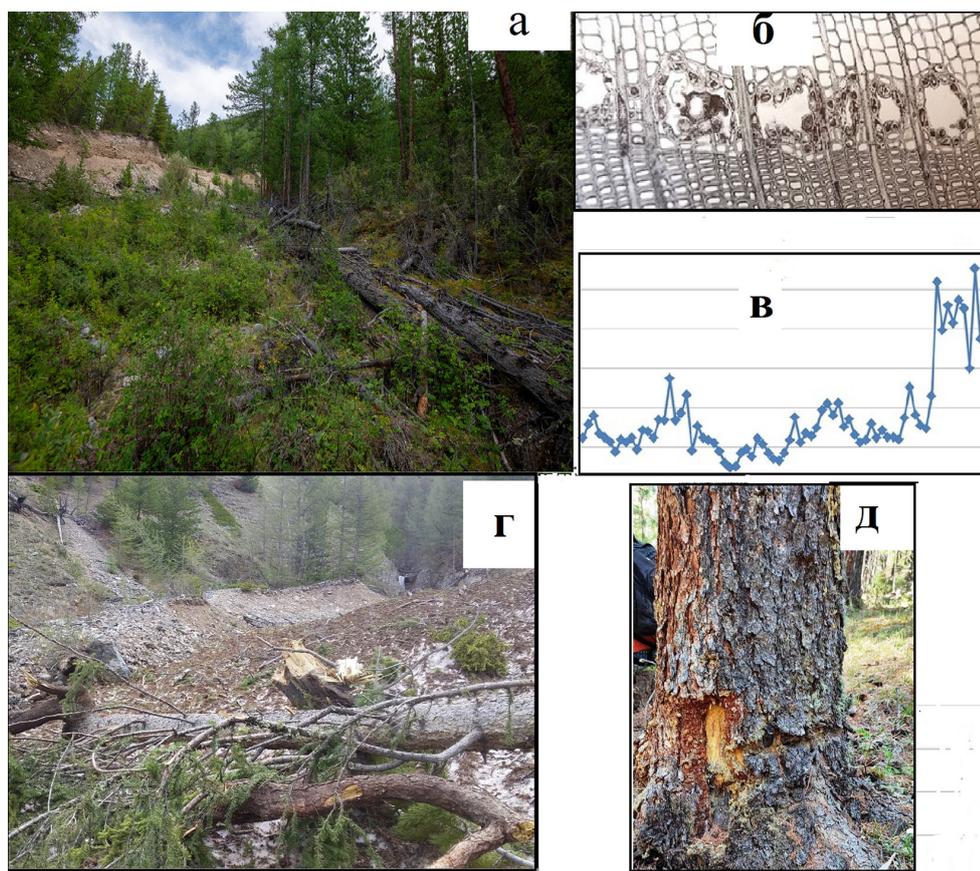


Рис. 1. Признаки лавинной деятельности: а – гибель деревьев на периферии зоны аккумуляции лавиносбора 4 (фото 2022 г.); б – травматические смоляные ходы у пихты (*Abies sibirica* L.) (фото из (Бенькова, Швейнгрубер, 2004)); в – пример резкого увеличения прироста у дерева (эффекта осветления) в лавиносборе; г – погибшие деревья в зоне аккумуляции лавиносбора 6 (фото 2022 г.); д – раны на стволах деревьев, образуемые лавиной

Fig. 1. Signs of avalanche activity: a – tree death on the periphery of avalanche path 4 accumulation zone (photo 2022); b – traumatic resin passages in fir (*Abies sibirica* L.) (photo from (Benkova, Schweingruber, 2004)); c – an example of a sharp increase in radial growth in a tree (lightening effect) in the avalanche path; d – dead trees in the accumulation zone of avalanche path 6 (photo 2022); e – wounds on tree trunks formed by the avalanche

факторов лавинообразования и существенно отличается от районов северо-западной и северо-восточной частей Алтая. Дендрохронологические исследования лавин, как и наблюдения за лавинами в целом, на этой территории минимальны (Ревякин, Кравцова, 1977; Быков, 2013; Николаева, Савчук, 2021).

Методы и материалы

Алтай характеризуется значительным физико-географическим разнообразием, ко-

торое отражается и на характере лавинных процессов. В Центральном Алтае лавинная деятельность связана, прежде всего, с метелевым накоплением снега, а также обильными снегопадами и перекристаллизацией снежного покрова, возникающей в связи с резким понижением температур воздуха (Алтайский край, 1978). По литературным сведениям (Ревякин, Кравцова, 1977), в лавиносборах данного района отмечается 2–3-летний ритм лавинной активности. Лавины здесь имеют

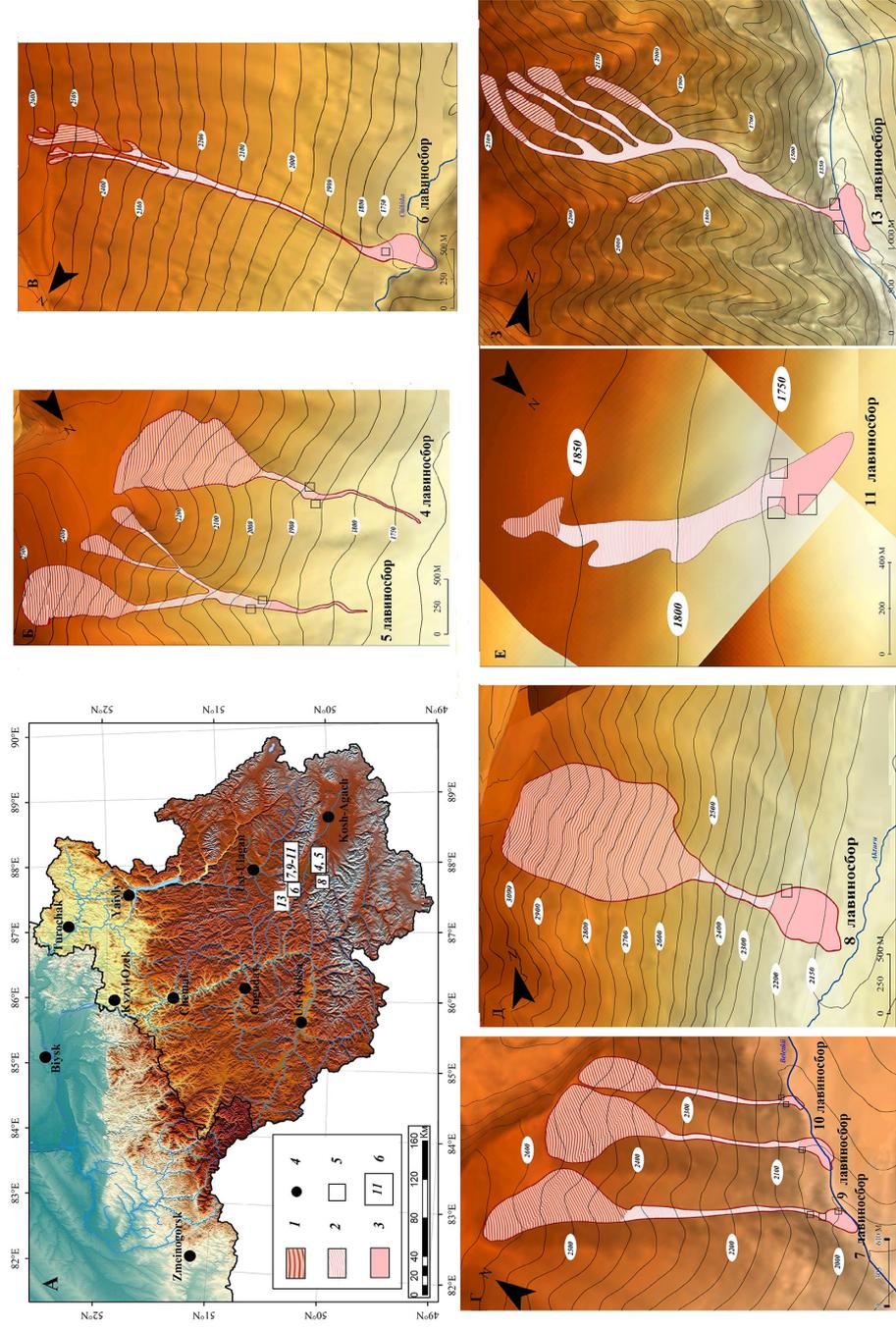


Рис. 2. Места сбора дендрохронологических образцов в лавиноборках бассейна р. Чуя (Центральный Алтай). А – территория исследования. Легенда карты: 1 – лавинный очаг; 2 – зона транзита; 3 – зона аккумуляции; 4 – действующие метеостанции; 5 – места отбора дендрохронологических образцов; 6 – районы исследования. Б – лавиноборки 4 и 5; В – лавиноборки 6; Г – лавиноборки 8; Д – лавиноборки 10; Е – лавиноборки 11; Ж – лавиноборки 13.

Fig. 2. Sites of collection of dendrochronological samples in avalanche paths of the Chuysky Alay basin (Central Altai). Map legend: 1 – avalanche starting zone; 2 – transit zone; 3 – accumulation zone; 4 – operating meteorological stations; 5 – sites of collection of dendrochronological samples; 6 – study areas. B – avalanche paths 4 and 5; C – avalanche path 6; D – avalanche path 8; E – avalanche path 10; F – avalanche path 11; G – avalanche path 13.

значительную мощность, а лавиноборы полное развитие, формируя минеральные конусы выноса. Густота лавиноборов здесь составляет 3–10 на 1 км длины долины (Алтайский край, 1978). Значительная часть лавинных очагов приходится на склоны северных экспозиций, что также свидетельствует о влиянии снегонакопления, максимум которого приходится на подветренные склоны (Галахов, 2003), и метелевого переноса на развитие лавинных процессов.

В бассейне р. Чуя для исследования были выбраны девять лавиноборов (см. рис. 2), три из которых расположены на Северо-Чуйском хребте, пять – на Курайском хребте и один – на Айгулакском хребте (нумерация лавиноборов указывает на порядок наших исследований в пределах всего Алтая, чтобы соотнести данную публикацию с предыдущими (Быков

и др., 2024)). В целом они репрезентативны для большей части лавиноборов бассейна р. Чуя – лавинные очаги с уклонами 28–38° (в среднем 32,0°) имеют северные и северо-западные (с азимутом 315–357°), а также юго-западные (251–258°) и юго-восточные (98–167°) экспозиции и в единичном случае – северо-восточную (55°) (табл. 1). Зоны отрыва снежной толщи отмечаются на высотах 1880–3065 м над уровнем моря, а нижние части зоны аккумуляции лавинных снежников находятся на высотах 1270–2130 м (см. табл. 1).

Положение лавинных снежников в указанных лавиноборах установлено нами за период 2013–2024 гг. на основе анализа весенних снимков спутников Sentinel и Landsat по их нижнему краю. Сравнение свидетельствует о том, что лавинная активность в них не является строго синхронной (рис. 3), что

Таблица 1. Характеристика исследованных лавиноборов

Table 1. Characterization of the studied avalanche paths

Номер лавинобора и лавинные очаги		Координаты зоны аккумуляции	Высота верхней части лавинного очага, м над уровнем моря	Высота нижней части зоны аккумуляции, м над уровнем моря	Средний уклон поверхности лавинного очага, в градусах	Экспозиция, географический азимут лавинного очага
Лавинобор	Лавинный очаг					
4		50.1464 88.0288	2325	1820	32,7	315
5	А	50.1493 88.0386	2510	1900	34,3	323
	Б				32,1	333
	В				30,0	357
6	А	50.3636 87.6334	2660	1740	30,7	258
	Б				37,6	251
7		50.3493 87.6868	2370	1985	27,9	142
8		50.0817 87.7769	3065	2130	30,6	130
9		50.3520 87.6893	2575	2040	29,9	167
10		50.3540 87.6910	2540	2080	29,0	153
11		50.3390 87.6678	1880	1718	35,5	322

Таблица 1. Продолжение

Table 1. Continuation

Номер лавиносбора и лавинные очаги		Координаты зоны аккумуляции	Высота верхней части лавинного очага, м над уровнем моря	Высота нижней части зоны аккумуляции, м над уровнем моря	Средний уклон поверхности лавинного очага, в градусах	Экспозиция, географический азимут лавинного очага
Лавиносбор	Лавинный очаг					
13	А	50.3790 87.4385	2050	1270	35,5	55
	Б		2380		32	159
	В		2340		38	128
	Г		2355		35,0	98
	Д		2260		35,5	117
	Е		2230		37,6	154

объясняется различиями в географическом положении лавинных очагов.

С целью датирования максимальных снежных лавин отбор дендрохронологических образцов в лавиносборах производился в зонах аккумуляции и нижних частях зон транзита (в том числе по краю лавинного прочеса в лесу). Кроме того, для построения локальных хронологий, необходимых для дендрохронологического датирования гибели деревьев, по ос-

новным породам в районе исследований ранее отбирались образцы вне лавиносборов. В качестве объекта исследования в лавиносборах бассейна р. Чуя выступали преимущественно деревья хвойных пород (табл. 2) и лишь в лавиносборе 13 также лиственных пород (осина и береза). Отбор кернов с живых деревьев осуществлялся с креновой и тяговой сторон ствола на высоте 130 см, а у отдельных деревьев зоны транзита также у комля для определения

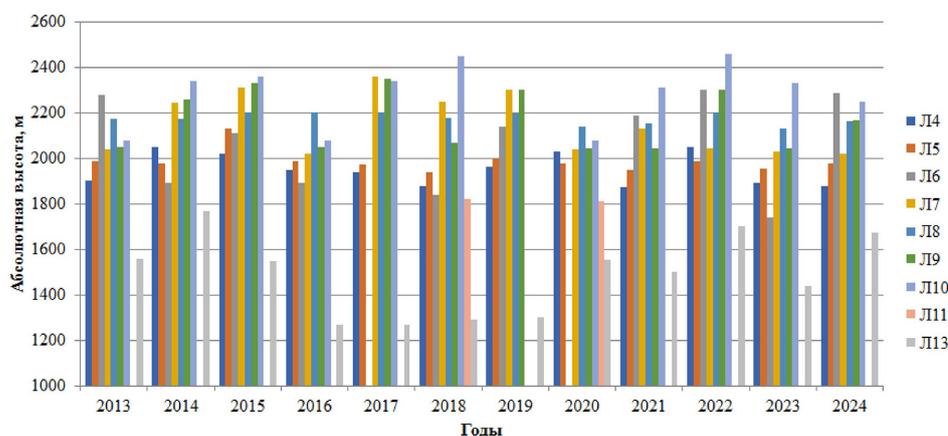


Рис. 3. Положение нижнего края лавинного снежника в исследованных лавиносборах бассейна р. Чуя весной по данным спутников Sentinel и Landsat. Обозначения на диаграмме: Л4, Л5 и т.д. – номера исследованных лавиносборов

Fig. 3. Position of the lower edge of the avalanche snowfield in the studied avalanche paths of the Chuya River basin in spring according to Sentinel and Landsat satellite data. Designations on the diagram: L4, L5, etc. – numbers of the studied avalanche paths

их возраста. С мертвых деревьев были получены спилы с последующим измерением ширины годичных колец на них по двум радиусам. Принадлежность мертвых деревьев к тому или иному виду устанавливалась на основании анатомического анализа древесины (Бенькова, Швейнгрубер, 2004). В качестве маркеров схода лавин авторы использовали те, которые

ранее применялись другими исследователями: даты гибели и поранения деревьев, годы нарушения синхронности прироста с тяговой и креновой сторон, первый год в череде лет резкого изменения коэффициента крени (соотношения прироста с креновой и тяговой сторон ствола), наличие компрессионной древесины и цепочек травматических смоляных ходов в ксиле-

Таблица 2. Характеристика дендрохронологических образцов, отобранных в лавиносборах р. Чуя

Table 2. Characterization of dendrochronological samples collected in avalanche paths of the Chuya River

Номер лавиносбора	Вид	Высота отбора над уровнем моря, м	Число исследованных деревьев	Годы начала роста деревьев	Годы окончания роста деревьев	Возраст	Средний коэффициент корреляции хронологий с креновой и тяговой сторон	Rbar	EPS
4	<i>Larix sibirica</i>	1860–1880	39	1777–2001	1927–2022	21–215	0,90	0,55	0,98
	<i>Picea obovata</i>		4	1867, 1885	2010–2022	137–143	0,59	0,70	0,90
	<i>Pinus sibirica</i>		10	1843–1905	1992–2022	47–152	0,72	0,62	0,94
4 (сборы 2024 г.)	<i>Larix sibirica</i>	1820–1830	18	1708–1975	1996–2024	20–288	0,73	0,21	0,83
	<i>Picea obovata</i>		4	1877–1945	1992–2016	48–140	0,78	0,43	0,75
	<i>Pinus sibirica</i>		2	1887, 1905	2009, 2024	105, 138	0,52	0,27	0,6
5	<i>Larix sibirica</i>	1895–1990	17	1612–1999	2013–2022	23–409	0,63	0,19	0,80
	<i>Picea obovata</i>		6	1872–1920	1982–2023	102–150	0,59	0,25	0,67
	<i>Pinus sibirica</i>		7	1511–1969	2022	53–511	0,72	0,35	0,79
6	<i>Larix sibirica</i>	1770–1800	19	1710–1997	2006–2022	35–315	0,57	0,18	0,81
	<i>Picea obovata</i>		4	1796–1965	1986–2022	48–225	0,77	0,38	0,71
	<i>Pinus sibirica</i>		8	1919–1983	1981–2022	17–103	0,62	0,13	0,54
7	<i>Pinus sibirica</i>	1980–2010	18	1777–1903	1995–2023	40–155	0,70	0,49	0,94
	<i>Picea obovata</i>		2	1929, 1951	2003, 2023	72, 74	0,80	0,54	0,70
	<i>Larix sibirica</i>		9	1842–2001	1998–2023	17–126	0,82	0,46	0,88
8	<i>Larix sibirica</i>	2130–2140	1	1924	2022	98	0,79	-	-
	<i>Pinus sibirica</i>		3	1528–1935	2022	87–494	0,59	0,16	0,36
9	<i>Larix sibirica</i>	2060–2080	4	1974–1982	2024	43–51	0,79	0,25	0,57
	<i>Pinus sibirica</i>		18	1967–1989	2024	36–58	0,73	0,27	0,87
10	<i>Larix sibirica</i>		20	1883–1978	2000–2024	47–142	0,63	0,25	0,87
11	<i>Larix sibirica</i>	1718–1740	5	1775–1956	2014–2024	62–230	0,88	0,15	0,47
	<i>Picea obovata</i>		16	1875–1965	2002–2024	60–150	0,74	0,26	0,85
	<i>Pinus sibirica</i>		4	1887–1998	2024	27–138	0,66	0,27	0,60
13	<i>Picea obovata</i>	1270	5	1968–2005	2024	21–57	0,59	0,29	0,67
	<i>Betula pendula</i> Roth		8	1957–1985	2024	40–68	0,71	0,37	0,82
	<i>Populus tremula</i> L.		8	1975–1987	2007–2024	27–50	0,77	0,58	0,92

Примечание: прочерк в таблице – значения не вычислялись, Rbar – средний межсерийный коэффициент корреляции, EPS – популяционный сигнал.

ме (определение отдельных травматических смоляных ходов в годичных кольцах является трудоемкой процедурой). Исследовались хронологии и на предмет наличия в них эффектов осветления, которые в дендрохронологическом смысле трактуются как резкое увеличение прироста при прореживании древостоев (Kaennel, Schweingruber, 1995).

Все приведенные индикаторы лавинных процессов могут быть вызваны различными явлениями, т.е. являются неспецифическими. Для увеличения вероятности индикации лавин необходимо использовать весь комплекс показателей (Germain et al., 2010). В качестве такого интегрального показателя схода лавины в конкретном году было использовано соотношение числа всех случаев нарушений роста деревьев (см. выше какие конкретные показатели использованы) в конкретном году с числом исследованных деревьев, который ранее мы предложили назвать дендрохронологическим индексом лавинной активности (Быков и др., 2024):

$$x = \frac{a + b + c + d + e + f}{g},$$

где x – дендрохронологический индекс лавинной активности за конкретный год; a – даты гибели и поранения деревьев; b – нарушения синхронности прироста с тяговой и креновой сторон; c – первый год в череде лет резкого изменения коэффициента крени; d – наличие компрессионной древесины; e – наличие цепочек травматических смоляных ходов в ксилеме, f – резкое увеличение прироста (эффект осветления); g – число исследованных деревьев.

Измерения ширины годичных колец производились на полуавтоматической установке Lintab 6 с точностью до 0,01 мм. Стандартизация и обобщение дендрохронологических рядов осуществлялись в программе ARSTAN.

Для оценки древесно-кольцевых хронологий конкретных площадок были использованы Rbar (running correlation between series of tree-ring chronologies), EPS (The Expressed Population Signal), а для обобщенных хронологий – чувствительность (mean sensitivity) (Speer, 2010). Построение обобщенных хронологий для площадок осуществлялось, если значение EPS было равно или выше 0,85. Для датирования полученных хронологий использовалась программа COFESHA.

Результаты и обсуждение

Анализ возраста живых и погибших деревьев исследованных лавиносборов показал, что в поперечном профиле зон транзита лавиносборов выделяются участки разной интенсивности лавинных процессов. В лотке фиксируются либо молодые деревья, либо их полное отсутствие, поскольку здесь лавины сходят наиболее часто. С удалением от лотка возникает зона менее интенсивных лавинных процессов, где возраст деревьев в среднем больше, особенно по краю лавинного прочеса. За пределами прочеса возраст деревьев максимальный. Начало роста деревьев, произрастающих в нижних частях зон транзита и в зонах аккумуляции, сильно отличается как от лавиносбора к лавиносбору, так и в пределах одного лавиносбора (табл. 2). Так по периферии зоны аккумуляции лавиносбора 4 оно отмечается в 1708–2001 гг. (у *Picea obovata* L.– 1867–1945 гг., у *Pinus sibirica* Du Tour 1843–1905 гг., у *Larix sibirica* L.– 1708–2001 гг.), в лавиносборе 5–1511–1999 гг. (у *Picea obovata* – 1872–1920 гг., у *Pinus sibirica* – 1511–1969 гг., у *Larix sibirica* – 1612–1999 гг.). В нижней части зоны транзита лавиносбора 6 начало роста деревьев относится к 1710–1997 гг. (у *Picea obovata* – 1796–1965, у *Pinus sibirica* – 1919–1983 гг., у *Larix sibirica* – 1710–1997 гг.) (табл. 2), по периферии зоны аккумуляции лавиносбора

7 – к 1777–2001 гг. (у *Picea obovata* – 1929 г. и 1951 г., у *Pinus sibirica* – 1777–1903 гг., у *Larix sibirica* – 1842–2001 гг.), в лавиносборе 8–1528–1935 гг. (у *Pinus sibirica* – 1528–1935 гг., у *Larix sibirica* – 1924 г.) и т.д. (табл. 2).

Возраст изученных деревьев также колебался в широких пределах. Так, например, в лавиносборе 4 – от 20 до 288 лет (в среднем возраст составил 129 лет), в лавиносборе 5 – от 23 до 511 лет (в среднем 143 года), в лавиносборе 6 – от 17 до 315 лет (в среднем 105 лет). В лавиносборе 7 – от 17 до 155 лет (в среднем 84 года), в лавиносборе 8 – от 87 до 494 лет (в среднем 278 лет) и т.д. (табл. 2). Возраст живых и погибших деревьев свидетельствует о различной частоте схода лавин в изученных лавиносборах. Наиболее мощные лавины в бассейне р. Чуя, вероятно, сходили раз за 490–510 лет. Промежуток между лавинами меньшей мощности может достигать 260–285 лет. Периодичность схода лавин средней мощности составляет 40–145 лет. Максимальные лавины, которыми были уничтожены деревья возрастом 490–510 лет, были отмечены в 2011 и 2022 гг. Деревья возрастом 260–285 погибли в 1995 и 2019 гг., а деревья возрастом 40–145 лет погибали в диапазоне 1954–2023 гг. Возраст изученных деревьев дает основания предполагать, что на протяжении последних 20 лет наблюдается усиление мощности лавин. Одной из возможных причин этого является увеличение в этот период количества зимних осадков. Специфика дендрохронологического датирования лавин заключается в том, что даты последнего кольца и схода лавины, как правило, различаются на один год. Однако, как показали наши наблюдения, в некоторых случаях они совпадают, поскольку обломанные лавиной стволы при наличии нижних веток могут успеть сформировать неполное годовое кольцо. Подобное явление было отмечено и у поваленных вечнозеленых хвойных пород

деревьев, которые в последующий вегетационный период могут сформировать несколько рядов клеток ксилемы. Трахеиды в таких кольцах специфичны: они имеют узкие просветы, но при этом и тонкие стенки. В этой связи при датировании схода лавин необходим обязательный анатомический анализ последнего годовичного кольца у погибших деревьев.

Особенностью деревьев лавиносборов исследуемого бассейна является часто встречаемые на стволах механические повреждения (раны). Это существенно отличает данный район от многоснежных районов Алтая (Северо-Западный (Быков и др., 2024) и Северо-Восточный районы), где раны на деревьях образуются преимущественно обломанными и переносимыми лавинами стволами, в то время как в бассейне р. Чуя каменным материалом. Датирование механических повреждений у деревьев лавиносборов чуйского бассейна свидетельствует о том, что деревья их приобрели за последние 100 лет (рис. 4). Более ранние повреждения не отмечены. Возможно, это обусловлено тем, что за столетие происходит полное зарастание ран, после чего они не обнаруживаются. Наибольшее количество повреждений относится к последнему 25-летнему периоду, что может быть связано как с тем же зарастанием ран на более ранних этапах, а также усилением лавинной активности, что частично подтверждается тенденцией увеличения зимних осадков в исследуемом районе. Особенно много повреждений отмечено в 2009–2011 гг., а также с 2017 по 2023 г. Сравнение числа повреждений с количеством осадков за октябрь–март на метеостанциях Кош-Агач и Усть-Улаган показывает, что сход лавин не всегда обусловлен повышенными снегозапасами к окончанию зимнего периода. Например, в 1998 г. в лавиносборе 4 он произошел при небольших снегозапасах снежного покрова. То же самое отмечено в 1982 г.

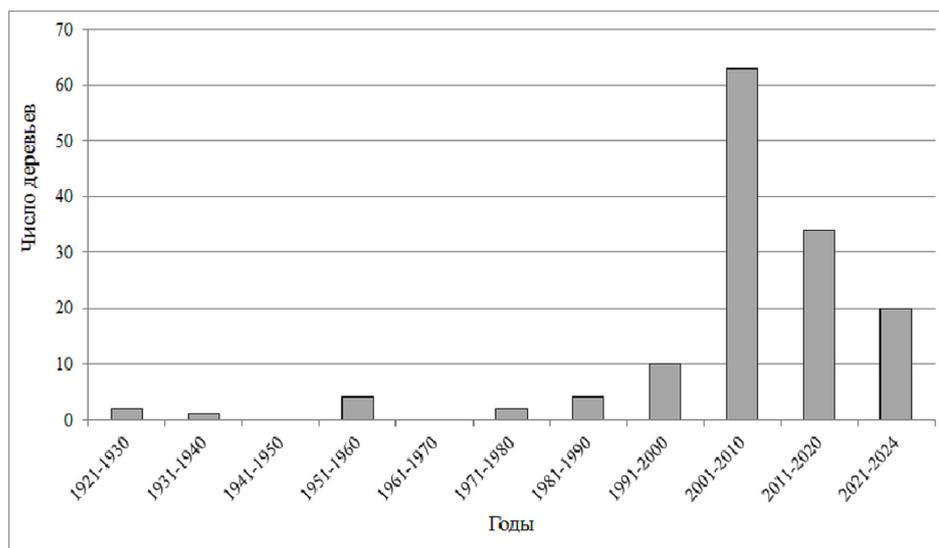


Рис. 4. Распределение числа случаев механических нарушений деревьев лавиносборов бассейна р. Чуя по десятилетиям

Fig. 4. Distribution of the number of cases of mechanical damage to trees in avalanche paths of the Chuya River basin by decades

в лавиносборе 6. При этом в 2010 г., который характеризуется как год с большим количеством осадков за зимний период, лавины сходили в январе при антициклональной погоде при морозах 30–40 °С, т.е. были обусловлены трансформацией снежной толщи. Таким образом, наличие ран не позволяет точно установить причины схода лавины.

Компрессионная древесина обнаружена в кольцах 6 деревьев лавиносбора 4, 7 деревьев лавиносбора 5, 7 деревьев лавиносбора 6, 4 деревьев лавиносбора 7, 1 дерева в лавиносборах 8 и 9, четырех деревьев лавиносборов 10 и 11 и двух деревьев лавиносбора 13. Анализ показал, что подобная древесина у деревьев формируется преимущественно в раннем возрасте, что, вероятно, обусловлено давлением снега на подрост. Например, в лавиносборе 6 у первого дерева (лиственница) подобная древесина отмечалась на третьем (1969 г.), четвертом (1970 г.) и 35 году (2001 г.) жизни. У второго дерева (лиственница) компрессионная древесина отмечена в кольцах 1960, 1961,

1964 и 1966 годах (соответственно в возрасте 3, 4, 7 и 9 лет). У третьего дерева (лиственница) она проявилась в 2009–2012 гг. в возрасте 36–39 лет, у четвертого дерева (ель) – в возрасте 166–169 лет (1978–1981 гг.), у пятого дерева (ель) – в возрасте 105 лет (1938 г.), у шестого (ель) – возрасте 43 года (1863 г.), у седьмого дерева (кедр) – в возрасте 36 (2013 г.), 37 (2014 г.) и 41 (2018 г.) лет. Синхронности в проявлении годичных колец с компрессионной древесиной у деревьев как одного, так и других лавиносборов, не обнаружено.

Цепочки травматических смоляных ходов в годичных кольцах деревьев лавиносборов встречаются значительно чаще, чем компрессионная древесина. Например, в лавиносборе 6 за период с 1707 по 2022 г. примерно в каждом пятом году отмечены травматические смоляные ходы. Обнаруживаются они как с кроневой, так и с тяговой сторон стволов деревьев. При этом синхронность в их распределении слабая как по разным лавиносборам, так по деревьям одного лавиносбора и даже по разным сторо-

нам ствола. В лучшем случае одновременно такие ходы обнаруживаются только у четверти исследованных деревьев в лавиноборе. Например, в лавиноборе 7 одновременно смоляные ходы наблюдались не более чем у 15 % обследованных деревьев. Частота встречаемости травматических смоляных ходов в значительно меньшей степени зависит от возраста дерева, чем встречаемость компрессионной древесины. По всем лавиноборам максимальное количество подобных колец приходится на десятилетия XXI в. (рис. 5). Однако лидерство этого периода по данному показателю в значительной мере зависит от величины выборки. Наиболее сильно проявились травматические смоляные ходы в кольцах деревьев в 2010 г., когда они одновременно были встречены у 16 деревьев. Также значимо они были отмечены в 2018 г. (у 13 деревьев), 2016 г. (у 11 деревьев), в 2004 г. (у 10 деревьев) и в 1948 г. (у 9 деревьев).

Резкое увеличение прироста (эффект осветления) в индивидуальных хронологиях,

полученных с деревьев лавиноборов, обнаруживается редко. В лавиноборе 4 такой эффект был отмечен на уровне 1860–1880 м у двух лиственниц из 39 обследованных – у одной (в возрасте 157 лет) в 2014 г., а у второй (в возрасте 10 лет) в 2011 г. В этом же лавиноборе на уровне 1820–1830 м он был выявлен в хронологиях двух лиственниц из 18 обследованных – в 2012 г. (в возрасте 47 лет) и в 1899 г. (в возрасте 60 лет). В лавиноборе 5 резкий прирост был отмечен у трех лиственниц. У двух в возрасте 24 (2010 г.) и 36 лет (2015 г.) и дважды у одной в возрасте 197 лет (1943 г.) и 204 года (1950 г.). В лавиноборе 6 по краю лавинного прочеса такой эффект проявился только у двух елей – у одной (в возрасте 136 лет) в 1961 г., а у второй (в возрасте 145 лет) в 1978 г. В древесно-кольцевых хронологиях лавиноборов 7, 8, 10, 13 такой эффект не проявился. В лавиноборе 9 он был отмечен у трех кедров в 1982, 1994 и 2011 гг., когда их возраст составлял от 2 до 12 лет. В лавиноборе 11 он

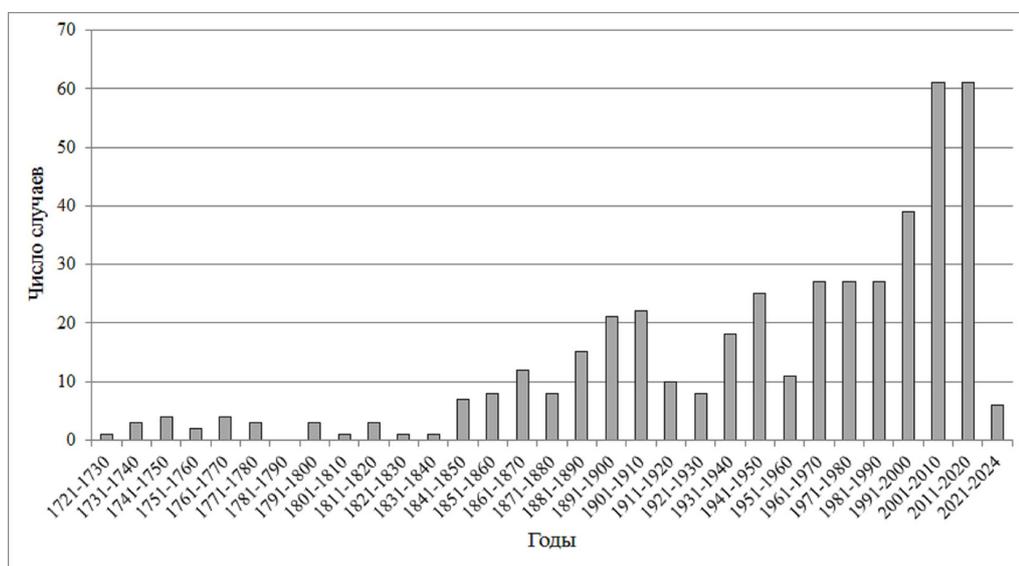


Рис. 5. Распределение числа колец с травматическими смоляными ходами в деревьях лавиноборов бассейна р. Чуя

Fig. 5. Distribution of the number of rings with traumatic resin passages in trees of avalanche paths of the Chuya River basin

был выявлен у 70-летней лиственницы (1973 г.) и 80-летнего кедра (2004 г.).

В ходе исследований мы проверили также возможность использования еще одного вероятного индикатора схода лавин – асинхронность прироста с разных сторон ствола, которая характеризуется уменьшением прироста с одной стороны ствола и увеличением с другой в течение года по сравнению с предыдущим. Анализ древесно-кольцевых хронологий показал, что такое увеличение прироста с одной стороны ствола может продолжаться несколько лет до восстановления вертикальности ствола. При этом по мере увеличения возраста дерева увеличивается и период такого восстановления. Таким образом, наиболее точно определить год схода лавины можно по первому году асинхронного прироста. Однако следует учитывать, что неравномерность прироста может быть вызвана и другими причинами, такими как сползание снега по склону или воздействие ветра. Как показал анализ, при большой выборке (20 деревьев и более) асинхронность прироста одновременно в среднем отмечается у 15–20 % исследованных деревьев лавиносборов, а максимально – у 50–65 % деревьев. Так, например, в 1856 г. она наблюдалась у 53 % деревьев лавиносбора 4, в 1828 г. – у 63 % деревьев лавиносбора 5, в 1922 г. – у 50 % деревьев лавиносбора 7 и у 64 % деревьев лавиносбора 6. Однако если выборка исследованных деревьев небольшая (2–4), то асинхронность в какой-либо конкретный год может отмечаться у 75–100 % деревьев.

Одним из показателей неравномерности радиального прироста и, соответственно, индикатором схода лавин в практике их дендрохронологических исследований может служить коэффициент крени (Кравцова, 1971; Ревякин, Кравцова, 1977), который характеризует отношение прироста ствола с крене-

вой стороны к приросту с тяговой стороны у хвойных пород деревьев. Такая разница возникает вследствие того, что у хвойных пород тяговая древесина слабее, чем кренивая. В год схода лавины фиксируется значительное увеличение этого коэффициента. Однако данный коэффициент также характеризуется наличием инерции, т.е. после первого года стремительного его прироста далее в течение нескольких лет может отмечаться дальнейшее плавное его увеличение уже без воздействия лавин. При этом увеличение коэффициента крени может происходить как при асинхронном приросте с противоположных сторон ствола, так и при синхронном. Значение коэффициента крени некоторые авторы используют для определения мощности лавины (Кравцова, 1971). Однако, по нашему мнению, величина данного коэффициента является ненадежным критерием определения мощности лавины. Более подходящим приемом для установления мощности лавин является выбор места отбора дендрохронологических образцов, поскольку мощность лавин и дальность их выброса, как правило, взаимосвязаны.

Анализ синхронности прироста с кренивой и тяговой сторон стволов деревьев исследованных лавиносборов свидетельствует о том, что ее нарушение – частое явление. Оно наблюдается у деревьев один раз каждые 2–7 (в среднем 3,7) лет. Вместе с тем, следует отметить, что несмотря на нарушения синхронности прироста с кренивой и тяговой сторон, между ними отмечается высокое сходство (табл. 2). Средние по породам деревьев коэффициенты корреляции между хронологиями с кренивой и тяговой сторон ствола варьируют от 0,52 до 0,90. В зоне транзита такое сходство выше у деревьев по краю лавинного прочеса, чем у деревьев в зоне прочеса, расположенных ближе к лавинному лотку. Парные корр-

ляции хронологий с креновой и тяговой сторон в зоне аккумуляции ниже, чем у таковых по краю лавинного прочеса или за пределами лавиносборов. Схожая ситуация отмечается и с межсерийными коэффициентами корреляции хронологий – по краю прочеса они выше, чем в зоне транзита. Также в целом популяционный сигнал (EPS) деревьев вне зоны лавиносбора выше, чем у деревьев в пределах лавинного прочеса, что дополнительный раз подтверждает, что деревья лавиносборов испытывают негативное воздействие лавин еще на стадии их роста. По породам деревьев худшие показатели EPS чаще всего демонстрирует *Picea obovata*.

Анализ комплекса дендрохронологических признаков, по мнению некоторых исследователей, является обязательным условием индикации схода снежных лавин (Germain et al., 2010). В нашем исследовании в качестве такого показателя выбрано соотношение суммы всех случаев нарушений прироста (асинхронность прироста, резкое увеличение коэффициента крени, наличие компрессионной древесины и цепочек травматических смоляных ходов, эффект осветления, дата гибели и дата образования раны), исследованных в нижней части зоны транзита и зоны аккумуляции деревьев к числу данных деревьев. Мы предложили это соотношение называть дендрохронологическим индексом лавинной активности (Быков и др., 2024).

Полученные дендрохронологические сведения о сходе лавин подтверждаются данными дистанционного зондирования со спутников Sentinel и Landsat за 2013–2024 гг. (см. рис. 3), а также результатами наземных наблюдений. В этот период максимальные лавины в лавиносборе 4 отмечались в 2018 г. при значении дендрохронологического индекса лавинной активности, равного 0,87, в лавиносборе 6 – в 2016 и 2018 гг. при зна-

чении индекса 0,7 и 0,6 соответственно, в лавиносборе 8 – в 2020 г. при значении индекса 1,25, в лавиносборе 9 – в 2016, 2018, 2019 и 2021 гг., при значениях 0,67, 0,83, 1,0 и 0,67 соответственно, в лавиносборе 13 – в 2016, 2018 и 2019 гг., при значениях 0,55, 0,65, 0,8. В остальных исследованных лавиносборах лавины в указанный период не достигали мест отбора дендрохронологических образцов. Если исходить из того, что значение индекса, равного 0,6 и более, является критерием схода максимальных лавин и на других временных отрезках, то в лавиносборе 4 максимальные лавины сходили в среднем примерно один раз в 3 года, в том числе в XX в. – 39 раз (табл. 3). В лавиносборе 5 за временной период продолжительностью более 500 лет (1511–2022 гг.) максимальные лавины зафиксированы в 49 годах, т.е. приблизительно раз в 10 лет (табл. 3), в том числе 9 раз в XX в. В лавиносборе 6 за 295 лет максимальные лавины сходили примерно один раз в три года, в том числе в XX в. – 36 раз. В лавиносборе 7 максимальные лавины сходили значительно реже, а именно в среднем примерно раз в 10 лет. За двадцатое столетие максимальные лавины здесь сходили 10 раз. В лавиносборе 8 максимальные лавины в среднем сходили один раз в 4 года. В XX в. они были отмечены 22 раза. В лавиносборе 9 периодичность схода максимальных лавин за последние 56 лет составляет один раз в 2–3 года, в лавиносборе 10 – раз в 3 года, в лавиносборе 11 – один раз в 4 года, в лавиносборе 13 – один раз в 4 года.

Распределение числа максимальных лавин по столетиям в конкретных лавиносборах имеет незначительные отличия (рис. 6). Существенное влияние на число максимальных лавин оказывают постоянные факторы лавинообразования – экспозиция, уклон склонов, высота лавинных очагов. Самыми активными из исследованных оказались лавиносборы 4, 6,

Таблица 3. Годы схода максимальных лавин в исследованных лавиносборах бассейна реки Чуя (Центральный Алтай)

Table 3. Years of maximum avalanches in the studied avalanche paths of the Chuya River basin (Central Altai)

Номер лавиносбора	Годы схода максимальных лавин
4	1713, 1714, 1715, 1716, 1720, 1722, 1723, 1725, 1727, 1729, 1730, 1731, 1734, 1736, 1737, 1739, 1742, 1744, 1745, 1747, 1748, 1751, 1752, 1753, 1754, 1755, 1757, 1759, 1761, 1762, 1763, 1764, 1765, 1767, 1769, 1770, 1772, 1773, 1775, 1776, 1777, 1778, 1781, 1782, 1783, 1785, 1786, 1788, 1789, 1790, 1791, 1793, 1795, 1801, 1804, 1805, 1810, 1815, 1819, 1821, 1826, 1827, 1833, 1834, 1835, 1836, 1838, 1842, 1844, 1850, 1856, 1859, 1864, 1865, 1869, 1871, 1872, 1874, 1880, 1881, 1884, 1887, 1891, 1894, 1896, 1898, 1903, 1904, 1906, 1911, 1914, 1915, 1917, 1919, 1921, 1923, 1924, 1926, 1933, 1936, 1937, 1940, 1948, 1953, 1954, 1959, 1966, 1969, 1987, 1989, 1992, 1993, 1994, 2000, 2003, 2005, 2006, 2009, 2010, 2011, 2012, 2015, 2018, 2023, 2024
5	1513, 1515, 1518, 1521, 1524, 1531, 1537, 1539, 1543, 1552, 1558, 1563, 1569, 1586, 1589, 1601, 1603, 1610, 1625, 1648, 1651, 1665, 1670, 1681, 1684, 1687, 1693, 1707, 1714, 1719, 1721, 1750, 1797, 1803, 1811, 1828, 1846, 1860, 1892, 1894, 1926, 1927, 1932, 1939, 1947, 1954, 1961, 1973, 1987
6	1722, 1726, 1732, 1738, 1744, 1747, 1752, 1753, 1756, 1760, 1762, 1764, 1766, 1767, 1769, 1774, 1780, 1785, 1787, 1791, 1794, 1798, 1799, 1805, 1806, 1808, 1811, 1814, 1816, 1817, 1821, 1823, 1828, 1830, 1841, 1843, 1845–1847, 1851, 1853, 1855, 1856, 1860, 1861, 1863, 1864, 1866, 1868, 1869, 1871, 1872, 1875, 1877, 1878, 1883, 1885, 1891, 1895, 1905, 1906, 1908–1910, 1914, 1915, 1917, 1919, 1920, 1922, 1927, 1930, 1932, 1935, 1938, 1943, 1946, 1947, 1948, 1955, 1961, 1965, 1974, 1980, 1985, 1987, 1992, 1996, 2001, 2004, 2007, 2009, 2010, 2016, 2018
7	1886, 1890, 1902, 1903, 1909, 1914, 1922, 1923, 1930, 1961, 1966, 1996, 2001, 2010
8	1529, 1531, 1533, 1535, 1539, 1540, 1544, 1550, 1552, 1558, 1560, 1564, 1568, 1574, 1578, 1580, 1581, 1584, 1597, 1600, 1605, 1607, 1615, 1620, 1624, 1631, 1632, 1647, 1650, 1652, 1659, 1663, 1666, 1670, 1672, 1676, 1681, 1685, 1693, 1695, 1699, 1700, 1704, 1706, 1717, 1725, 1726, 1734, 1736, 1746, 1748, 1756, 1758, 1759, 1763, 1765, 1769, 1771, 1772, 1773, 1774, 1777, 1779, 1781, 1792, 1799, 1805, 1809, 1817, 1823, 1828, 1832–1834, 1839, 1844, 1845, 1857, 1859, 1861, 1866, 1869, 1871, 1879, 1883, 1886, 1889, 1892, 1895, 1896, 1901, 1902, 1906, 1911, 1914, 1919, 1922, 1926, 1929, 1936, 1939, 1940, 1955, 1959, 1961, 1973, 1975, 1976, 1977, 1979, 1985, 1999, 2002, 2004, 2017, 2019, 2020, 2023
9	1967, 1970, 1971, 1972, 1973, 1977, 1979, 1981, 1994, 1995, 1999, 2003, 2008, 2009, 2011, 2014, 2016, 2018, 2019, 2021, 2024
10	1885, 1891, 1892, 1893, 1894, 1896, 1899, 1903, 1906, 1907, 1908, 1909, 1911, 1912, 1915, 1917, 1918, 1921, 1922, 1924, 1926, 1927, 1933, 1934, 1936, 1938, 1940, 1942, 1945, 1951, 1954, 1956, 1957, 1960, 1961, 1963, 1965, 1969, 1972, 1978, 1980, 1982, 1984, 1986, 1988, 1989, 1993, 1994, 1995, 1998, 2003, 2005
11	1776, 1779, 1784, 1787, 1789, 1794, 1796, 1797, 1798, 1800, 1801, 1810, 1811, 1821, 1826, 1830, 1836, 1844, 1846, 1847, 1851, 1854, 1858, 1861, 1863, 1865, 1868, 1870, 1872, 1874, 1876, 1879, 1884, 1894, 1895, 1897, 1899, 1902, 1904, 1906, 1908, 1909, 1913, 1920, 1929, 1931, 1936, 1938, 1945, 1962, 1964, 1965, 1967, 1971, 1972, 1973, 1975, 1981, 2003, 2004
13	1974, 1977, 1983, 1993, 1994, 1998, 2001, 2002, 2014, 2018, 2019, 2022, 2024

9, 10 и 13. От других лавиносборов они отличаются либо высоким положением линии отрыва в лавинных очагах, либо несколько большими уклонами в лавинных очагах. Фактор высоты лавинных очагов также определяет более высокую активность максимальных лавин в ла-

виносборе 4 по сравнению с лавиносбором 5. Данные лавиносборы расположены рядом и имеют схожие остальные постоянные факторы лавинообразования. Рядом с данными лавиносборами расположена стоянка животноводов, которые подтверждают, что в течение

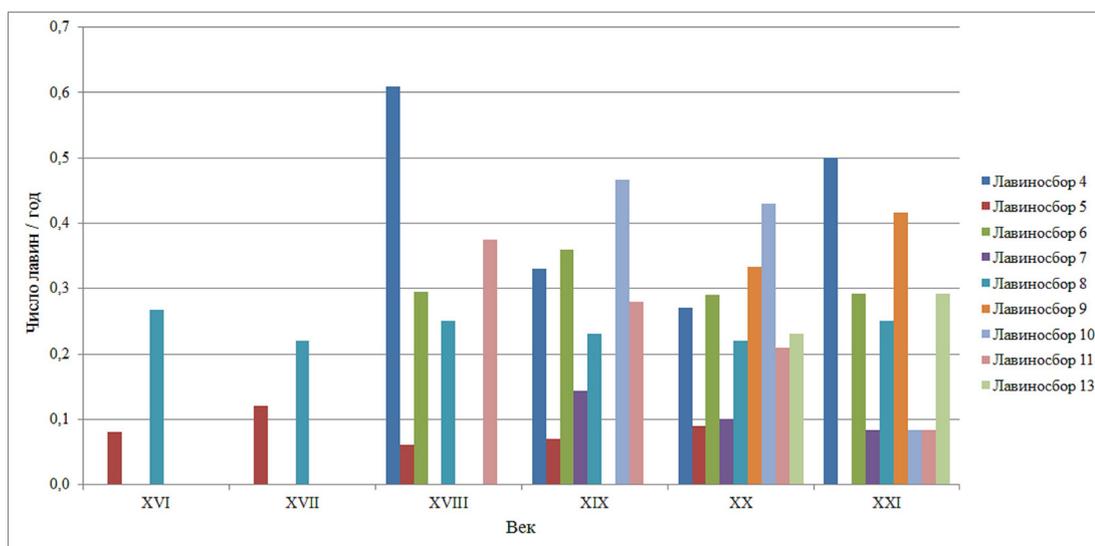


Рис. 6. Среднее число лавин в год в лавиносборах бассейна р. Чуя по столетиям

Fig. 6. Average number of avalanches per year in avalanche paths of the Chuya River basin by centuries

нескольких десятков лет лавины в лавиносборе 4 сходят чаще, чем в лавиносборе 5.

Синхронность максимальных лавин по различным лавиносборам невысокая (табл. 4). Наибольшее сходство (16 раз за XX в.) демонстрируют лавиносборы 4 и 10, а также пары лавиносборов 4 и 6, и 4 и 8 – в них максимальные лавины 8 раз сходили в один и тот же год в течение XX в. Если первая и вторая пара лавиносборов сходны по высотному положению лавинных очагов, то третья характеризуется географической близостью. У следующей пары – лавиносборы 6 и 10 – в один и тот же год максимальные лавины сходили 11 раз за XX в. В 1961 г. максимальные лавины сошли в пяти из девяти исследованных лавиносборов (лавиносборы 5–8, 10), в 1922 – в четырех (6–8, 10) и 2010 гг. – в трех лавиносборах (4, 6, 7). В зимний сезон 2009–2010 гг. сход лавин был обусловлен значительным количеством атмосферных осадков за октябрь–март. Однако в зимний сезон 1960–1961 гг. количество осадков было среднее и, вероятно, определяющим

был другой климатический фактор, что требует дополнительного исследования метеофакторов данного года в исследуемом районе. В 1996 г. лавины были отмечены в лавиносборах 6 и 7. При этом зима 1995–1996 гг. характеризовалась крайне низким значением количества атмосферных осадков. Поэтому можно предположить, что сход лавин в эту зиму был обусловлен перекристаллизацией снежной толщи. Подобные выводы о причинах схода лавин в данном районе сделаны и другими исследователями (Алтайский край, 1978; Ревякин, 1981). Из этого следует методический вывод о том, что установление причин схода лавин методом древесно-кольцевой индикации за пределами периода инструментальных метеорологических наблюдений в данном районе вряд ли возможно.

Попытка получения дендрохронологического индекса лавинной активности для бассейна р. Чуя в целом оказалась неудачной (рис. 7), в отличие от выполненной ранее подобной процедуры по бассейну р. Коргон (Северо-Западный Алтай) (Быков и др., 2024).

Таблица 4. Годы синхронного схода лавин в исследованных лавиносборах

Table 4. Years of synchronous avalanches in the studied avalanche paths

Номер лавиносбора	4	5	6	7	8	9	10
5	1894, 1926, 1954, 1987						
6	1722, 1744, 1747, 1752, 1753, 1762, 1764, 1767, 1769, 1785, 1791, 1805, 1821, 1856, 1864, 1869, 1871, 1872, 1891, 1906, 1914, 1915, 1917, 1919, 1948, 1987, 1992, 2009, 2010, 2018	1927, 1932, 1947, 1961, 1987					
7	1903, 1914, 1923, 1966, 2010	1961	1909, 1914, 1922, 1930, 1961, 1996, 2001, 2010				
8	1725, 1734, 1736, 1748, 1759, 1763, 1765, 1769, 1772, 1773, 1777, 1781, 1833, 1834, 1844, 1859, 1869, 1871, 1896, 1906, 1911, 1914, 1919, 1926, 1936, 1940, 1959, 2023	1926, 1939, 1961, 1973	1906, 1914, 1919, 1922, 1955, 1961, 1985, 2004	1902, 1914, 1922, 1961			
9	1994, 2003, 2009, 2011, 2018, 2024	1973	2009, 2016, 2018	-	1973, 1977, 1979, 1999, 2019		
10	1891, 1894, 1903, 1906, 1911, 1915, 1917, 1921, 1924, 1926, 1933, 1936, 1940, 1954, 1969, 1989, 1993, 1994, 2003, 2005	1892, 1894, 1926, 1927, 1954, 1961	1885, 1891, 1906, 1908, 1909, 1915, 1917, 1922, 1927, 1938, 1961, 1965, 1980	1903, 1909, 1922, 1961	1892, 1896, 1906, 1911, 1922, 1926, 1936, 1940, 1961	1972, 1994, 1995, 2003	
11	1776, 1789, 1801, 1810, 1821, 1826, 1836, 1844, 1865, 1872, 1874, 1884, 1894, 1904, 1906, 1936, 2003	1811, 1828, 1846, 1860, 1927, 1932, 1947, 1961, 1987	1787, 1794, 1798, 1811, 1821, 1830, 1846, 1847, 1851, 1861, 1863, 1868, 1872, 1895, 1906, 1908, 1909, 1920, 1938, 2004	1902, 1909	1779, 1844, 1861, 1879, 1895, 1902, 1906, 1929, 1936, 1973, 1975, 2004	1967, 1971, 1972, 1973, 1981, 2003	1894, 1899, 1906, 1908, 1909, 1936, 1938, 1945, 1965, 2003
13	1993, 1994, 2018, 2024	нет	1974, 2001, 2018	2001	1977, 2002, 2019	1977, 2014, 2018, 2019, 2024	1993, 1994, 1998

Обобщение данного индекса по бассейну р. Чуя приводит к его осреднению и занижению (только шесть раз с 1700 г. его значение достигло 0,6). Это можно объяснить тем, что лавиносорбы здесь в значительной мере отличаются постоянными факторами лавинообразования вследствие чего максимальные лавины в них сходят несинхронно.

Также следует иметь в виду, что на величину дендрохронологического индекса лавинной активности влияет число исследованных деревьев в лавиносорбе. Например, если в лавиносорбе исследовано одно дерево, то значение индекса как индикатора схода лавины не может быть менее 1,0. Однако при увеличении числа исследованных деревьев значение индекса, необходимого для индикации схода лавины, уменьшается, что демонстрирует рис. 7. Это подтверждает выводы других исследователей о минимально необходимом числе исследованных деревьев при проведении древесно-кольцевой индикации. Поскольку с увеличением числа исследованных деревьев возрастают трудовые

затраты, оптимальным считается изучение 30–40 деревьев (Germain et al., 2010). Результаты о сходе максимальных лавин при меньшем числе исследованных деревьев следует воспринимать как оценочные. Подтвердить или опровергнуть их, вероятно, можно при дополнительном отборе дендрохронологических образцов на более высоких уровнях в зоне транзита.

Заключение

Соотношение дендрохронологических индикаторов схода снежных лавин в бассейне р. Чуя существенным образом отличается от Северо-Западного Алтая. Здесь значительно увеличивается роль механических повреждений на стволах деревьев, уменьшается значение травматических смоляных ходов, вследствие трудоемкости их определения. Ввиду того, что все индикаторы схода лавин являются неспецифическими, т.е. могут быть вызваны и другими факторами, для снижения вероятности ошибок датирования необходимо использование комплекса индикаторов.

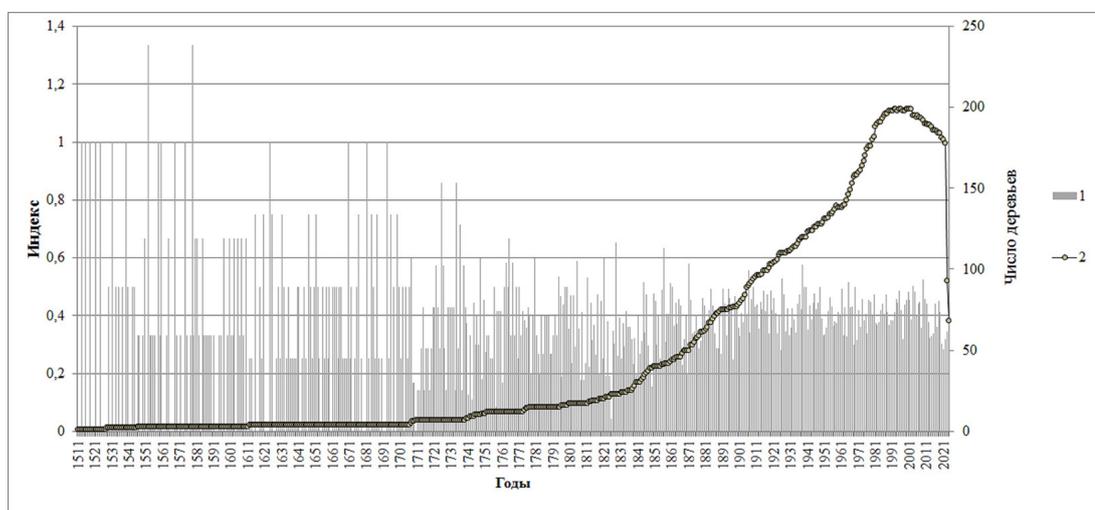


Рис. 7. Изменения дендрохронологического индекса лавинной активности, обобщенного по бассейну р. Чуя по дендрохронологическим данным (1), и числа исследованных деревьев (2)

Fig. 7. Changes in the dendrochronological index of avalanche activity generalized for the Chuya River basin based on dendrochronological data (1) and the number of trees studied (2)

В качестве такого показателя может выступать дендрохронологический индекс лавинной активности, который является отношением числа случаев нарушения роста деревьев к числу исследованных деревьев. Однако его обобщение по исследованному бассейну нецелесообразно ввиду значительного разнообразия постоянных факторов лавинообразования (экспозиции и уклонов склонов, высоты лавинных очагов над уровнем моря и т.д.). Дендрохронологический анализ позволил установить, что синхронность схода максимальных лавин в исследованных лавиноборах слабая. Она тем выше, чем ближе расположены лавиноборы и чем более схожи они по постоянным факторам лавинообразования, прежде всего, по высоте лавинных очагов.

Дендрохронологическим методом установлено, что причинами схода максимальных лавин в бассейне реки Чуя являются различные факторы – значительное снегонакопление

за зимний период (2010 г.), перекристаллизация снежной толщи (1996 г.). Для установления причин схода максимальных лавин в некоторые годы, например в 1961 г., требуется дополнительный анализ метеорологических показателей.

Тенденция к увеличению количества зимних осадков в регионе, вероятно, повлечет за собой увеличение интенсивности лавинообразования и рисков для жизнедеятельности человека.

Приоритет в использовании тех или иных пород деревьев при датировании снежных лавин в случае возможности выбора необходимо отдавать хвойным породам ввиду того, что продолжительность их жизни, как правило, больше. Однако в поперечном сечении лавиноборов формируется несколько зон по активности лавинных процессов, которые заселяются разными видами древесных растений.

Список литературы / References

Алтайский край (1978) *Атлас (в 2 томах). Т. 1.* Москва, Барнаул, 222 с. [*Altai Territory (1978) Atlas (in 2 volumes). Volume 1.* Moscow, Barnaul, 222 p. (in Russian)]

Бенькова В.Е., Швейнгрубер Ф.Х. (2004) *Анатомия древесины растений России: Атлас для идентификации древесины деревьев, кустарников, полукустарников и древеснистых лиан России.* Бирменсдорф, Швейцарский Федеральный Институт исследований леса, снега и ландшафта; Берн, Штутгарт, Вена, Хаупт, 456 с. [Benkova V.E., Schweingruber F.H. (2004) *Anatomy of Russian woods. An atlas for the identification of trees, shrubs, dwarf shrubs and woody lianas from Russia.* Birmensdorf, Swiss Federal Institute for Forest, Snow and Landscape Research; Bern, Stuttgart, Wien, Haupt, 456 p.]

Быков Н.И. (2000) Дендрохронология снежных лавин и циркуляционных процессов атмосферы зимнего и переходного периодов на Алтае. *Проблемы реконструкции климата и природной среды голоцена и плейстоцена Сибири. Вып. 2.* Новосибирск, Издательство Института археологии и этнографии СО РАН, с. 56–60 [Bykov N.I. (2000) Dendrochronology of snow avalanches and atmospheric circulation processes in the winter and transitional periods in Altai. *Problems of reconstruction of the climate and natural environment of the Holocene and Pleistocene in Siberia. Issue 2.* Novosibirsk, Institute of Archeology and Ethnography of the Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences, p. 56–60 (in Russian)]

Быков Н.И. (2013) Растительность лавиноборов Алтая и возможности фитоиндикации лавинных процессов. *География и природопользование Сибири*, 15: 23–31 [Bykov N.I. (2013) Vegetation of

avalanche paths of Altai and the possibilities of phytoindication of avalanche processes. *Geography and Nature Management of Siberia* [Geografiya i prirodopol'zovanie Sibiri], 15: 23–31 (in Russian)]

Быков Н. И., Рыгалова Н. В., Шигимага А. А. (2024) Дендрохронологический анализ хвойных пород в лавиносборах Северо-Западного Алтая (бассейн р. Коргон). *Лёд и снег*, 64(1): 81–95 [Bykov N. I., Rygalova N. V., Shigimaga A. A. (2024) Dendrochronological analysis of conifers in avalanche catchments of the Northwestern Altai (Korgon River basin). *Ice and Snow* [Led i sneg], 64(1): 81–95 (in Russian)]

Галахов В. П. (2003) *Условия формирования и расчет максимальных запасов снега в горах: (По результатам исследований на Алтае)*. Новосибирск, Наука, 104 с. [Galakhov V. P. (2003) *Conditions of formation and calculation of maximum snow reserves in the mountains: (Based on the results of research in Altai)*. Novosibirsk, Nauka, 104 p. (in Russian)]

Гляциологический словарь (1984) Ленинград, Гидрометеиздат, 526 с. [Glaciological dictionary (1984) Leningrad, Hydrometeoizdat, 526 p. (in Russian)]

Королева Т. В. (1993) *Оценка снежности и лавинной опасности Алтая в среднем масштабе. Автореферат диссертации на соискание ученой степени кандидата географических наук*. Москва, 23 с. [Koroleva T. V. (1993) *Assessment of snowiness and avalanche danger in Altai on a medium scale. Abstract of a dissertation for the degree of Candidate of Geographical Sciences*. Moscow, 23 p. (in Russian)]

Кравцова В. И. (1971) Особенности режима лавинной деятельности на Алтае по данным дендрохронологических наблюдений. *Фитоиндикационные методы в гляциологии*. Москва, Издательство МГУ, с. 103–123 [Kravtsova V. I. (1971) Features of the regime of avalanche activity in Altai according to dendrochronological observations. *Phytoindication methods in glaciology*. Moscow, Moscow State University, p. 103–123 (in Russian)]

Николаева С. А., Савчук Д. А. (2021) Оценка методов дендроиндикации при датировании экзогенных гравитационных процессов прошлого в верховьях р. Актру (Горный Алтай). *Известия Российской академии наук. Серия географическая*, 85(3): 392–404 [Nikolaeva S. A., Savchuk D. A. (2021) Assessment of dendrogeomorphological dating methods of past geomorphic processes in the Aktru headwater (the Russian Altai Mountains). *Proceedings of the Russian Academy of Sciences. Geographic Series* [Izvestiya Rossiiskoi akademii nauk. Seriya geograficheskaya], 85(3): 392–404 (in Russian)]

Ревякин В. С., Кравцова В. И. (1977) *Снежный покров и лавины Алтая*. Томск, Издательство Томского государственного университета, 215 с. [Revyakin V. S., Kravtsova V. I. (1977) *Snow cover and avalanches in Altai*. Tomsk, Tomsk State University, 215 p. (in Russian)]

Ревякин В. С. (1981) *Природные льды Алтае-Саянской горной области*. Ленинград, Гидрометеиздат, 288 с. [Revyakin V. S. (1981) *Natural ice of the Altai-Sayan mountain region*. Leningrad, Gidrometeoizdat, 288 p. (in Russian)]

Сурнаков И. В. (1985) Некоторые результаты фитоиндикации нивально-гляциальных процессов на Алтае. *Роль нивально-гляциальных образований в динамике горных экосистем*. Барнаул, Издательство Алтайского государственного университета, с. 35–36 [Surnakov I. V. (1985) Some results of phytoindication of nival-glacial processes in Altai. *The role of nival-glacial formations in the dynamics of mountain ecosystems*. Barnaul, Altai State University, p. 35–36 (in Russian)]

Сурнаков И. В. (1987) Некоторые сведения об элементах нивально-гляциального комплекса верховьев реки Большой Абакан. *Ледники и климат Сибири*. Томск, Издательство Томско-

го государственного университета, с. 178–179 [Surnakov I. V. (1987) Some information about the elements of the nival-glacial complex in the upper reaches of the Bolshoy Abakan River. *Glaciers and climate of Siberia*. Tomsk, Tomsk State University, p. 178–179 (in Russian)]

Турманина В.И. (1979) Дендрохронология лавин в верховьях Баксанской долины. *Ритмы гляциальных процессов*. Москва, Издательство МГУ, с. 128–134 [Turmanina V.I. (1979) Dendrochronology of avalanches in the upper reaches of the Baksan valley. *Rhythms of glacial processes*. Moscow, Moscow State University, p. 128–134 (in Russian)]

Germain D., Héту B., Filion L. (2010) Tree-ring based reconstruction of past snow avalanche events and risk assessment in northern Gaspé Peninsula (Québec, Canada). *Tree rings and natural hazards. Advances in global change research, Volume 41*. Stoffel M., Bollschweiler M., Butler D., Luckman B. (Eds.) Springer, Dordrecht, p. 51–73

Germain D. (2016) A statistical framework for tree-ring reconstruction of high-magnitude mass movements: case study of snow avalanches in Eastern Canada. *Geografiska Annaler: Series A, Physical Geography*, 98(4): 303–311

Kaennel M., Schweingruber F.H. (1995) *Multilingual glossary of dendrochronology. Terms and definitions in English, German, French, Spanish, Italian, Portuguese, and Russian*. Birmensdorf, Swiss Federal Institute for Forest, Snow and Landscape Research; Berne, Stuttgart, Vienna, Haupt, 467 p.

Köse N., Aydın A., Akkemik Ü., Yurtseven H., Güner T. (2010) Using tree-ring signals and numerical model to identify the snow avalanche tracks in Kastamonu, Turkey. *Natural Hazards*, 54(2): 435–449

Laute K., Beylich A.A. (2018) Potential effects of climate change on future snow avalanche activity in western Norway deduced from meteorological data. *Geografiska Annaler: Series A, Physical Geography*, 100(2): 163–184

Martin J.-P., Germain D. (2016) Can we discriminate snow avalanches from other disturbances using the spatial patterns of tree-ring response? Case studies from the Presidential Range, White Mountains, New Hampshire, United States. *Dendrochronologia*, 37: 17–32

Mundo I. A., Barrera M. D., Roig F. A. (2007) Testing the utility of *Nothofagus pumilio* for dating a snow avalanche in Tierra del Fuego, Argentina. *Dendrochronologia*, 25(1): 19–28

Perov V.F., Turmanina V.I., Akifeva K.V. (1977) Indications of avalanches and mudflow by dendrochronology. *Russian papers on dendrochronology and dendroclimatology 1962, 1968, 1970, 1972*. Research Laboratory for Archeology and History of Art, Oxford University, p. 49–51

Pop O. T., Munteanu A., Flaviu M., Gavrilă I.-G., Timofte C., Holobăcă I.-H. (2018) Tree-ring-based reconstruction of high-magnitude snow avalanches in Piatra Craiului Mountains (Southern Carpathians, Romania). *Geografiska Annaler: Series A, Physical Geography*, 100(2): 99–115

Schweingruber F.H. (1993) *Jahrringe und Umwelt – Dendroökologie*. Birmensdorf, Eidgenössische Forschungsanstalt fuer Wald, Schnee und Landschaft, 474 p.

Speer J.H. (2010) *Fundamentals of tree-ring research*. Tucson, The University of Arizona Press, 509 p.

Tumajer J., Treml V. (2015) Reconstruction ability of dendrochronology in dating avalanche events in the Giant Mountains, Czech Republic. *Dendrochronologia*, 34: 1–9

Zubairov B., Lentschke J., Schröder H. (2019) Dendroclimatology in Kazakhstan. *Dendrochronologia*, 56: 125602

EDN: MZPYHD

УДК 594.1(571.56)

**First Data on the Duck Mussel
Anodonta anatina (Linnaeus, 1758) (Bivalvia, Unionidae)
in the Irkut River, Eastern Siberia, Russia**

Elena M. Sayenko^{a*} and Alena A. Shirokaya^b

*^aFederal Scientific Center of the East Asia Terrestrial Biodiversity,
Far Eastern Branch of the RAS
Russian Federation, Vladivostok*

*^bLimnological Institute, Siberian Branch of the RAS
Russian Federation, Irkutsk*

Received 20.12.2024, received in revised form 20.06.2025, accepted 20.06.2025

Abstract. The study reports the first records of the duck mussel *Anodonta anatina* (Bivalvia, Unionidae) in the Irkut River basin. The morphometric characteristics of the shells of this species collected from the Irkut and Angara rivers are analyzed. The shell height to length ratio (H/L index) was within 0.44–0.65 for the valves from the Irkut and 0.47–0.67 for the valves from the Angara. These data are consistent with previously published measurements of modern European and Transbaikal *A. anatina*, as well as Pleistocene duck mussel shells from Eastern Siberia. Bivalves from the Irkut and Angara basins did not show significant differences in shell shape and nacre color, since these populations live in almost identical conditions: artificial lakes and the quarry with similar soils and water temperatures.

Keywords: Northern Eurasia, Yenisey River basin, Irkut River, freshwater bivalve, *Anodonta anatina*, shell morphology.

Acknowledgements. The authors sincerely thank A. N. Galkin for his assistance in collecting the material. The research was carried out within the state assignment of the Ministry of Science and Higher Education of the Russian Federation (subject No. 124012400285–7, Federal Scientific Center of the East Asia Terrestrial Biodiversity, Far Eastern Branch of the Russian Academy of Sciences). The collection of material was financed by state budget projects No. 0345–2019–0009 and No. 0279–2021–0007 of the Limnological Institute, Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences.

© Siberian Federal University. All rights reserved

This work is licensed under a Creative Commons Attribution-NonCommercial 4.0 International License (CC BY-NC 4.0).

* Corresponding author E-mail address: sayenko@biosoil.ru; shirokaya@bk.ru
ORCID: 0000-0002-5459-2692 (Sayenko E.); 0000-0002-0935-1398 (Shirokaya A.)

Citation: Sayenko E. M., Shirokaya A. A. First data on the duck mussel *Anodonta anatina* (Linnaeus, 1758) (Bivalvia, Unionidae) in the Irkut River, Eastern Siberia, Russia. J. Sib. Fed. Univ. Biol., 2025, 18(2), 174–189. EDN: MZPYHD



Первые данные об утиной беззубке *Anodonta anatina* (Linnaeus, 1758) (Bivalvia, Unionidae) реки Иркут, Восточная Сибирь, Россия

Е. М. Саенко^а, А. А. Широкая^б

^аФедеральный научный центр биоразнообразия наземной биоты
Восточной Азии ДВО РАН

Российская Федерация, Владивосток
^бЛимнологический институт СО РАН
Российская Федерация, Иркутск

Аннотация. Приводятся первые данные о находках утиной беззубки *Anodonta anatina* (Bivalvia, Unionidae) в бассейне р. Иркут, а также морфометрические характеристики собранных раковин этого вида из рек Иркут и Ангара. Показатель отношения высоты раковины к ее длине (индекс H/L) оказался в пределах 0,44–0,65 для створок из Иркута и 0,47–0,67 для створок из Ангары, что согласуется с опубликованными ранее данными по современным представителям вида из европейских и забайкальских популяций, а также по плейстоценовым раковинам из Восточной Сибири. Собранные в бассейнах Иркута и Ангары беззубки *A. anatina* не показали значимых различий в форме раковин и цвете перламутра, т.к. эти популяции обитают в практически идентичных условиях: это искусственные озера и карьер со схожими грунтами и температурой воды.

Ключевые слова: Северная Евразия, бассейн р. Енисей, р. Иркут, пресноводные двустворчатые моллюски, *Anodonta anatina*, морфология раковины.

Благодарности. Авторы сердечно благодарят А. Н. Галкина за помощь в сборе материала. Работа выполнена в рамках государственного задания Министерства науки и высшего образования Российской Федерации (тема № 124012400285–7, ФНЦ Биоразнообразия ДВО РАН). Сбор материала профинансирован госбюджетными проектами ЛИН СО РАН № 0345–2019–0009 и № 0279–2021–0007.

Цитирование: Саенко Е. М. Первые данные об утиной беззубке *Anodonta anatina* (Linnaeus, 1758) (Bivalvia, Unionidae) реки Иркут, Восточная Сибирь, Россия / Е. М. Саенко, А. А. Широкая // Журн. Сиб. федер. ун-та. Биология, 2025. 18(2). С. 174–189. EDN: MZPYHD

Введение

Утиная беззубка *Anodonta anatina* (Linnaeus, 1758) – уникальный вид крупных пресноводных двустворчатых моллюсков, чей естественный ареал охватывает практически всю территорию Евразии от Пиренейского полуострова и Сирии до Арктики и Восточной Сибири (Томилова и др., 2019; Bolotov et al., 2020; Tomilova et al., 2020; Саенко, Расщепкина, 2024).

Енисей – одна из самых длинных и полноводных рек мира, разделяющая Западную и Восточную Сибирь. Правый и крупнейший приток Енисея – Ангара – является единственной рекой, вытекающей из оз. Байкал.

Первые упоминания о находках анодонт в бассейне Енисея, в который можно включить и водосборный бассейн Байкала, приводятся в малакологических исследованиях XIX века (Middendorff, 1851; Clessin, 1876; Westerlund, 1877). Новый этап в изучении бассейна Енисея с Байкалом начался с середины XX века (Грезе, 1957; Гундризер, Иванова, 1969; Иоганзен, Черемнов, 1969; Черемнов, 1969), однако только в начале XXI века были приведены первые данные по беззубкам левых притоков верхнего Енисея, включая реку Абакан (Sayenko et al., 2004; Саенко и др., 2005).

Основные находки анодонт в бассейне Байкала относились к самому озеру (различные соры и заливы, в т.ч. Баргузинский, Провал, Чивыркуйский, Сор-Черкалов, Большой Посольский сор, пролив Малое Море), озерам Ивано-Арахлейской системы (Арахлей и Шакшинское), озерам Гусиное, Щучье и Торма, к вытекающей из Байкала Ангаре, а также бассейнам впадающих в Байкал рек Баргузин и Селенга с притоком Хилок (Dybowski, 1913; Кожов, 1936; Голышкина, 1967; Слугина, Старобогатов, 1999; Prozorova, Bogatov, 2006; Прозорова, Слугина, 2009;

Саенко, 2014, 2019; Klishko et al., 2018; и др.). Следует отметить, что во многих публикациях отсутствуют точные указания мест сбора беззубок.

Для р. Ангара данные по анодонтам были, как правило, частью гидробиологических исследований (см., например: Рожкова и др., 2011; Андрианова, 2023) либо приводились вместе с описанием видового состава малакофауны определенных участков бассейна (Голышкина, 1967), без анализа размерных характеристик раковин. Опубликованных сведений о находках анодонт в р. Иркут, одном из крупных правых притоков Ангары, до настоящего времени не было (рис. 1, табл. 1). Нами была поставлена задача подтвердить обитание утиной беззубки в бассейне р. Иркут, а также собрать первые данные по морфологическим характеристикам раковин из Ангары и Иркутска.

Материалы и методы

Материалом для работы послужили раковины утиной беззубки *Anodonta anatina*, собранные А.А. Широкой и А.Н. Галкиным в бассейнах рек Иркут и Ангара (Иркутский район Иркутской области) (рис. 1, 2):

1) 54 створки из карьера и отшнурованного от него озерца в русле р. Иркут в селе Смоленщина, 05.IX.2023, 29.IV.2024, 02.VII.2024, 14.VII.2024. Координаты точек с находками единичных створок: 52°14.848' N, 104°07.251' E – прибрежная полоса карьера со стороны Центра отдыха «Лагуна», глубина 0,2–2,5 м (рис. 3 В–Е); 52°14.618' N, 104°07.115' E – прибрежье озерца, глубина 0,5 м (рис. 3 G–I). Координаты находки обильного танатоценоза: 52°14.764' N, 104°07.234' E – песчано-каменистая отмель у бани-на-воде, глубина 0,5–1 м (рис. 3 F).

2) 30 створок и 2 экземпляра из расположенных ниже Иркутской ГЭС так называ-

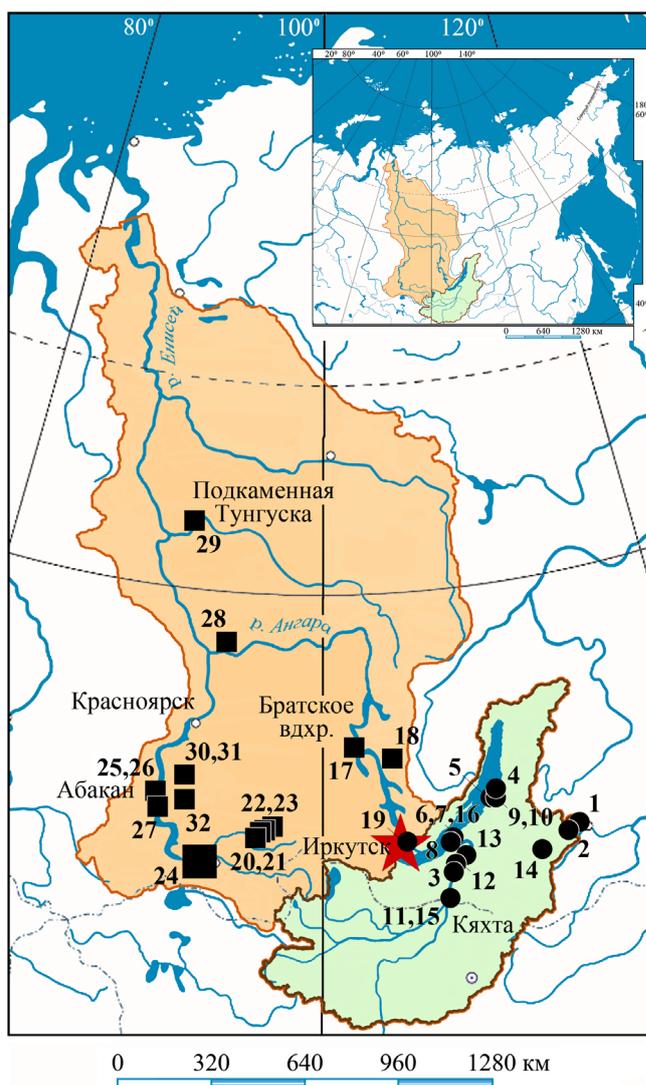


Рис. 1. Места находок *Anodonta anatina* в бассейнах р. Енисей (черные квадраты) и оз. Байкал (черные кружочки) по опубликованным данным, а также новые находки (красная звезда). Расшифровка номеров локалитетов приводится в табл. 1

Fig. 1. Locations of *Anodonta anatina* in the Yenisey River (black squares) and Lake Baikal (black circles) basins according to published data, as well as new finds (red star). The description of locality numbers is given in Table 1

емых Теплых озер в русле р. Ангара напротив Академгородка г. Иркутск, 20.IX.2021, 30.IV.2024, 19.X.2024. Координаты точек в заливах озер с находками единичных створок: 52°14.840' N, 104°17.963' E; 52°14.862' N, 104°17.955' E; 52°14.873' N, 104°17.953' E; 52°14.876' N, 104°17.959' E; 52°15.053' N, 104°17.818' E; глубина 0,3–2,5 м (рис. 4 А–С,

Е, Н). Координаты находки обильного тана-тоценоза: 52°14.816' N, 104°17.994' E, глубина до 1 м (рис. 4 D, E, G).

Сбор проводился вручную и с помощью граблей.

Раковины хранятся в коллекции лаборатории пресноводной гидробиологии ФНЦ Биоразнообразия ДВО РАН (г. Владивосток).

Таблица 1. Опубликованные данные о местах находок утиной беззубки *Anodonta anatina* в бассейнах р. Енисей и оз. БайкалTable 1. Published data on known localities of *Anodonta anatina* in the Yenisey River and Lake Baikal basins

Регион	Место нахождения; цифры в скобках (1–32) соответствуют приведенным на рис. 1	Ссылка
Забайкальский край	Ивано-Арахлейская с-ма озер: Арахлей (1) и Шакшинское (2) (бассейн оз. Байкал)	Клишко, 2001; Саенко, 2014
Республика Бурятия	оз. Гусиное (3) (бассейн оз. Байкал) заливы Чивыркуйский (4), Баргузинский (5), Провал (6), Сор-Черкалов (7), Большой Посольский сор (8) (оз. Байкал) р. Баргузин в 4-х км вверх от пгт. Усть-Баргузин (9) (бассейн оз. Байкал) реки Баргузин (10) и Селенга (11) оз. Щучье (Убукунские озера) (12); оз. Торма (13) (бассейн р. Селенга); верховье р. Хилок (14) р. Селенга у пос. Усть-Кяхта (15) устье р. Селенга (16)	Westerlund, 1877; Prozorova, Bogatov, 2006; Klishko et al., 2018 Dybowski, 1913; Кожов, 1936; Prozorova, Bogatov, 2006; Klishko et al., 2018 Mozley, 1935 Кожов, 1936 Klishko et al., 2018 Prozorova, Bogatov, 2006; Прозорова, Слугина, 2009 Dybowski, 1913
Иркутская область	р. Ангара ниже Ершовского порога (ныне район Братского вдхр.) (17) и ее приток р. Илим (18) р. Ангара у г. Иркутск (19)	Гольшкина, 1967 Prozorova, Bogatov, 2006
Республика Тува	озера Тоджинской котловины: Азас (20), Маны-Холь (21), Кадыш-Холь (22) и Борзу-Холь (23) Верхний Енисей на участке от г. Кызыл до г. Шагонар (24)	Гундризер, Иванова, 1969; Саенко и др., 2005 Гундризер, Иванова, 1969
Республика Хакасия	р. Дрена (приток реки Абакан) у г. Абакан (25); озера Красное (26) и Новомихайловка (27)	Саенко и др., 2005
Красноярский край	р. Татарка (приток реки Ангара) (28); Подкаменная Тунгуска (29) р. Ирба в пос. Большая Ирба (30); оз. Красный Дар (бассейн р. Туба) (31); р. Кебеж (приток реки Оя) (32)	Westerlund, 1877 Саенко и др., 2005

Собранные створки измеряли в лаборатории с помощью штангенциркуля по следующим основным признакам: L – длина створки, l – длина от вершины макушки до переднего края створки, измеренная параллельно брюшному краю, H_{\max} – максимальная высота створки, H_u – высота створки у макушки, V – выпуклость, пересчитанная как для раковины. На основе данных характеристик рассчитывались следующие стандартные индексы: H_{\max}/L , H_u/L , V/L , V/H_{\max} , V/H_u .

Район исследования

Расположенный в с. Смоленщина карьер в русле р. Иркут образован во второй половине XX в. в ходе добычи гравия и последующего заполнения водой во время мощного разлива реки. Дно карьера песчано-илистое, местами каменистое, с обильной высшей водной растительностью. Водоем испытывает повышенную рекреационную нагрузку, т.к. на его берегу находится Центр отдыха «Лагуна» с развитой инфраструктурой.

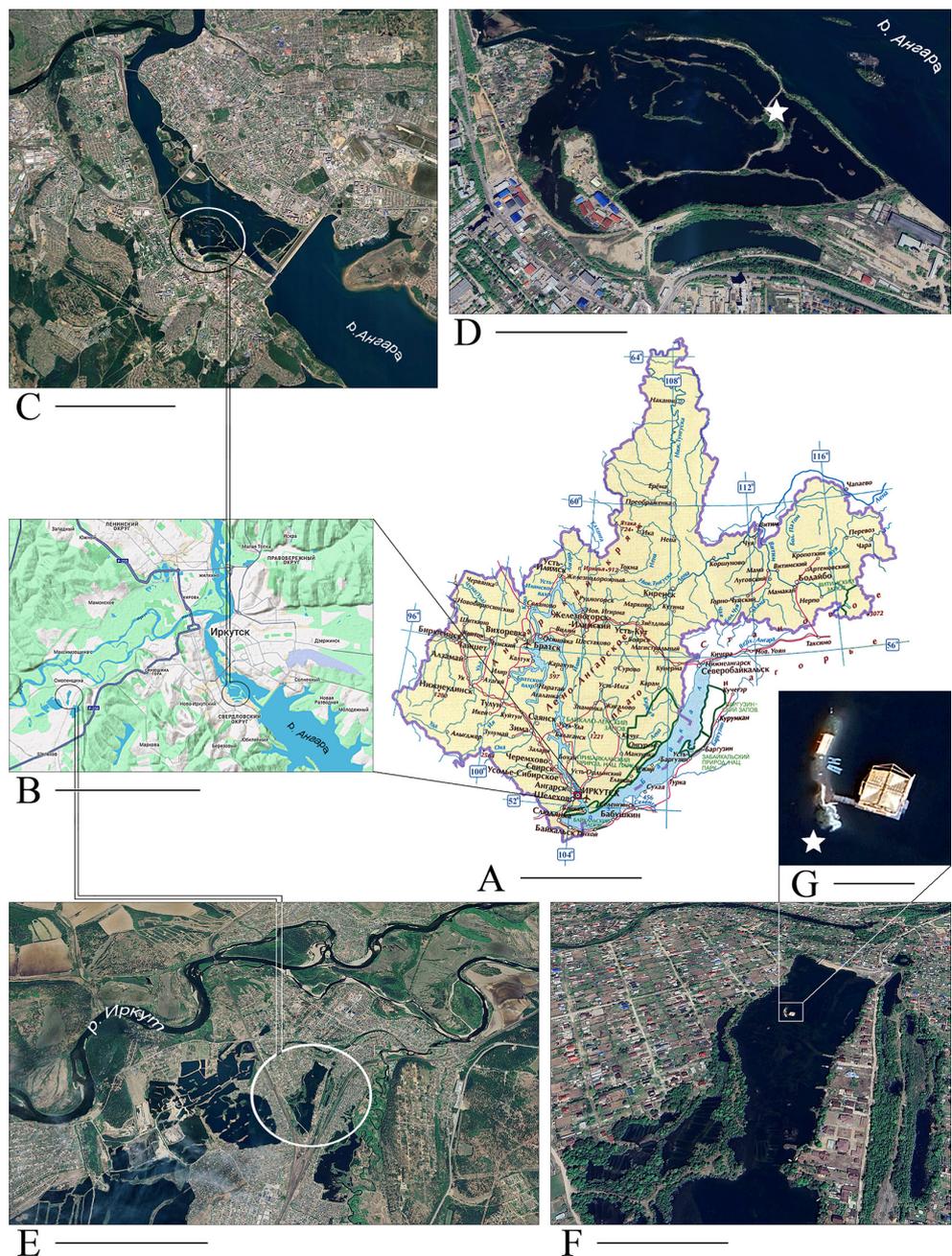


Рис. 2. Места находок раковин *Anodonta anatina* в Иркутском районе Иркутской области: карта-схема области (А); топографическая карта района с указанием мест сбора (В); спутниковые снимки Теплых озер в русле р. Ангара (С, D); спутниковые снимки карьера в русле р. Иркут (Е, F); участок Центра отдыха «Лагуна» у песчано-каменистой отмели (G). Звездочкой обозначены места, где найдены обильные танатоценозы *A. anatina*. Масштабные линейки: 300 км (А), 10 км (В), 3 км (С), 600 м (D), 2 км (Е), 200 м (F), 20 м (G)

Fig. 2. Locations of *Anodonta anatina* shells in the Irkutsk District of the Irkutsk Region: a map of the region (A); a topographic map of the district indicating collection sites (B); satellite images of the Teplye lakes in the Angara River bed (C, D); satellite images of the quarry in the Irkut River bed (E, F); the site of the Laguna Recreation Center near a sandy-rocky shoal (G). Locations with abundant *A. anatina* thanatocoenoses are marked with an asterisk. Scale bars: 300 km (A), 10 km (B), 3 km (C), 600 m (D), 2 km (E), 200 m (F), and 20 m (G)



Рис. 3. Различные биотопы с *Anodonta anatina* в карьере (А–F) и отшнурованном от него озере (G–I) русла р. Иркут: с единичными экземплярами (А–Е, G–I) и с обильным танатоценозом (F). Фотографии с сайта https://yandex.ru/maps/org/plyazh_laguna/1372024419/gallery/?ll=104.123491%2C52.247912&z=17 (А–D) и А. А. Широкой (E–I)

Fig. 3. Various habitats of *Anodonta anatina* in the quarry of the Irkut River bed: with single shells (A–E, G–I) and abundant thanatocoenosis (F). Photos from the website https://yandex.ru/maps/org/plyazh_laguna/1372024419/gallery/?ll=104.123491%2C52.247912&z=17 (A–D) and by A. A. Shirokaya (E–I)



Рис. 4. Различные биотопы с *Anodonta anatina* в Теплых озерах русла р. Ангара: с единичными экземплярами (А–С, F, H) и с обильным танатоценозом (D, E, G). Фотографии А. А. Широкой

Fig. 4. Various habitats of *Anodonta anatina* in Teplye lakes of the Angara River bed: with single shells (A–C, F, H) and abundant thanatocoenosis (D, E, G). Photos by A. A. Shirokaya

На участке Ангары у г. Иркутск преимущественно галечно-песчаные грунты с разной степенью заиливания; характерно зарастание высшей водной растительностью (мхами, рдестами) полосами на мелководье вдоль берегов и мелей.

Теплые озера – это группа речных заливов и водоемов техногенного происхождения на р. Ангара, где с начала строительства плотины Иркутской ГЭС (1950 г.) и далее, вплоть до конца 1990-х годов, велась добыча гравия. Общая площадь Теплых озер, по данным со спутниковых снимков, превышает 114 гектаров. От акватории Ангары озера отделены песчано-гравийной полосой шириной до нескольких десятков метров. Дно в озерах заиленное, толщина ила составляет несколько десятков сантиметров, с большим количеством строительного и бытового мусора. В настоящий момент Теплые озера испытывают повышенную антропогенную нагрузку.

Результаты и обсуждение

В результате проведенных исследований нами подтверждено предположение о наличии утиной беззубки в бассейне р. Иркут. Моллюски найдены в русле реки у с. Смоленщина (рис. 3) на глубинах от 10–15 см до 1,5–2,5 м среди заиленного разлагающегося листового опада или на темном иле. Самые мелкие створки были менее 5 см длиной, самые крупные достигали 10 см (табл. 2).

Подтверждено обитание утиной беззубки в бассейне р. Ангара, в Теплых озерах (рис. 4) экземпляры собраны от самого уреза воды и до 2,5 м глубины на темном иле и листовом опаде. Все найденные створки крупные, от 7 до 11,6 см длиной (табл. 2). Ранее для Ангары опубликованы данные о находках раковин утиной беззубки в черте города Иркутска (Prozorova, Bogatov, 2006), однако конкретно Теплые озера не упоминались.

Таблица 2. Морфометрические признаки (см, min–max, в скобках даны среднее значение \pm стандартное отклонение) раковин *Anodonta anatina*. Обозначения приведены в разделе Материалы и методы

Table 2. Measurements (cm, min–max, the mean \pm standard deviation given in brackets) of *Anodonta anatina* shells. Abbreviations are described in Materials and methods

Признаки	Место сбора	
	Карьер и озерцо (р. Иркут)	Теплые озера (р. Ангара)
H _{max}	2,6–5,2 (3,8 \pm 0,6)	3,8–5,5 (4,5 \pm 0,5)
H _u	2,1–4,5 (3,4 \pm 0,5)	3,1–5,2 (4,1 \pm 0,6)
L	4,6–10,1 (7,0 \pm 1,2)	6,9–11,6 (8,2 \pm 1,1)
l	1,3–2,3 (1,7 \pm 0,3)	1,2–2,8 (2,1 \pm 0,6)
B	1,6–2,6 (2,2 \pm 0,4)	2,0–3,2 (2,9 \pm 0,4)
H _{max} /L	0,50–0,65 (0,56 \pm 0,04)	0,47–0,67 (0,55 \pm 0,04)
H _u /L	0,44–0,57 (0,50 \pm 0,03)	0,45–0,54 (0,50 \pm 0,03)
B/L	0,25–0,34 (0,31 \pm 0,02)	0,27–0,38 (0,32 \pm 0,04)
B/H _{max}	0,46–0,67 (0,56 \pm 0,05)	0,50–0,75 (0,64 \pm 0,07)
B/H _u	0,52–0,76 (0,64 \pm 0,07)	0,58–0,76 (0,70 \pm 0,06)
l/L	0,18–0,29 (0,25 \pm 0,03)	0,18–0,28 (0,25 \pm 0,04)

Беззубки из Иркутта и Ангары характеризуются схожими по форме и окрасу раковинами: удлинненно-овальной формы, от желтовато- (у более молодых) до коричневатого-оливкового (у взрослых) цвета с бледно-голубым перламутром изнутри (рис. 5). Рассчитанные индексы (табл. 2) оказались схожими для обеих популяций.

Первоначально всех беззубок из водоемов Европы и Сибири относили к роду

Anodonta Lamarck, 1799, при этом количество видов *Anodonta* оставалось неясным до середины XX века (Жадин, 1933, 1952). На основании различий в размерах раковин и макушечной скульптуры, европейско-сибирские виды *Anodonta* были выделены в отдельный род *Colleopterum* Bourguignat, 1880 (Затравкин, 1983). Взгляды на валидность рода, его состав и количество видов в течение долгого времени оставались предметом дискуссий

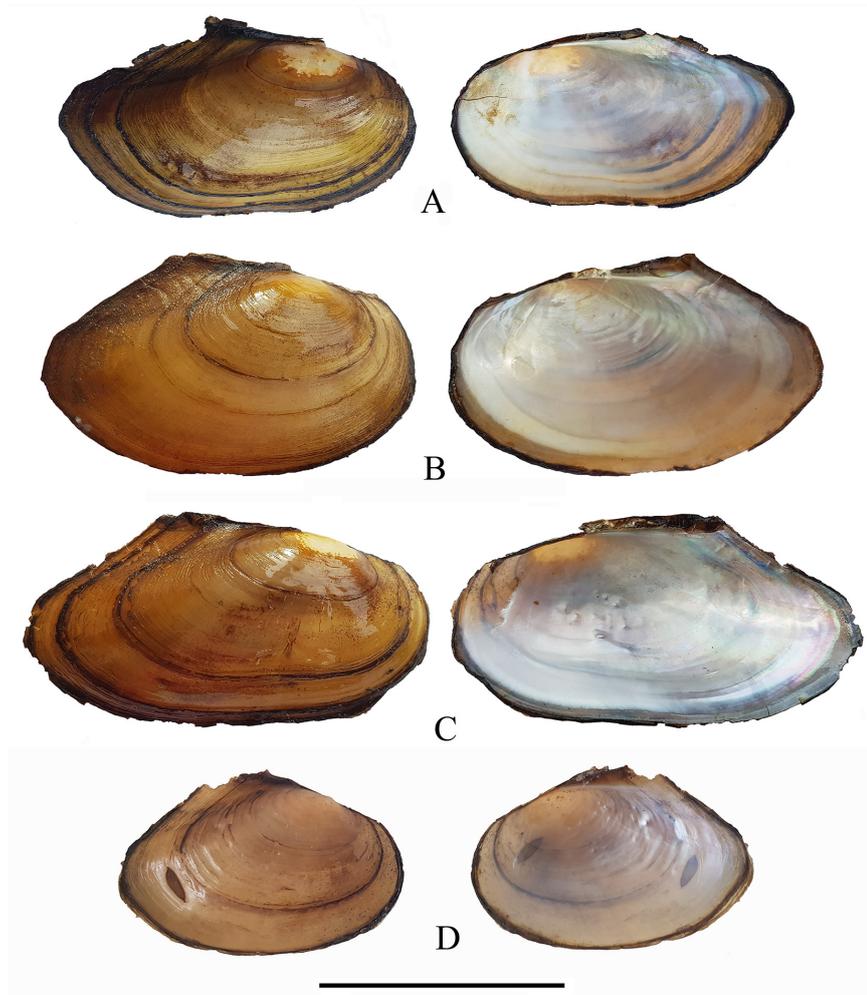


Рис. 5. Раковины *Anodonta anatina* из водоемов Иркутской области: взрослые створки из Теплых озер реки Ангара (А) и из карьера реки Иркут (В, С); молодая створка из карьера реки Иркут (D). Масштабная линейка 5 см. Фотографии выполнены Е. М. Саенко

Fig. 5. Shells of *Anodonta anatina* from the Irkutsk Region: adult valves from Teplye lakes, Angara River (A) and from the quarry, Irkut River (B, C); a young valve from the quarry, the Irkut River (D). Scale bar 5 cm. Photos by E. M. Sayenko

и ревизий (Старобогатов и др., 2004; Богатов и др., 2005; Prozorova, Bogatov, 2006; Graf, Cummings, 2007; и др.).

На основе недавних молекулярно-генетических исследований установлено, что род *Colletopterum* является младшим синонимом *Anodonta* (Bolotov et al., 2020). Было показано, что на территории России утиная беззубка встречается от западной границы страны по ее европейской части (включая Дагестан на юге), на Урале и в Сибири (включая Тыву и Хакасию на юге), где бассейн Лены является самой восточной границей ареала (Prozorova, Bogatov, 2006; Klishko et al., 2018; Bolotov et al., 2020; Tomilova et al., 2020; Саенко, Палатов, 2022; Саенко, Расщепкина, 2024). При этом морфологически – по форме, выпуклости, максимальным размерам, цвету раковины или перламутра – моллюски *A. anatina* из разных частей Евразии могут сильно отличаться (Bolotov et al., 2020; Саенко, Расщепкина, 2024). Такую изменчивость объясняют способностью вида занимать широкий спектр сред обитания, с разной скоростью течения, температурой воды и количеством растворенного кислорода (Nijs, Van Goethem, 1995; Lopes-Lima et al., 2017). Этим утиная беззубка отличается от второго обитающего в России вида анодонт – *Anodonta cygnea* (Linnaeus, 1758), который отмечен в европейской части материка в водоемах со стоячей водой (Lopes-Lima et al., 2017; Bolotov et al., 2020).

Индексы, ранее использовавшиеся для разделения видов анодонт (Старобогатов и др., 2004), такие как В/Н (отношение выпуклости раковины к ее высоте) и Н/Л (отношение высоты раковины к ее длине), оказались непригодны. Было доказано, что в процессе роста моллюсков их показатели значительно варьируют и перекрываются у особей из разных местообитаний (Klishko et al., 2018; Клишко, 2020). С ростом происходит удлине-

ние раковины, при этом хорошо выраженное у молодых особей утиной беззубки крыло снижается или полностью редуцируется, как это было показано для европейских популяций (Girgibo, 2013; Klishko et al., 2018; Клишко, 2020). Данная зависимость подтверждается и нашими промерами, когда значения индекса В/Н с ростом моллюска увеличиваются, т.е. раковина из округлой с выраженным крылом переходит в удлинненно-округлую (рис. 5, табл. 2). Такая же зависимость от длины раковины указана для индекса Н/Л у особей *A. anatina* из Забайкалья (Klishko et al., 2018).

Показатели размерных индексов раковин в ископаемых и современных популяциях *A. anatina* также широко перекрываются. Так, индекс Н/Л у плейстоценовых анодонт из Восточной Сибири (Южнобайкальская впадина Восточного Прибайкалья и террасы р. Ангара) составил 0,55–0,68, у современных популяций из Забайкалья – 0,48–0,57, у европейских популяций – 0,46–0,67 (Клишко, 2020). Наши измерения индекса Н/Л дали следующие интервалы: 0,44–0,65 для Иркутка и 0,47–0,67 для Ангары, что полностью согласуется с опубликованными ранее результатами.

Кроме изменения формы раковины по мере роста моллюска, на ее размер и форму оказывают влияние и условия обитания беззубок. Одновозрастные особи утиной беззубки из Европы имеют более удлинненную форму раковин и достигают больших размеров в водоемах со стоячей водой, т.е. при более высоких температурах и большем количестве фитопланктона, в сравнении с особями из рек с текущей водой (Zieritz, Aldridge, 2009; Girgibo, 2013). Такая же морфологическая изменчивость отмечена у моллюсков в бассейне р. Лена и в водоемах Бурятии, когда живущие в более спокойной воде особи крупнее и отличаются цветом раковины и перламутра

от обитающих в условиях быстрого течения (Bolotov et al., 2020; Саенко, Расщепкина, 2024). Собранные нами экземпляры в бассейнах Иркутта и Ангары не показывают значимых различий, т.к. популяции обитают в практически идентичных условиях: это искусственные озера и карьер со схожими грунтами и температурой воды.

Появление утиной беззубки в карьерах можно объяснить как естественными причинами (например, во время подъема воды в реках, когда происходило затопление карьеров), так и связанными с деятельностью человека, а именно – со стихийным зарыблением водоемов рыбаками (согласно устным сообщениям местных жителей, такое происходило неоднократно). Появление плотвы и окуни и в карьерах р. Иркут, и в Теплых озерах на Ангаре связывают с естественными причинами, а карася и ротана – с зарыблением рыбаками. В любом случае, скорее всего, вначале в обсуждаемых водоемах появилась рыба, а уже потом, как следствие, двустворчатые моллюски. В этом свою роль сыграл особый жизненный цикл моллюсков с паразитической личинкой, называемой глосидий, которой для метаморфоза необходимо прикрепиться к рыбе. Именно в виде личинок на рыбах беззубки могли по-

пасть в карьеры. Однако для изучения особенностей жизни утиной беззубки в бассейне р. Иркут необходимы дальнейшие исследования.

Заключение

Утиная беззубка *Anodonta anatina* (Linnaeus, 1758) среди евразийских унионид имеет самый широкий естественный ареал, охватывающий практически всю территорию материка от Пиренейского полуострова и Сирии до Арктики и Восточной Сибири. На территории России этот уникальный вид встречается от западной границы страны по ее европейской части (включая Дагестан на юге), на Урале и в Сибири (включая Тыву и Хакасию на юге), вплоть до бассейна р. Лена, который является самой восточной границей ареала. В бассейне Байкала вид впервые отмечен в русле р. Иркут, кроме того, подтверждено наличие утиной беззубки в р. Ангара. Собранные в ходе исследования в бассейнах Иркутта и Ангары моллюски не показали значимых различий в форме раковин и цвете перламутра, т.к. данные популяции утиной беззубки обитают в практически идентичных условиях: это искусственные озера и карьер со схожими грунтами и температурой воды.

Список литературы / References

- Андрианова А.В. (2023) Донная фауна и оценка экологического состояния нижнего участка р. Ангары. *Известия Иркутского государственного университета. Серия “Биология. Экология”*, 43: 39–58 [Andrianova A. V. (2023) Bottom fauna and assessment of the ecological state of the lower reaches of the Angara River. *Bulletin of Irkutsk State University. Series “Biology. Ecology”* [Izvestiya Irkutskogo gosudarstvennogo universiteta. Seriya “Biologiya. Ekologiya”], 43: 39–58 (in Russian)]
- Богатов В.В., Старобогатов Я.И., Прозорова Л.А. (2005) Моллюски рода *Colletopterum* (Anodontinae, Bivalvia) России и сопредельных территорий. *Зоологический журнал*, 84(9): 1050–1063 [Bogatov V. V., Starobogatov Ya. I., Prozorova L. A. (2005) Mollusks of the genus *Colletopterum* (Anodontinae, Bivalvia) from Russia and adjacent territories. *Zoologicheskii Zhurnal*, 84(9): 1050–1063 (in Russian)]
- Гольшикина Р.А. (1967) Моллюски (Mollusca) реки Ангары. *Известия Биолого-Географического НИИ при Иркутском госуниверситете*, 20: 65–94 [Golyshkina R. A. (1967)

Mollusks (Mollusca) of the Angara River. *Bulletin of the Biological and Geographical Research Institute at Irkutsk State University* [Izvestiya Biologo-Geograficheskogo NII pri Irkutskom gosuniversitete], 20: 65–94 (in Russian)]

Грезе В. Н. (1957) Кормовые ресурсы рыб реки Енисей и их использование. *Известия Всесоюзного научно-исследовательского института озерного и речного рыбного хозяйства*, 41: 1–236 [Greze W.N. (1957) Fish forage resources of the Yenisei River and their utilization. *Bulletin of the All-Union Research Institute of Lake and River Fisheries* [Izvestiya Vsesoyuznogo nauchno-issledovatel'skogo instituta ozernogo i rechnogo rybnogo khozyaistva], 41: 1–236 (in Russian)]

Гундризер А. Н., Иванова М. А. (1969) К изучению пресноводных моллюсков Тувы. *Вопросы малакологии Сибири*. Иоганзен Б. Г. (ред.) Томск, ТГУ, с. 65–68 [Gundrizer A. N., Ivanova M. A. (1969) To the study of freshwater mollusks of Tuva. *Questions of Malacology in Siberia*. Johansen B. G. (ed.) Tomsk, Tomsk State University, p. 65–68 (in Russian)]

Жадин В. И. (1933) *Пресноводные моллюски СССР*. Ленинград, Ленснабтехиздат, 232 с. [Shadin V. I. (1933) *Freshwater mollusks of the USSR*. Leningrad, Lensnabtekhizdat, 232 p. (in Russian)]

Жадин В. И. (1952) *Моллюски пресных и солоноватых вод СССР*. Москва, Ленинград, Издательство Академии наук СССР, 376 с. [Shadin V. I. (1952) *Mollusks of fresh and brackish waters of the USSR*. Moscow, Leningrad, Academy of Sciences of the USSR, 376 p. (in Russian)]

Затравкин М. Н. (1983) Unionoidea фауны СССР и их роль как промежуточных хозяев и элиминаторов трематод. *Моллюски. Систематика, экология и закономерности распространения. Вып. 7*. Ленинград, Наука, с. 40–44 [Zatravkin M. N. (1983) Unionoidea of the USSR fauna and their role as intermediate hosts and the eliminators of trematodes. *Mollusks: Systematics, Ecology, and Distribution Patterns. Volume 7*. Leningrad, Nauka, p. 40–44 (in Russian)]

Иоганзен Б. Г., Черемнов А. Д. (1969) К изучению пресноводных моллюсков бассейна верхнего Енисея. *Вопросы малакологии Сибири*. Иоганзен Б. Г. (ред.) Томск, ТГУ, с. 60–63 [Johansen B. G., Cheremnov A. D. (1969) To the study of freshwater mollusks of the upper Yenisey basin. *Questions of Malacology in Siberia*. Johansen B. G. (ed.) Tomsk, Tomsk State University, p. 60–63 (in Russian)]

Клишко О. К. (2001) *Зообентос озер Забайкалья. Часть I. Видовое разнообразие, распространение и структурная организация*. Улан-Удэ, Изд-во БНЦ СО РАН, 208 с. [Klishko O. K. (2001) *Zoobenthos of lakes in Transbaikalia. Part I. Species diversity, distribution and structural organization*. Ulan-Ude, Buryat Scientific Center, Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences, 208 p. (in Russian)]

Клишко О. К. (2020) Изменчивость формы раковин моллюсков (Bivalvia: Margaritiferidae, Unionidae) и их реальное видовое разнообразие. *International Independent Scientific Journal*, 22–1: 3–15 [Klishko O. (2020) Variability of shell shape of molluscs (Bivalvia: Margaritiferidae, Unionidae) and their real species diversity. *International Independent Scientific Journal*, 22–1: 3–15 (in Russian)]

Кожов М. М. (1936) Моллюски озера Байкал: Систематика, распределение, экология, некоторые данные по генезису и истории. *Труды Байкальской лимнологической станции*, 8: 1–320 [Kozhov M. M. (1936) Mollusks of Lake Baikal: Systematics, distribution, ecology and some data on genesis and history. *Proceedings of the Baikal Limnological Station* [Trudy Baikal'skoi limnologicheskoi stantsii], 8: 1–320 (in Russian)]

Прозорова Л. А., Слугина З. В. (2009) Глава 17. Двустворчатые моллюски (Bivalvia) бассейна оз. Байкал и прилегающих территорий. *Аннотированный список фауны озера Байкал и его водосборного бассейна. Т. II: Водоемы и водотоки юга Восточной Сибири и Северной Монголии, кн. 1.* Новосибирск, Наука, с. 189–201 [Prozorova L. A., Slugina Z. V. (2009) Chapter 17. Bivalved molluscs (Bivalvia) in the basin of Lake Baikal and adjacent territories. *Index of animal species inhabiting Lake Baikal and its catchment area. Vol. II: Basins and Channels in the south of East Siberia and North Mongolia. Book 1.* Novosibirsk, Nauka, p. 189–201 (in Russian)]

Рожкова Н. А., Тимошкин О. А., Сутурин А. Н., Непокрытых А. В. (2011) 1.4. Донные биоценозы реки Ангары на участке от плотины Иркутской ГЭС до устья реки Иркут. *Аннотированный список фауны озера Байкал и его водосборного бассейна. Т. II: Водоемы и водотоки юга Восточной Сибири и Северной Монголии, кн. 2.* Новосибирск, Наука, с. 1040–1044 [Rozhkova N. A., Timoshkin O. A., Suturin A. N., Nepokrytykh A. V. (2011) 1.4. Benthic biocoenoses of Angara River down from Irkutsk hydroelectric power station to Irkut River outlet. *Index of animal species inhabiting Lake Baikal and its catchment area. Vol. II: Basins and channels in the south of East Siberia and North Mongolia, Book 2.* Novosibirsk, Nauka, p. 1040–1044 (in Russian)]

Саенко Е. М. (2014) Морфология глехидиев беззубок рода *Colletopterum* (Bivalvia: Unionidae: Anodontinae) из водоемов Хакасии и Читинской области. *Бюллетень Дальневосточного малакологического общества*, 18: 79–88 [Sayenko E. M. (2014) Morphology of glochidia of the anodontine bivalves of the genus *Colletopterum* (Unionidae) inhabiting water basins of Khakasia Republic and Chitinskaya Territory. *Bulletin of the Russian Far East Malacological Society* [Byulleten' Dal'nevostochnogo malakologicheskogo obshchestva], 18: 79–88 (in Russian)]

Саенко Е. М. (2019) Особенности морфологии глехидиев беззубок рода *Colletopterum* Bourguignat, 1880 (Bivalvia, Unionidae). *Чтения памяти Владимира Яковлевича Леванидова*, 8: 139–146 [Sayenko E. M. (2019) Data on glochidia morphology of *Colletopterum* Bourguignat, 1880 (Bivalvia, Unionidae). *Vladimir Ya. Levanidov's Biennial Memorial Meetings* [Chteniya pamyati Vladimira Yakovlevicha Levanidova], 8: 139–146 (in Russian)]

Саенко Е. М., Богатов В. В., Засыпкина М. О. (2005) Беззубки (Bivalvia, Anodontinae) верхнего Енисея. *Бюллетень Дальневосточного малакологического общества*, 9: 127–136 [Sayenko E. M., Bogatov V. V., Zasypkina M. O. (2005) Anodontines (Bivalvia, Anodontinae) of the upper Enisey River. *Bulletin of the Russian Far East Malacological Society* [Byulleten' Dal'nevostochnogo malakologicheskogo obshchestva], 9: 127–136 (in Russian)]

Саенко Е. М., Палатов Д. М. (2022) Первые данные о морфологии глехидиев беззубки *Anodonta anatina* (L., 1758) (Bivalvia: Anodontinae) Дагестана. *Бюллетень Дальневосточного малакологического общества*, 26(1/2): 143–152 [Sayenko E. M., Palatov D. M. (2022) First data on glochidia morphology of the freshwater mussel *Anodonta anatina* (L., 1758) (Bivalvia: Anodontinae) from the Republic of Dagestan. *Bulletin of the Russian Far East Malacological Society* [Byulleten' Dal'nevostochnogo malakologicheskogo obshchestva], 26(1/2): 143–152 (in Russian)]

Саенко Е. М., Расщепкина А. В. (2024) Первые находки беззубки *Anodonta anatina* (Linnaeus, 1758) (Unionidae, Bivalvia) в р. Синяя – бассейн р. Лена, Саха (Якутия). *Вестник Северо-Восточного научного центра ДВО РАН*, 2: 89–94 [Sayenko E. M., Rasshchepkina A. V. (2024) First finds of the freshwater bivalve *Anodonta anatina* (Linnaeus, 1758) (Unionidae) from the Sinyaya River, Sakha Republic (Yakutia). *Bulletin of the North-East Scientific Center, Russia*

Academy of Sciences Far East Branch [Vestnik Severo-Vostochnogo nauchnogo tsentra DVO RAN], 2: 89–94 (in Russian)]

Слугина З. В., Старобогатов Я. И. (1999) *Атлас и определитель двустворчатых моллюсков озера Байкал*. Новосибирск, Научно-издательский центр ОИГГМ СО РАН, 144 с. [Slugina Z. V., Starobogotov Ya. I. (1999) *Guide and key to the Bivalvia of Lake Baikal*. Novosibirsk, Scientific Publishing Center of the UIGGM SB RAS, 144 p. (in Russian)]

Старобогатов Я. И., Прозорова Л. А., Богатов В. В., Саенко Е. М. (2004) Моллюски. *Определитель пресноводных беспозвоночных России и сопредельных территорий. Т. 6. Моллюски, Полухеты, Немертины*. Санкт-Петербург, Наука, с. 9–491 [Starobogotov Ya. I., Prozorova L. A., Bogatov V. V., Sayenko E. M. (2004) Molluscs. *Key to freshwater invertebrates of Russia and adjacent lands. Vol. 6. Molluscs, Polychaetes, Nemerteans*. Saint Petersburg, Nauka, p. 9–491 (in Russian)]

Томилова А. А., Кондаков А. В., Кисиль О. Я. (2019) Использование транскрибируемых спейсеров ITS1 и ITS2 для идентификации беззубок родов *Anodonta* и *Pseudanodonta* (Bivalvia: Unionidae: Anodontinae). *Журнал общей биологии*, 80(5): 364–371 [Tomilova A. A., Kondakov A. V., Kisil O. Ya. (2019) Usage of transcribed spacers ITS1 and ITS2 for identification of freshwater mussels of the genera *Anodonta* and *Pseudanodonta* (Bivalvia: Unionidae: Anodontinae). *Journal of General Biology* [Zhurnal obshchei biologii], 80(5): 364–371 (in Russian)]

Черемнов А. Д. (1969) Пресноводные моллюски окрестностей города Абакана. *Вопросы малакологии Сибири*. Иогансен Б. Г. (ред.) Томск, ТГУ, с. 63–65 [Cheremnov A. D. (1969) Freshwater mollusks of the Abakan city environs. *Questions of malacology in Siberia*. Johansen B. G. (ed.) Tomsk, Tomsk State University, p. 63–65 (in Russian)]

Bolotov I. N., Kondakov A. V., Konopleva E. S., Vikhrev I. V., Aksenova O. V., Aksenov A. S., Bespalaya Y. V., Borovskoy A. V., Danilov P. P., Dvoryankin G. A., Gofarov M. Y., Kabakov M. B., Klishko O. K., Kolosova Y. S., Lyubas A. A., Novoselov A. P., Palatov D. M., Savvinov G. N., Solomonov N. M., Spitsyn V. M., Sokolova S. E., Tomilova A. A., Froufe E., Bogan A. E., Lopes-Lima M., Makhrov A. A., Vinarski M. V. (2020) Integrative taxonomy, biogeography and conservation of freshwater mussels (Unionidae) in Russia. *Scientific Reports*, 10: 3072

Clessin S. (1876) Genus *Anodonta* Cuv. 2. Abtheilung. *Systematisches Conchylien-Cabinet von Martini und Chemnitz*, 9(1): 65–112

Dybowski W. (1913) Mollusken aus der Uferregion des Baikalsees. *Annuaire du Musée zoologique de l'Académie des sciences de St. Pétersbourg*, 17(1912): 123–143

Girgibo N. (2013) *Master's thesis: Morphological variation of the unionidae mussel Anodonta anatina*. University of Jyväskylä, Department of Biological and Environmental Science, 35 p.

Graf D. L., Cummings K. S. (2007) Review of the systematics and global diversity of freshwater mussel species (Bivalvia: Unionoida). *Journal of Molluscan Studies*, 73(4): 291–314

Klishko O. K., Lopes-Lima M., Bogan A. E., Matafonov D. V., Froufe E. (2018) Morphological and molecular analyses of Anodontinae species (Bivalvia, Unionidae) of Lake Baikal and Transbaikalia. *PLoS ONE*, 13(4): e0194944

Lopes-Lima M., Sousa R., Geist J., Aldridge D. C., Araujo R., Bergengren J., Bespalaya ., Bódis E., Burlakova L., Van Damme D., Douda K., Froufe E., Georgiev D., Gumpinger C., Karatayev A., Kebapçı Ü., Killeen I., Lajtner J., Larsen B. M., Lauceri R., Legakis A., Lois S., Lundberg S., Moorkens E., Motte G., Nagel K.-O., Ondina P., Outeiro A., Paunovic M., Prié V., von Proschwitz T.,

Riccardi N., Rudzīte M., Rudzītis M., Scheder C., Seddon M., Şerefişan H., Simić V., Sokolova S., Stoeckl K., Taskinen J., Teixeira A., Thielen F., Trichkova T., Varandas S., Vicentini H., Zajac K., Zajac T., Zogaris S. (2017) Conservation status of freshwater mussels in Europe: state of the art and future challenges. *Biological Reviews*, 92(1): 572–607

Middendorff A. von (1851) Mollusken. *Reise in der äussersten Norden und Osten Sibiriens während der Jahre 1843 und 1844*. S-Petersburg, Kaiserlichen Akademie der Wissenschaften, 2(1): 163–465

Mozley A. (1935) The fresh-water and terrestrial Mollusca of Northern Asia. *Transactions of the Royal Society of Edinburgh*, 58(3): 605–695

Nijs E., Van Goethem J.L. (1995) Distributional data of the Unionids in Belgium (Mollusca, Bivalvia, Unionidae). *Bulletin de l'Institut Royal des Sciences Naturelles de Belgique*, 65: 83–87

Prozorova L. A., Bogatov V. V. (2006) Large bivalve molluscs (Bivalvia, Unioniformes) of Lake Baikal. *Hydrobiologia*, 568(S): 201–205

Sayenko E. M., Bogatov V. V., Zasykina M. O. (2004) New data on anodontin bivalves from upper Enisey River basin. *Abstracts of the Conference «Mollusks of the Northeastern Asia and Northern Pacific: Biodiversity, Ecology, Biogeography and Faunal History»*. Vladivostok, Dalnauka, p. 139–141

Tomilova A. A., Lyubas A. A., Kondakov A. V., Vikhrev I. V., Gofarov M. Y., Kolosova Yu. S., Vinarski M. V., Palatov D. M., Bolotov I. N. (2020) Evidence for Plio-Pleistocene duck mussel refugia in the Azov Sea river basins. *Diversity*, 12(3): 118

Westerlund C. A. (1877) Sibiriens Land- och Sötvatten-Mollusker. *Kungliga Svenska Vetenskaps-Akademiens Handlingar*, 14(12). Stockholm, P. A. Norstedt & söner, 111 p.

Zieritz A., Aldridge D. C. (2009) Identification of ecophenotypic trends within three European freshwater mussel species (Bivalvia: Unionoida) using traditional and modern morphometric techniques. *Biological Journal of the Linnean Society*, 98(4): 814–825

EDN: XTVUDL

УДК 595.18–118(282.247.34)

**Response of the Rotifer
Philodina cf. megalotrocha (Ehrenberg, 1832)
from Water Bodies in the Mountainous Crimea
to Artificial Physical Stimuli**

**Ekaterina V. Rud^a,
Maria A. Tarasova^a, Maxim A. Savitsky^b,
Vyacheslav M. Kurchenko^c and Andrew V. Kuznetsov^{a, c, d*}**
*^aCenter of Additional Education “Small Academy of Sciences”
Sevastopol, Russian Federation
^bRussian State Agrarian University-Moscow
Timiryazev Agricultural Academy
Moscow, Russian Federation
^cSevastopol State University
Sevastopol, Russian Federation
^dA. O. Kovalevsky Institute of Biology of the Southern Seas RAS
Sevastopol, Russian Federation*

Received 26.05.2024, received in revised form 25.06.2025, accepted 26.06.2025

Abstract. A rotifer with a body size of 300 μm, having a goblet-shaped body with a funnel-like structure lined with cilia, divided into two symmetrical parts capable of generating two circular water currents, was isolated from the integrated sample collected from three freshwater bodies in the mountainous Crimea region. The rotifer has a discernible rostrum on the head and two spurs on the foot, which enable its locomotion on the substrate. The mobile mastax, stomach, and cloaca are visible. The discovered morphotype is similar to the rotifer *Philodina megalotrocha* (Ehrenberg, 1832), which is widely distributed in freshwater habitats across Europe. The isolated rotifer did not respond to artificial mechanical and electrical stimuli but instantly reacted to what was theorized to be potentially dangerous stimuli, such as the abrupt touching of its cilia with a foreign object. Additionally, the animal exhibited a negative response to violet-blue light (405 nm). The rotifer stopped moving its cilia, extended its rostrum, attempted to crawl away, and ultimately swam away from the light source. Opsin-like proteins, structurally corresponding to the opsins of other multicellular organisms, have been identified using bioinformatics analysis in rotifers with known

© Siberian Federal University. All rights reserved

This work is licensed under a Creative Commons Attribution-NonCommercial 4.0 International License (CC BY-NC 4.0).

* Corresponding author E-mail address: kuznet61@gmail.com

ORCID: 0000-0002-0015-7994 (Kuznetsov A.)

genomes, such as *Brachionus plicatilis* (Müller, 1786) and *Rotaria magnacalcarata* (Parsons, 1892). The incorporation of a retinal molecule into opsin models has been demonstrated. The data obtained in the present study suggest the context-dependent processing of external signals by organisms such as rotifers.

Keywords: rotifers, Rotifera, Rotatoria, Bdelloida, physical stimuli, opsins.

Acknowledgements. The work was carried out under projects No. 100220230513752018 and No. 100220230513834006 of the Sirius.Summer program. The authors express their gratitude to the management of the Institute of Biology of the Southern Seas RAS and the “Small Academy of Sciences” for the opportunity to study and conduct experiments in the Altair Bionics Laboratory. The authors are grateful to Vladimir Andreevich Grintsov, Nelli Grigoryevna Sergeeva, and Mikhail Sheinman for critical reading of the manuscript and to anonymous reviewers for their valuable comments.

Citation: Rud' E.V., Tarasova M. A., Savitsky M. A., Kurchenko V. M., Kuznetsov A. V. Response of the rotifer *Philodina cf. megalotrocha* (Ehrenberg, 1832) from water bodies in the mountainous Crimea to artificial physical stimuli. J. Sib. Fed. Univ. Biol., 2025, 18(2), 190–205. EDN: XTVUDL



Реакция коловратки *Philodina cf. megalotrocha* (Ehrenberg, 1832) из водоёмов горного Крыма на искусственные физические воздействия

Е. В. Рудь^а, М. А. Тарасова^а, М. А. Савицкий^б,
В. М. Курченко^в, А. В. Кузнецов^{а, в, г}

^аЦентр дополнительного образования «Малая академия наук»
Российская Федерация, Севастополь

^бРоссийский государственный аграрный университет –
МСХА имени К. А. Тимирязева
Российская Федерация, Москва

^вСевастопольский государственный университет
Российская Федерация, Севастополь

^гИнститут биологии южных морей им. А. О. Ковалевского РАН
Российская Федерация, Севастополь

Аннотация. Из интегральной пробы, отобранной в трех пресноводных водоёмах горного Крыма, выделена коловратка размером 300 мкм с формой тела в виде бокала и воронкой с ресничками, разделённой на 2 симметричные части, которые способны создавать 2 кольцевых тока воды. У обнаруженной коловратки различимы хоботок на головном отделе и 2 шпоры на ноге с помощью которых она способна передвигаться по субстрату. Видны подвижный *мастакс*, желудок и клоака. Обнаруженный морфотип схож с коловраткой *Philodina megalotrocha* (Ehrenberg, 1832), которая широко распространена в пресных биотопах Европы. Выделенная коловратка не реагировала на искусственные механические и электрические воздействия, но мгновенно откликнулась на условно

опасные раздражители, например, резкое касание ресничек посторонним предметом. Кроме того, у животного отмечена негативная реакция на фиолетово-синий свет (405 нм). Коловратка перестаёт бить ресничками, вытягивает хоботок, пытается отползти в сторону и в итоге отплывает от источника света. У коловраток с известным геномом *Brachionus plicatilis* (Müller, 1786) и *Rotaria magnacalcarata* (Parsons, 1892) методами биоинформатики найдены опсин-подобные белки, соответствующие по структуре опсином других многоклеточных организмов. Показано встраивание молекулы ретиналя внутрь моделей опсинов. Полученные данные указывают на сложную и контекстно-зависимую обработку внешних сигналов такими организмами, как коловратки.

Ключевые слова: коловратки, Rotifera, Rotatoria, Bdelloida, физические раздражители, опсины.

Благодарности. Работа выполнена по проектам № 100220230513752018 и № 100220230513834006 программы Сириус.Лето. Авторы выражают признательность руководству ИнБИОМ и МАН за предоставленную возможность учиться и проводить опыты в лаборатории Бионики «Альтаир», Владимиру Андреевичу Гринцову, Нелли Григорьевне Сергеевой и Михаилу Шейнману за критическое прочтение рукописи, анонимным рецензентам за ценные замечания.

Цитирование: Рудь Е. В. Реакция коловратки *Philodina cf. megalotrocha* (Ehrenberg, 1832) из водоёмов горного Крыма на искусственные физические воздействия / Е. В. Рудь, М. А. Тарасова, М. А. Савицкий, В. М. Курченко, А. В. Кузнецов // Журн. Сиб. федер. ун-та. Биология, 2025. 18(2). С. 190–205. EDN: XTVUDL

Введение

Экологическая обстановка в Крыму ухудшалась на протяжении XX века, причиной тому был быстрый рост населения. Теперь немногочисленные девственные формы ландшафта занимают лишь горную часть полуострова. Такие микроскопические организмы, как коловратки, являются важными представителями в экосистеме пресноводных водоёмов и выполняют ряд функций, как фильтрация воды и разложение органических веществ, что помогает поддерживать экологическую устойчивость, а также биологическое богатство и биоразнообразие (Donner, 1965). Кроме того, они служат пищей для многих других организмов, в том числе пресноводных животных и рыб (Кутикова, 1970, 2005). Они являются важным объектом исследований для биологов и экологов, так как их присутствие может служить показателями

качества воды и состояния экосистемы (Li et al., 2020). Коловратки были первыми «животными», описанными Антони ван Левенгуком в XVII веке, и с тех пор они стали предметом многих исследований, в результате которых описано более 2000 видов (Rick, 2015). Во временных водоёмах Крымской Яйлы обнаружено 18 видов коловраток (Воронков, 1912). Изучение поведения коловраток, адаптаций и взаимодействий с окружающей средой может помочь более глубокому пониманию биологических процессов (Ricci, Boschetti, 2003).

Цель нашего исследования – выделить микроскопических животных для простых лабораторных экспериментов и изучить их реакции на физические воздействия для лучшего понимания экологии Крымского полуострова. Решались следующие задачи: 1) отобрать микроскопических животных, обитающих в озё-

рах горного Крыма; 2) наладить содержание этих организмов в лаборатории; 3) провести эксперименты по влиянию света лазеров, звука и электрических импульсов на коловратку, найденную в пробах; 4) воссоздать пространственную архитектуру опсинов методом гомологического моделирования 3D-структуры белков из видов коловраток *Brachionus plicatilis* (Müller, 1786) и *Rotaria magnacalcarata* (Parsons, 1892), геномы которых секвенированы.

Материалы и методы

В середине лета 2023 г. из трёх пресных водоёмов горного Крыма, таких как 1) пруд на «Тороповой даче» (N44.510632, E33.680140; высота над уровнем моря 97 м), 2) пожарный водоём по пути от с. Орлиное к Яйле

(N44.418035, E33.802823) и 3) источник со стоячей водой возле перевала «Чёртова лестница» (N44.421067, E33.858129; высота – 578 м), были отобраны по 50 мл с поверхности воды возле берега, намеренно включая остатки растительности (листочки и веточки). Пробы были доставлены в лабораторию и помещены в чистый аквариум с кипячёной водой. Эксперимент проходил при комнатной температуре и умеренном освещении (рис. 1). Через 4 месяца стабилизации с поверхности сформировавшейся водной экосистемы аккуратно снимали образовавшуюся плёнку с остатками мелкой растительности, а также искусственными плавающими субстратами. Материал исследовали под световым микроскопом Микромед МС-4 Zoom LED и фотографировали в оптике Но-

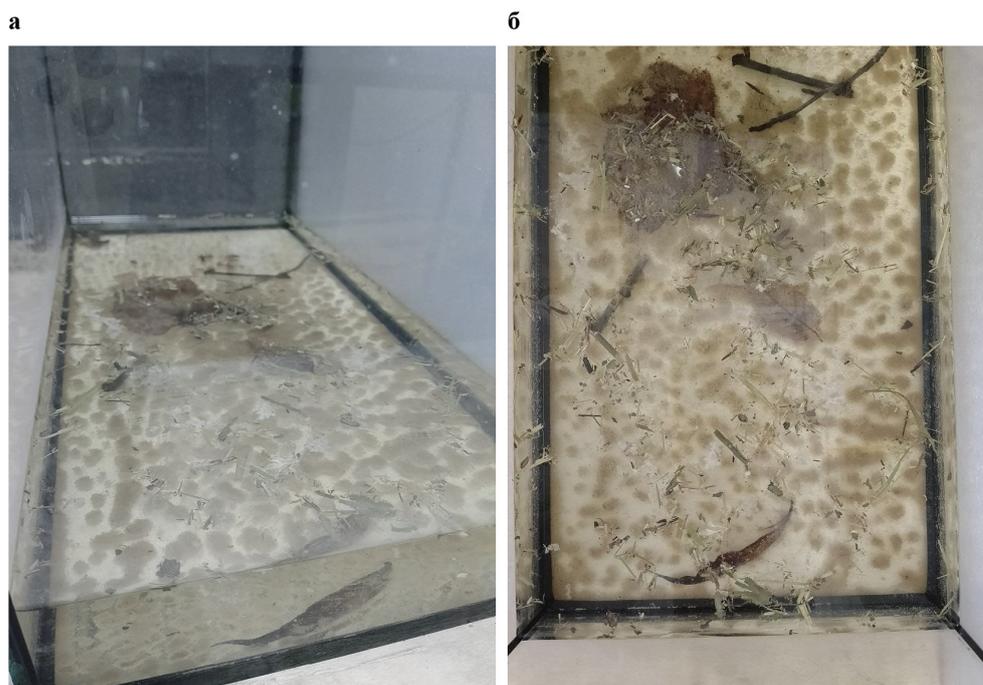


Рис. 1. Аквариум для содержания коловраток: вид сбоку (а), вид сверху (б). Стекланный аквариум размером 29x19x26 см с объёмом воды ≈ 3 л и температурой 22–24 °С. Видны остатки растительности и колонии на дне

Fig. 1. Aquarium for keeping rotifers: side view (a) and top view (b). Glass aquarium measuring 29x19x26 cm with a water volume of ≈ 3 L and a temperature of 22–24 °C. Remains of vegetation and colonies on the bottom are visible

марского микроскопа Nikon Eclipse Ts2R. Проводили описание живых объектов.

Помимо этого, мы изучали отклики коловраток, выделенных из природных источников, на внешние физические стимулы. Проверяли 1) монохроматические источники света, 2) механические воздействия с использованием программируемого пьезоэлемента или лёгкого прикосновения к животному, а также 3) постоянный и импульсный электрический ток. Опыты проводили сериями с параллельным применением света, звука или электричества в течение 4 месяцев, используя негативные контроли без воздействий. Было осуществлено

не менее 6 серий экспериментов, в которых использовали несколько сот животных с устойчивым морфотипом (рис. 2) из аквариума (см. рис. 1). Методики и аппаратура подробно описаны в предыдущих работах (Кузнецов и др., 2020, 2023; Хавронюк и др., 2021; Гринцов и др., 2022; Сергеева и др., 2022; Silakov et al., 2023).

С целью интерпретации полученных экспериментальных данных по воздействию лазеров методами биоинформатики проведён поиск белков, которые, возможно, вовлечены в ответы на изучаемые световые стимулы. Поскольку геном выделенной нами коловрат-

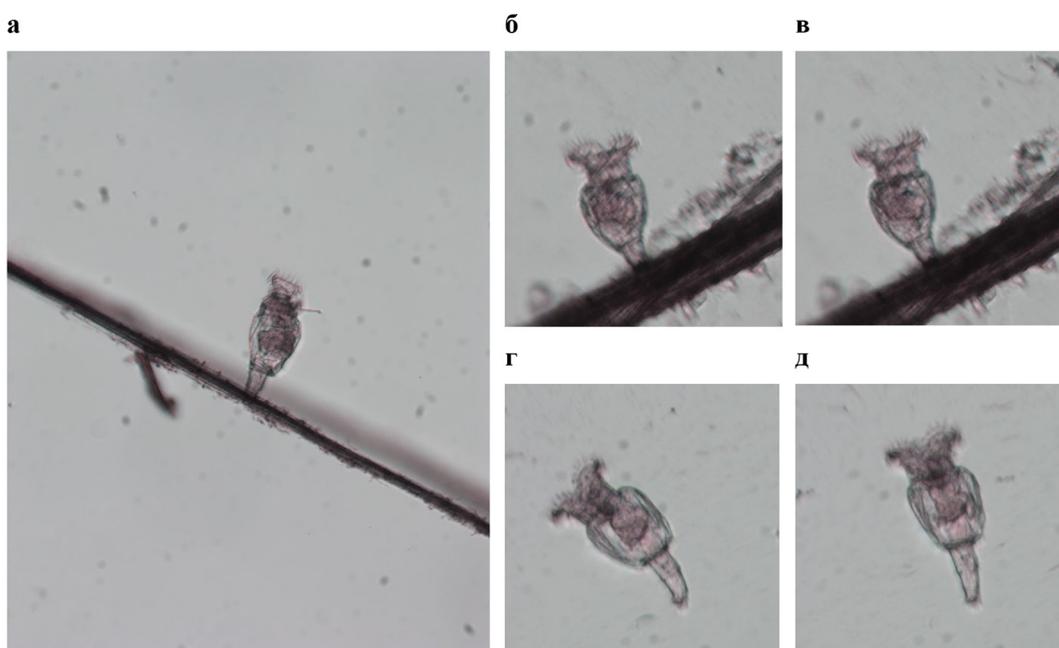


Рис. 2. Дифференциальная интерференционно-контрастная микроскопия (DIC) культивируемых коловраток – обитателей водоемов горного Крыма, сидящих на естественном субстрате при увеличении 100 (а) и 200 раз (б, в) или на предметном стекле при увеличении 200 раз (г, д). Хорошо различим хоботок (а), двойная корона из ресничек (б, в) и наклоны тела (г, д), а также тёмный *мастакс* и желудок с пищей (б-д). Животные визуально идентичны *Philodina megalotrocha* из онлайн-каталога Michael Plewka «Life in Water» (<https://www.plingfactory.de/Science/Atlas/KennkartenTiere/Rotifers/01RotEng/source/Philodina%20megalotrocha.html>)

Fig. 2. Differential interference contrast microscopy (DIC) of cultured rotifers – inhabitants of water bodies of the mountainous Crimea, sitting on a natural substrate, at a magnification of 100 (a) and 200 times (б, в) or on a glass slide, at a magnification of 200 times (г, д). The proboscis (а), double crown of cilia (б, в), and body inclinations (г, д), as well as the dark *mastax* and stomach with food (б-д) are clearly visible. The animals are visually identical to *Philodina megalotrocha* from the online catalog by Michael Plewka «Life in Water» (<https://www.plingfactory.de/Science/Atlas/KennkartenTiere/Rotifers/01RotEng/source/Philodina%20megalotrocha.html>)

ки не отсекается, были использованы геномные последовательности коловраток *Brachionus plicatilis* подкласс Monogononta (NCBI: taxid10195) и *Rotaria magnacalcarata* подкласс Bdelloidea (NCBI: taxid392030). Применяли комплексный биоинформационный анализ, как описано в ранних статьях (Хавронюк и др., 2021; Сергеева и др., 2022; Кузнецов, Втюрина, 2023; Kuznetsov et al., 2023).

Результаты

Морфология и поведение животных

Среди 10 неопределённых видов животных, как циклопы, черви, коловратки и инфузории (Догель, 1981), населяющих аквариум, обнаружены коловратки, достигающие в длину 300 мкм. Эти коловратки живут поодиночке или формируют группы на поверхности плавающих предметов: тоненьких веточках, остатках растительности, мелких опилках, добавляемых кусочках текстиля. Обнаруженные и стабильно наблюдаемые в аквариуме коловратки (рис. 2) схожи по морфологическим признакам с *Philodina megalotrocha* (Ehrenberg, 1832), подкласс Bdelloidea из класса Eurotatoria (Donner, 1965; Fontaneto, Ricci, 2004; Кутикова, 2005). Мешковидное тело коловратки покрыто эластичной кутикулой и имеет форму угловатой амфоры, вазы или бокала с ножкой и коловращательным аппаратом, напоминающим воронку, которая окружена рядом длинных синхронно работающих ресничек, способных создавать 1 или 2 циркулярных тока воды (см. видео в Приложении). Воронка не является сплошной, а имеет вырез с одной стороны. Из-за чего создаётся впечатление, что коловратка обладает двумя венчиками ресничек, когда края сворачиваются соответствующим образом. Через данный вырез вытягивается хоботок, используемый для временного прикрепления коловратки к поверхности при ползании по субстрату. Тело покоится на при-

земистой ножке с двумя короткими коническими шпорами, которые формируют орган прикрепления организма к субстрату. Обычно длина ножки составляет половину длины туловища, но может слегка вытягиваться или сокращаться, а также изгибаться и наклонять тело в ту или иную сторону. Потоки воды доставляют мелкие частицы в ротовую полость, часть из которых отправляется в глотку. Внутри животного различимы аппарат для перетирания пищи – *мастакс*, желудок и клоака. Коловратка, выделенная из водоемов горного Крыма, способна медленно передвигаться по поверхности субстрата, изгибаясь и попеременно используя прикрепительный аппарат в основании ножки или хоботок на головном отделе. Такой способ передвижения позволяет животному исследовать поверхность субстрата и в конечном итоге выбрать подходящее место для прикрепления и питания. Кроме того, коловратка может покинуть поверхность и способна плыть в любом направлении с открытой или закрытой воронкой. Свободное плавание позволяет животному перемещаться от одного предмета к другому.

Вкратце у обнаруженной коловратки коловращательный аппарат шире головы, между ресничками расположено длинное щупальце (рострум), с помощью которого и ноги с 2 коническими, короткими, бесцветными шпорами коловратка способна «шагать» по субстрату. Такое поведение организма свидетельствует о его достаточно высокой организации и позволяет использовать его в лабораторных тестах.

Экспериментальные воздействия на коловраток

Результаты экспериментов, проведённых с октября 2023 г. по январь 2024 г. в лаборатории Бионики «Альтаир», представлены в табл. 1.

Таблица 1. Эксперименты на пресноводных коловратках из водоемов горного Крыма

Table 1. Experiments with freshwater rotifers from water bodies of the mountainous Crimea

Тип воздействия	Варианты и характеристики	Результат воздействия
световое	красный лазер: 650 нм, 1 Вт, до 5 мин	отсутствует
	зелёный лазер: 532 нм, 1 Вт, до 5 мин	отсутствует
	синий лазер: 405 нм, 1 Вт, 50 Вт, до 5 мин	сжимается, уплывает
механическое	пьезоэлемент: 0–30 кГц, до 20–30 мин	отсутствует
	прикосновение, до 30 с	сжимается, уплывает
электрическое	постоянный ток: 1,5 В, 200 мА, до 15 мин	отсутствует
	импульсы: 50 мВ, 35 мс, до 15 мин	отсутствует

Примечание: реакции индивидуальных животных в ответ на воздействия наблюдали под микроскопом

Световые воздействия. Коловратка из водоёмов горного Крыма не реагировала на красный (650 нм) и зелёный (532 нм) лазеры мощностью 1 Вт, но сжималась, втягивала реснички, наклонялась в сторону от узкого источника фиолетово-синего света (405 нм, 1 Вт) и в конечном итоге уплывала в сторону (табл. 1). Другими словами, нами описана реакция избегания коловраткой света фиолетово-синего лазера: коловратка перестаёт бить ресничками, вытягивает хоботок, пытается отползти в сторону, в итоге уплывает и долго не может найти себе подходящее место. Напротив, животное не реагирует на красный и зелёный монохроматический свет.

Механические воздействия. В других опытах каплю с коловратками помещали на предметное стекло с прикреплённым к его поверхности пьезоэлектрическим диском с резонансной частотой $4,6 \pm 0,5$ кГц и максимальным резонансным сопротивлением 300 Ом, у которого диаметр латунной пластины составлял 27 мм, диаметр пьезоэлемента – 20 мм, а толщина пластины – 0,54 мм. Пьезокристалл генерировал цуги звуковых волн длительностью по 10 мс в диапазоне от 0 до 30 кГц с шагом 1 Гц в бесконечном цикле с чередующимися инкрементом и декрементом под управлением аппаратной платформы Arduino Nano. Оказалось, что коловратки

не реагируют на такие искусственные воздействия (табл. 1). Коловратки не отвечали и на фиксированные частоты 1; 10; 28,57; 100 и 1000 Гц, подаваемые постоянно или случайным образом.

Напротив, коловратки активно отвечали на неаккуратное прикосновение иглами из разного материала, как пластик, дерево или металл, к поверхности капли воды или непосредственно к телу животного. Они сжимались, втягивали реснички и уплывали (табл. 1, 2). В случае аккуратного и очень медленного подвода иглы к коловратке животное не обращало внимания на посторонний предмет, даже когда он касался её тела.

Электрические воздействия. Коловратки не реагировали на электроды, образующие гальванопару, на постоянный электрический ток от пальчиковой батарейки АА (1,5 В, 200 мА), а также на П-образные импульсы с напряжением 50 мВ, длительностью 35 мс и скважностью 50 %, подаваемые с микроконтроллера Atmel ATmega328P, расположенного на плате Arduino Nano v3.0 (табл. 1).

Возможные молекулярные сенсоры световых сигналов изучаемой коловратки

У *B. plicatilis* методами биоинформатики проведён поиск белков, которые, возможно, вовлечены в ответы на изучаемые световые сти-

Таблица 2. Ответы коловраток на механические раздражения, похожие на естественные возмущения

Table 2. Rotifer responses to mechanical stimuli similar to natural disturbances

Раздражитель	Материал		
	пластик	дерево	металл
удар по поверхности воды	+	+	+
прикосновение к ресничкам	+	+	+
лёгкий удар по телу	+	+	+

мулы. Используя программу BLAST со стандартным значением параметров (Altschul et al., 1990), найдено 2 аннотированных протеина: палочковый опсин RNA30611.1 и меланопсин RNA30626.1, которые могут принимать участие в световой реакции коловраток. Пространственная реконструкция показала, что эти бел-

ки имеют типичную для опсинов структуру из 7 трансмембранных α -спиралей (рис. 3).

Кроме того, у другой известной коловратки *R. magnacalcarata* найдено 12 подобных родопсину GPCR трансмембранных протеинов, соответствующих стандартным статистическим критериям ($E_{\text{val}} < e^{-24}$). На рис. 4 приведе-

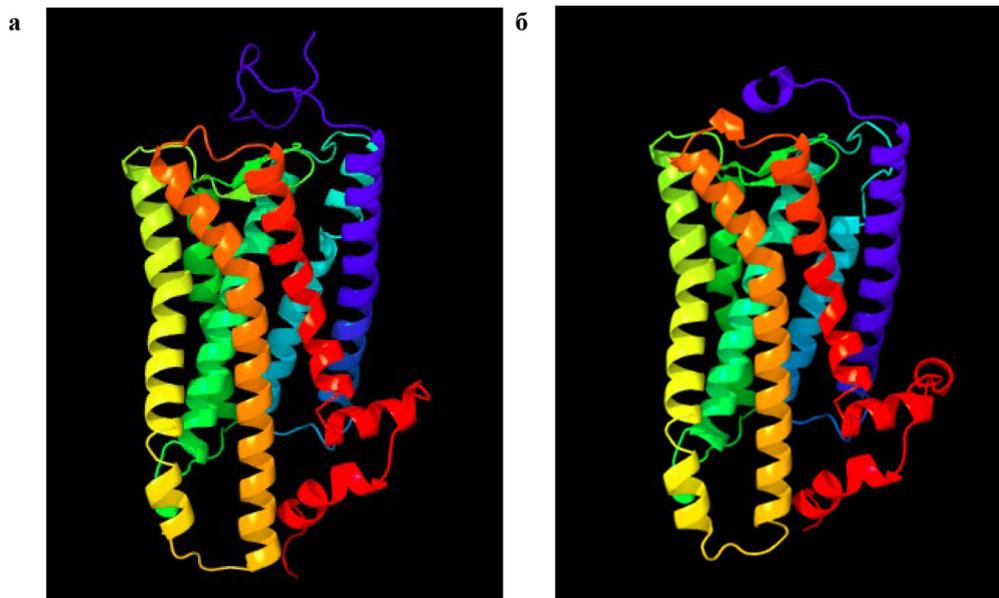


Рис. 3. 3D-модели опсинов *Brachionus plicatilis*: а) палочковый опсин RNA30611.1, б) меланопсин RNA30626.1. Пространственные модели белков созданы на Phyre2-сервере с помощью сравнения гомологичных аминокислотных последовательностей с известными пространственными структурами полипептидов (Kelley et al., 2015), визуализация выполнена с помощью программы UCSF Chimera (Pettersen et al., 2004), спектральные цвета изменяются от синего (N-конец) к красному (C-конец) по ходу полипептидной цепи

Fig. 3. 3D models of *Brachionus plicatilis* opsins: а) rod opsin RNA30611.1, б) melanopsin RNA30626.1. Spatial models of proteins were created using the Phyre2 server by comparing homologous amino acid sequences with known spatial structures of polypeptides (Kelley et al., 2015); visualization was performed using the UCSF Chimera program (Pettersen et al., 2004); spectral colors change from blue (N-terminus) to red (C-terminus) along the polypeptide chain

ны результаты множественного выравнивания этих 12 опсин-подобных белков. Длина аминокислотной последовательности изучаемых белков *R. magnacalcarata* незначительно варьирует от 322 до 370 ао, причём все полипептиды имеют идентичный N-конец, тогда как существуют 3 вариации на C-конце и 2 вариации в средней части полипептида. Таким образом, опсин-подобные белки *R. magnacalcarata* демонстрируют очень высокую гомологию на N-концевом участке вплоть до позиции 143, в середине полипептида на позициях 179–182 и 220–340 ао, но отличаются на C-концевом участке и имеют несколько делеций вокруг области 179–182 ао (рис. 4).

Построены 3D-модели 5 из этих белков (рис. 5). Все они имеют по 7 α -спиралей, которые формируют динамическую внутреннюю полость и могут пронизывать плазматическую мембрану. Чтобы корректно ответить на во-

прос, являются ли аннотируемые белки описаны, было исследовано их взаимодействие с кофактором – хромофором ретиналем, т.е. проведён докинг низкомолекулярного лиганда и макромолекулы. Показано, что молекула ретиналя встраивается в центральную часть внутренней полости белков CAF4003680.1, CAF2034451.1, CAF2099745.1, предположительно в ретиналь-связывающий участок (рис. 6), тем самым указывая на возможную фоточувствительную природу этих протеинов.

Стерические и энергетические характеристики реакции связывания приведены в табл. 3. Наибольшая по модулю свободная энергия Гиббса ΔG , равная 8,22 ккал/моль, найдена у родопсин-подобного белка CAF4003680.1.

Тем не менее мы не нашли типичные механочувствительные TRP-каналы (Transient Receptor Potential) у *B. plicatilis*

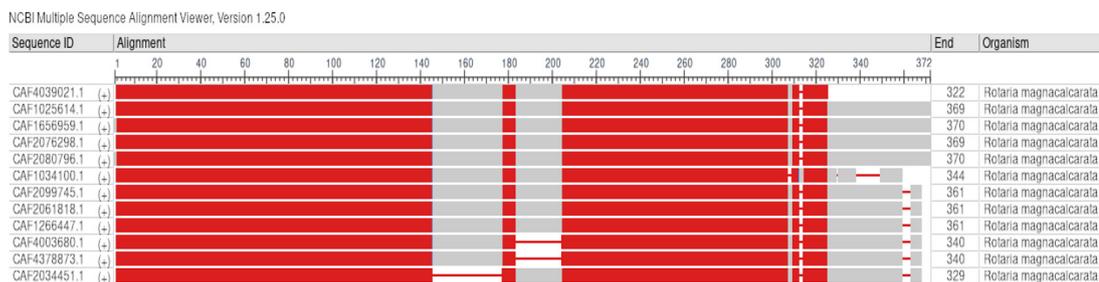


Рис. 4. Множественное выравнивание опсин-подобных белков *Rotaria magnacalcarata*, выполненное с помощью программы COBALT (Papadopoulos, Agarwala, 2007)

Fig. 4. Multiple alignment of opsin-like proteins from *Rotaria magnacalcarata* performed using the COBALT program (Papadopoulos, Agarwala, 2007)



CAF1025614.1 CAF2034451.1 CAF2099745.1 CAF4003680.1 CAF4039021.1

Рис. 5. 3D-модели опсин-подобных белков *Rotaria magnacalcarata* (построены как на рис. 3)

Fig. 5. 3D models of opsin-like proteins of *Rotaria magnacalcarata* (constructed as in Fig. 3)

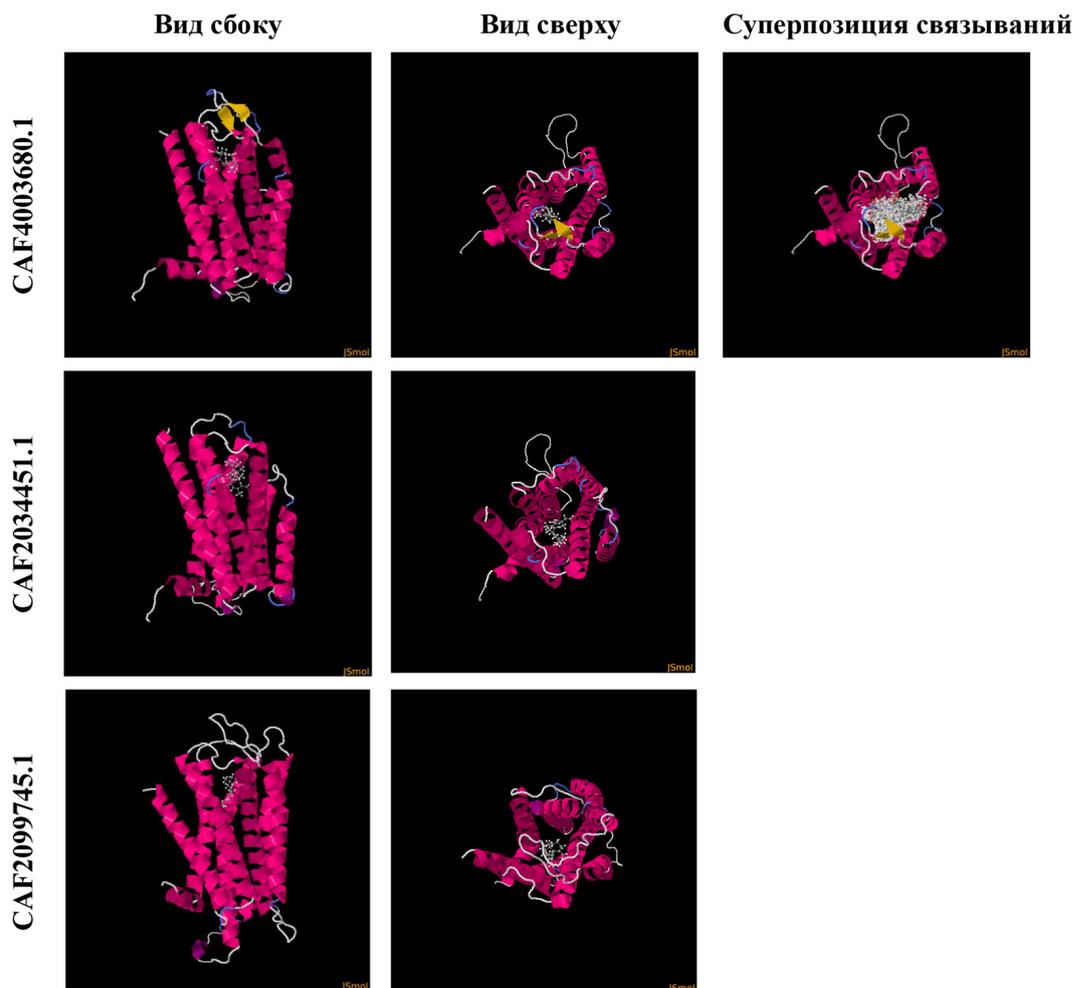


Рис. 6. Докинг ретиналя с опсин-подобными белками коловоротки *Rotaria magnacalcarata*, осуществлённый на сервере SwissDock (Bitencourt-Ferreira, de Azevedo, 2019): α -спирали изображены малиновым цветом, β -слои – жёлтым, молекула ретиналя и их суперпозиция – белым

Fig. 6. Docking of retinal with opsin-like proteins from the rotifer *Rotaria magnacalcarata*, performed using the SwissDock server (Bitencourt-Ferreira, de Azevedo, 2019): α -helices are shown in magenta, β -sheets in yellow, the retinal molecule and their superposition in white

Таблица 3. Энергетические характеристики связывания ретиналя с родопсин-подобными протеинами *Rotaria magnacalcarata*, результаты получены с сервера SwissDock (Bitencourt-Ferreira, de Azevedo, 2019)

Table 3. Energy characteristics of retinal binding to rhodopsin-like proteins of *Rotaria magnacalcarata*; results obtained from SwissDock server (Bitencourt-Ferreira, de Azevedo, 2019)

Идентификатор	Положение		Расчётное ΔG , ккал/моль
	кластер	элемент	
CAF4003680.1	5	1	-8,22
CAF2034451.1	6	3	-7,79
CAF2099745.1	5	1	-7,62

и *R. magnacalcarata*, но обнаружили аннотированный Piezo-протеин RNA19458.1 у *B. plicatilis*, а также неаннотированный белок CAF1000900.1 и ещё 14 других Piezo-протеинов у *R. magnacalcarata* (данные не представлены).

Таким образом, в результате анализа геномных последовательностей коловраток *B. plicatilis* и *R. magnacalcarata* обнаружен ряд опсин-подобных белков, гомологи которых могут быть задействованы в реализации светочувствительности коловратки, обитающей в горных озерах Крыма, определенной нами как *P. megalotrocha*.

Обсуждение результатов

Исследования нервной системы коловраток начались в XVIII веке с помощью классических гистологических методов, которые выявили постоянное число клеток в их мозге, топографию расположения и морфологию рецепторов. С появлением в XX веке электронной микроскопии, конфокальной лазерной сканирующей микроскопии и нейрофармакологических методов проявились данные о деталях нервной системы коловраток. Оказалось, что их головной мозг состоит из соматической коры без глиальных клеток, окружающей фиброзный нейропиль. Соматические части головного мозга отличаются по содержанию катехоламинов, серотонина и нейропептидов. Церебральный нейропиль и нейриты, иннервирующие нервные шнуры, мастакс и сенсорные рецепторы, также используют различные нейромедиаторы. Сенсорные рецепторы включают предполагаемые хемо-, механо- и фоточувствительные органы, которые участвуют в передвижении, питании и размножении (Rick, 2015). Отмечено многообразие реактивности коловраток на внешние раздражения (Зенкевич, 1968). Свет играет решающую роль во многих аспектах биологии коловраток. Например, некоторые виды

коловраток способны к фототаксису, который зависит от длины волны и интенсивности света. При определённом освещении коловратки непрерывно плавают, не прикрепляясь к субстрату (Kim et al., 2018). Представляло интерес связать физиологические наблюдения с молекулярными данными, полученными на основе сиквенсов из открытых источников.

Отметим, что в пресноводных водоёмах Крыма обитает множество мелких организмов (Яковенко, 2003; Довгаль, Петрова, 2023). В настоящей работе из горных озёр Крыма была выделена коловратка, не имеющая окраски и по форме напоминающая бокал. Она способна передвигаться по субстрату с помощью пальцевидных выростов на ноге и телескопического отростка на головном отделе. Такой способ передвижения характерен для многих представителей бделлоидных и был также замечен у другого организма меньшего размера, который не стал объектом нашего исследования. Данная коловратка приводится в определителе Л. А. Кутиковой на рис. 222 (Кутикова, 2005), но не упоминается в работах (Яковенко, 2001, 2003). Одна из сложных задач заключается в проверке количества пальцев, поскольку они обычно втянуты в стопу. Более того, пальцы и шпоры не являются гомологичными структурами у бделлоидных и моногонотов. Найденная коловратка морфологически соответствует образцу из онлайн-каталога изображений Michael Plewka «Life in Water» (<https://www.plingfactory.de/Science/Atlas/KennkartenTiere/Rotifers/01RotEng/source/Philodina%20megalotrocha.html>), определение бделлоидных коловраток в котором базируется на определителе (Donner, 1965). К отличительным признакам рода *Philodina* у исследуемого организма можно отнести широкое туловище, короткую ногу, тонкие и гладкие покровы, корону шире головы, широкую верхнюю губу, разделённую на две части. Главный

видовой признак – вазообразное туловище, резко обособленное от узкой бедренной части. Диски короны у этой коловратки без папилл и ресничек. Длина тела 300 мкм также очень характерна для вида *P. megalotrocha*, хотя внутри данного вида встречаются различия в соотношении длины ноги и туловища, в форме и ширине туловища, в чём можно убедиться, изучив изображения на электронном ресурсе iNaturalist (<https://www.inaturalist.org>).

Показательно, что идентифицированные коловратки не реагируют на большинство искусственных раздражителей световой, механической и электрической природы, однако очень чувствительны к сигналам, напоминающим естественные источники опасности, как, например, лёгкий удар по поверхности воды или неловкое прикосновение к ресничкам. Неожиданной была и реакция коловраток из горных озер Крыма на синий лазер (табл. 1). В отличие от облучения монохроматическим красным и зелёным светом, при использовании фиолетово-синего источника малой мощности (1 Вт) исследуемая коловратка втягивала реснички, закрывала воронку и сжималась. При дальнейшем облучении животное активировалось и начинало ползать с помощью хоботка и ножки по субстрату, а при использовании более мощного лазера (50 Вт) или дальнейшей световой экспозиции, откреплялось от субстрата и уплывало от источника света. Облучённые коловратки активно плавали в течение нескольких десятков минут, не находя себе места, что согласуется с (Kim et al., 2018). Лишь по прошествии длительного времени коловратки успокаивались, оседали на привычный субстрат, открывали воронку и начинали подгонять ресничками воду к ротовому отверстию. Может быть, обнаруженная в лабораторных условиях реакция коловратки из озер горного Крыма на фиолетово-синий свет моделирует естественное поведение животных под

падающими лучами южного солнца в горах? Возможно также, что боязнь сине-фиолетового света есть следствие избегания ультрафиолета, свойственного многим водным животным (Мамонтов и др., 2021; Хавронюк и др., 2021; Гринцов и др., 2022).

У большинства коловраток в области надглоточного ганглия имеются 1 или 2 *фоторецептора (глаза)* (Догель, 1981), а свет влияет на физиологию этих животных (Sawada, Enesco, 1984; Yoshimatsu, 2013). Последовательность ДНК генома выделенной коловратки не известна, поэтому мы пользовались общедоступными данными по геному *B. plicatilis* и *R. magnacalcarata* (Schoch et al., 2020), предполагая определённое родство между изучаемыми организмами. Отметим, что *P. megalotrocha* и *R. magnacalcarata* принадлежат к одному семейству Philodinidae, тогда как *B. plicatilis* и *R. magnacalcarata* относятся к разным подклассам Monogononta и Bdelloidea соответственно. У *B. plicatilis* аннотировано два опсин-подобных белка (рис. 3), а у *R. magnacalcarata* – 12 опсин-подобных белков, состоящих из 7 трансмембранных α -спиралей, которые могут связывать молекулу ретиналя (рис. 6, табл. 3). Значительные отличия коловраток *B. plicatilis* и *R. magnacalcarata*, выявленные с помощью биоинформационного анализа, возможно, связаны с особенностями мест и условий их обитания (Ríos-Arana et al., 2019). Подчеркнём, что коловраткам свойственна широкая морфологическая генетическая изменчивость (Walczyńska, Serra, 2022; Deng et al., 2022). У бделлоидных коловраток имеется большое число криптических видов, возможно, из-за их своеобразного партеногенетического размножения (Fontaneto et al., 2009).

Так как коловратка, найденная в горных озерах Крыма, реагирует на фиолетово-синий свет, можно предположить, что у неё имеются чувствительные к синему свету опсины либо

криптохромы, например ортолог RNA16403.1 *B. plicatilis*. Следует отметить, что и другие животные, такие как трихоплаксы (Хавронюк и др., 2021), мнемииопсисы (Silakov et al., 2023) и амфиподы (Drozdova et al., 2020; Гринцов и др., 2022), тоже демонстрируют как минимум положительный фотокинезис под действием синего света. Причём трихоплаксы и мнемииопсисы обладают чувствительными к синему свету опсинами (Schnitzler et al., 2012; Хавронюк и др., 2021; Сергеева и др., 2022). Однако световые реакции, а также эволюция и функции данных белков у этих животных отличаются.

В заключение отметим, что обнаруженная нами в горных озёрах Крыма коловратка не реагировала на электростимуляцию в отличие от трихоплаксов (Кузнецов и др., 2020). Напротив, она мгновенно отвечала на механические раздражители, несущие опасность. Всё это свидетельствует о способности относительно примитивных многоклеточных организмов – коловраток бделлоид распознавать поступающие из окружающей среды сложные сигналы и отвечать так, как необходимо для выживания в изменяющейся микрообстановке. Коловратки, как правило, не реагируют на звуковые стимулы. Они не отвечают на искусственные раздражители и большую часть времени проводят в состоянии покоя, прикреплённые к подложке. Это обстоятельство делает их удобным объектом исследования.

Заключение

В горных озерах Крыма обнаружен морфотип коловратки около 300 мкм в длину, с широкой головой и туловищем. Выделенный морфотип относится к подклассу Bdelloidea

и может быть идентифицирован как *Philodina* cf. *megalotrocha* (Ehrenberg, 1832). В силу того, что коловратка *P. megalotrocha* является распространённым видом в пресных биотопах и может встречаться в разных странах и регионах Европы, не исключено, что она обитает и в Крыму. Однако окончательное утверждение и детализация требуют дальнейшего углублённого анализа с привлечением молекулярно-генетических методов.

С помощью микросъёмки подтверждено, что коловратка благодаря биению ресничек двойного венчика создаёт два противоположно направленных кольцевых потока воды, с которыми в её ротовое отверстие попадают частицы пищи.

Найденная коловратка не реагирует на искусственные механические воздействия, но мгновенно откликается на условно опасные раздражители, например резкое касание ресничек посторонним предметом. Описана реакция избегания коловраткой фиолетово-синего света (405 нм).

У коловраток *B. plicatilis* и *R. magnacalcarata* методами биоинформатики найдены опсин-подобные белки, соответствующие по структуре опсинам других многоклеточных организмов. Показано встраивание молекулы ретиналя внутрь молекул опсинов. Возможно, обнаруженная коловратка имеет соответствующие гомологи.

Дополнительные материалы / Application



Список литературы / References

Воронков Н. В. (1912) К изучению зоопланктона водоёмов Крымской Яйлы. *Труды гидро-биологической станции на Глубоком озере*, 6(1): 72–101 [Voronkov N. V. (1912) To the study of zooplankton in the reservoirs of the Crimean Yayla. *Proceedings of the hydrobiological station at Deep Lake* [Trudy gidrobiologicheskoi stantsii na Glubokom ozere], 6(1): 72–101 (in Russian)]

Гринцов В. А., Кузнецов А. В., Железнова С. Н., Рябушко В. И. (2022) Цветовое зрение амфипод *Chaetogammarus olivii* Н. Milne Edwards, 1830 в условиях острого светового воздействия. *Экологическая безопасность прибрежной и шельфовой зон моря*, 4: 104–116 [Grintsov V. A., Kuznetsov A. V., Zheleznova S. N., Ryabushko V. I. (2022) Colour vision of the amphipod *Chaetogammarus olivii* Н. Milne Edwards, 1830 under acute light exposure. *Ecological Safety of Coastal and Shelf Zones of Sea* [Ekologicheskaya bezopasnost' pribrezhnoi i shel'fovoi zon mrya], 4: 104–116 (in Russian)]

Довгаль И. В., Петрова Ю. А. (2023) Свободноживущие инфузории (Ciliophora) пресных водоёмов крымского полуострова (состояние изученности и новые находки). *Биоразнообразие и устойчивое развитие*, 8(2): 13–25 [Dovgal I. V., Petrova Y. A. (2023) Free-living ciliates (Ciliophora) of the Crimean peninsula freshwaters (state of knowledge and new finds). *Biodiversity and Sustainable Development* [Bioraznoobrazie i ustoichivoe razvitie], 8(2): 13–25 (in Russian)]

Догель В. А. (1981) *Зоология беспозвоночных: учебник для университетов. 7-е издание*. Полянский Ю. И. (ред.) Москва, Высшая школа, 606 с. [Dogel' V. A. (1981) *Invertebrate zoology: Textbook for Universities. 7th Edition*. Polyansky Yu. I. (Ed.) Moscow, Vysshaya shkola, 606 p. (in Russian)]

Зенкевич Л. А. (1968) *Жизнь животных. Том 1. Беспозвоночные*. Москва, Просвещение, 576 с. [Zenkevich L. A. (1968) *Animal life. Volume 1. Invertebrates*. Moscow, Prosveshchenie, 576 p. (in Russian)]

Кузнецов А. В., Втюрина Д. Н. (2023) Пространственная реконструкция TRPC-механорецепторов гребневика *Mnemiopsis leidyi* А. Agassiz, 1865. *Молекулярная биология*, 57(4): 726–735 [Kuznetsov A. V., Vtyurina D. N. (2023) Spatial reconstruction of TRPC-mechanoreceptors of the ctenophore *Mnemiopsis leidyi* А. Agassiz, 1865. *Molecular Biology* [Molekulyarnaya biologiya], 57(4): 726–735 (in Russian)]

Кузнецов А. В., Кулешова О. Н., Пронозин А. Ю., Кривенко О. В., Завьялова О. С. (2020) Действие прямоугольных электрических импульсов низкой частоты на трихоплакса (тип Placozoa). *Морской биологический журнал*, 5(2): 50–66 [Kuznetsov A. V., Kuleshova O. N., Pronozin A. Yu., Krivenko O. V., Zavyalova O. S. (2020) Effects of low frequency rectangular electric pulses on *Trichoplax* (Placozoa). *Marine Biological Journal* [Morskoi biologicheskii zhurnal], 5(2): 50–66 (in Russian)]

Кузнецов А. В., Петров А. Н., Пиркова А. В., Сергеева Е. В. (2023) Структура механорецепции и способность к адгезии у молоди мидии *Mytilus galloprovincialis* (Lamarck, 1819) при воздействии ультразвука. *Системы контроля окружающей среды*, 4: 41–51 [Kuznetsov A. V., Petrov A. N., Pirkova A. V., Sergeeva E. V. (2023) Structure of mechanoreception and adhesion capability in juvenile mussels *Mytilus galloprovincialis* (Lamarck, 1819) under ultrasound impact. *Monitoring Systems of Environment* [Sistemy kontrolya okruzhayushchei sredy], 4: 41–51 (in Russian)]

Кутикова Л. А. (2005) *Бделлоидные коловратки фауны России*. Москва, Товарищество научных изданий КМК, 315 с. [Kutikova L. A. (2005) *Bdelloid rotifers of the fauna of Russia*. Moscow, KMK Scientific Press, 315 p. (in Russian)]

Кутикова Л. А. (1970) *Коловратки фауны СССР*. Ленинград, Наука, 744 с. [Kutikova L. A. (1970) *Rotifers of the fauna of the USSR*. Leningrad, Nauka, 744 p. (in Russian)]

Мамонтов А. А., Хавронюк И. С., Рыбакова К. А., Кузнецов А. В. (2021) Поведение трихоплакса в зависимости от действия света на опсины в соответствии с глубиной обитания животного: анализ и модельные опыты. *Актуальные вопросы биологической физики и химии. БФФХ-2021: материалы XVI международной научной конференции, г. Севастополь, 13–17 сентября 2021 г.* Севастополь, с. 217–218 [Mamontov A. A., Khavronyuk I. S., Rybakova K. A., Kuznetsov A. V. (2021) *Trichoplax* behavior as a function of light action on opsins according to animal depth: analysis and model experiments. *Modern trends in biological physics and chemistry. BPPC-2021: proceedings of XVI International Scientific Conference, Sevastopol, 13–17 of September, 2021.* Sevastopol, p. 217–218 (in Russian)]

Сергеева Е. В., Фадеева М. В., Хавронюк И. С., Мамонтов А. А., Ершов А. Б., Кузнецов А. В. (2022) Опсины гребневика *Mnemiopsis leidyi* и сеть белок-белковых взаимодействий. *Актуальные вопросы биологической физики и химии*, 7(2): 222–229 [Sergeeva E., Fadeeva M., Khavronyuk I., Mamontov A., Ershov A., Kuznetsov A. (2022) Opsins of the ctenophore *Mnemiopsis leidyi* and a network of protein-protein interactions. *Russian Journal of Biological Physics and Chemistry* [Aktual'nye voprosy biologicheskoi fiziki i khimii], 7(2): 222–229 (in Russian)]

Хавронюк И. С., Мамонтов А. А., Булков В. А., Воронин Д. П., Кузнецов А. В. (2021) При-сваивание функций опсинам трихоплаксов *Trichoplax adhaerens* и *Trichoplax* sp. H2. *Актуальные вопросы биологической физики и химии*, 6(4): 686–694 [Khavronyuk I. S., Mamontov A. A., Bulkov V. A., Voronin D. P., Kuznetsov A. V. (2021) Assignment of functions to opsins of *Trichoplax adhaerens* and *Trichoplax* sp. H2. *Russian Journal of Biological Physics and Chemistry* [Aktual'nye voprosy biologicheskoi fiziki i khimii], 6(4): 686–694 (in Russian)]

Яковенко Н. С. (2001) Коловратки (Rotifera) из лишайников некоторых регионов Украины. *Ученые записки Таврического национального университета им. В. И. Вернадского, Серия “Биология”*, 14(2): 195–199 [Yakovenko N. S. (2001) Rotifers (Rotifera) from lichens of some regions of Ukraine. *Scientific Notes of V.I. Vernadsky Taurida National University, Biology Series* [Uchenye zapiski Tavricheskogo natsional'nogo universiteta im. V.I. Vernadskogo, Seriya “Biologiya”], 14(2): 195–199 (in Russian)]

Яковенко Н. С. (2003) Коловратки (Rotifera) Южного берега Крыма. *Ученые записки Таврического национального университета им. В. И. Вернадского, Серия “Биология”*, 16(3): 250–255 [Yakovenko N. S. (2003) Rotifers (Rotifera) of the Southern Coast of Crimea. *Scientific Notes of V.I. Vernadsky Taurida National University, Biology Series* [Uchenye zapiski Tavricheskogo natsional'nogo universiteta im. V.I. Vernadskogo, Seriya “Biologiya”], 16(3): 250–255 (in Russian)]

Altschul S. F., Gish W., Miller W., Myers E. W., Lipman D. J. (1990) Basic local alignment search tool. *Journal of Molecular Biology*, 215(3): 403–410

Bitencourt-Ferreira G., de Azevedo W. F. (2019) Docking with SwissDock. *Docking screens for drug discovery. Methods in molecular biology, Vol. 2053.* de Azevedo Jr. W. (Ed.) Humana, New York, NY, p. 189–202

Deng Z., Yang W., Blair D., Hu W., Yin M. (2022) Diversity of *Brachionus plicatilis* species complex (Rotifera) in inland saline waters from China: Presence of a new mitochondrial clade on the Tibetan Plateau. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 171: 107457

Donner J. (1965) *Ordnung Bdelloidea (Rotatoria, Radertiere)*. Berlin, Akademie-Verlag, 297 p.

Drozдова P. B., Saranchina A. E., Timofeyev M. A. (2020) Spectral sensitivity of the visual system of endemic Baikal amphipods. *Limnology and Freshwater Biology*, 4(SI:7VBC): 781–782

- Fontaneto D., Kaya M., Herniou E. A., Barraclough T. G. (2009) Extreme levels of hidden diversity in microscopic animals (Rotifera) revealed by DNA taxonomy. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 53(1): 182–189
- Fontaneto D., Ricci C. (2004) Rotifera: Bdelloidea. *Freshwater invertebrates of the Malaysian region*. Yule C. M., Yong H. S. (Eds.) Kuala Lumpur, Malaysia, Academy of Sciences Malaysia, p. 121–126
- Kelley L. A., Mezulis S., Yates C. M., Wass M. N., Sternberg M. J. E. (2015) The Phyre2 web portal for protein modeling, prediction and analysis. *Nature Protocols*, 10(6): 845–858
- Kim H.-J., Lee J.-S., Hagiwara A. (2018) Phototactic behavior of live food rotifer *Brachionus plicatilis* species complex and its significance in larviculture: A review. *Aquaculture*, 497: 253–259
- Kuznetsov A. V., Grishin I. Yu., Vtyurina D. N. (2023) Spatial models of piezo proteins and protein–protein interaction networks in *Trichoplax* animals (Placozoa). *Molecular Biology*, 57(5): 905–912
- Li X. D., Wang X. Y., Xu M. E., Jiang Y., Yan T., Wang X. C. (2020) Progress on the usage of the rotifer *Brachionus plicatilis* in marine ecotoxicology: A review. *Aquatic Toxicology*, 229: 105678
- Papadopoulos J. S., Agarwala R. (2007) COBALT: constraint-based alignment tool for multiple protein sequences. *Bioinformatics*, 23(9): 1073–1079
- Pettersen E. F., Goddard T. D., Huang C. C., Couch G. S., Greenblatt D. M., Meng E. C., Ferrin T. E. (2004) UCSF Chimera – a visualization system for exploratory research and analysis. *Journal of Computational Chemistry*, 25(13): 1605–1612
- Ricci C., Boschetti C. (2003) Bdelloid rotifers as model system to study developmental biology in space. *Advances in space biology and medicine. Volume 9: Developmental biology research in space*. Marthy H.-J. (Ed.) Elsevier, p. 25–39
- Rick H. (2015) Chapter 13. Rotifera. *Structure and evolution of invertebrate nervous systems*. Schmidt-Rhaesa A., Harzsch S., Purschke G. (Eds.) Oxford, Oxford University Press, p. 122–131
- Ríos-Arana J. V., Agüero-Reyes L. D. C., Wallace R. L., Walsh E. J. (2019) Limnological characteristics and rotifer community composition of Northern Mexico Chihuahuan Desert Springs. *Journal of Arid Environments*, 160: 32–41
- Sawada M., Enesco H. E. (1984) The effect of light, dark or altered circadian cycle on the lifespan of the rotifer *Asplanchna brightwelli*. *Experimental Gerontology*, 19(5): 335–343
- Schnitzler C. E., Pang K., Powers M. L., Reitzel A. M., Ryan J. F., Simmons D., Tada T., Park M., Gupta J., Brooks S. Y., Blakesley R. W., Yokoyama S., Haddock S. H., Martindale M. Q., Baxevanis A. D. (2012) Genomic organization, evolution, and expression of photoprotein and opsin genes in *Mnemiopsis leidyi*: a new view of ctenophore photocytes. *BMC Biology*, 10: 107
- Schoch C. L., Ciufo S., Domrachev M., Hotton C. L., Kannan S., Khovanskaya R., Leipe D., Mcveigh R., O'Neill K., Robbertse B., Sharma S., Soussov V., Sullivan J. P., Sun L., Turner S., Karsch-Mizrachi I. (2020) NCBI Taxonomy: a comprehensive update on curation, resources and tools. *Database*, 2020: baaa062
- Silakov M. I., Kuznetsov A. V., Temnykh A. V., Anninsky B. E. (2023) Effect of monochromatic light on the behavior of the ctenophore *Mnemiopsis leidyi* (A. Agassiz, 1865). *BioSystems*, 231: 104987
- Walczyńska A., Serra M. (2022) Body size variability across habitats in the *Brachionus plicatilis* cryptic species complex. *Scientific Reports*, 12(1): 6912
- Yoshimatsu T. (2013) Effect of light conditions on the population growth of rotifers. *Communications in Agricultural and Applied Biological Sciences*, 78(4): 509–512

EDN: FTZRHQ

УДК 543.97:612.821:546.49–026.86

Biochemical Aspects of Mercury Neurotoxicity in an Experimental Study

**Kristina M. Shchepetkova^{a*}, Ekaterina G. Batotsyrenova^{a, b},
Vadim A. Kashuro^{a, c, d} and Sergey E. Khalchitskiy^e**

*^aSaint Petersburg State Pediatric Medical University
of the Ministry of Health of the Russian Federation
Saint Petersburg, Russian Federation*

*^bGolikov Research Clinical Center of Toxicology
of the Federal Medical-Biological Agency
Saint Petersburg, Russian Federation*

*^cThe Herzen State Pedagogical University of Russia
Saint Petersburg, Russian Federation*

*^dSaint Petersburg State University
Saint Petersburg, Russian Federation*

*^eH. Turner National Medical Research Center
for Children's Orthopedics and Trauma Surgery
of the Ministry of Health of the Russian Federation
Saint Petersburg, Russian Federation*

Received 13.04.2024, received in revised form 10.01.2025, accepted 30.04.2025

Abstract. Mercury belongs to the substances of hazard class I, and even in small amounts, it can disrupt the functions of various organs and tissues. Data reported in numerous studies indicate the pro-oxidant effect of mercury. Brain tissue is particularly sensitive to the disturbance in the redox balance. The antioxidant protection system of the cell plays an important role in maintaining the parameters of the internal environment constant. Changes in the parameters of the antioxidant system and lipid peroxidation after low-dose chronic poisoning with inorganic forms of mercury have not been studied sufficiently. Therefore, the aim of the present work was to study changes in the parameters of the antioxidant system and lipid peroxidation in rat brain tissues after chronic low-dose poisoning with mercury acetate. After 30 days of administration of mercury acetate at a dose of 4 mg/kg, mercury content and parameters of the antioxidant system and lipid peroxidation were determined in rat brain homogenate. Chronic

© Siberian Federal University. All rights reserved

This work is licensed under a Creative Commons Attribution-NonCommercial 4.0 International License (CC BY-NC 4.0).

* Corresponding author E-mail address: tesh_07@inbox.ru

ORCID: 0000-0002-8250-4178 (Shchepetkova K.); 0000-0003-3827-4579 (Batotsyrenova E.); 0000-0002-7892-0048 (Kashuro V.); 0000-0003-1467-8739 (Khalchitskiy S.)

administration of mercury acetate led to the accumulation of mercury in the brains of animals in the treatment group. The mercury content in the treatment group increased by 402.5 times compared with the control group. In the group of rats exposed to mercury acetate, the activity of superoxide dismutase increased by 23.4 %, glutathione peroxidase by 13.6 %, and glucose-6-phosphate dehydrogenase by 13.9 % compared with the control group. The content of reduced glutathione was 33.4 % lower compared with the control parameters. A 30-day administration of mercury acetate led to a 20 % increase in the content of malonic dialdehyde in the brain tissues of rats in the treatment group compared with the control group. The results demonstrated the disruption of the homeostasis of the antioxidant system, which suggested the development of oxidative stress.

Keywords: brain, antioxidant system, lipid peroxidation, mercury acetate, chronic poisoning.

Citation: Shchepetkova K. M., Batotsyrenova E. G., Kashuro V. A., Khalchitskiy S. E. Biochemical aspects of mercury neurotoxicity in an experimental study. J. Sib. Fed. Univ. Biol., 2025, 18(2), 206–215. EDN: FTZRHQ



Биохимические аспекты нейротоксичности ртути в экспериментальном исследовании

**К. М. Щепеткова^а, Е. Г. Батоцыренова^{а, б},
В. А. Кашуро^{а, в, г}, С. Е. Хальчицкий^д**

*^а Санкт-Петербургский государственный педиатрический
медицинский университет*

*Министерства здравоохранения Российской Федерации
Российская Федерация, Санкт-Петербург*

*^б Научно-клинический центр токсикологии
имени академика С. Н. Голикова Федерального
медико-биологического агентства*

Российская Федерация, Санкт-Петербург

*^в Российский государственный педагогический университет
им. А. И. Герцена*

Российская Федерация, Санкт-Петербург

*^г Санкт-Петербургский государственный университет
Российская Федерация, Санкт-Петербург*

*^д Национальный медицинский исследовательский центр
детской травматологии и ортопедии имени Г. И. Турнера
Министерства здравоохранения Российской Федерации
Российская Федерация, Санкт-Петербург*

Аннотация. Ртуть относится к веществам I класса опасности и даже в небольших количествах способна нарушать функции различных органов и тканей. Данные многих исследований свидетельствуют о прооксидантном эффекте ртути. Ткань головного мозга особенно чувствительна

к нарушению окислительно-восстановительного баланса. Система антиоксидантной защиты клетки играет важную роль в поддержании постоянства параметров внутренней среды. Изменение показателей антиоксидантной системы и перекисного окисления липидов после низкодозового хронического отравления неорганическими формами ртути изучено недостаточно, поэтому целью работы явилось изучение изменений показателей антиоксидантной системы и перекисного окисления липидов в тканях головного мозга крыс после хронического низкодозового отравления ацетатом ртути. После 30-дневного введения ацетата ртути в дозе 4 мг/кг определяли содержание ртути, показатели антиоксидантной системы и перекисного окисления липидов в гомогенате головного мозга крыс. Хроническое введение ацетата ртути привело к накоплению ртути в головном мозге животных опытной группы. Содержание ртути в опытной группе животных увеличилось в 402,5 раза по сравнению со значениями контрольной группы. В группе крыс, подвергшихся воздействию ацетата ртути, отмечалось увеличение активности супероксиддисмутазы на 23,4 %, глутатионпероксидазы на 13,6 % и глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы на 13,9 % в сравнении с показателями контрольной группы. Выявлено снижение содержания восстановленного глутатиона на 33,4 % по сравнению с показателями контроля. 30-дневное введение ацетата ртути привело к повышению содержания малонового диальдегида в тканях головного мозга крыс опытной группы на 20 % в сравнении с контрольной группой. Полученные результаты выявили нарушение гомеостаза антиоксидантной системы, что свидетельствует о развитии оксидативного стресса.

Ключевые слова: головной мозг, антиоксидантная система, перекисное окисление липидов, ацетат ртути, хроническое отравление.

Цитирование: Щепеткова К. М. Биохимические аспекты нейротоксичности ртути в экспериментальном исследовании / К. М. Щепеткова, Е. Г. Батоцыренова, В. А. Кашуро, С. Е. Хальчицкий // Журн. Сиб. федер. ун-та. Биология, 2025. 18(2). С. 206–215. EDN: FTZRHQ

Введение

Загрязнение окружающей среды является широкомасштабной проблемой, влияющей на качество и продолжительность жизни. К высокотоксичным загрязнителям, оказывающим пагубное влияние на организм, относятся тяжелые металлы. Наиболее распространенными токсикантами являются такие металлы, как ртуть, кадмий, свинец. В настоящее время острые отравления встречаются редко. Особую опасность для населения представляет длительное поступление малых количеств тяжелых металлов с загрязненными продуктами питания и водой. Обладающие кумулятивным эффектом и характеризующиеся низкой скоростью выведения из организма, они способны существенно

влиять на функционирование многих систем, в том числе и центральную нервную систему (ЦНС). Так, исследования на животных показали, что введение низких доз метилртути вызывало нейродегенеративное повреждение гиппокампа у крыс, что проявлялось в нарушении перехода кратковременной памяти в долговременную (Bittencourt et al., 2019), а накопление ртути в моторной коре крыс обусловило нарушение двигательной функции (Santana et al., 2019). Отмечается снижение способности к обучению как после воздействия свинцом, так и в результате поступления кадмия (Буряков и др., 2013; Сутункова и др., 2023).

Целый ряд взаимосвязанных факторов (интенсивность энергетического обмен-

на, высокое содержание в мембранах клеток головного мозга полиненасыщенных жирных кислот (ПНЖК), легко подвергающихся перекисному окислению липидов (ПОЛ), сравнительно низкая активность ферментов антиоксидантной защиты по сравнению с другими тканями и т.д.) делает головной мозг восприимчивым к нарушению окислительного гомеостаза (Camandola, Mattson, 2017; Jaganjac et al., 2021; Galkina, 2013). Несмотря на разные патогенетические пути токсичности, в качестве общего неспецифического механизма рассматривается высокая аффинность тяжелых металлов (в том числе и ртути) к SH-группам молекул органических соединений (в том числе белков, низкомолекулярных соединений (таких как глутатион) и аминокислот (цистеин)), способность генерировать активные формы кислорода (АФК), а также развитие оксидативного стресса (Amadi et al., 2019; Slivinska et al., 2020; Balali-Mood et al., 2021).

Несмотря на обширность научных исследований, связанных с изучением токсичности тяжелых металлов, проведение клинической и лабораторной диагностики заболеваний, вызванных длительным низкодозовым воздействием ртути, остается одним из наиболее сложных вопросов. Кроме того, традиционная терапия препаратами с хелатирующим механизмом действия, применяемая при острых отравлениях тяжелыми металлами, при хронических воздействиях малоэффективна. Представляется целесообразным более детальное изучение антиоксидантной системы (АОС) как вероятной мишени для фармакологического воздействия.

В связи с вышеизложенным целью нашего исследования явилось изучение влияния хронического низкодозового отравления ацетатом ртути на показатели АОС и ПОЛ в тканях головного мозга крыс.

Материалы и методы

Исследование проводилось на половозрелых самцах крыс Вистар массой 160–200 г., выращенных в питомнике «Рапполово» (Россия). Экспериментальные животные содержались на базе «Испытательного центра доклинических исследований» ФГБУ НКЦТ им. С.Н. Голикова ФМБА России в соответствии с международными требованиями (Директива..., 2010). В течение всего эксперимента крысы имели свободный доступ к корму и питьевой воде, содержались в клетках по 10 особей. Протокол исследования был одобрен локальным этическим комитетом ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный педиатрический медицинский университет» Минздрава России (№ 03/03 от 20.10.2021).

Перед началом исследования животные были распределены на две группы: контрольную и опытную, по десять животных в каждой группе. Хроническое отравление моделировалось путем введения токсичных, низких доз отравляющего агента. Согласно паспорту токсичности ацетата ртути полудетальная доза при внутрижелудочном пути введения для лабораторных крыс составляет 40,9 мг/кг (National Center for Biotechnology Information, 2025). Поэтому низкотоксичная доза для введения животным опытной группы составила 4 мг/кг (0,1 ЛД₅₀).

Контрольная группа получала внутрижелудочно 1 мл дистиллированной воды ежедневно в течение всего срока исследования. Введение 0,08 % водного раствора ацетата ртути опытной группе в дозе 4 мг/кг внутрижелудочно в течение 30 дней позволило смоделировать хроническое отравление. На 30-е сутки животных подвергали эвтаназии в CO₂-камере с последующей декапитацией. Процедура была выполнена согласно международным требованиям (Директива..., 2010; Рыбакова, Макарова, 2015) и стандартным

операционным процедурам, разработанным в «Испытательном центре доклинических исследований» ФГБУ НКЦТ им. С.Н. Голикова ФМБА России под контролем ветеринарного врача испытательного центра. Головной мозг каждой крысы немедленно извлекали и погружали в холодный физиологический раствор на 35–50 секунд, далее замораживали и хранили в морозильной камере при $-70\text{ }^{\circ}\text{C}$ до момента исследования.

Для приготовления гомогената головного мозга крыс использовали 0,1 М калий фосфатный буфер с pH 7,4 в соотношении 1:9. Из полученного гомогената отбирали пробы для определения спектрофотометрическим методом концентраций восстановленного глутатиона (ВГ), малонового диальдегида (МДА) и диеновых конъюгатов (ДК). Концентрацию ВГ определяли с использованием 5,5 дитио-бис(–2-нитробензойной) кислоты (ДТНБ) по методике G.L. Ellman (Ellman, 1959), с образованием 5-тио-2-нитробензойной кислоты с максимумом оптической плотности при 412 нм. Концентрацию МДА определяли по методу M. Uchiyama и M. Mihara (Uchiyama, Mihara, 1978), основанному на взаимодействии МДА с тиобарбитуровой кислотой, с образованием продукта, имеющего максимум поглощения на длине волны 532 нм. Определение концентрации ДК в гомогенате тканей головного мозга осуществляли по спектру поглощения с максимумом при длине волны 233 нм по методике И. Д. Стальной (Стальная, 1977).

После этого неочищенные пробы гомогената головного мозга крыс центрифугировали при 20000 об/мин в течение 1 часа на ультрацентрифуге L8-M («Beckman», США). Полученный супернатант использовали для определения активности глутатион-S-трансферазы (ГТ), супероксиддисмутазы (СОД), глутатионпероксидазы (ГП), и глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы (Г-6-

ФДГ). Активность ГТ измеряли по методу, основанному на реакции ВГ с 1-хлор-2,4-динитробензолом в присутствии ГТ (Nabig, Jakoby, 1981). Активности СОД, ГП и Г-6-ФДГ определяли на биохимическом анализаторе «А-25» с использованием коммерческих наборов фирмы RanDox (Великобритания). Концентрацию исследуемых субстратов и активность ферментов в гомогенате ткани пересчитывали на 1 грамм белка (Кашуро и др., 2006). Концентрацию общего белка определяли наборами фирмы BioSystems (Испания) на биохимическом анализаторе «А-25».

Кроме того, в гомогенате головного мозга крыс определяли содержание ртути на атомно-абсорбционном спектрометре «РА-915+» (Соловьев и др., 2011; Кашуро, Глушков, 2020).

Статистическую обработку результатов проводили с использованием программного обеспечения AtteStat 15.0 (Общая общественная лицензия GNU версии 3.0 (GPLv3)). Вычислены средние значения и ошибки среднего ($M \pm m$). Из-за небольшого размера выборки и наблюдаемых отклонений от нормального распределения данных (оцененных с помощью критерия Шапиро – Уилка), для оценки достоверности различий между исследуемыми характеристиками экспериментальных групп был выбран непараметрический критерий U-критерий Манна – Уитни с уровнем значимости, равным 0,05.

Результаты и обсуждение

Считается, что, в отличие от органической ртути, неорганические формы ртути плохо всасываются через ЖКТ и медленнее проходят через гематоэнцефалический барьер (Park, Zheng, 2012; Raj, Maiti, 2019; Гладышев, 2021). Несмотря на низкую способность неорганических форм ртути преодолевать гематоэнцефалический барьер, результаты

проведенного исследования показали, что 30-дневное введение ацетата ртути привело к увеличению содержания ртути в головном мозге экспериментальных животных в 402,5 раза по сравнению со значениями показателей контрольной группы (таблица).

Согласно данным литературы, из тканей головного мозга ртуть выводится медленнее всего (Carocci et al., 2014). На фоне 30-дневного введения ацетата ртути в опытной группе животных регистрировались изменения когнитивных функций, что подтверждалось нарушением воспроизведения памятного следа в тесте УРАИ (Щепеткова и др., 2023).

Проведенное исследование показало, что накопление ртути в головном мозге крыс сопровождалось изменениями исследуемых показателей АОС и ПОЛ (таблица).

Многоуровневый контроль окислительно-восстановительного равновесия в клетках головного мозга поддерживается сложной системой антиоксидантной защиты, состоящей из ферментативных и неферментативных путей. В проведенном исследовании СОД, катализирующая дис-

мутацию супероксиданиона в пероксид водорода и молекулярный кислород, проявила в опытной группе животных повышенную активность на 23,4 % ($p < 0,05$) по сравнению с контрольной группой. Полученные данные указывают на избыточное образование супероксидного анион-радикала и согласуются с литературными данными о том, что ртуть, связываясь с тиоловыми группами, ингибирует активность I–IV комплексов электрон-транспортной цепи митохондрий, что приводит к усиленной продукции АФК (Oliveira et al., 2018).

Наличие сульфгидрильной группы цистеина придает глутатиону свойства восстановителя и способность обезвреживать избыток АФК и других нестабильных молекул в реакции, катализируемой ГП (Кашуро и др., 2006). После 30-дневного воздействия ацетатом ртути было выявлено снижение концентрации ВГ в опытной группе на 33,4 % ($p < 0,05$) по сравнению с показателями контрольной группы. Одновременно обнаружено увеличение активности ГП на 13,6 % ($p < 0,05$) в сравнении с показателями контрольной

Таблица. Содержание ртути, показатели антиоксидантной системы и перекисного окисления липидов в головном мозге лабораторных животных (среднее \pm SE)

Table. Mercury content and parameters of the antioxidant system and lipid peroxidation in the brain of laboratory animals (mean \pm SE)

Исследуемые показатели, ед. изм.	Экспериментальные группы	
	Контрольная группа (n=10)	Опытная группа (n=10)
Ртуть, мкг/кг	0,12 \pm 0,06	48,30 \pm 3,40*
Восстановленный глутатион, мкмоль/г белка	2,93 \pm 0,19	1,95 \pm 0,11*
Малоновый диальдегид, нмоль/г белка	246,14 \pm 10,47	307,46 \pm 9,14*
Диеновые конъюгаты, нмоль/г белка	92,84 \pm 1,76	94,44 \pm 1,13
Супероксиддисмутаза, Ед. акт./мг белка	79,67 \pm 6,63	104,14 \pm 8,78*
Глутатионтрансфераза, Ед. акт./г белка	177,58 \pm 9,15	194,32 \pm 7,44
Глутатионпероксидаза, Ед. акт./мг белка	2,99 \pm 0,05	3,46 \pm 0,12*
Глюкозо-6-фосфатдегидрогеназа, Ед. акт./г белка	48,89 \pm 1,16	56,78 \pm 3,89*

* – достоверно по сравнению с контрольной группой (при $p \leq 0,05$; критерий Манна – Уитни)

группы экспериментальных животных. Снижение концентрации ВГ с одновременным увеличением активности ГП свидетельствует о нарастании концентрации пероксида водорода в ткани головного мозга отравленных животных. Снижение концентрации ВГ также может быть связано со способностью ртути связываться с его SH-группой.

Редокс-гомеостаз глутатиона в тканях головного мозга поддерживается при помощи глутатионредуктазы в НАДФН-зависимой реакции, т.е. зависит от поставок НАДФН и активности фермента пентозофосфатного пути Г-6-ФДГ. В проведенном исследовании наблюдалось достоверное увеличение активности Г-6-ФДГ на 13,9 % ($p < 0,05$) в сравнении с показателями контроля. Связываясь с остатками цистеина, ртуть способна ингибировать активность ферментов гликолиза, изменяя скорость энергетического обмена (Notariale et al., 2021). Полученные данные позволяют предположить, что увеличение активности Г-6-ФДГ связано с усилением метаболизма глюкозы через пентозофосфатный путь. Образование НАДФН способствует регенерации SH-групп глутатиона, что способствует усилению антиоксидантной защиты клеток тканей головного мозга крыс. Таким образом, увеличение соотношения НАДФН / НАДФ нормализует редокс-гомеостаз в клетке.

Высокое содержание ПНЖК в мембранах клеток головного мозга, в частности легко окисляемых арахидоновой и докозагексаеновой кислот, делает их очень уязвимыми по сравнению с клетками других тканей для повреждающего действия гидроксильных радикалов. Неферментативное перекисное

окисление ПНЖК приводит к образованию реакционноспособных альдегидов, таких как МДА. Введение ацетата ртути в течение 30 дней увеличило концентрацию МДА в тканях головного мозга крыс опытной группы на 20 % ($p < 0,05$) в сравнении с контрольной группой. Таким образом, дисбаланс АОС и усиление процессов липопероксидации свидетельствуют о развитии оксидативного стресса, что может вносить существенный вклад в развитие цитотоксических эффектов отравления нейротоксикантами (Shvetsov et al., 2015).

Заключение

Результаты проведенного исследования показали, что субхроническое введение ацетата ртути привело к значительному накоплению ртути в головном мозге опытной группы крыс по сравнению с контрольной группой. Воздействие ртути сопровождалось нарушением баланса АОС, что проявилось в снижении концентрации ВГ, увеличении активности СОД, ГП, Г-6-ФДГ. Увеличение концентрации МДА в опытной группе животных по сравнению с контрольной свидетельствует об активации ПОЛ в ЦНС. Такая картина свидетельствует о развитии оксидативного стресса. Увеличение активности ферментов антиоксидантной защиты, выявленное в проведенном исследовании, вероятно, отображает адаптивный ответ антиоксидантной системы клетки на накопление ртути в тканях головного мозга крыс. Полученные данные могут быть использованы для поиска эффективной терапии длительных токсических воздействий тяжелыми металлами.

Список литературы / References

Буряков С. В., Невзорова Е. В., Гулин А. В. (2013) Нейроповеденческие исследования влияния экспозиции свинца и кадмия на обучение и память. *Вестник Тамбовского университета. Серия: Естественные и технические науки*, 18(6–2): 3320–3321 [Buryakov S. V.,

Nevzorova E. V., Gulin A. V. (2013) Neurobehavioral research study of exposure effects to lead and cadmium on learning and memory. *Tambov University Reports. Series: Natural and Technical Sciences* [Vestnik Tambovskogo universiteta. Seriya: Estestvennyye i tekhnicheskie nauki], 18(6–2): 3320–3321 (in Russian)]

Гладышев В. Б. (2021) Токсичные свойства ртути и ее влияние на организм животных и человека. *The Scientific Heritage*, 81–2: 16–22 [Gladyshev V. B. (2021) Toxic properties of mercury and its effect on the organisms of animals and humans. *The Scientific Heritage*, 81–2: 16–22 (in Russian)]

Директива 2010/63/EU Европейского парламента и совета Европейского союза от 22.09.2010 по охране животных, используемых в научных целях. Глава I, статья 6 [Directive 2010/63/EU of the European Parliament and of the Council of 22 September 2010 on the protection of animals used for scientific purposes. Chapter 1, Article 6 (in Russian)]

Кашуро В. А., Карпищенко А. И., Глушков С. И., Новикова Т. М., Минаева Л. В., Глушкова Т. И., Аксенов В. В. (2006) Состояние системы глутатиона и перекисного окисления липидов в тканях печени и почек крыс при острых отравлениях циклофосфаном. *Нефрология*, 10(2): 81–85 [Kashuro V. A., Karpishchenko A. I., Glushkov S. I., Novikova T. M., Minaeva L. V., Glushkova T. I., Aksekov V. V. (2006) State of the system of glutathione and lipid peroxidation in tissues of the liver and kidneys of rats with acute cyclophosphamide poisoning. *Nephrology (Saint-Petersburg)* [Nefrologiya], 10(2): 81–85 (in Russian)]

Кашуро В. А., Глушков Р. К. (2020) Лабораторная диагностика отравлений токсичными металлами. *Medline.ru. Российский биомедицинский журнал*, 21: 1237–1247 [Kashuro V. A., Glushkov R. K. (2020) Laboratory diagnostics of toxic metal poisoning. *Medline.ru. Russian Biomedical Journal* [Medline.ru. Rossiiskii biomeditsinskii zhurnal], 21: 1237–1247 (in Russian)]

Рыбакова А. В., Макарова М. Н. (2015) Методы эвтаназии лабораторных животных в соответствии с европейской директивой 2010/63. *Международный вестник ветеринарии*, 2: 96–107 [Rybakova A. V., Makarova M. N. (2015) Methods of euthanasia of laboratory animals, in accordance with European Directive 2010/63. *International Bulletin of Veterinary Medicine* [Mezhdunarodnyi vestnik veterinarii], 2: 96–107 (in Russian)]

Соловьев Н. Д., Иваненко Н. Б., Иваненко А. А., Кашуро В. А. (2011) Определение микроэлементов в биологических жидкостях методом ААС-ЭТА с Зеemanовской коррекцией фона. *Вестник Оренбургского государственного университета*, 15: 127–130 [Solovyev N. D., Ivanenko N. B., Ivanenko A. A., Kashuro V. A. (2011) Trace elements determination in biological fluids using the ETA-AAS with Zeeman background correction. *Vestnik of the Orenburg State University* [Vestnik Orenburgskogo gosudarstvennogo universiteta], 15: 127–130 (in Russian)]

Стальная И. Д. (1977) Метод определения диеновой конъюгации ненасыщенных высших жирных кислот. *Современные методы в биохимии*. Москва, Медицина, с. 63–64 [Stal'naya I. D. (1977) Method for determination of diene conjugation of unsaturated higher fatty acids. *Modern methods in biochemistry*. Moscow, Meditsina, p. 63–64 (in Russian)]

Сутункова М. П., Никогосян К. М., Рябова Ю. В., Кескевич А. А., Минигалиева И. А., Бутакова И. В., Шеломенцев И. Г., Шаихова Д. Р. (2023) Современное представление о механизмах токсического действия свинца на центральную нервную систему (обзор литературы). *Медицина труда и экология человека*, 4: 196–215 [Sutunkova M. P., Nikogosyan K. M., Ryabova Yu. V., Keskevich A. A., Minigalieva I. A., Butakova I. V., Shelomentsev I. G., Shaikhova D. R. (2023)

Current understanding of the mechanisms of lead toxic effects on the central nervous system (literature review). *Occupational Medicine and Human Ecology* [Meditsina truda i ekologiya cheloveka], 4: 196–215 (in Russian)]

Щепеткова К. М., Батоцыренова Е. Г., Шустов Е. Б., Кашуро В. А., Шарабанов А. В., Раменская Н. П. (2023) Влияние этомерзола фумарата на когнитивные функции крыс при отравлении ацетатом ртути. *Биомедицина*, 19(3E): 124–129 [Shchepetkova K. M., Batotsyrenova E. G., Shustov E. B., Kashuro V. A., Sharabanov A. V., Ramenskaya N. P. (2023) Influence of etomersol fumarate on cognitive functions of rats during mercury acetate poisoning. *Journal Biomed* [Biomeditsina], 19(3E): 124–129 (in Russian)]

Amadi C. N., Offor S. J., Frazzoli C., Orisakwe O. E. (2019) Natural antidotes and management of metal toxicity. *Environmental Science and Pollution Research*, 26(18): 18032–18052

Balali-Mood M., Naseri K., Tahergorabi Z., Khazdair M. R., Sadeghi M. (2021) Toxic mechanisms of five heavy metals: mercury, lead, chromium, cadmium, and arsenic. *Frontiers in Pharmacology*, 12: 643972

Bittencourt L. O., Dionizio A., Nascimento P. C., Puty B., Leão L. K. R., Luz D. A., Silva M. C. F., Amado L. L., Leite A., Buzalaf M. R., Crespo-Lopez M. E., Maia C. S. F., Lima R. R. (2019) Proteomic approach underlying the hippocampal neurodegeneration caused by low doses of methylmercury after long-term exposure in adult rats. *Metallomics*, 11(2): 390–403

Camandola S., Mattson M. P. (2017) Brain metabolism in health, aging, and neurodegeneration. *The EMBO Journal*, 36(11): 1474–1492

Carocci A., Rovito N., Sinicropi M. S., Genchi G. (2014) Mercury toxicity and neurodegenerative effects. *Reviews of Environmental Contamination and Toxicology, Volume 229*. Springer, Cham, p. 1–18

Ellman G. L. (1959) Tissue sulfhydryl groups. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 82(1): 70–77

Galkina O. V. (2013) The specific features of free-radical processes and the antioxidant defense in the adult brain. *Neurochemical Journal*, 7(2): 89–97

Habig W. H., Jakoby W. B. (1981) Assay for differentiation of glutathione S-transferases. *Methods in Enzymology*, 77: 398–405

Jaganjac M., Cindrić M., Jakovčević A., Žarković K., Žarković N. (2021) Lipid peroxidation in brain tumors. *Neurochemistry International*, 149: 105118

National Center for Biotechnology Information (2025) PubChem Compound Summary for CID15337, Mercuric acetate. Retrieved May 2, 2025 from <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Mercuric-acetate>

Notariale R., Infantino R., Palazzo E., Manna C. (2021) Erythrocytes as a model for heavy metal-related vascular dysfunction: the protective effect of dietary components. *International Journal of Molecular Sciences*, 22(12): 6604

Oliveira C. S., Nogara P. A., Ardisson-Araújo D. M. P., Aschner M., Rocha J. B. T., Dórea J. G. (2018) Neurodevelopmental effects of mercury. *Advances in Neurotoxicology. Volume 2*. Elsevier, p. 27–86

Park J. D., Zheng W. (2012) Human exposure and health effects of inorganic and elemental mercury. *Journal of Preventive Medicine and Public Health*, 45(6): 344–352

Raj D., Maiti S. K. (2019) Sources, toxicity, and remediation of mercury: an essence review. *Environmental Monitoring and Assessment*, 191(9): 566

Santana L. N. D. S., Bittencourt L. O., Nascimento P. C., Fernandes R. M., Teixeira F. B., Fernandes L. M. P., Freitas Silva M. C., Nogueira L. S., Amado L. L., Crespo-Lopez M. E., Maia C. D. S.

F., Lima R. R. (2019) Low doses of methylmercury exposure during adulthood in rats display oxidative stress, neurodegeneration in the motor cortex and lead to impairment of motor skills. *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology*, 51: 19–27

Shvetsov A. V., Dyuzhikova N. A., Savenko Yu. N., Batotsyrenova E. G., Kashuro V. A. (2015) Effects of experimental coma on the expression of bcl-2 protein and caspases 3 and 9 in rat brain. *Bulletin of Experimental Biology and Medicine*, 160(2): 216–218

Slivinska L. G., Shcherbatyy A. R., Lukashchuk B. O., Gutyj B. V. (2020) The state of antioxidant protection system in cows under the influence of heavy metals. *Regulatory Mechanisms in Biosystems*, 11(2): 237–242

Uchiyama M., Mihara M. (1978) Determination of malonaldehyde precursor in tissues by thiobarbituric acid test. *Analytical Biochemistry*, 86(1): 271–278

EDN: MLRYFV

УДК 636.033.084.55–035.66

Selenium and Zinc Supplements Combined with Methionine: Effects on Blood Element Profiles, Meat Production and Quality in Aberdeen-Angus Bulls with Selenium and Zinc Imbalance

Oleg A. Zavyalov*,

Erlan S. Medetov and Yakov Y. Kurilkin

*Federal Research Centre for Biological Systems
and Agricultural Technologies of the Russian Academy of Sciences
Orenburg, Russian Federation*

Received 29.06.2024, received in revised form 12.06.2025, accepted 16.06.2025

Abstract. The studies were carried out on Aberdeen-Angus bulls with Zn and Se deficiency in blood serum. In experimental Group I, animal basic diets were supplemented with organic forms of Zn and Se. In experimental Group II, similar doses of Zn and Se were complemented with methionine (Zn+Se+Met complex). The control group received no supplements to the basic diet. The duration of experimental feeding was 90 days. At the end of the experiment, an analysis of the element profiles of blood serum in Group I showed a significant increase in the levels of Zn and Se but a decrease in the levels of Mn, Cu and Fe. Group II showed an increased concentration of all these elements along with a decrease in the level of malondialdehyde and an increase in the levels of superoxide dismutase and catalase activity in blood serum. In terms of average daily gains, bulls in Groups I and II outperformed the animals in the control group by 5.9 ($P \leq 0.05$) and 8.4 % ($P \leq 0.05$), respectively. The bulls in the control group were inferior to the animals in the experimental groups in terms of pre-slaughter live weight, weight of hot and chilled carcasses, weight of flesh and bones in carcasses; the maximum difference was observed between the control animals and the ones receiving Zn+Se+Met complex. The element profiles of the longissimus dorsi muscle changed in proportion to the changes in the elemental composition of the blood serum. The supplements improved the nutritional quality of the longissimus dorsi muscle. It manifested itself in a significant increase in the concentrations of amino acids (arginine, phenylalanine, methionine, valine, alanine, glycine, tryptophan) and polyunsaturated fatty acids along with a decrease in the concentrations of saturated fatty acids.

© Siberian Federal University. All rights reserved

This work is licensed under a Creative Commons Attribution-NonCommercial 4.0 International License (CC BY-NC 4.0).

* Corresponding author E-mail address: oleg-zavyalov83@mail.ru

ORCID: 0000-0003-2033-3956 (Zavyalov O.)

Keywords: beef cattle, elemental status, correction, selenium (Se), zinc (Zn), amino acid, methionine (Met), meat production, meat quality.

Acknowledgements. This research was carried out with the financial support of the Russian Science Foundation, Project No. 23–26–00045

Citation: Zavyalov O. A., Medetov E. S., Kurilkin Y. Y. Selenium and zinc supplements combined with methionine: effects on blood element profiles, meat production and quality in Aberdeen-Angus bulls with selenium and zinc imbalance. *J. Sib. Fed. Univ. Biol.*, 2025, 18(2), 216–235. EDN: MLRYFV



Влияние добавок селена и цинка в комплексе с метионином на элементный состав крови, мясную продуктивность и качество мяса бычков абердин-ангусской породы с выявленным дисбалансом селена и цинка в организме

О. А. Завьялов, Е. С. Медетов, Я. Я. Курилкин
*Федеральный научный центр биологических систем
и агротехнологий Российской академии наук
Российская Федерация, Оренбург*

Аннотация. Исследования выполнялись на бычках абердин-ангусской породы с выявленным дефицитом Zn и Se в сыворотке крови. С целью проведения исследований бычки были разделены на три группы: контрольную и две опытные. Особенностью кормления животных I опытной группы являлось то, что помимо основного рациона животным вводились дополнительные источники органических форм Zn и Se. Животные II опытной группы получали эти же добавки в аналогичных дозировках, но в комплексе с аминокислотой – метионином. Контрольная группа получала основной рацион без включения каких-либо добавок. Продолжительность экспериментального кормления составила 90 дней. Установлено, что в конце эксперимента элементный состав сыворотки крови бычков I опытной группы характеризовался достоверным увеличением уровней Zn, Se и снижением уровней Mn, Cu, Fe. Животные, получавшие комплекс Zn+Se+Met, напротив, отличались повышенной концентрацией этих элементов, что сопровождалось снижением уровня малонового диальдегида и повышением уровней активности супероксиддисмутазы и каталазы в сыворотке крови. По величине среднесуточных приростов бычки I и II опытных групп превосходили сверстников из контрольной группы на 5,9 ($P \leq 0,05$) и 8,4 % ($P \leq 0,05$). Бычки контрольной группы уступали животным опытных групп по преддубойной живой массе, массе парной и охлажденной туш, массе мякоти и костей в тушах при максимальной разнице между животными, получавшими комплекс Zn+Se+Met. Элементный состав длиннейшей мышцы спины изменялся пропорционально изменениям элементного состава сыворотки крови бычков. Установлен положительный эффект от воздействия испытуемых добавок на качественные характеристики

длиннейшей мышцы спины, который выразался в достоверном увеличении концентраций ряда аминокислот: аргинина фенилаланина, метионина, валина, аланина, глицина, триптофана, а также концентраций полиненасыщенных на фоне снижения концентраций насыщенных жирных кислот.

Ключевые слова: мясной скот, элементный статус, коррекция, селен (Se), цинк (Zn), аминокислота, метионин (Met), мясная продуктивность, качество мяса.

Благодарности. Исследования проведены при финансовой поддержке Российского научного фонда по проекту № 23–26–00045

Цитирование: Завьялов О. А. Влияние добавок селена и цинка в комплексе с метионином на элементный состав крови, мясную продуктивность и качество мяса бычков абердин-ангусской породы с выявленным дисбалансом селена и цинка в организме / О. А. Завьялов, Е. С. Медетов, Я. Я. Курилкин // Журн. Сиб. федер. ун-та. Биология, 2025. 18(2). С. 216–235. EDN: MLRYFV

Introduction

An imbalance in trace elements has a negative impact on health and production traits of farm animals. A range of pathologies is associated with a deficiency of trace elements in animal diets (Miroshnikov et al., 2019). Correction of metabolism of essential trace elements and elimination of toxic elements reduce the risk of these diseases and may have a stimulating effect on farm animal production traits, which has been demonstrated for zinc (Abdelnour et al., 2021), copper (Wen et al., 2022) and multiminerals supplements (Humer et al., 2019). Thus, increasing the supply of essential micronutrients in cattle diets is an effective strategy for increasing profitability of beef cattle breeding. Until recently, it has been assumed that the existing mineral feeding protocols for cattle were designed to prevent imbalances in trace element and to maintain optimal animal growth. However, recent studies have shown that assessing mineral feeding levels based solely on chemical element contents in diets is not always informative. This method does not consider bioavailability of these minerals that can vary due to several factors, including the presence of antagonistic elements in the feed and poorly digestible forms of trace elements (Sycheva et

al., 2022). In addition, the increased production potential of modern breeds and crosses of farm animals requires balancing the diets with a broader range of trace elements than before. Consideration must be also given to the toxic elements present in the feed as their consumption can significantly hinder growth and development (Miroshnikov et al., 2019). Since previous studies have shown a direct correlation between the concentrations of individual chemical elements in blood and the production traits of cattle (Sychyova et al., 2022), in order to assess accurately the level of mineral feeding in farm animals the elemental status can be evaluated by determining the content of elements in body fluids, such as blood.

To be absorbed in the body, metals interact with a variety of small organic molecules (e.g. citrate, oxalate, amino acids) and macromolecular ligands (e.g. proteins, nucleic acids) (Pace and Weerapana, 2014; Mocchegiani et al., 2006; Twomey et al., 2005). Thus, chemical forms of selenium compounds may be inorganic (selenite and selenate) and organic; the latter include low molecular weight selenoaminoacids (selenocysteine, selenomethionine) and specific selenoproteins (selenoprotein P, glutathione peroxidase, thioredoxin reductase, etc.) (Abuelo et al., 2016).

These selenium compounds are absorbed in different ways and have different effects on the body (Muñiz-Naveiro et al., 2007). Many trace elements can compete for ligands and be antagonistic like zinc and copper, thereby disrupting body functions (Sandstead, 1995; Miroshnikov et al., 2022). Thus, a deficiency of trace elements in an animal organism can be caused not only by the lack of a particular element in the diet but also by the competition between different elements for metal-binding (chelating) agents, especially amino acids (García-Vaquero et al., 2011). It has been shown that amino acid-chelated trace elements are transported by amino acid transporters, so they do not bind to metal transporters, are not affected by antagonists, and are readily absorbed to enter the bloodstream (Stark, 2020).

Literature research has shown a lack of studies aiming to assess the effect of elemental correction through supplying essential elements combined with limiting amino acids, in particular methionine, on meat production and physiological parameters of cattle exhibiting imbalances in chemical elements. Besides that, the data on how this correction impacts the qualitative characteristics of the longissimus dorsi muscle, which most accurately reflects the overall muscle quality of the entire carcass (Kuranov, Khrutskaya, 1972), is extremely scarce. Despite the availability of open source data on the effects of chelated forms of trace elements on the production traits of beef steers, they did not consider standard concentrations of chemical elements in blood (Kharlamov et al., 2024).

In view of all that, we aimed to evaluate the effects of feeding selenium and zinc supplements in combination with methionine on the elemental status and production traits of Aberdeen-Angus bulls exhibiting imbalance in selenium and zinc in the body. To achieve this aim, we evaluated the effect of elemental status correction on (i) the content of chemical elements in the blood serum,

(ii) antioxidant status and lipid peroxidation indicators in the blood serum, (iii) meat production and meat quality indicators obtained at slaughter at 18 months of age, and (iv) mineral, amino acid and fatty acid composition of the longissimus dorsi muscle.

Materials and methods

The studies were carried out on Aberdeen-Angus bulls (age – 15 months; n=36) with identified deficiency of Zn and Se in their serum. All animals were physiologically healthy and gained at least 1000 g/day during the rearing and fattening period from 8 to 15 months. The animals were kept on a leash in fixed premises. For research, the bulls were divided into three groups: control (n=12) and two experimental groups (n=12). In Group I, the main animal diet was supplemented with commercial preparations of Zn and Se: Plexomin Se 2000 (Phytobiotics Futterzusatzstoffe GmbH, Germany) at a dosage of 2 g/head·day and Plexomin Zn 26 (Phytobiotics Futterzusatzstoffe GmbH, Germany) at a dosage of 1.5 g/head·day. The animals in Group II received the same supplements at similar dosages, but in combination with methionine supplied as the product ‘MenoMet’ (MISMA, Russia) at a rate of 25 g/head·day. The control group received a basic diet without any additives. The duration of experimental feeding was 90 days.

Plexomin Se 2000 is a feed additive designed to enrich the feed of farm animals with selenium. Plexomin Se 2000 contains at least 2000 mg/kg of selenium as part of selenium-containing inactivated yeast culture *Saccharomyces cerevisiae*. The content of harmful impurities does not exceed the maximum by the standards applied in the Russian Federation. Plexomin Zn 26 is a feed additive designed to enrich the diets of farm animals with zinc. One kilogram of Plexomin Zn 26 contains at least 26 % zinc. ‘MenoMet’ provides methionine resistant to the

aggressive environment of the fore stomach, which is absorbed in the small intestine. Its active ingredient is DL-methionine with an activity of at least 45 %. The doses of the elements and amino acids added to the diet to correct nutritional imbalances were calculated based on the producers' guidelines. The composition of the main ration was identical and complied with the feeding standards established for bulls during the fattening period of 15 to 18 months (National Academies of Sciences, Engineering, and Medicine, 2016).

Blood samples were collected from all animals (n=36) at 15 months of age and before slaughter at 18 months of age. Blood was collected from the caudal vein into vacuum tubes with a coagulation activator supplied by Hebei Xinle Sci&Tech Co. Ltd in the morning. Three tubes (9 ml) were collected from each animal. Blood serum was separated by centrifugation of samples for 10 min at a speed of 1000 rpm. The serum was frozen at a temperature of -18°C and stored until the analysis. The enzyme activities of superoxide dismutase and catalase were determined by the rate of hydrogen peroxide loss in the incubation medium (Engelbrecht et al., 2023). The concentration of hydrogen peroxide was determined by the reaction with ammonium molybdate (Fedotov, 1965). Malondialdehyde content was assessed by a spectrophotometric method using the reaction with thiobarbituric acid (Aguilar Diaz De Leon, Borges, 2020).

An analysis of the content of essential and toxic metals (Na, Mg, P, K, Ca, Mn, Co, Cu, Cr, Fe, Zn, Se, B, Ni, Ga, Ag, In, Ba, Tl, Bi, Al, Sr, Cd, Hg, Pb, As) was carried out by inductively coupled plasma mass spectrometry using the Dynamic Reaction Cell technology (ICP-DRC-MS) on a NexION300D instrument (PerkinElmer Inc., USA) equipped with an ESI automatic dispenser SC-2 DX4 (Elemental Scientific Inc., USA). When describing the results of chemical

analysis, we followed the classification of chemical elements proposed by Barashkov G.K. (2011). Application of the Dynamic Reaction Cell technology in the analysis allowed for a reduction in interferences without loss of sensitivity. Calibration was performed using Universal Data Acquisition Standards reagent kits (PerkinElmer Inc.) at final concentrations of 0.5, 5, and 50 $\mu\text{g}/\text{mL}$. To stabilize and retain ions of certain elements (As, Cd, Co, Cr, Cu, Mn, Pb, Se, Tl, Zn, Ba, Bi, Hg, Ni), 1-butanol (Merck KGaA), Triton X-100 (Sigma-Aldrich, Co.), tetramethylammonium hydroxide (Alfa-Aesar, USA), and EDTA (Sigma-Aldrich, Co) were added to all standard solutions at final concentrations 7.5 %, 0.75 %, 0.019 %, and 0.019 %, respectively. Due to incomplete substrate matrix matching, internal online standardization was performed throughout all analyzes using a pure yttrium (Y) and rhodium (Rh) single-element standard (PerkinElmer Inc.). Yttrium was used for internal standardization of lighter elements (with a lower atomic mass), rhodium for elements with a higher atomic mass. The detection limits according to the 3σ criterion were in the range from 2 to 6 ng/dm^3 over the entire mass range.

Average daily gain of steers was calculated according to the formula:

$$A = \frac{W_0 - W_1}{t} \times 1000,$$

where A – average daily gain (g); W_0 – live weight of the animal at the beginning of the experiment (kg); W_1 – live weight of the animal at the end of the experiment (kg); t – duration of the experiment (days).

The bulls were slaughtered at 18 months of age (State Standard 34120–2017, 2020). Pre-slaughter live weight was determined by individual weighing of animals after 24 hours of starvation. Hot carcass weight and internal fat weight were determined after slaughter. Based on

the results obtained, carcass yield and slaughter yield were calculated according to the following formulas:

$$\text{Carcass yield, \%} = \frac{\text{HCW}}{\text{PSW}} \times 100,$$

where HCW – hot carcass weight, kg; PSW – pre-slaughter weight, kg

$$\text{Slaughter yield, \%} = \frac{\text{HCW} + \text{IFW}}{\text{PSW}} \times 100,$$

where HCW – hot carcass weight; IFW – internal fat weight; PSW – pre-slaughter weight.

Then the carcasses were cooled for 48 hours at a temperature of + 4 °C, weighed again and the cold carcass weight was determined. After that, the flesh was separated from bones, tendons and ligaments, all carcass parts were weighted, and their yields were calculated.

Based on the obtained data, the ratios of edible and non-edible carcass components were calculated according to the following formulas:

$$\text{Flesh to bone ratio} = \frac{\text{FW}}{\text{BW}},$$

where FW – flesh weight, kg; BW – bone weight, kg

$$\begin{aligned} \text{Flesh to bone and connective tissue ratio} &= \\ &= \frac{\text{FW}}{\text{BW} + \text{TLW}}, \end{aligned}$$

where FW – flesh weight, kg; BW – bone weight, kg; TLW – tendon and ligament weight, kg.

The flesh of the left half-carcasses was passed through an industrial meat grinder. The resulting minced meat was mixed well, and five samples from different parts of the mixture were collected and combined into one average meat sample (400 grams) (Kuranov, Khurtskaya, 1972). From the same half-carcass, before deboning, a sample (200 g) of the longissimus dorsi muscle was taken in cross section from the back at the level of the 9th to 11th ribs.

The moisture content in carcass flesh was determined according to State Standard 33319–2015 by drying the samples in an oven at 100 °C (SPU ShS-80–01, Russia), pH – according to State Standard 51478–99. Fat was determined according to State Standard 23042–2015, protein – according to State Standard 25011–2017, ash – according to State Standard 31727–2012 by ashing the dried sample at 550 °C.

To determine the water-holding capacity (WHC), the prepared samples weighing 5.00 ± 0.01 g were evenly applied with a glass rod to the inner surface of a 10 ml centrifuge tube (Antipova et al., 2001). The tube was tightly closed with a stopper and placed in a water bath with the narrow part facing down and kept at a boiling point for 15 minutes. The mass of the released moisture was calculated by the number of divisions on the scale of the test tube. The WHC of the samples, %, was determined by the formula:

$$\text{WHC} = \text{M} - \text{MRA},$$

where M – mass fraction of moisture in the sample, %, MRA – moisture-releasing ability of meat, %.

The mass fraction of moisture in the samples (M) was determined using State Standard R51479–99. The process involved dehydrating the sample until it reached a stable weight at a temperature of (103 ± 2) degrees Celsius. The difference in weight before and after the drying procedure was calculated.

The moisture-releasing ability (MRA) of the samples was determined by the formula:

$$\text{MRA} = \frac{a}{m} \times 100,$$

where a – amount of moisture released, ml; m – weight of the sample, g

Energy value of flesh was determined according to the formula of V.M. Alexandrov (1951):

Energy value of 1 kg of flesh,

$$MJ = ((P \times 4.1) + (F \times 9.3)) \times 0.04187,$$

where P – protein, %; 4.1 – coefficient for protein; F – fat, %; 9.3 – coefficient for fat; 0.04187 – conversion coefficient from kcal to MJ

To determine the amino acid composition of the longissimus dorsi muscle, arginine, lysine, tyrosine, phenylalanine, histidine, leucine and isoleucine, methionine, valine, proline, threonine, serine, alanine, glycine, oxyproline, tryptophan contents were measured. Test samples were subjected to acid or alkaline (only for the determination of tryptophan) hydrolysis at a temperature of 110 °C for 14–16 hours. At the end of the acid hydrolysis, the samples were filtered (blue ribbon filters, Melior XXI LLC, Russia). No filtration was performed after alkaline hydrolysis. The hydrolysates were mixed with reagents (sodium carbonate, JSC Bashkir Soda Company, Russia; phenylisothiocyanate, Shandong Hailan Chemical Industry Co., Ltd, China), then evaporated to dryness in a stream of warm air at a temperature of 60–70 °C. The dry residue was diluted in distilled water (0.5 ml) and centrifuged (5 min, 5000 rpm). The resulting supernatant liquid was studied by capillary electrophoresis using the Kapel system (Lumex-Marketing LLC, Russia; State Standard 55569–2013). Tryptophan content was determined according to State Standard R70149–2022, oxyproline – according to State Standard 23041–2015.

The fatty acid composition of the longissimus dorsi muscle was determined by gas-liquid chromatography on a 'Kristall-4000 Lux' chromatograph (Russia).

Analyses were carried out at the shared facilities of the Federal Research Centre for Biological Systems and Agricultural Technologies of the Russian Academy of Sciences, Orenburg.

The normality of the data distribution was assessed using the Shapiro-Wilk method. It was

found that the data followed a normal distribution; therefore the reliability of the differences was evaluated using the Student's T-test. The significance level (P) was accepted as less than or equal to 0.05. The tables show the average values of the indicators and the errors of the arithmetic averages. The Statistica 10.0 application package was used for data processing.

Results and discussion

To form groups of purebred Aberdeen-Angus bulls with established imbalances in chemical elements, we conducted preliminary research to assess the elemental status of beef cattle raised on three farms located in Orenburg Oblast and Samara Oblast (Russia). The data on concentrations of chemical elements in the serum were compared with previously established standards for highly productive Aberdeen-Angus bulls (Zavyalov et al., 2024). The criterion for including animals into the study sample was the established deficiency in essential marker elements (Mn, Zn, Se, Cu) in the serum associated with production qualities of fattening young animals (Zavyalov et al., 2023). It was found that the entire micropopulation of bulls raised in the Peasant (Farm) Enterprise of Kyaram Naboyan (Samara Oblast) was deficient in Zn and Se. This fact determined the choice of the location for the experiment.

A preliminary assessment of the element profiles of the serum from bulls aged 15 months revealed that the concentrations of Zn and Se were below the physiological norm; an excess of the toxic element Pb was identified (Zavyalov et al., 2024) (Table 1).

An analysis of the element profiles of the serum obtained from bulls aged 18 months showed that feeding animals in Group I with the Zn + Se mineral complex resulted in a significant increase in the levels of Se and Zn by 21.6 (P≤0.05) and 11.5 % (P≤0.05), respectively. This fact confirms

Table 1. Chemical elements contents in the blood serum of Aberdeen-Angus bulls, mg/L

Elements	Start of experiment	End of experiment			Physiological standard****
		Control	Group I	Group II	
Essential elements					
Na	3272.3±23.17	3309.1±25.51	3277.3±25.13	3304.3±24.28	3235–3339
Mg	21.29±0.488	21.98±0.373	22.04±0.425	23.03±0.447*	21.42–23.07
P	94.4±1.59	99.0±2.24	96.7±1.81	96.6±2.34	92.28–101.60
K	210.9±3.95	209.3±2.84	211.4±3.99	208.8±2.73	202.3–216.9
Ca	122.1±2.15	122.8±1.95	123.9±2.31	127.0±1.11*	119.9–126.7
Mn	0.040±0.0011	0.038±0.0074	0.031±0.0022*	0.045±0.0014*	0.0376–0.0456
Co	0.0087±0.00035	0.0087±0.00041	0.0088±0.00043	0.0085±0.00033	0.0079–0.0094
Cu	0.532±0.0186	0.541±0.0289	0.481±0.0126*	0.580±0.0132	0.513–0.638
Cr	0.0540±0.00244	0.0504±0.00179	0.0512±0.00228	0.0532±0.00212	0.0469–0.0575
Fe	4.39±0.159	4.48±0.599	3.83±0.214*	4.79±0.105*	3.62–4.83
Zn	0.739±0.0261	0.691±0.0216	0.824±0.0197*	0.971±0.0172**	0.815–0.968
Se	0.0356±0.00148	0.0335±0.00155	0.0433±0.00305*	0.0587±0.00305***	0.0414–0.0601
Conditionally essential elements					
B	0.693±0.1051	0.706±0.0863	0.732±0.0827	0.666±0.1064	0.484–0.776
Ni	0.139±0.0033	0.139±0.0072	0.141±0.0070	0.149±0.0024*	0.127–0.157
Ga	0.0070±0.00019	0.0070±0.00017	0.0070±0.00019	0.0074±0.00018	0.0066–0.0074
Ag	0.0018±0.00032	0.0014±0.00036	0.0016±0.00032	0.0016±0.00037	0.0009–0.0018
In	0.0215±0.00053	0.0216±0.00056	0.0219±0.00054	0.0212±0.00052	0.0229–0.0275
Ba	0.0839±0.00528	0.0821±0.00421	0.0793±0.00549	0.0868±0.00352	0.0705–0.0960
Tl	0.0004±0.00009	0.0005±0.00005	0.0004±0.00005	0.0005±0.00008	0.0003–0.0005
Bi	0.0031±0.00058	0.0025±0.00049	0.0032±0.00062	0.0023±0.00041	0.0015–0.0039
Toxic elements					
Al	1.4±0.216	1.4±0.358	1.2±0.209	1.6±0.349	0.902–1.710
Sr	0.253±0.0010	0.241±0.0072	0.246±0.0075	0.249±0.0101	0.221–0.267
Cd	0.0029±0.00017	0.0032±0.00018	0.0032±0.00015	0.0029±0.00019	0.0029–0.0033
Hg	0.215±0.0986	0.201±0.0537	0.211±0.0539	0.205±0.0986	0.0619–0.2610
Pb	0.0281±0.00111	0.0290±0.00131	0.0241±0.00131*	0.0229±0.00112*	0.0084–0.0186
As	0.0554±0.00394	0.0568±0.00379	0.0558±0.00422	0.0564±0.00349	0.0476–0.0636

Note: * P0.05; ** P0.01; *** P0.001 compared to the control group (Student's T-test)

Feeding regimen: control (n=12) – basic diet; Group I (n=12) – basic diet + Zn, Se; Group II (n=12) – basic diet + Zn+Se+Met

**** The reference intervals are presented according to the data published by Zavyalov et al. (2024)

the hypothesis that the elemental composition of blood serum is primarily determined by the intake of minerals in the diet. Similar results were obtained in previous studies, which reported an increase in Se content in the serum of cattle when fed selenium-fortified cereals (Żarczyńska et al., 2013) and complexes containing Se in organic

and inorganic forms (Juniper et al., 2008). At the same time, a comparison of the results with the reference interval limits showed that, despite a significant increase in Se and Zn levels in blood serum, their concentrations – although within the physiological norm – remained close to the lower limit. Furthermore, a decrease in the levels

of several essential elements was observed. Specifically, Mn content decreased by 22.5 % ($P \leq 0.05$), Cu by 9.6 % ($P \leq 0.05$), Fe by 12.8 % ($P \leq 0.05$). Conversely, in the control and Group II animals there was no decrease in the level of these elements. Considering that no element in the body acts in isolation and that its influence on metabolic processes in the body is determined by the intensity of element interactions, the reduced concentrations of these elements in Group I may have resulted from the increased intake of Se and Zn supplied in the mineral complex.

The observed pattern may also reflect the antagonistic relationships between elements (Miroshnikov, Zavyalov, 2020; Georgievsky et al., 1979). As stated above, many trace elements can compete for ligands and be antagonistic like Zn and Cu, thereby interfering with body functions (Sandstead, 1995; Miroshnikov et al., 2022). The deficiency of trace elements in animals may, therefore, be caused not only by the lack of specific elements in the diet but also by the competition between different elements for metal-binding (chelating) agents, particularly amino acids (García-Vaquero et al., 2011). This hypothesis is indirectly confirmed by the data on the elemental composition of the serum from the animals in Group II that received Se and Zn complemented with methionine. Thus, it was found that inclusion of the Zn+Se+Met complex was accompanied by an increase in the concentrations of Mn by 18.1 % ($P \leq 0.05$), Cu by 7.2 %, Fe by 6.9 % ($P \leq 0.05$) as compared to the control group, while the difference compared to the animals of Group I was even higher and amounted to 44.1 % for Mn ($P \leq 0.01$), 20.6 % for Cu ($P \leq 0.01$) and 25.1 % for Fe ($P \leq 0.01$). Based on the above results, it can be assumed that methionine is a common ligand for all examined elements (Se, Zn, Cu, Mn and Fe).

Regarding the limiting elements, the corrective treatment not only significantly

increased Zn and Se levels in the serum by 31.5 ($P \leq 0.05$) and 64.9 % ($P \leq 0.001$), respectively, but also normalized their concentrations relative to the physiological standard (Zavyalov et al., 2024). Another interesting result was that while the upper limit of the physiologically normal concentration of Pb (0.0186 mg/l) (Zavyalov et al., 2024) exceeded by 51.1 % at the start of the experiment, it dropped to 14.2 % ($P < 0.05$) and 18.5 % ($P < 0.05$) in Groups I and II, respectively, after supplementing the diet with the tested complexes. This pattern can be explained based on previous studies that have demonstrated a significant inverse correlation between Pb levels and concentrations of other chemical elements in different body tissues (blood, bone tissue), as shown for Ca (Hwang et al., 2001), Mg, Fe (Lidsky and Schneider, 2003), Zn (Patra et al., 2008), Se (Wang et al., 2012) and Co and Cu (López Alonso et al., 2004). It can be inferred that the decrease in Pb concentrations in the blood serum of animals in Groups I and II is a natural outcome resulting from the competitive effects of Se and Zn on Pb metabolism. Moreover, the excess of Pb in the body partly accounts for the deficiency of Se and Zn in animals fed on a standard diet assumed to be balanced in essential micronutrients prior to start of the experiment.

The use of trace element complexes had a positive effect on the production traits of bulls in the final fattening period (Fig. 1). In particular, it was found that in terms of average daily gains over the period from 15 to 18 months, bulls in Groups I and II outperformed animals in the control group by 5.9 ($P \leq 0.05$) and 8.4 % ($P \leq 0.05$), respectively. The data obtained in our experiment are generally consistent with the results of earlier studies and can be explained by the fact that Zn deficiency negatively affects the immunity of animals by impairing the migration of neutrophils and macrophages, which leads to inhibition of the phagocytosis function. In addition, zinc status

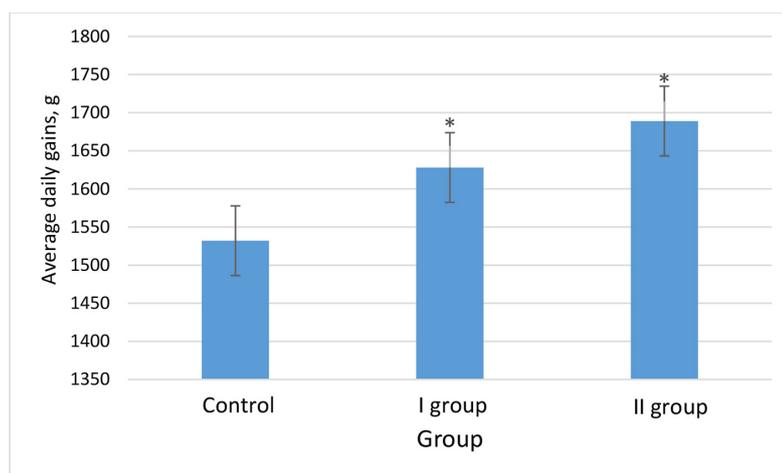


Fig. 1. Average daily gains of Aberdeen-Angus bulls during the final fattening period (15–18 months). * P0.05 compared to the control group (Student's T-test). Feeding regimen: control (n=12) – basic diet; Group I (n=12) – basic diet + Zn, Se; Group II (n=12) – basic diet + Zn+Se+Met

plays an important role in regulation of hormone synthesis, in particular, in the production of testosterone, which is necessary for animal growth and male reproductive function (Sobhanirad et al., 2010; Enjalbert et al., 2006). Some authors suggest that Zn promotes animal growth by functioning as a cofactor for insulin, transcription factors and metabolic enzymes (Hedemann et al., 2006; Maret, 2013). Zinc also plays an important role in the macrophage synthesis of nitric oxide, which is an important molecule for killing pathogenic bacteria. Zn supplementation has been shown to reduce *Enterobacteriaceae* and increase acetate and butyrate levels, thereby improving gut function, which has a positive effect on livestock performance (Wo et al., 2022; Hou et al., 2023). Selenium is an integral component of selenoproteins involved in a variety of physiologically important processes (Mehdi and Dufrasne, 2016). It is also crucial for thyroid hormone metabolism and functions as key regulators of growth, development and differentiation. Se metabolic pathways involve numerous proteins, including metallothioneins (Horky et al., 2012), which play a role in detoxification of heavy metals. Se deficiency in

young beef cattle manifests itself in the white muscle disease or nutritional muscular dystrophy. Clinical symptoms include weakness and muscle cramps (Radostits et al., 2000). The disease involves hyaline degeneration of muscle cells in various skeletal muscles, including the diaphragm and heart (Sobiech and Kuleta, 1999). Insufficient Se status is associated with poor health due to infectious diseases in young animals and the development of acute heart failure (Enjalbert et al., 2006).

However, one of main properties through which Se and Zn indirectly affect cattle productivity is their ability to lower oxidative stress by participating in the antioxidant defense system. Zinc has been identified as a potent antioxidant, serving as a structural component of superoxide dismutase (Zn-SOD), an enzyme found in the cytosol and mitochondrial intermembrane space that converts superoxide radicals (O_2^-) to hydrogen peroxide (H_2O_2) (Bonaventura et al., 2015). Selenium also has antioxidant properties directly associated with the activity of enzymes such as superoxide dismutase and catalase (Schnabel et al., 2008). The development of oxidative stress via the accumulation of reactive oxygen species

leads to a depletion of antioxidant defenses. Consequently, the antioxidant responses of bulls to oxidative stress require energy that could otherwise be used for growth and development (Sordillo and Aitken, 2009).

In our study, the reduction of oxidative stress in animals in Groups I and II is confirmed by a significant decrease in the level of malondialdehyde, one of the most reliable and widely used markers of oxidative stress in animals (Table 2). The inclusion of the Zn+Se and Zn+Se+Met complexes resulted in a decrease in serum malondialdehyde levels by 9.1 ($P \leq 0.05$) and 14.5 % ($P \leq 0.01$), respectively. This decrease occurred alongside increased activity levels of primary antioxidant defense enzymes: superoxide dismutase, which increased by 8.6 % ($P \leq 0.05$) and 12.5 % ($P \leq 0.01$), and catalase,

which increased by 5.3 % and 11.4 % ($P \leq 0.05$) as compared to the control.

The results of control slaughter of experimental bulls at the age of 18 months showed that the elemental status correction had a significant impact on meat production indicators (Table 3). Bulls in the control group were inferior to the animals receiving a complex of trace elements without methionine and the Zn+Se+Met complex in pre-slaughter live weight by 1.9 % ($P \leq 0.05$) and 2.4 % ($P \leq 0.05$), hot carcass weight by 2.1 % ($P \leq 0.05$) and 2.9 % ($P \leq 0.01$), sum of hot carcass weight and internal fat weight by 2.0 % ($P \leq 0.05$) and 2.6 % ($P \leq 0.05$), respectively.

It is widely recognized that an increase in total weight does not give a comprehensive understanding of the ratio between edible and inedible parts of the carcass. As the animal grows

Table 2. Indicators of antioxidant status and lipid peroxidation in the serum of experimental Aberdeen-Angus bulls

Indicators	Control	Group I	Group II
Malondialdehyde, μM	37.65 \pm 0.868	34.21 \pm 0.915*	32.18 \pm 0.755**
Superoxide dismutase, units/mg protein	39.83 \pm 0.990	43.24 \pm 1.012*	44.81 \pm 1.073**
Catalase, units/mg protein	37.21 \pm 0.814	39.19 \pm 1.241	41.47 \pm 1.153*

Note: * $P \leq 0.05$; ** $P \leq 0.01$ in comparison with control group (Student's T-test)

Feeding regimen: control (n=12) – basic diet; Group I (n=12) – basic diet + Zn, Se; Group II (n=12) – basic diet + Zn+Se+Met

Table 3. Control slaughter data for Aberdeen-Angus bulls

Indicators	Control	Group I	Group II
Pre-slaughter weight (PSW), kg	558.7 \pm 3.52	569.4 \pm 3.27*	572.6 \pm 3.72*
Hot carcass weight (HCW), kg	321.3 \pm 1.98	328.1 \pm 2.33*	330.9 \pm 2.15**
Carcass yield, %	57.52 \pm 0.283	57.63 \pm 0.305	57.79 \pm 0.215
Internal fat weight (IFW), kg	16.32 \pm 0.198	16.41 \pm 0.277	15.73 \pm 0.261
Internal fat yield, %	2.92 \pm 0.135	2.88 \pm 0.153	2.74 \pm 0.124
HCW+IFW, kg	337.6 \pm 2.05	344.5 \pm 1.90*	346.6 \pm 1.88*
Slaughter yield, %	60.43 \pm 0.352	60.51 \pm 0.299	60.54 \pm 0.357

Note: * $P \leq 0.05$; ** $P \leq 0.01$ in comparison with the control group (Student's T-test)

Feeding regimen: control group (n=12) – basic diet; Group I (n=12) – basic diet + Zn, Se; Group II (n=12) – basic diet + Zn+Se+Met

and develops, there is a significant change not only in the total amount of muscle, fat and bone tissue, but also in their ratios. For this reason, it was necessary to study the morphological characteristics of animal carcasses, which largely reflects their meat qualities. Studying the morphological characteristics of steer carcasses among the studied groups revealed a general tendency toward increase in both absolute and relative indicators characterizing their nutritional value (Table 4). Namely, the correction of the elemental status of bulls by the Zn+Se+Met

complex was accompanied by a significant increase in the cold carcass weight by 5.1 % ($P \leq 0.05$), flesh weight by 5.5 % ($P \leq 0.05$), bone weight in the carcass by 3.2 % ($P \leq 0.05$). No similar changes were observed when corrected with a complex of trace elements without methionine.

The composition of the average minced meat samples obtained from the carcasses of bulls exhibited significant differences (Table 5). Feeding the Zn+Se+Met complex (Group II) produced a maximum effect on the chemical composition of the average meat sample. The

Table 4. Morphological characteristics of the carcass of Aberdeen-Angus bulls

Indicators	Control	Group I	Group II
Cold carcass weight, kg	311.8±3.49	317.9±3.19	327.8±3.65*
Flesh weight (FW), kg	249.7±2.79	255.1±2.55	263.4±3.12*
Flesh yield, %	80.12±0.314	80.24±0.283	80.35±0.244
Bone weight (BW), kg	55.71±0.675	56.19±0.524	57.52±0.692*
Bone yield, %	17.86±0.121	17.67±0.113	17.55±0.155
Tendon and ligament weight (TLW), kg	6.39±1.784	6.61±1.592	6.88±1.455
Tendon and ligament yield, %	2.05±0.174	2.08±0.168	2.18±0.194
FW / BW	4.48±0.130	4.54±0.136	4.58±0.125
FW / (BW+TLW)	4.02±0.121	4.06±0.148	4.09±0.151

Note: * P0.05 in comparison with the control group (Student's T-test)
Feeding regimen: control (n=12) – basic diet; Group I (n=12) – basic diet + Zn, Se; Group II (n=12) – basic diet + Zn+Se+Met

Table 5. Nutritional properties of an average meat sample of Aberdeen-Angus bulls

Indicators	Control	Group I	Group II
Dry weight, %	33.28±0.153	33.70±0.131*	34.46±0.232**
Protein, %ww	19.51±0.144	19.74±0.192	20.01±0.158*
Fat, %ww	12.85±0.161	13.01±0.172	13.33±0.153*
Ash, %ww	0.920±0.0743	0.952±0.0852	1.120±0.0881
Protein per carcass, kg	48.73±1.182	50.35±0.951	52.70±1.393*
Fat per carcass, kg	32.09±0.374	33.18±0.313	35.11±0.397**
Energy value of 1 kg of flesh, MJ	8.35±0.072	8.45±0.064	8.63±0.085*
Energy value of the entire carcass flesh, MJ	2086.1±18.01	2156.3±23.04*	2271.5±29.02**

Note: * P0.05; ** P0.01 in comparison with the control group (Student's T-test)
Feeding regimen: control (n=12) – basic diet; Group I (n=12) – basic diet + Zn, Se; Group II (n=12) – basic diet + Zn+Se+Met

effects included a significant increase in the dry weight by 1.18 % ($P \leq 0.01$), protein by 0.50 % ($P \leq 0.05$) and fat by 0.48 % ($P \leq 0.05$) compared to control. When recalculated per carcass, the difference from the control group was more significant: 8.1 % ($P \leq 0.05$) more protein and 9.4 % ($P \leq 0.01$) more fat. This enhancement resulted in a superior energy value of 1 kg of flesh and total carcass flesh, which were higher by 3.4 ($P \leq 0.05$) and 8.9 % ($P \leq 0.01$), respectively. The comparison between the control and Group I (Zn+Se complex without methionine) revealed a significant difference only in the dry weight and energy value of the carcass flesh, which were 0.42 ($P \leq 0.05$) and 3.4 % ($P \leq 0.05$), respectively, favouring the group that consumed the Zn+Se complex.

In terms of chemical composition of the carcass, special attention was paid to examining individual muscles. As a rule, the longissimus dorsi muscle is analyzed, which more accurately reflects the qualitative characteristics of the muscle tissue of the entire carcass (Kuranov, Khrutskaya, 1972). The chemical composition of the longissimus dorsi muscle of Aberdeen-Angus bulls in the studied groups is presented in Table 6. An analysis of the obtained data showed that the bulls receiving a complex of trace elements in combination with methionine (Group II) were superior to the animals from the control group in terms of dry weight by 1.3 % ($P \leq 0.01$), protein by 0.62 % ($P \leq 0.05$) and fat by 0.34 % ($P \leq 0.05$). In

turn, bulls receiving the mineral complex without the inclusion of amino acids (Group I) showed a 0.47 % ($P \leq 0.05$) increase in dry weight only.

The element profiles of the longissimus dorsi muscle also changed significantly under the influence of the tested complexes (Table 7), typically in proportion to the changes in blood elemental composition. In particular, it was found that muscle samples obtained from animals in Group II contained more essential and conditionally essential elements: Ca, Cu, Fe, Zn, Se, I, Ni, In, Tl. The longissimus dorsi muscle of animals in Group I contained more Zn and Se; it was registered along with relatively low concentrations of Mn and Cu. The muscle samples from both experimental groups showed a consistent trend toward a significant decrease in the concentrations of toxic Al and Pb. Considering the similar data obtained for blood serum (Table 1), we can regard Zn and Se supplements as potential antidotes to excessive intake of Al and Pb in beef bulls.

The nutritional value of meat is largely determined by amino acid and fatty acid composition. In this regard, a complete description of meat quality requires assessing these indicators. Our experiment established that the amino acid composition of meat was affected by the fed mineral complexes and differed from the control (Table 8). In the bulls receiving the Zn+Se complex, the longissimus dorsi muscle contained more amino acids: phenylalanine by

Table 6. Nutritional properties of the longissimus dorsi muscle of Aberdeen-Angus bulls

Indicators	Control	Group I	Group II
Dry weight, %	25.31±0.119	25.78±0.148*	26.56±0.183**
Protein, %ww	22.14±0.222	22.37±0.187	22.76±0.195*
Fat, %ww	2.22±0.112	2.43±0.124	2.56±0.107*
pH	5.63±0.142	5.54±0.093	5.45±0.085
Water-holding capacity of meat, %	54.23±0.512	54.64±0.430	54.51±0.354

Note: * P0.05; ** P0.01 in comparison with the control group (Student's T-test)

Feeding regimen: control (n=12) – basic diet; Group I (n=12) – basic diet + Zn, Se; Group II (n=12) – basic diet + Zn+Se+Met

Table 7. Chemical element contents in the longissimus dorsi muscle of Aberdeen-Angus bulls, µg/g

Indicators	Control	Group I	Group II
Essential elements			
Na	2989.3±11.99	2946.6±17.31*	2952.8±16.02*
Mg	1097.4±16.01	1087.4±13.87	1069.9±20.85
P	8637.8±135.81	8501.1±128.04	8326.5±204.25
K	15801.1±352.32	15568.9±307.57	15317.4±518.74
Ca	295.1±7.37	319.6±13.23	347.8±19.05*
Mn	0.877±0.0119	0.795±0.0278*	1.170±0.2660
Co	0.0211±0.00180	0.0227±0.00310	0.0238±0.00421
Cu	3.02±0.0245	2.88±0.0451*	3.31±0.0442*
I	0.318±0.0075	0.366±0.0254	0.435±0.0402*
Cr	2.09±0.207	2.15±0.114	2.18±0.121
Fe	200.5±6.79	181.2±9.53	224.1±9.89*
Zn	225.1±2.22	241.3±2.65*	243.5±1.78**
Se	0.675±0.0318	0.815±0.0455*	0.926±0.0633**
Conditionally essential elements			
B	1.62±0.043	1.48±0.023	1.57±0.019
Ni	0.619±0.0725	0.816±0.0981	0.992±0.1010*
Ga	0.012±0.0021	0.014±0.0020	0.013±0.002
Ag	0.009±0.0032	0.007±0.0022	0.006±0.0005
In	0.002±0.0001	0.002±0.0001	0.003±0.0002*
Ba	0.111±0.0092	0.110±0.0053	0.105±0.0053
Tl	0.022±0.0003	0.023±0.0004	0.024±0.0004*
Bi	0.006±0.0002	0.006±0.0003	0.006±0.0005
Toxic elements			
Al	33.94±2.401	26.89±2.113*	24.75±1.882*
Sr	0.465±0.0638	0.446±0.0324	0.424±0.0172
Cd	0.004±0.0002	0.004±0.0002	0.003±0.0002*
Pb	0.090±0.0066	0.068±0.0059*	0.065±0.0016**
As	0.035±0.0025	0.027±0.0041	0.028±0.0034

Note: * P0.05; ** P0.01 in comparison with control group (Student's T-test)

Feeding regimen: control (n=12) – basic diet; Group I (n=12) – basic diet + Zn, Se; Group II (n=12) – basic diet + Zn+Se+Met

0.14 % ($P \leq 0.05$), methionine by 0.12 % ($P \leq 0.05$), valine by 0.11 % ($P \leq 0.05$), alanine by 0.11 % ($P \leq 0.05$). The difference in amino acid content in the longissimus dorsi muscle in the bulls receiving the Zn+Se+Met complex was even more pronounced, with notable increases of 0.49 % ($P \leq 0.01$) for arginine, 0.27 % ($P \leq 0.05$) for phenylalanine, 0.25 % ($P \leq 0.001$) for methionine, 0.12 % ($P \leq 0.05$) for valine, 0.22 % ($P \leq 0.01$)

for alanine, 0.32 % ($P \leq 0.05$) for glycine, and 2.9 % ($P \leq 0.05$) for tryptophan. To gain a more comprehensive understanding of the nutritional value of meat from the bulls in our experiment, we calculated the protein quality indicator, which is assessed by the ratio of the essential amino acid tryptophan to oxyproline. We found that the protein quality indicator for the longissimus dorsi muscle from the bulls of experimental group II was

Table 8. Amino acid contents in the longissimus dorsi muscle of the Aberdeen-Angus bulls, % dw

Amino acid	Control	Group I	Group II
Arginine	5.30±0.104	5.54±0.126	5.79±0.095**
Lysine	7.22±0.067	7.30±0.080	7.38±0.147
Tyrosine	2.59±0.041	2.63±0.048	2.67±0.091
Phenylalanine	3.09±0.025	3.23±0.036*	3.36±0.099*
Histidine	2.60±0.023	2.60±0.047	2.60±0.102
Leucine+Isoleucine	10.02±0.116	10.16±0.119	10.31±0.190
Methionine	1.93±0.006	2.05±0.056*	2.18±0.024***
Valin	3.89±0.023	4.00±0.041*	4.01±0.030*
Proline	3.62±0.067	3.66±0.070	3.70±0.134
Threonine	3.51±0.019	3.53±0.028	3.54±0.059
Serin	3.23±0.033	3.27±0.038	3.31±0.068
Alanin	5.08±0.018	5.19±0.045*	5.30±0.047**
Glycine	4.06±0.080	4.22±0.085	4.38±0.072*
Tryptophan, mg/%	361.2±3.77	368.5±3.08	371.8±2.99*
Hydroxyproline, mg/%	56.89±0.524	55.26±0.742	55.53±0.507
Protein quality indicator	6.35±0.113	6.67±0.134	6.70±0.118*

Note: * P0.05; ** P0.01; *** P0.001 in comparison with the control group (Student's T-test). Feeding regimen: control (n=12) – basic diet; Group I (n=12) – basic diet + Zn, Se; Group II (n=12) – basic diet + Zn+Se+Met

Table 9. Fatty acid composition (% of total fatty acids) in the longissimus dorsi muscle of the Aberdeen-Angus bulls

Acids	Control	Group I	Group II
Saturated fatty acids (SFAs)			
Palmitic (C _{16:0})	24.09±0.292	22.03±0.303**	21.72±0.375**
Stearic (C _{18:0})	19.78±0.294	19.43±0.234	19.01±0.201*
Myristic (C _{14:0})	2.51±0.078	2.68±0.054	2.75±0.069*
Monounsaturated fatty acids (MUFAs)			
Myristoleic (C _{14:1})	2.98±0.169	3.12±0.157	2.87±0.148
Palmitoleic (C _{16:1})	3.56±0.071	3.41±0.054	3.39±0.072
Oleic (C _{18:1})	42.17±0.422	44.02±0.554*	44.78±0.512**
Polyunsaturated fatty acids (PUFAs)			
Linoleic (C _{18:2})	2.97±0.069	3.22±0.054*	3.31±0.071*
Linolenic (C _{18:3})	0.469±0.0491	0.501±0.0505	0.519±0.0313
Arachidonic (C _{20:4})	1.47±0.036	1.59±0.040	1.65±0.048*

Note: * P0.05; ** P0.01 in comparison with the control group (Student's T-test)

Feeding regimen: control (n=12) – basic diet; Group I (n=12) – basic diet + Zn, Se; Group II (n=12) – basic diet + Zn+Se+Met

significantly higher by 5.5 % (P≤0.05) compared to the same indicator in the control group.

The variability of fatty acid composition in the longissimus dorsi muscle of bulls was largely

determined by feeding the examined additives (Table 9). Thus, feeding the Zn+Se complex to the bulls in Group I was associated with a higher content of oleic and linoleic acids in lipids in the

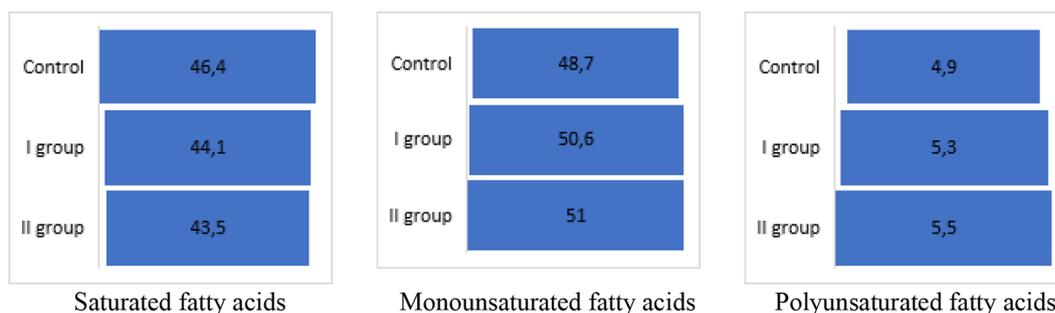


Fig. 2. Total fatty acid content in the longissimus dorsi muscle of Aberdeen-Angus bulls. Feeding regimen: control (n=12) – basic diet; Group I (n=12) – basic diet + Zn, Se; Group II (n=12) – basic diet + Zn+Se+Met

longest muscle tissue compared to the control group. Complementing the mineral complex with methionine increased the synthesis of myristic, oleic, linoleic, and arachidonic acids. In both experimental groups, feeding with the examined complexes was accompanied by a slowdown in the unsaturated palmitic acid synthesis. The difference in the content of some fatty acids determined the differences in total accumulation of unsaturated and polyunsaturated acids in the meat (Fig. 2). A comparative analysis of the data showed that the longissimus dorsi muscle in the bulls from both experimental groups contained 0.4 % ($P<0.05$) and 0.6 % ($P<0.05$) more

polyunsaturated fatty acids and 2.3 % ($P>0.05$) and 2.9 % ($P<0.05$) less saturated fatty acids.

Conclusion

Thus, it can be concluded that to correct effectively the Zn and Se deficiencies in the blood serum of beef bulls, organic forms of these elements combined with methionine can be recommended. This approach yields greater benefits, as evidenced by the significant improvements in meat production and quality. In addition, feeding Zn and Se combined with methionine can be considered as a tool for reducing the levels of toxic elements (Pb, Al) in the blood serum and meat.

References

- Abdelnour S. A., Alagawany M., Hashem N. M., Farag M. R., Alghamdi E. S., Hassan F. U., Bilal R. M., Elnesr S. S., Dawood M. A. O., Nagadi S. A., Elwan H. A. M., Almasoudi A. G., Attia Y. A. (2021) Nanominerals: fabrication methods, benefits and hazards, and their applications in ruminants with special reference to selenium and zinc nanoparticles. *Animals*, 11(7): 1916
- Abuelo A., Alves-Nores V., Hernandez J., Muiño R., Benedito J. L., Castillo C. (2016) Effect of parenteral antioxidant supplementation during the dry period on postpartum glucose tolerance in dairy cows. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 30(3): 892–898
- Aguilar Diaz De Leon J., Borges C. R. (2020) Evaluation of oxidative stress in biological samples using the thiobarbituric acid reactive substances assay. *Journal of Visualized Experiments*, 159: e61122
- Alexandrov V. M. (1951) *Methodology for studying fattening and meat qualities of cattle*. Moscow, 53 p. (in Russian)
- Antipova L. V., Glotova I. A., Rogov I. A. (2001) *Methods for the study of meat and meat products*. Moscow, Kolos, 376 p. (in Russian)

- Barashkov G. K. (2011) *Medical bioinorganics. Fundamentals, analytics, clinic*. Moscow, Binom, 512 p. (in Russian)
- Bonaventura P., Benedetti G., Albarède F., Miossec P. (2015) Zinc and its role in immunity and inflammation. *Autoimmunity Reviews*, 14(4): 277–285
- Engelbrecht I., Horn S., Giesy J. P., Pieters R. (2023) Determining superoxide dismutase content and catalase activity in mammalian cell lines. *MethodsX*, 11: 102395
- Enjalbert F., Lebreton P., Salat O. (2006) Effects of copper, zinc and selenium status on performance and health in commercial dairy and beef herds: Retrospective study. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition*, 90(11–12): 459–466
- Fedotov V. P. (1965) An express method for quantitative analysis of hydrogen peroxide vapors using reactive papers. *Hygiene and Sanitation [Gigiena i sanitariya]*, 9: 61–63 (in Russian)
- García-Vaquero M., Miranda M., Benedito J. L., Blanco-Penedo I., López-Alonso M. (2011) Effect of type of muscle and Cu supplementation on trace element concentrations in cattle meat. *Food and Chemical Toxicology*, 49(6): 1443–1449
- Georgievsky V. I., Annenkov B. N., Samokhin V. T. (1979) *Mineral nutrition of animals*. Moscow, Kolos, 471 p. (in Russian)
- Hedemann M. S., Jensen B. B., Poulsen H. D. (2006) Influence of dietary zinc and copper on digestive enzyme activity and intestinal morphology in weaned pigs. *Journal of Animal Science*, 84(12): 3310–3320
- Horky P., Jancikova P., Sochor J., Hynek D., Chavis G. J., Ruttikay-Nedecky B., Cernei N., Zitka O., Zeman L., Adam V., Kizek R. (2012) Effect of organic and inorganic form of selenium on antioxidant status of breeding boars ejaculate revealed by electrochemistry. *International Journal of Electrochemical Science*, 7(10): 9643–9657
- Hou P., Li B., Wang Y., Li D., Huang X., Sun W., Liang X., Zhang E. (2023) The effect of dietary supplementation with zinc amino acids on immunity, antioxidant capacity, and gut microbiota composition in calves. *Animals*, 13(9): 1570
- Humer E., Kröger I., Neubauer V., Reisinger N., Zebeli Q. (2019) Supplementation of a clay mineral-based product modulates plasma metabolomic profile and liver enzymes in cattle fed grain-rich diets. *Animal*, 13(6): 1214–1223
- Hwang K. Y., Schwartz B. S., Lee B. K., Strickland P. T., Todd A. C., Bressler J. P. (2001) Associations of lead exposure and dose measures with erythrocyte protein kinase C activity in 212 current Korean lead workers. *Toxicological Sciences*, 62(2): 280–288
- Juniper D. T., Phipps R. H., Ramos-Morales E., Bertin G. (2008) Effect of dietary supplementation with selenium-enriched yeast or sodium selenite on selenium tissue distribution and meat quality in beef cattle. *Journal of Animal Science*, 86(11): 3100–3109
- Kharlamov A. V., Frolov A. N., Ilyin V. V. (2024) The influence of feed additives containing organic Zn and Se on productive and hematological parameters of Black Spotted bulls on final fattening. *Animal Husbandry and Fodder Production [Zhivotnovodstvo i kormoproizvodstvo]*, 107(3): 79–88 (in Russian)
- Kuranov Yu. F., Khrutskaya S. F. (1972) *Meat quality assessment (guidelines for laboratory studies)*. Orenburg, Ministry of Agriculture of the USSR, 34 p. (in Russian)
- Lidsky T. I., Schneider J. S. (2003) Lead neurotoxicity in children: Basic mechanisms and clinical correlates. *Brain*, 126(1): 5–19

- López Alonso M., Prieto Montaña F., Miranda M., Castillo C., Hernández J., Luis Benedito J. (2004) Interactions between toxic (As, Cd, Hg and Pb) and nutritional essential (Ca, Co, Cr, Cu, Fe, Mn, Mo, Ni, Se, Zn) elements in the tissues of cattle from NW Spain. *Biometals*, 17(4): 389–397
- Maret W. (2013) Zinc biochemistry: from a single zinc enzyme to a key element of life. *Advances in Nutrition*, 4(1): 82–91
- Mehdi Y., Dufrasne I. (2016) Selenium in cattle: a review. *Molecules*, 21(4): 545
- Miroshnikov S., Zavyalov O., Frolov A., Sleptsov I.I., Sirazetdinov F., Poberukhin M. (2019) The content of toxic elements in hair of dairy cows as an indicator of productivity and elemental status of animals. *Environmental Science and Pollution Research*, 26(18): 18554–18564
- Miroshnikov S. A., Notova S. V., Skalnaya M. G., Sizova E. A., Marshinskaia O. V., Kazakova T. V., Skalny A. V., Michalke B., Ajsuvakova O. P., Tinkov A. A. (2022) Speciation of serum copper and zinc-binding high- and low-molecular mass ligands in dairy cows using HPLC–ICP-MS technique. *Biological Trace Element Research*, 200(2): 591–599
- Miroshnikov S. A., Zavyalov O. A. (2020) Approbation of identification and correction technology for dairy cows elementosis according to hair elemental composition. *Agrarian Bulletin of the Urals [Agrarnyi vestnik Urala]*, 5: 38–50 (in Russian)
- Mocchegiani E., Costarelli L., Giacconi R., Cipriano C., Muti E., Malavolta M. (2006) Zinc-binding proteins (metallothionein and α -2 macroglobulin) and immunosenescence. *Experimental Gerontology*, 41(11): 1094–1107
- Muñiz-Naveiro O., Domínguez-González R., Bermejo-Barrera A., Bermejo-Barrera P., Cocho J. A., Fraga J. M. (2007) Selenium speciation in cow milk obtained after supplementation with different selenium forms to the cow feed using liquid chromatography coupled with hydride generation-atomic fluorescence spectrometry. *Talanta*, 71(4): 1587–1593
- National Academies of Sciences, Engineering, and Medicine* (2016) *Nutrient requirements of beef cattle. Eighth revised edition*. Washington, DC, The National Academies Press
- Pace N. J., Weerapana E. (2014) Zinc-binding cysteines: diverse functions and structural motifs. *Biomolecules*, 4(2): 419–434
- Patra R. C., Swarup D., Kumar P., Nandi D., Naresh R., Ali S. L. (2008) Milk trace elements in lactating cows environmentally exposed to higher level of lead and cadmium around different industrial units. *Science of the Total Environment*, 404(1): 36–43
- Radostits O. M., Gay C. C., Blood D. C., Hinchcliff K. W. (2000) *Veterinary medicine: a textbook of the diseases of cattle, sheep, pigs, goats and horses*. London, WB Saunders, 1877 p.
- Sandstead H. H. (1995) Requirements and toxicity of essential trace elements, illustrated by zinc and copper. *American Journal of Clinical Nutrition*, 61(3 Suppl): 621S–624S
- Schnabel R., Lubos E., Messow C. M., Sinning C. R., Zeller T., Wild P. S., Peetz D., Handy D. E., Munzel T., Loscalzo J., Lackner K. J., Blankenberg S. (2008) Selenium supplementation improves antioxidant capacity in vitro and in vivo in patients with coronary artery disease The Selenium Therapy in Coronary Artery disease Patients (SETCAP) Study. *American Heart Journal*, 156(6): 1201.e1–1201.e11
- Sobhanirad S., Carlson D., Bahari Kashani R. (2010) Effect of zinc methionine or zinc sulfate supplementation on milk production and composition of milk in lactating dairy cows. *Biological Trace Element Research*, 136(1): 48–54

- Sobiech P., Kuleta Z. (1999) Levels of selected biochemical indicators of serum and blood during subclinical forms of nutritional muscular dystrophy in lambs. *Polish Journal of Veterinary Sciences*, 2(1): 37–41
- Sordillo L. M., Aitken S. L. (2009) Impact of oxidative stress on the health and immune function of dairy cattle. *Veterinary Immunology and Immunopathology*, 128(1–3): 104–109
- Stark P. (2020) Amino acid transporters of trace elements. *Animal Husbandry of Russia* [Zhivotnovodstvo Rossii], 6: 52–55 (in Russian)
- State Standard R51479–99 (2010) *Meat and meat products. Method for determination of moisture content*. Moscow, Standartinform (in Russian)
- State Standard 31727–2012 (2013) *Meat and meat products. Determination of total ash*. Moscow, Standartinform (in Russian)
- State Standard 55569–2013 (2014) *Feedstuffs, compound feeds, feed raw materials. Determination of proteinogenic amino acids using capillary electrophoresis*. Moscow, Standartinform (in Russian)
- State Standard 25011–2017 (2018) *Meat and meat products. Protein determination methods*. Moscow, Standartinform (in Russian)
- State Standard 33319–2015 (2018) *Meat and meat products. Method for determination of moisture content*. Moscow, Standartinform (in Russian)
- State Standard 51478–99 (2018) *Meat and meat products. Reference method for measurement of pH*. Moscow, Standartinform (in Russian)
- State Standard 23041–2015 (2019) *Meat and meat products. Method for determination of oxyproline*. Moscow, Standartinform (in Russian)
- State Standard 23042–2015 (2019) *Meat and meat products. Methods of fat determination*. Moscow, Standartinform (in Russian)
- State Standard 34120–2017 (2020) *Cattle for slaughter. Beef and veal carcasses, semi-carcasses and quarters. Specifications*. Moscow, Standartinform (in Russian)
- State Standard R70149–2022 (2022) *Meat and meat products. Determination of the mass fraction of tryptophan by spectrophotometric method*. Moscow, Russian Institute of Standardization (in Russian)
- Sycheva I. N., Osipova A. V., Fomina T. N., Vasilev V. V., Vasilyeva I. S. (2022) Reference intervals of chemical elements concentrations in the blood serum of Black-and-White cows. *Perm Agrarian Journal* [Permskii agrarnyi vestnik], 3: 133–138 (in Russian)
- Sychyova I. N., Orishev A. B., Mamedov A. A., Ivashova O. N., Muslyumova D. M. (2022) Effect of elemental status correction on the quantitative and qualitative characteristics of milk in dairy cows. *Animal Husbandry and Fodder Production* [Zhivotnovodstvo i kormoproizvodstvo], 105(3): 8–18 (in Russian)
- Twomey P. J., Viljoen A., House I. M., Reynolds T. M., Wierzbicki A. S. (2005) Relationship between serum copper, ceruloplasmin, and non-ceruloplasmin-bound copper in routine clinical practice. *Clinical Chemistry*, 51(8): 1558–1559
- Wang Y., Ou Y. L., Liu Y. Q., Xie Q., Liu Q. F., Wu Q., Fan T. Q., Yan L. L., Wang J. Y. (2012) Correlations of trace element levels in the diet, blood, urine, and feces in the Chinese male. *Biological Trace Element Research*, 145(2): 127–135
- Wen Y., Li R., Piao X., Lin G., He P. (2022) Different copper sources and levels affect growth performance, copper content, carcass characteristics, intestinal microorganism and metabolism of finishing pigs. *Animal Nutrition*, 8: 321–330

Wo Y., Jin Y., Gao D., Ma F., Ma Z., Liu Z., Chu K., Sun P. (2022) Supplementation with zinc proteinate increases the growth performance by reducing the incidence of diarrhea and improving the immune function of dairy calves during the first month of life. *Frontiers in Veterinary Science*, 9: 911330

Żarczyńska K., Sobiech P., Radwińska J., Rękawek W. (2013) Effects of selenium on animal health. *Journal of Elementology*, 18(2): 329–340

Zavyalov O. A., Kurilkina M. Y., Kurilkin Y. Y. (2023) Angus bulls blood composition peculiarities depending on the weight growth intensity during the fattening period. *Proceedings of the Kuban State Agrarian University* [Trudy Kubanskogo gosudarstvennogo agrarnogo universiteta], 107: 199–207 (in Russian)

Zavyalov O. A., Sycheva I. N., Bystrenina I. E. (2024) Age peculiarities and reference intervals of the elemental composition of blood serum in highly productive Aberdeen-Angus bulls. *Veterinaria i kormlenie*, 1: 41–45 (in Russian)

EDN: DWHHDI

УДК 663.1:579.63

Microbiological Status of the Pilot Production Facility for Degradable Polyhydroxyalkanoates

Svetlana V. Prudnikova^a, Evgeniy G. Kiselev^{a, b*},
Aleksy V. Demidenko^{a, b} and Tatiana G. Volova^{a, b}

^aSiberian Federal University

Krasnoyarsk, Russian Federation

^bInstitute of Biophysics SB RAS

Federal Research Center “Krasnoyarsk Science Center SB RAS”

Krasnoyarsk, Russian Federation

Received 03.03.2025, received in revised form 22.03.2025, accepted 11.06.2025

Abstract. Of late, high demands have been placed on the quality of biotechnological products alongside with the extremely rapid development of the biotechnology industry and ever growing demand on its products. To guarantee the safety and maintain high quality of biotechnological products, it is vital to create a microbiological monitoring framework that adheres to both Russian and international standards. This paper presents an approach to developing a monitoring system for the pilot microbial polymer (polyhydroxyalkanoate – PHA) production facility at Siberian Federal University. Based on regulatory documents, a protocol for conducting the biotechnological process under aseptic conditions has been established, along with control mechanisms for enforcing this protocol. These include sanitary monitoring of indoor air, surfaces in clean rooms, personnel hygiene, and biotechnological process from the pre-fermentation stage to the final polymer product. Evaluation of the effectiveness of these quality control measures has identified key sources and pathways of potential microbial contamination at all critical control points. A systematic risk analysis not only assesses the condition of the operational environment but also facilitates planning of the corrective actions to enhance the effectiveness of microbiological control. The findings show that the established microbiological monitoring regulations ensure strict compliance of the microbiological status of the pilot PHA production facility with the safety standards and requirements set forth by both international and Russian regulations.

Keywords: microbiological monitoring, risk analysis, critical control points, biotechnological production, clean rooms, working area air.

© Siberian Federal University. All rights reserved

This work is licensed under a Creative Commons Attribution-NonCommercial 4.0 International License (CC BY-NC 4.0).

* Corresponding author E-mail address: evgeniygek@gmail.com

ORCID: 0000-0001-8990-3043 (Prudnikova S.); 0000-0003-4472-7087 (Kiselev E.); 0000-0001-9392-156X (Volova T.)

Acknowledgements. The study was supported by the Russian Science Foundation grant No. 23–64–10007.

Citation: Prudnikova S. V., Kiselev E. G., Demidenko A. V., Volova T. G. Microbiological status of the pilot production facility for degradable polyhydroxyalkanoates. J. Sib. Fed. Univ. Biol., 2025, 18(2), 236–248. EDN: DWHHDI



Микробиологический статус Опытного биотехнологического производства разрушаемых полигидроксиалканоатов

**С. В. Прудникова^{а, б}, Е. Г. Киселев^{а, б},
А. В. Демиденко^{а, б}, Т. Г. Волова^{а, б}**
*^аСибирский федеральный университет
Российская Федерация, Красноярск
^бИнститут биофизики СО РАН
ФИЦ «Красноярский научный центр СО РАН»
Российская Федерация, Красноярск*

Аннотация. Биотехнологическая промышленность – одна из наиболее активно развивающихся и востребованных отраслей, в то же время к качеству продукции биотехнологического производства предъявляются высокие требования. Для обеспечения безопасности и стабильного качества биотехнологической продукции необходима организация системы микробиологического мониторинга производства в соответствии с российскими и международными требованиями. В работе описан подход к созданию системы контроля на примере Опытного производства микробных полимеров – полигидроксиалканоатов (ПГА), функционирующего в Сибирском федеральном университете. На основании действующих регламентов разработан комплекс мероприятий по микробиологическому контролю объектов производственной среды на всех стадиях биотехнологического производства, включая санитарный контроль воздуха, поверхностей чистых помещений Опытного производства и гигиены персонала, а также непосредственно биотехнологический процесс от предферментационной стадии до получения готового продукта – полимера. Оценка эффективности мероприятий по контролю качества выявила основные источники и пути возможной микробной контаминации во всех критических контрольных точках. Анализ рисков позволяет не только оценивать состояние производственной среды, но и планировать корректирующие мероприятия для повышения эффективности микробиологического контроля. Показано, что разработанный регламент микробиологического мониторинга обеспечивает строгое соответствие микробиологического статуса Опытного производства ПГА нормам безопасности и требованиям международных и российских стандартов и нормативных документов.

Ключевые слова: микробиологический мониторинг, анализ рисков, критические контрольные точки, биотехнологическое производство, чистые помещения, воздух рабочей зоны.

Благодарности. Исследование выполнено при поддержке гранта Российского научного фонда № 23–64–10007.

Цитирование: Прудникова С. В. Микробиологический статус Опытного биотехнологического производства разрушаемых полигидроксиалканоатов / С. В. Прудникова, Е. Г. Киселев, А. В. Демиденко, Т. Г. Волова // Журн. Сиб. федер. ун-та. Биология, 2025. 18(2). С. 236–248. EDN: DWHNDI

Введение

Надлежащий микробиологический статус является важным фактором успеха биотехнологических производств. Режим культивирования микроорганизмов, тип используемого углеродного субстрата, свойства и области применения получаемого продукта выдвигают различные требования к организации и строгости соблюдения условий защищенной ферментации. Требования к стерильности, жесткости микробиологического контроля помещения и оборудования, посевного материала, питательных сред и воздуха являются обязательными компонентами, обеспечивающими меры для исключения контаминации посторонней микрофлорой производственной культуры и получаемого продукта. Согласно принципам Good Manufacturing Practice (GMP), постоянному микробиологическому контролю подлежат все компоненты, объекты и материалы технологического процесса, включая микробиологический анализ микробного статуса операторов (Commission Directive 2003/94/EC..., 2003). Для исключения возможной контаминации необходимо выявление потенциальных источников и путей микробного заражения, включая анализ всех стадий технологического процесса.

Организация санитарно-гигиенических условий опытного производства полигидроксиалканоатов

Опытное производство (ОП) ПГА включает специализированные блоки подготовки инокулята, воздуха, питательных сред, ферментационный зал и блок выделения и полу-

чения готового продукта. Ферментационный зал находится на первом этаже специализированного корпуса, проект и строительство которого выполнено по стандарту GMP, ГОСТ Р 52249–2009 («стандарт является идентичным переводом правил GMP»). Материалы, использованные для изготовления полов, потолка, тип светильников, покрытия стен также отвечают требованиям этого стандарта.

Для реализации требований ГОСТ Р 56638–2015 к воздуху производственных помещений на опытном производстве функционирует приточно-вытяжная установка, обеспечивающая предварительную подготовку воздуха в системе кондиционирования и его очистку от механических частиц и микроорганизмов в системе трехступенчатой фильтрации. Предварительную очистку наружного воздуха от пыли проводят на первой ступени – воздушных фильтрах типа ФяК, класс F 5 и ФяВБ. Очищенный на первом этапе воздух на второй ступени очистки проходит фильтрацию через фильтры тонкой очистки (ФяК и ФяС класс F 8). На третьей ступени очистки воздух фильтруют на фильтрах третьей ступени класса H11. Для снижения уровня микробной обсемененности в помещениях лаборатории используют очистители – обеззараживатели воздуха ТИОН А50, ТИОН А100 в количестве, обеспечивающем двукратный воздухообмен в час.

Ключевым фактором контаминации чистых помещений, как правило, является персонал. Контаминация человеком производственной среды происходит воздушно-

капельным путем, в данном случае дыхательная система человека служит источником микробных аэрозолей, и воздушно-пылевым путем с участков кожи, не защищенных специальной одеждой, что обусловлено структурой кожи человека и динамикой ее изменения. Вход посторонних в помещение ограничен. Дежурные аппаратчики, заступая на смену, принимают душ, после посещения которого в чистом помещении надевают сменную обувь, комплект чистой одежды, включающей шапочку, защитные маски и перчатки.

Микробные загрязнения твердых поверхностей производственных и лабораторных помещений, технологического оборудования и приборов являются вторичными источниками контаминации биотехнологических процессов. Источниками их загрязнений являются контакты человека с этими поверхностями или загрязнения, осаждающиеся из воздуха. Контаминация также происходит, если при строительстве чистого помещения использовались конструктивные элементы низкого качества, которые, разрушаясь, выделяют частицы штукатурки, волокна и прочее. Возможность переноса загрязнений с полов, стен, потолка и других поверхностей снижается за счет уборки и дезинфекции. Загрязнения, источником которых является оборудование, можно свести к минимуму за счет оптимального проектирования установок и правильной их очистки.

Помещение, включая стены, потолок, все рабочие поверхности оборудования и прочие элементы подвергаются периодической генеральной уборке с применением специальных и дезинфицирующих средств. Влажная уборка ферментационного зала проводится дважды в сутки.

Приготовление подпитывающих растворов, маточных растворов и питательных сред для процесса ферментации производится

в отдельном специализированном помещении, оборудованном автоклавами, боксом-ламинаром 2-го класса защиты (N-BIOTEK 602WSL). Стерильные растворы хранятся в холодильнике, их приготовление проводится в боксе-ламинаре под факелом. Для мытья посуды имеется моечный аппарат, посуда хранится в герметичном шкафу.

Приготовление инокулята проводят в отдельном помещении, оборудованном холодильником для хранения музейной культуры, шейкером-инкубатором (Innova 44), запасом стерильной посуды и питательных сред, боксом-ламинаром (N-BIOTEK 602WSL). Концентрирование полученного инокулята осуществляется центрифугированием (Avanti J-E) с применением стерильных стаканов и строгим соблюдением правил стерильности.

В состав ферментационной линии входит парогенератор (HYO SEUNG SP8) производительностью 50 кг/ч. Посевной ферментер NLF30 перед засевом инокулята, полученного в блоке ресуспендирования и размножения музейной культуры, стерилизуется при 121 °С и давлении 1 атм., обвязка и запорная арматура обрабатываются острым паром. После наращивания инокулята в посевном ферментере по стерильной посевной линии его перекачивают в производственный ферментер P150. В ходе процесса ферментации подача подпитывающих стерильных растворов осуществляется автоматически перистальтическими насосами; отбор проб культуры для проведения анализов проводят с использованием пробоотборников, которые предварительно стерилизуются острым паром. Поддержание параметров процесса культивирования продуцента в производственном ферментере осуществляется автоматически с использованием программы BioSCADALab.

Материалы и методы

Схема микробиологического контроля ОП и последовательность отбора проб на стадиях биотехнологического процесса

На рисунке 1 представлена схема расположения производственных помещений, точки отбора проб для микробиологических исследований воздушной среды, поверхностей помещений и технологического оборудования, включая: 1) отделение музейной культуры; 2) отделение средоподготовки и автоклавирования; 3) ферментационный зал и блок обработки биомассы; 4) блок дежурных операторов; 5) блок экстракции ПГА из сгущенной микробной биомассы и получения готового продукта (полимера).

Основные объекты опытного производства, являющиеся источниками контаминации и подлежащие микробиологическому контролю, представлены на рис. 2.

Определение стерильности входящих на стадию культивирования потоков – питательных сред, подпитывающих растворов, технологического воздуха проводят в предферментационную стадию в целях исключения контаминации целевой культуры в ходе технологического процесса. Состояние воздуха в производственных помещениях, чистота объектов внешней среды, руки и одежда персонала, стерильность ферментационного оборудования перед инокуляцией культурой-продуцентом также подлежат микробиологическому контролю.

Первая фаза получения инокулята реализуется в отделении музейной культуры опытного производства. Микробиологический контроль посевного материала проводится до планируемого засева посевного ферментера объемом 30 л. Перед подачей полученного в посевном ферментере инокулята по стерильной посевной линии в производственный ферментер объемом 150 л проводят его микробиологический анализ.

На стадии ферментации через час после засева производственного ферментера и на завершающей стадии процесса отбирают пробы и анализируют производственную культуру.

По завершении цикла ферментации проводят сгущение и лиофильное высушивание микробной биомассы, из которой далее в блоке экстракции выделяют полимер. Очищенный и высушенный полимер упаковывают с соблюдением правил асептики с предварительным отбором проб продукта для микробиологических исследований степени контаминации продукта аэробной микрофлорой воздуха. Партии упакованного полимера, предназначенные для медицинских целей, подвергают дополнительной стерилизации.

Методы микробиологического анализа критических контрольных точек биотехнологического процесса

Оценку бактериальной обсемененности воздушной среды в помещениях проводили аспирационным методом в соответствии с методическими указаниями МУК 4.2.2942–11 «Методы санитарно-бактериологических исследований объектов окружающей среды, воздуха и контроля стерильности в лечебных организациях». Для этого 100 л воздуха в точках отбора проб анализировали с помощью аспиратора ПУ-1Б (Химко, Россия). Численность бактерий определяли на мясопептонном агаре, численность плесневых грибов – на агаре Сабуро. Идентификацию выделенных изолятов бактерий проводили методом времяпролетной масс-спектрометрии с матрично-активированной лазерной десорбцией/ионизацией (MALDI-TOF), выполненной с использованием масс-спектрометра Bio Tuper Microflex LT/SH (BrukerDaltonics, Германия) в КГБУЗ «Красноярский краевой клинический центр охраны материнства и детства».

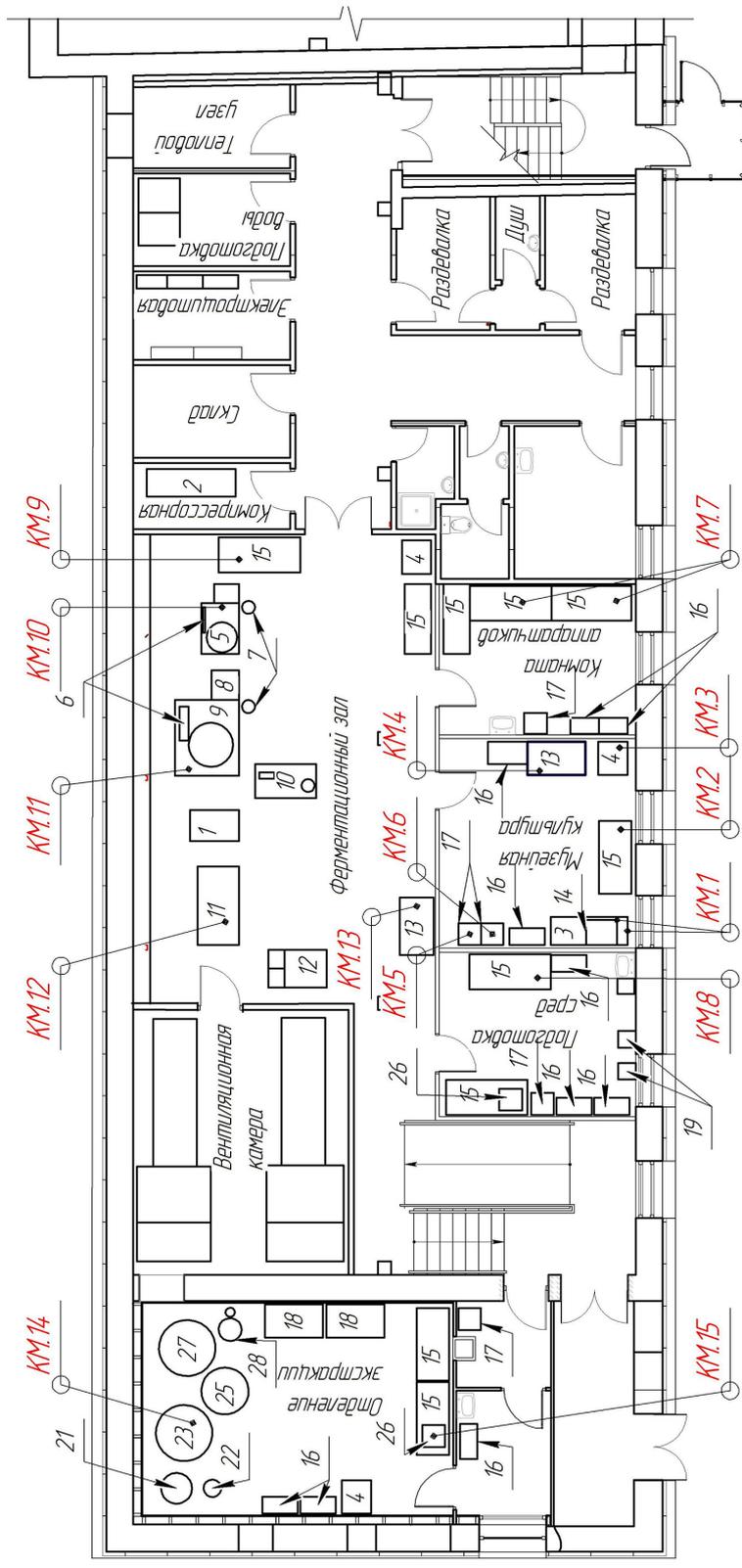


Рис. 1. Схема отбора проб микробиологического мониторинга биотехнологического производства ПГА (KM – точки микробиологического контроля; 1 – парогенератор NYO SEUNG SP8; 2 – компрессор Remeza; 3 – термостат микробиологический; 4 – центрифуга Avanti J-E; 5 – посевной ферментер NLF30; 6 – водяные холодильники; 7 – ёмкости с субстратами; 8 – блок управления пилотным ферментером; 9 – производственный ферментер; 10 – установка ультрафильтрации UVB20; 11 – сушка лиофильная ISHIN; 12 – SIP-мойка; 13 – SIP-мойка; 14 – бокс-ламинар N-BIOTEK 602WSL; 15 – установка лабораторный; 16 – шкаф лабораторный; 17 – холодильник Бирюса; 18 – шкаф вытяжной; 19 – обеззараживатели воздуха ТИОН А50, ТИОН А100; 20 – экстрактор; 21 – осадитель; 22 – осадитель; 23 – осадитель; 24 – осадитель; 25 – осадитель; 26 – фильтр для полимера; 27 – гранулятор; 28 – система ректификации для регенерации растворителей)

Fig. 1. Sampling points for microbiological monitoring at the pilot PHA production facility: KM – microbiological control points; 1 – NYO SEUNG SP8 steam generator; 2 – Remeza compressor; 3 – microbiological thermostat; 4 – Avanti J-E centrifuge; 5 – NLF30 seed fermenter; 6 – water coolers; 7 – substrate tanks; 8 – pilot fermenter control unit; 9 – production fermenter; 10 – UV V20 ultrafiltration unit; 11 – ISHIN freeze dryer; 12 – SIP-wash; 13 – N-BIOTEK 602WSL laminar box; 14 – Innova 44 shaker-incubator; 15 – laboratory table; 16 – laboratory cabinet; 17 – Biyusa refrigerator; 18 – fume hood; 19 – TION A50, TION A100 air disinfectors; 20 – extractor; 21 – filter; 22 – precipitator; 23 – polymer filter; 24 – granulator; 25 – solvent collector; 26 – rectification system for solvent regeneration



Рис. 2. Основные объекты микробиологического мониторинга биотехнологического опытного производства ПГА

Fig. 2. Main targets of microbiological monitoring at the pilot PHA production facility

Контроль чистоты объектов внешней среды – рабочих поверхностей, технологического оборудования, ферментеров, рук персонала проводили в соответствии с методическими рекомендациями МР 4.2.0220–20 «Методы санитарно-бактериологического исследования микробной обсемененности объектов внешней среды». Учитывали общую бактериальную обсемененность на мясопептонном агаре, численность дрожжевых и плесневых грибов – на агаре Сабуро, наличие бактерий группы кишечной палочки (БГКП) – на среде Кесслера.

Стерильность питательных сред и растворов для культивирования продуцента ПГА *Cupriavidus necator* В-10646 проверяли после стерилизации, выдерживая в течение 48 часов при 37 °С (МУК 4.2.2942–11), а затем высевая 1 мл среды или раствора в чашки с МПА. Микробиологический контроль штамма-продуцента проводили в динамике в ходе масштабирования от посевного материала из музейной культуры до производственной

культуры в ферментере. Наличие контаминации выявляли методом высева разведенной культуральной жидкости 10^6 – 10^{12} на чашки с МПА. Микробную контаминацию лиофильно высушенной биомассы и сухого полимера анализировали, высевая на МПА суспензию 1 г образца в 100 мл стерильной воды. Чашки с посевами инкубировали в термостате при 30 °С в течение 3–5 суток.

Результаты и обсуждение

Микробиологический мониторинг воздуха и объектов внешней среды является критически важным аспектом контроля состояния чистого помещения. Такой контроль оценивает чистоту производственной среды, эффективность очистки и дезинфекции и соблюдение требований асептики при эксплуатации технологического оборудования (Богданова и др., 2024; Sandle, 2016).

За период 2017–2022 гг. было проведено 34 комплексных анализа микробиологических показателей каждой критической контрольной

точки в соответствии с разработанной схемой исследования (рис. 1, 2). В таблице 1 в качестве примера приведены показатели микробиологического мониторинга воздушной среды и объектов внешней среды производственных помещений. Качество воздуха соответствует рекомендуемым предельным значениям микробного загрязнения для чистых помещений категории D (<200 КОЕ/м³), отделение музейной культуры соответствует категории С (<100 КОЕ/м³) (GMP, ГОСТ Р 52249–2009). Если в процессе микробиологического мониторинга выявляется наличие отдельных показателей, превышающих допустимые уровни, для устранения этого и приведения показателей к нормативам проводятся комплексные санитарно-гигиенические мероприятия.

Численность бактерий на поверхностях рабочих помещений и технологического оборудования ниже предела допустимой контаминации для помещений категории С (≤ 5 КОЕ/25 см²) (МУ 44–116, МУК 4.2.734–99). Дрожжевых и плесневых грибов, а также бактерий группы кишечной палочки в смывах всех исследуемых поверхностей во всех помещениях ОП не обнаружено.

Исследование отпечатков рук (в перчатках) у дежурных операторов не выявило ми-

кроорганизмов, что связано с обязательной обработкой рук операторов и перчаток антисептиками, предназначенными для обработки кожи.

За период исследований 2017–2022 гг. было проанализировано 5184 изолята доминирующих бактерий из воздуха и 728 изолятов бактерий в смывах проб с поверхности помещений рабочей среды. Среди микроорганизмов, присутствующих в воздушной среде рабочих помещений производственной зоны ОП, большинство изолятов были отнесены к трем типам: Actinobacteria (54 %), Firmicutes (36,1 %) и Proteobacteria (7,3 %). Соотношение родов бактерий было сходным в воздухе разных помещений ОП. Наиболее часто выделялись бактерии, принадлежащие к родам *Bacillus*, *Micrococcus*, *Kocuria*, *Microbacterium*, *Arthrobacter* и *Pseudomonas* с преобладанием представителей родов *Bacillus* и *Micrococcus* в процентном соотношении 36,1 и 28,2 % соответственно, от общего числа выделенных изолятов. Доля остальных представителей микробиоты воздуха составляла от 7,3 до 9,6 % (рис. 3а).

В смывах проб с поверхности рабочих помещений и технологического оборудования были получены схожие результаты –

Таблица 1. Показатели уровня бактериальной контаминации воздушной среды и объектов внешней среды помещений производственной зоны перед уборкой (пример одного из штатных анализов)

Table 1. Bacterial contamination of air and surfaces on the premises of the pilot PHA production facility before cleaning (routine analysis)

Точки отбора проб	Численность бактерий	
	Воздушная среда, КОЕ/м ³	Объекты внешней среды, КОЕ/25 см ²
Ферментационный зал	149 ± 43	1,7 ± 0,3
Отделение средоподготовки и автоклавирования	142 ± 48	1,6 ± 0,4
Блок дежурных операторов	142 ± 55	1,4 ± 0,4
Отделение музейной культуры	47 ± 26	0,4 ± 0,2
Блок обработки биомассы	95 ± 63	1,0 ± 0,6

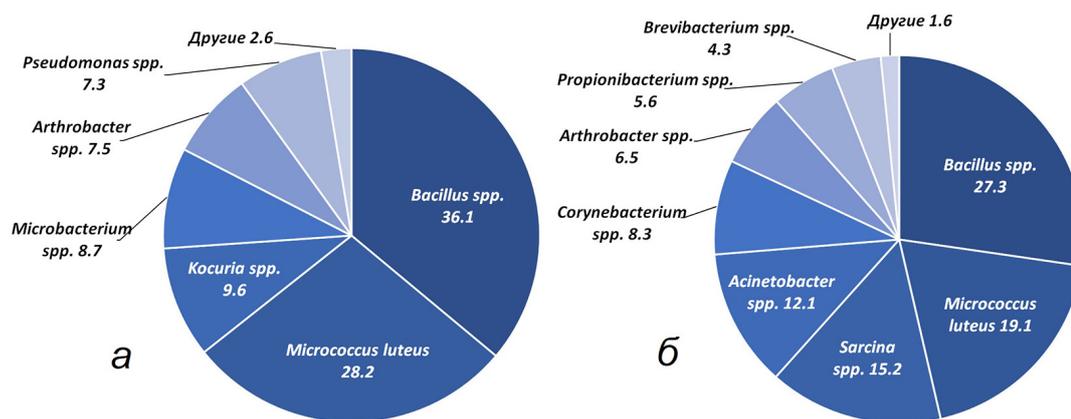


Рис. 3. Соотношение (% от общего числа идентифицированных изолятов) наиболее часто встречающихся микроорганизмов, присутствующих в воздухе (а) и на поверхностях рабочих помещений (б) опытного производства

Fig. 3. Ratio (% of total number of identified isolates) of the most common microorganisms in air (a) and on surfaces (b) on operational premises of the pilot PHA production facility

чаще всего регистрировались Actinobacteria (43,8 %), Firmicutes (42,5 %) и Proteobacteria (12,1 %). Большинство представителей принадлежали к родам *Bacillus* и *Micrococcus*, составляя 27,3 и 19,1 % от общего числа бактерий (рис. 3б). Кроме того, на рабочих поверхностях обнаружены грамположительные кокки рода *Sarcina* – 15,2 % и грамотрицательные палочки рода *Acinetobacter* – 12,1 %. Остальные идентифицированные изоляты относились к актинобактериям и составляли от 4,3 до 8,3 %.

Идентификация выявленных бактерий позволяет установить их источник, что имеет значение для контроля качества и предупреждения контаминации (табл. 2). Показано, что часто источником микроорганизмов является персонал, так как большинство обнаруженных бактерий присутствуют на кожных покровах. Другим источником загрязнения воздуха является пыль, скапливающаяся в труднодоступных местах, так как бактерии родов *Bacillus*, *Pseudomonas*, *Arthrobacter*, *Microbacterium* преимущественно обитают в почве и могут сохраняться в пыли.

Одним из аспектов экологического нормирования биотехнологического производства является контроль микроорганизмов-продуцентов в воздухе рабочей зоны. Загрязнение производственной среды микробными аэрозолями становится фактором риска для здоровья персонала (Дудчик и др., 2017). Исследование микробиоты помещений Опытного производства ПГА не выявило наличия штамма-продуцента *C. necator* В-10646 как в воздухе, так и на поверхностях рабочих помещений и технологического оборудования.

Полученные результаты таксономического разнообразия микроорганизмов помещений Опытного производства ПГА согласуются с аналогичными исследованиями микрофлоры чистых помещений. Бактерии родов *Micrococcus* и *Bacillus* являются типичными обитателями воздушной среды помещений, в том числе медицинских учреждений, аптек и фармацевтического производства (Wu, Liu, 2007; Park et al., 2014; Cabo Verde et al., 2015). Большинство видов, изолируемых на питательных средах, относятся

Таблица 2. Предполагаемый источник микроорганизмов, выявленных в воздухе и на поверхностях рабочих помещений опытного производства

Table 2. Potential sources of microbial contamination in air and on surfaces on operational premises of the pilot PHA production facility

Микроорганизмы	Характеристика	Источник
<i>Bacillus</i>	Грамположительные палочки, образующие эндоспоры	Почва, пыль
<i>Micrococcus luteus</i>	Грамположительные аэробные кокки	Почва, пыль, кожные покровы и дыхательные пути персонала
<i>Sarcina</i>	Грамположительные анаэробные аэротолерантные кокки	Почва, пыль, кожные покровы персонала
<i>Arthrobacter</i>	Грамположительные аэробные палочки или кокки	Почва, пыль
<i>Microbacterium</i>	Грамположительные аэробные палочки	Почва, пыль
<i>Corynebacterium</i>	Грамположительные аэробные или факультативно анаэробные палочки	Почва, пыль, кожные покровы персонала
<i>Kocuria</i>	Грамположительные аэробные и факультативно анаэробные кокки	Кожные покровы персонала
<i>Propionibacterium</i>	Грамположительные анаэробные и микроаэрофильные палочки	Кожные покровы персонала
<i>Brevibacterium</i>	Грамположительные аэробные палочки	Кожные покровы персонала
<i>Pseudomonas</i>	Грамотрицательные аэробные палочки	Почва, пыль
<i>Acinetobacter</i>	Грамотрицательные аэробные коккобациллы	Почва, пыль, кожные покровы персонала

к грамположительным бактериям, среди которых более 70 % являются частью нормальной микрофлоры человека (Tršan et al., 2019).

Микробиота воздуха помещений характеризуется высоким содержанием грамположительных кокков: *Staphylococcus*, *Micrococcus* и *Streptococcus*, которые тесно связаны с человеком, чья кожа является основным источником микробной контаминации (Tršan et al., 2019; Kumar et al., 2022). В исследованиях некоторых авторов показано, что доля бактерий рода *Staphylococcus* может достигать 50 % от общего числа выделенных из воздуха изолятов бактерий (Wu, Liu, 2007; Park et al., 2014; Cabo Verde et al., 2015). Несмотря на то что описанные изоляты характеризуются как непатогенные стафилококки, в целом такая тенденция указывает на возможные риски контаминации условно-

патогенными видами этого рода. В условиях опытного производства ПГА не было обнаружено бактерий рода *Staphylococcus*, что свидетельствует о качественной очистке воздуха и мерах предупреждения распространения микрофлоры верхних дыхательных путей.

Для выявления возможных источников микробной контаминации производственной культуры микроорганизмов контролируют маточные растворы, используемые для приготовления питательных сред, стадии получения инокулята, конденсат, образуемый после стерилизации ферментеров, а также потоки воздуха, поступающие в ферментационную линию во время технологического процесса.

Контроль компонентов питательной среды – растворов минеральных солей, источников азота (мочевина) и углерода (глюкоза), микроэлементов – подтвердил стерильность

маточных растворов. Далее при исследовании стерильности внутренних полостей ферментационной установки анализируют последнюю промывную воду и фильтрованный воздух, поступающий в технологический процесс. Микробиологический контроль эффективности стерилизации технологического воздуха и внутренних полостей ферментера-инокулятора ($V=30$ л) и промышленного ферментера ($V=150$ л) также показал отсутствие живых микроорганизмов.

Отбор проб для микробиологического анализа чистоты производственной культуры осуществляется на всех этапах процесса ферментации (рис. 2). Культуру бактерий *C. necator* В-10646 высевали на мясопептонный агар на стадии выращивания в колбах, ферментере-инокуляторе, промышленном ферментере (через час после засева) и в конце культивирования на завершающей стадии процесса. Контроль степени чистоты производственной культуры бактерий *C. necator* В-10646 подтвердил отсутствие посторонней микрофлоры (рис. 4).

Микробиологический анализ показал морфологически однородные культуральные признаки бактериальных колоний на агари-

зованной среде и однородную морфологию клеток в культуре *C. necator* В-10646 при микроскопировании, что свидетельствует об отсутствии контаминации.

Этот положительный результат обеспечен следующими мерами и технологическими процедурами, принятыми на ОП:

1) все стадии технологического процесса проводят в исходно простерилизованном и герметичном оборудовании, исключающем возможность контакта культуральной жидкости с окружающей средой;

2) воздух, поступающий в ферментеры, проходит трехступенчатую фильтрацию и очистку;

3) питательные среды и ферментационная линия предварительно стерилизуются.

Риск контаминации исследуемой культуры существует только в случае нарушения технологии приготовления инокулята, правил стерилизации питательных сред, посуды и технологического оборудования.

Завершающий этап микробиологического мониторинга статуса ОП включает микробиологическое исследование лиофильно высушенной биомассы и готового продукта (образцов высушенного полимера).

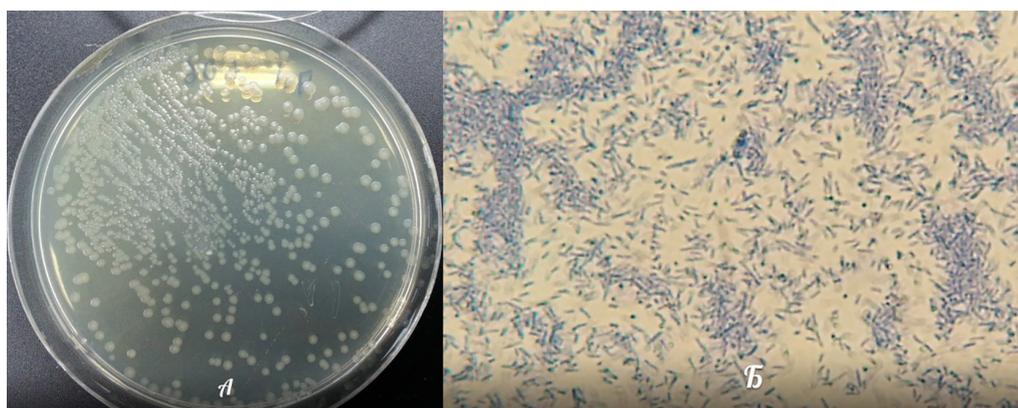


Рис. 4. Микробиологическое исследование чистоты производственной культуры *Cupriavidus necator* В-10646 (А – колонии бактерий на питательной среде (МПА), Б – микроскопирование клеток, $\times 1000$)

Fig. 4. Microbiological purity study of *Cupriavidus necator* В-10646 industrial culture: А – bacterial colonies on a nutrient medium (MPA); В – microbial cells, $\times 1000$

Таблица 3. Микрофлора лиофильно высушенной биомассы *Cupriavidus necator* B-10646Table 3. Microflora in lyophilized biomass of *Cupriavidus necator* B-10646

Микроорганизмы	Количество (в % к общему количеству жизнеспособных микроорганизмов)
<i>Cupriavidus necator</i> B-10646	96,3
<i>Bacillus</i>	2,1
<i>Micrococcus</i>	1,6
Плесневые грибы	Не обнаружены

Анализ лиофильно высушенной биомассы бактерий с остаточной влажностью порядка 3–5 % показал наличие микрофлоры, представленной аэробными мезофильными грамположительными бактериями рода *Micrococcus* и споровыми бактериями рода *Bacillus*. Плесневых грибов в биомассе не обнаружено (табл. 3). Выявленные микроорганизмы являются типичной аэробной микрофлорой, присутствующей в воздухе блока обработки биомассы.

Микробиологический анализ партий высушенных образцов полимера не выявил микроорганизмов, что, по всей видимости, связано с гидрофобной природой продукта, а также применением в процессах экстракции детергентов, которые используют для получения высокоочищенного продукта, и упа-

ковкой его в стерильные пластиковые емкости для хранения.

Заключение

Анализ микробиологического статуса действующего Опытного производства микробных полигидроксиалканоатов, расположенного на территории кампуса Сибирского федерального университета (г. Красноярск), включающий мониторинг объектов и всех стадий технологического процесса и контроль выявленных источников и путей возможной контаминации, осуществляемый посредством комплекса корректирующих мероприятий, показал строгое соответствие микробиологического статуса помещений ОП требованиям международных и РФ стандартов и нормативных документов.

Список литературы / References

ГОСТ Р 52249–2009 (2010) *Правила производства и контроля качества лекарственных средств*. Москва, Стандартинформ, 138 с. [State Standard R52249–2009 (2010) *Good manufacturing practice for medicinal products*. Moscow, Standartinform, 138 p. (in Russian)]

ГОСТ Р 56638–2015 (2019) *Чистые помещения. Вентиляция и кондиционирование воздуха. Общие требования*. Москва, Стандартинформ, 24 с. [State Standard R56638–2015 (2019) *Clean rooms. Ventilation and air conditioning. General requirements*. Moscow, Standartinform, 24 p. (in Russian)]

Богданова О. Ю., Черных Т. Ф., Буковская Ю. А. (2024) Аспекты микробиологического мониторинга производственной среды на фармацевтических и биотехнологических производствах. *Формулы фармации*, 6(2): 10–17 [Bogdanova O. Yu., Chernykh T. F., Bukovskaya Yu. A. (2024) Aspects of microbiological monitoring of the production environment in pharmaceutical and biotechnological manufacturing. *Pharmacy Formulas* [Formuly farmatsii], 6(2): 10–17 (in Russian)]

Дудчик Н. В., Филонюк В. А., Шевляков В. В., Сычик С. И., Нежвинская О. Е. (2017) Экспериментальное моделирование аэрозолей микроорганизмов-продуцентов в воздухе рабочей зоны как фактора риска воздействия на здоровье работников биотехнологического производства. *Анализ риска здоровью*, 3: 127–134 [Dudchik N. V., Filonyuk V. A., Shevlyakov V. V., Sychik S. I., Nezhvinskaya O. E. (2017) Experimental modeling of aerosols produced by microorganisms in working area air as risk factor exerting hazardous impacts on health of workers employed at biotechnological production. *Health Risk Analysis*, 3: 127–134 (in English)]

МУК 4.2.2942–11 (2011) *Методы санитарно-бактериологических исследований объектов окружающей среды, воздуха и контроля стерильности в лечебных организациях: Методические указания*. Москва, Федеральный центр гигиены и эпидемиологии Роспотребнадзора, 12 с. [MUK 4.2.2942–11 (2011) *Methods of sanitary and bacteriological studies of operational surfaces and air, and sterility control in medical organizations: Methodology guidelines*. Moscow, Federal Rospotrebnadzor Center for Hygiene and Epidemiology, 12 p. (in Russian)]

МР 4.2.0220–20 (2020) *Методы санитарно-бактериологического исследования микробной обсемененности объектов внешней среды: Методические рекомендации*. Москва, Федеральный центр гигиены и эпидемиологии Роспотребнадзора, 15 с. [MR4.2.0220–20 (2020) *Methods for sanitary and bacteriological research into microbial contamination of environment: Methodology guidelines*. Moscow, Federal Rospotrebnadzor Center for Hygiene and Epidemiology, 15 p. (in Russian)]

МУ 44–116 (1997) *Медицинские иммунобиологические препараты. Асептическое производство медицинских иммунобиологических препаратов: Методические рекомендации*. Москва, Минздрав России [MU44–116 (1997) *Medical immunobiological preparations. Aseptic production of medical immunobiological preparations: Methodology guidelines*. Moscow, Ministry of Health of the Russian Federation (in Russian)]

МУК 4.2.734–99 (1999) *Микробиологический мониторинг производственной среды: Методические указания*. Москва, Минздрав России [MUK 4.2.734–99 (1999) *Microbiological monitoring of production environment: Methodology guidelines*. Moscow, Ministry of Health of the Russian Federation (in Russian)]

Cabo Verde S., Almeida S. M., Matos J., Guerreiro D., Meneses M., Faria T., Botelho D., Santos M., Viegas C. (2015) Microbiological assessment of indoor air quality at different hospital sites. *Research in Microbiology*, 166(7): 557–563

Commission Directive 2003/94/EC of 8 October 2003 laying down the principles and guidelines of good manufacturing practice in respect of medicinal products for human use and investigational medicinal products for human use (2003) *Official Journal of the European Union*, L 262: 22–26

Kumar P., Singh A. B., Singh R. (2022) Comprehensive health risk assessment of microbial indoor air quality in microenvironments. *PLoS ONE*, 17(2): e0264226

Park H. K., Han J. H., Joung Y., Cho S. H., Kim S. A., Kim S. B. (2014) Bacterial diversity in the indoor air of pharmaceutical environment. *Journal of Applied Microbiology*, 116(3): 718–727

Sandle T. (2016) *Pharmaceutical microbiology: essentials for quality assurance and quality control*. Cambridge, Woodhead Publishing, Elsevier Ltd., 298 p.

Tršan M., Seme K., Srčič S. (2019) The environmental monitoring in hospital pharmacy cleanroom and microbiota catalogue preparation. *Saudi Pharmaceutical Journal*, 27(4): 455–462

Wu G. F., Liu X. H. (2007) Characterization of predominant bacteria isolates from clean rooms in a pharmaceutical production unit. *Journal of Zhejiang University: Science B*, 8(9): 666–672

EDN: GQJQND

УДК 615.46.015

Biodegradable Poly-3-Hydroxybutyrate-Based Film Packaging Synthesized from Waste Fish Oil: Production and Properties

Tatiana G. Volova^{a, b},
Aleksey V. Demidenko^{a, b}, Alexey E. Dudaev^{a, b*},
Evgeniy G. Kiselev^{a, b}, Svetlana V. Prudnikova^a,
Aleksey G. Sukovaty^{a, b} and Ekaterina I. Shishatskaya^{a, b}

^a*Institute of Biophysics SB RAS
Federal Research Center “Krasnoyarsk Science Center SB RAS”
Krasnoyarsk, Russian Federation*
^b*Siberian Federal University
Krasnoyarsk, Russian Federation*

Received 03.03.2025, received in revised form 15.06.2025, accepted 16.06.2025

Abstract. This article presents the results of a study on the potential of microbially degradable poly-3-hydroxybutyrate P(3HB) synthesized from waste fish oil (WFO) for the production of food packaging films. A technology for manufacturing single-layer films was developed using flat-slot extrusion of a polymer melt with a laboratory-scale Brabender E19/25 D extruder. Batches of film samples were produced and subjected to comprehensive testing in accordance with the current GOST standards in the Russian Federation and international ISO standards. The study evaluated the films' physico-mechanical properties, structure, surface characteristics, moisture and vapor permeability, resistance to liquid environments, and antibacterial activity against microflora associated with meat and dairy products. The experimental samples were found to meet the requirements for food packaging films, demonstrating suitability for practical applications in this field.

Keywords: microbially degradable poly-3-hydroxybutyrate, WFO, extrusion, melt, film, structure and properties, packaging.

Acknowledgements. This research was funded by the Russian Science Foundation, grant number 23–64–10007. The authors extend their sincere gratitude to the Krasnoyarsk Regional Center of Research

© Siberian Federal University. All rights reserved

This work is licensed under a Creative Commons Attribution-NonCommercial 4.0 International License (CC BY-NC 4.0).

* Corresponding author E-mail address: alex15-96@mail.ru

ORCID: 0000-0001-9392-156X (Volova T.); 0000-0002-6797-7751 (Demidenko A.); 0000-0003-4873-126X (Dudaev A.); 0000-0003-4472-7087 (Kiselev E.); 0000-0001-8990-3043 (Prudnikova S.); 0000-0002-5412-8267 (Sukovaty A.); 0000-0001-7967-243X (Shishatskaya E.)

Equipment of Federal Research Center “Krasnoyarsk Science Center SB RAS” for providing access to laboratory equipment.

Citation: Volova T. G., Demidenko A. V., Dudaev A. E., Kiselev E. G., Prudnikova S. V., Sukovatyi A. G., Shishatskaya E. I. Biodegradable poly-3-hydroxybutyrate-based film packaging synthesized from waste fish oil: production and properties. *J. Sib. Fed. Univ. Biol.*, 2025, 18(2), 249–266. EDN: GQJQND



Пленочная упаковка из разрушаемого поли-3-гидроксibuтирата, синтезированного на отходах рыбопереработки: получение и характеристики

**Т. Г. Волова^{а, б}, А. В. Демиденко^{а, б},
А. Е. Дудаев^{а, б}, Е. Г. Киселев^{а, б},
С. В. Прудникова^а, А. Г. Суковатый^{а, б}, Е. И. Шишацкая^{а, б}**
*^аИнститут биофизики СО РАН
ФИЦ «Красноярский научный центр СО РАН»
Российская Федерация, Красноярск
^бСибирский федеральный университет
Российская Федерация, Красноярск*

Аннотация. Представлены результаты исследований потенциала микробного разрушаемого поли-3-гидроксibuтирата П(ЗГБ), синтезированного на отходах рыбопереработки, для изготовления пленочной упаковки пищевых продуктов. Отработана технология получения однослойных пленок методом плоскощелевой экструзии полимерного расплава с применением лабораторного экструдера Brabender E19/25 D; наработаны партии образцов пленочной продукции и проведены комплексные исследования с учетом действующих в РФ ГОСТ и международных стандартов ISO. По результатам исследования физико-механических свойств, структуры и характеристик поверхности пленок, влаго- и паропроницаемости, стойкости к воздействию жидких сред и антибактериальной активности по отношению к микрофлоре мясных и молочных продуктов показано соответствие полученных экспериментальных образцов требованиям, предъявляемым к пленочной упаковке для пищевых продуктов.

Ключевые слова: разрушаемый поли-3-гидроксibuтират, отходы рыбопереработки, экструзия, расплав, пленка, структура и свойства, упаковка.

Благодарности. Исследование выполнено в рамках гранта РФФИ № 23–64–10007. Авторы выражают особую благодарность Красноярскому региональному центру коллективного пользования ФИЦ КНЦ СО РАН за предоставленное оборудование.

Цитирование: Волова Т. Г. Пленочная упаковка из разрушаемого поли-3-гидроксибутирата, синтезированного на отходах рыбопереработки: получение и характеристики / Т. Г. Волова, А. В. Демиденко, А. Е. Дудаев, Е. Г. Киселев, С. В. Прудникова, А. Г. Суковатый, Е. И. Шишацкая // Журн. Сиб. федер. ун-та. Биология, 2025. 18(2). С. 249–266. EDN: GQJQND

Введение

Полигидроксибутират П(ЗГБ) – разрушаемый термопластичный полимер из семейства микробных полимеров полигидроксиалканоев (ПГА), деградируемый естественной природной микрофлорой до CO_2 и H_2O , не нанося вреда биоте и окружающей среде, перспективен для применения в различных сферах (Sudesh et al., 2000; Chen, 2010; Volova et al., 2013; Chen et al., 2016; Koller, 2019; Koller, Mukherjee, 2020; Kumar et al., 2021). Потенциальная и востребованная область применения ПГА – разрушаемая упаковка. Связано это с тем, что мировое производство тары и упаковки является самым крупным направлением переработки синтетических пластмасс, объемы производства которых превысили 400 млн тонн в год. До половины производимых синтетических пластиков используется в сфере упаковки и порядка 40 % от этой доли идет на производство упаковки пищевых продуктов и напитков. Около 60 % всех пластиков, используемых в настоящее время для упаковки, – это полиэтилен, благодаря его низкой стоимости. Следом идут упаковочные материалы на основе полипропилена, полистирола и поливинилхлорида. Объем производства упаковки в мире составляет около 500 млрд долл. США; в развитых странах упаковочная отрасль по капиталовложениям опережает машиностроение (Ухарцева и др., 2016, 2019). При этом срок службы многих видов упаковки исчисляется несколькими сутками. Использованная упаковка и ее отходы пополняют содержание свалок, загрязняют природные экосистемы и воды мирового океана. Накопление пластиковых отходов, прежде всего за счет гигантских отходов пластиковой упаковки, превратилось в глобальную экологи-

ческую проблему, так как сроки, необходимые для разложения синтетических материалов в естественных условиях, составляют десятки и сотни лет (Lebreton, Andrady, 2019; Quecholar-Piña et al., 2020; Sohn et al., 2020).

Для упаковки пищевых продуктов весьма значим (порядка 16–17 %) сегмент пленочной упаковки. Однослойная и многослойная пленочная упаковка используется для фасовки и длительного хранения сухих сыпучих продуктов, краткосрочного хранения мясных, рыбных, морепродуктов и для длительного хранения продуктов глубокого замораживания, а также для термостойкой упаковки готовой пищи, предназначенной для разогревания (Jenkins, Osborn, 1992; Шварц и др., 2005; Ухарцева и др., 2020a). Расширение производства различных видов пищевой продукции, наблюдаемое в настоящее время, вывели тароупаковочную индустрию на уровень ведущих мировых отраслей, которая стремительно развивается.

Пищевая продукция – это многокомпонентные активные системы, в которых протекают микробиологические, ферментативные и физико-химические реакции, влияющие на вкус, текстуру и срок годности продукта. Протекание данных реакций приводит к ухудшению потребительских свойств и потерям продукции (Ухарцева и др., 2016, 2020a, 2020b; Ермоленко, Фурсова, 2018; Prasad, Kochhar, 2014). Упаковка позволяет сократить потери продукции, гарантировать ее качество, увеличить сроки хранения. С помощью современных видов упаковки можно регулировать температуру продуктов в условиях микроволнового нагрева, создавать оптимальную газовую атмосферу внутри оболочки при хранении продуктов питания, направленно изменять состав

продукта, используя биологически активные материалы с иммобилизованными ферментами (Ухарцева и др., 2019). Материалы, используемые в качестве упаковки для пищевых продуктов, должны защищать продукты от пыли, влаги, обезвоживания и микробного заражения; обеспечивать сохранение пищевых качеств продуктов; поддерживать их стабильность в экстремальных условиях хранения, включая низкие температуры; обладать способностью к биоразложению/компостированию (Prasad, Kochhar, 2014; Masood, 2017; Tan et al., 2021; Koller, Mukherjee, 2022; Adak et al., 2024).

Среди биополимерных материалов широко используемыми в качестве разрушаемой упаковки доминируют полилактиды, полигликолиды и их смеси; в настоящее время активно рассматриваются микробные полигидроксиканоаты (Plackett, Siró, 2011; Bugnicourt et al., 2014; Israni, Shivakumar, 2019; Pati et al., 2021; Popa et al., 2022). Известные промышленные компании – Tianjin GreenBio (Китай), Kaneka (Япония), Danimer Scientific (США) и TianAn Biologic Material Co (Китай) нацелены на производство ПГА технического назначения, в том числе для упаковки (Pratt et al., 2019; da Cruz Pradella, 2020). Отдельные типы ПГА сертифицированы Управлением по санитарному надзору за качеством пищевых продуктов и медикаментов США для упаковки пищи (<https://www.fda.gov/media/155034/download>). В ряде публикаций описана принципиальная возможность применения ПГА для изготовления упаковки в виде контейнеров и коробок (Keshavarz, Roy, 2010). Пакеты и емкости из сополимера П(ЗГБ-со-ЗГВ) исследованы для упаковки молока, манной крупы и растительного масла (Kanekar et al., 2012). В работе (Muizniece-Brasava, Dukalska, 2006) пластифицированный гомополимер П(ЗГБ) использован для упаковки сметаны.

К положительным качествам ПГА также относят радиационную устойчивость и возможность применения для стерилизации гамма-излучением (Hermida et al., 2008; Divyashree, Shamala, 2009; Grzesiak et al., 2024; Zhou et al., 2024).

Рыночная цена ПГА варьирует сегодня от 2,0 до 6,5 долл. США/кг в зависимости от способа и объемов производства. Это значительно превосходит стоимость полиолефинов, составляющую порядка 1,0 долл. США/кг. Высокая стоимость – самое большое препятствие к широкому применению ПГА, для снижения которой совершенствуются технологии биосинтеза, исследуется возможность использования ПГА не в чистом виде, а в смеси с доступными материалами-наполнителями (Masood, 2017; Tan et al., 2021; Popa et al., 2022; Koller, Mukherjee, 2022; Vano et al., 2024; Adak et al., 2024).

Возможный путь снижения стоимости – это использование для синтеза ПГА в качестве ростового субстрата не индивидуальных углеродных субстратов, доля которых составляет до 40–45 % от общих затрат, а привлечение отходов. Для этого необходим поиск и применение штаммов с широким органотрофным потенциалом, толерантных к токсичным примесям, входящим, как правило, в состав отходов сложного состава. Так, в коллекции продуцентов Института биофизики СО РАН содержатся штаммы, способные усваивать для роста в качестве единственного С-субстрата гидролизаты растительных биомасс, глицерин, жирные кислоты, пальмовое масло, отходы рыбпереработки и др. (Volova et al., 2019, 2020, 2022, 2025; Kiselev et al., 2022; Zhila et al., 2023a, 2023b, 2024).

Это обосновало возможность расширения исследований потенциальных областей применения ПГА, в том числе для упаковки. Цель работы – экстремальное получение

пленочной продукции из П(ЗГБ), синтезированного с использованием отходов рыбопереработки, и исследование характеристик, включая структуру, свойства поверхности, механические свойства, устойчивость к воздействию жидких сред и микрофлоре пищевых продуктов.

Материалы и методы

Для изготовления пленочной упаковки использован поли-3-гидроксибутират, П(ЗГБ) – самый распространенный и доступный тип ПГА, синтезированный в культуре бактерий *Cupriavidus necator* В-10646 с использованием в качестве углеродного субстрата жировых отходов рыбопереработки (Kiselev et al., 2025) по авторской технологии (Волова, Шишацкая, 2012). Определяли молекулярно-массовые характеристики полимера – средневесовую (M_w) и среднечисловую (M_n) молекулярную массу, полидисперсность (D). Термический анализ выполнен с использованием дифференциально-сканирующего калориметра DSC-1 (Mettler Toledo, Швейцария), находили температуры плавления ($T_{пл}$) и термической деградации ($T_{дегр}$). Рентгеновские исследования выполнены на порошковом дифрактометре D8ADVANCE (Bruker AXS, Германия), степень кристалличности (C_x) определяли как величину отношения площади под рентгенограммой с вычтенным фоном к площади без вычитания аморфного фона.

Пленки в качестве упаковочного материала получены экструзией расплава П(ЗГБ) на лабораторном экструдере (E19/25 D, Brabender, Германия) с использованием плоскощелевой фильеры с размерами зева шириной 100 мм и высотой 0,2 мм при следующих температурах по зонам экструдера: 175:182:180:180 °С. Для вытяжки и ориентирования пленок использовали лабораторный

транспортный конвейер (846102, Brabender, Германия).

Микроструктуру поверхности пленок исследовали методом сканирующей электронной микроскопии (S5500, Hitachi, Япония); шероховатость – атомно-силовой микроскопией (АСМ) в полу-контактном режиме (DPN5000, NanoInk, Skokie, IL, США). Поверхностные характеристики образцов оценивали на приборе для измерения краевых углов (DSA-25E, Krüss, Германия), из величины которых методом Оунса-Вендта-Рабея-Къельбле рассчитывали свободную поверхностную энергию, ее дисперсную и полярную составляющие (мН/м).

Физико-механические свойства пленок (модуль Юнга, прочность при разрыве и удлинение при разрыве) исследованы с помощью универсальной электромеханической разрывной машины (5565, Instron, Великобритания); толщина – цифровым микрометром EDM-25–0.001 (Legioner, Германия); паропроницаемость – на установке PERMATRAN-W® 3/31 (Ametek Mocon, США); кислородопроницаемость – на установке OX-TRAN® 1/50 (Ametek Mocon, США).

Тестирование химической безопасности и стойкости полимерных пленок в жидких средах включало проведение санитарно-химических исследований водных вытяжек, полученных экспонированием образцов в стерильной дистиллированной воде (1 см²: 1 мл) или единицы массы к единице объема воды (1мг: 1мл) при стабилизированной температуре 37 °С в динамическом режиме, через 3, 7 и 10 суток экспонирования образцов (Инструкция № 880–71, 1972; Ухарцева и др., 2005; Фролова, 2020). Измеряли в динамике эксперимента рН, количество органических примесей, наличие продуктов окисления и бромлирующихся веществ, а также содержание свободных мономеров 3-гидроксибутирата.

Таблица 1. Состав модельных сред, имитирующих пищевые продукты

Table 1. Composition of model media simulating food products

Наименование продуктов	Модельные растворы
Мясо, рыба свежая	Дистиллированная вода, 0,3%-ный раствор молочной кислоты
Мясо, рыба соленая и копченая	Дистиллированная вода, 0,5%-ный раствор молочной кислоты
Молоко, молочные продукты и молочные консервы	Дистиллированная вода, 3%-ный раствор молочной кислоты

Для тестирования химической стойкости полимерные пленки экспонировали в модельных средах, имитирующих пищевые продукты (табл. 1) (Инструкция № 880–71, 1972; Ухарцева и др., 2020б).

Исследование результатов контакта пленок с бактериями проводили техникой принудительной контаминации (Федотова, Мясенко, 2016), для чего на поверхность образцов пленок диаметром 1 см наносили 200 мкл суспензии тестовых культур бактерий. Оптическую плотность суспензий определяли с помощью денситометра (DEN-1, Biosan, Латвия), и доводили по стандарту мутности МакФарланда до 0,5 единиц, что соответствовало 1×10^8 клеток/мл. В качестве тестовых культур использовали типичные виды бактерий, развивающихся на пищевых продуктах при хранении: *Bacillus subtilis*, *Micrococcus luteus*, *Pseudomonas fluorescens*. Культуральные 24-луночные планшеты с образцами инкубировали при 30 °С. Численность бактерий анализировали через 24, 48 и 72 ч, высевая смыв с пленок на МПА и учитывая количество выросших колоний.

Статистическую обработку результатов экспериментов, выполненных в трех повторностях, проводили с использованием стандартного пакета программ Microsoft Excel. Результаты представлены как средние арифметические со стандартным отклонением. Досто-

верность результатов определяли по критерию Стьюдента (уровень значимости $p \leq 0,05$).

Результаты и обсуждение

Свойства исходного и экструдированного полимера

Наиболее распространенным в производстве пленок из термопластов является метод экструзии, для реализации которого используемый полимерный материал должен быть устойчивым к термоокислительной деструкции при переходе в вязкотекучее состояние при плавлении. Исходные свойства поли-3-гидроксibuтирата и полученных экструзионных пленок представлены в табл. 2 и на рис. 1.

Результаты показали, что в процессе переработки из расплавов полимер подвержен деградации; об этом свидетельствует значительное снижение средневесовой и среднечисловой молекулярной массы. Также обнаружено снижение степени кристалличности, что является следствием выравнивания соотношения аморфной и кристаллической фаз в структуре полимера. Важно отметить сохранение разрыва между температурой плавления и температурой термической деградации у образцов полученных пленок. Это говорит о сохранении термостабильности полимерного материала и пригодности для переработки из расплавов.

Таблица 2. Свойства исходного П(ЗГБ) и экструдированного в пленку

Table 2. Properties of initial P(3HB) and P(3HB) extruded into film

Среднечисловая молекулярная масса, M_n , кДа	Средневесовая молекулярная масса, M_w , кДа	Полидиспер- сность, \bar{D}	Степень кристаллич- ности, $C_x\%$	Температура плавления, $T_{пл}$, $^{\circ}\text{C}$	Температура термической деградации, $T_{дегр}$, $^{\circ}\text{C}$
Свойства исходного полимера					
112,3	530,7	4,7	65	173,1	279,1
Свойства экструдированного в пленку полимера					
36,9	102,5	2,8	44	168,6	283,3

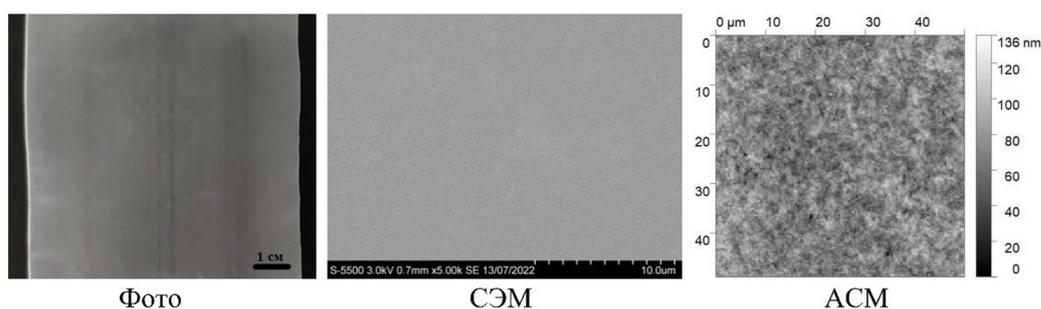


Рис. 1. Фото-, СЭМ- и АСМ-снимки экструзионных пленок из П(ЗГБ)

Fig. 1. Photo, SEM, and AFM images of extruded P(3HB) films

Свойства экструзионных пленок

Экструзией расплава П(ЗГБ) получены пленки, внешний вид и характеристики которых иллюстрируют рис. 1 и табл. 3. Образцы представляли собой бездефектные плотные прозрачные пленки с гладкой поверхностью, лишенные пор и неровностей. Толщину пленок задавали регулированием зева фильеры, которая могла варьировать от 100 до 300 мкм. Нарботаны партии пленок в количествах, обеспечивающих проведение необходимого набора тестов и методов, используемых для характеристики упаковки пищевых продуктов, согласно ГОСТ РФ и международным стандартам ISO.

Важным свойством полимерной упаковки служит состояние поверхности. В связи с этим возникает необходимость определения таких показателей, как шероховатость и сте-

пень активации поверхности, смачиваемость, регистрируемая по величине краевого угла. Результаты измерения краевых углов смачивания поверхности экструдированных пленок и рассчитанные показатели поверхностной энергии, дисперсной и полярной составляющих представлены в табл. 3. Краевые углы смачивания водой пленок определены на уровне $72\text{--}76^{\circ}$, что свидетельствует о ее гидрофобной природе. Значения полярной и дисперсной составляющих, рассчитанные по величине угла, составили $5,2\pm 0,1$ и $42,6\pm 0,3$ мН/м; поверхностной энергии $47,8\pm 0,4$ мН/м. Эти величины близки к показателям пленочной продукции из других ПГА – угол контакта с водой поверхностей из полилактида (ПЛА) обычно составляет от 70 до 80° для необработанного ПЛА (Janorkar et al., 2004; Kudryavtseva et al., 2017; Luque-Agudo et al., 2021), полиэтилена

Таблица 3. Характеристики экструзионных пленок из П(ЗГБ)

Table 3. Characteristics of extruded P(ЗНВ) films

Поверхностно-энергетические показатели по измерению краевого угла				
Фото капли воды на пленке	Контактный краевой угол смачивания водой, °	Поверхностная энергия, мН/м	Дисперсная составляющая, мН/м	Полярная составляющая, мН/м
	74,9±2,1	47,8±0,4	42,6±0,3	5,2±0,1
Шероховатость поверхности по результатам АСМ				
Среднеарифметическая шероховатость (S_a), нм	Среднеквадратичная шероховатость (S_q), нм		Максимальная высота (S_z), нм	
10,4	13,1		135,5	
Показатели механической прочности				
Модуль Юнга, МПа	Напряжение при разрыве, МПа		Удлинение при разрыве, %	
2629,06±187,95	19,30±2,18		1,02±0,09	
Показатели проницаемости				
Проницаемость O_2 ($cm^3/m^2 \cdot сут.$)		Проницаемость водяного пара ($г/м^2 \cdot сут.$)		
10		50		

от 90 до 110° (Drnovská et al., 2003; Conceição et al., 2019).

Показатели шероховатости поверхности пленок, полученные с применением АСМ, включали среднеарифметическую (S_a) и среднеквадратичную (S_q) шероховатости пленок и максимальную высоту (S_z), которые составили соответственно 10,4; 13,1 и 135,5 нм. Это подтверждает отсутствие неровностей и то, что поверхность пленок гладкая.

Необходимое свойство упаковочных материалов – механическая прочность. Результаты измерения физико-механических свойств экструзионных пленок из П(ЗГБ) показали, что значения модуля Юнга и напряжения при разрыве достаточно высокие, соответственно 2629,06 ± 187,95 и 19,30 ± 2,18 МПа, на фоне низкой эластичности, показателем которой служит удлинение при разрыве (порядка 1,0 %).

Опубликованные данные по механическим характеристикам упаковочной плен-

ки, полученной из ПГА различных типов П(ЗГБ-ЗГВ), П(ЗГБ-4ГБ), П(4ГБ) и др., позволяют заключить, что ПГА демонстрируют весь спектр механических свойств от жестких до пластичных в зависимости от их состава, молекулярной массы и структуры. В частности, у П(ЗГБ) предел прочности на разрыв может достигать значений 40 МПа, в то время как П(4ГБ) имеет предел прочности на разрыв 104 МПа и выше (Shaikh et al., 2021). Подобная тенденция наблюдается и для двух других механических свойств. ПГА с высокой пластичностью, в частности сополимеры П(ЗГБ-ЗГВ), имеют модуль Юнга, составляющий 1–5 ГПа, тогда как в случае жестких ПГА, в частности П(ЗГБ-ЗГГ), наблюдаются значения до 800 ГПа (Masood, 2017). Удлинение при разрыве для ПГА различных типов также напрямую зависит от их состава, например, если для П(ЗГБ) этот показатель составляет единицы процентов, для высокоэластичных

экструзионных пленок из П(ЗГБ-4ГБ), удлинение при разрыве может достигать 100 %, для П(ЗГБ-3ГВ) – 50 %, для П(4ГБ) – 950 % и выше (Yousefi, Wnek, 2025).

При сравнении полученных результатов с показателями экструзионных пленок из других биополимеров можно заключить, что механические характеристики демонстрируют схожие тенденции. В частности, для полилактида, достаточно хрупкого материала, предел прочности на разрыв лежит в пределах от 40 до 70 МПа с удлинением при разрыве менее 10 %, т.е. полилактид обладает высокой механической прочностью, но низкой эластичностью и высокой жесткостью, что ограничивает его применимость и функциональные свойства (Malek et al., 2021). В свою очередь, для экструзионных пленок из полиолефинов (полиэтилена и полипропилена) величина предела прочности лежит в пределах 20 МПа (Dziadowiec et al., 2023), а показатель эластичности достигает значений 700 % для полипропилена и 900 % для полиэтилена (MatWeb <https://www.matweb.com/Search/MaterialGroupSearch.aspx?GroupID=15>).

Важной характеристикой пищевой упаковки являются барьерные свойства. Значение кислородопроницаемости упаковочного материала играет решающую роль в качественном сохранении свежих продуктов (мяса, фруктов, овощей, а также готовых к употреблению продуктов). Полимерная упаковка с низким коэффициентом кислородопроницаемости поддерживает низкое давление кислорода внутри упаковки, тем самым замедляя окисление и увеличивая срок годности затаренных продуктов при хранении. Окислительная деградация упакованных пищевых продуктов может влиять на их цвет, вкус и устойчивость к микроорганизмам. Исследования показали (табл. 3), что барьерные свойства экструзионных пленок из П(ЗГБ) высокие. Значения про-

ницаемости кислорода экструзионных пленок из П(ЗГБ) намного ниже, чем у полиолефинов (Yaptenco et al., 2007), и ниже, чем у пленок ПЛА (Arrieta et al., 2014). Полученные результаты ближе к значениям для ароматических полиэфиров, таких как полиэтилентерефталат (ПЭТ) (Paszkiwicz et al., 2016).

Аналогичная тенденция наблюдается и в случае скорости пропускания водяного пара. ПГА, будучи гидрофобным, демонстрирует высокие барьерные свойства для водяного пара наравне с поливинилиденхлоридом (ПВДХ), полиэтиленом высокой плотности (ПЭВП) и линейным полиэтиленом низкой плотности (ЛПЭНП). Фактически П(ЗГБ) демонстрирует свойства барьера для водяного пара в диапазоне других традиционных термопластиков на основе нефти, таких как полиэтилен (Fabra et al., 2014). В целом по измеренным показателям полученные экструзионные пленки из П(ЗГБ) соответствуют показателям упаковочного материала для пищевых продуктов.

Санитарно-химические исследования экструзионных пленок

Необходимым этапом при контроле качества упаковочных материалов для пищевых продуктов является проведение санитарно-гигиенических исследований. Упаковочный материал не должен изменять физиологические или органолептические свойства упакованных продуктов, выделять в них вредные вещества в количествах, превышающих допустимые нормы. Важность определения количества вымываемых из материала упаковки веществ имеет большое значение при определении качества пищевой упаковки, так как при миграции химических веществ в продукты возможно неблагоприятное воздействие на человека. Санитарно-химические исследования включали обще-

Таблица 4. Санитарно-химические показатели водных вытяжек, полученных из экструзионных пленок П(ЗГБ)

Table 4. Sanitary and chemical parameters of aqueous extracts obtained from extruded P(ЗНВ) films

Показатель	Время отбора проб (сутки)			Допустимый уровень сдвига
	3	7	10	
pH ($\Delta \text{pH}/\text{pH}_{\text{контр}}$)	+0,08/6,90	+0,13/7,0	+0,30/7,05	$\pm 0,3$
Сдвиг оптической плотности ($\Delta D/D_{\text{контр}}$)	0	+0,053	+0,058	$\pm 0,3$
Окисляемость (мг $\text{O}_2/\text{л}$)	0	0	0	2,0 мг $\text{O}_2/\text{л}$
Бромируемость (мг $\text{Br}_2/\text{л}$)	0	0	0	1,0 мг $\text{Br}_2/\text{л}$
Свободные мономеры ЗГБ	0	0	0	0,1 мг/л

принятые интегральные методы оценки возможной миграции из полимерных образцов в модельную среду химических соединений, а также определение остаточных количеств веществ, входящих в состав П(ЗГБ) (мономеров 3-гидроксibuтирата). По результатам pH-метрии, зарегистрированные значения сдвига pH водных вытяжек на всех сроках наблюдения были значительно ниже пороговых значений, допустимых для материалов пищевого и медицинского назначения (табл. 4).

Спектроскопия вытяжек в диапазоне ультрафиолетовых волн, позволяющая определять наличие свободных C=C связей, мигрирующих из изделия в среду, показала, что пленки из П(ЗГБ) отвечают требованиям, предъявляемым к упаковочным материалам пищевых продуктов. В вытяжках не обнаружено мономеров 3-гидроксibuтирата, что подтверждает отсутствие процессов гидролиза полимера. Показатели окисляемости вытяжек также были значительно ниже уровней, допустимых для материалов пищевого назначения; присутствия бромирующихся веществ не обнаружено. Результаты позволяют заключить, что по измеренным показателям полученные экструзионные пленки пригодны в качестве упаковочного материала пищевых продуктов.

Устойчивость экструзионных пленок в жидких средах

Важное свойство упаковочной продукции – это стойкость в жидких средах. Результаты изучения химической стойкости полимерных пленок и возможности применения для контакта с пищевыми продуктами, выполненные экспонированием пленочных образцов в течение 10 суток в модельных средах, имитирующих пищевые продукты, представлены на рис. 2 и в табл. 5. Изменения цвета или помутнения модельных сред не зафиксированы, что показывает отсутствие вымывания из пленок каких-либо веществ. Внешний вид пленок оставался неизменным; пленки были прозрачными и эластичными. Уменьшения веса образцов также не обнаружено; поверхность оставалась чистой и гладкой, без появления дефектов в виде пор или трещин, что подтверждено данными электронной микроскопии (рис. 2).

Свойства поверхности пленок после экспозиции в модельных средах при комнатной температуре практически не менялись (табл. 5).

Показатели поверхности у образцов исследуемых пленок из П(ЗГБ) после экспонирования в модельных средах, имитирующих ряд продуктов, значительно не изменялись.

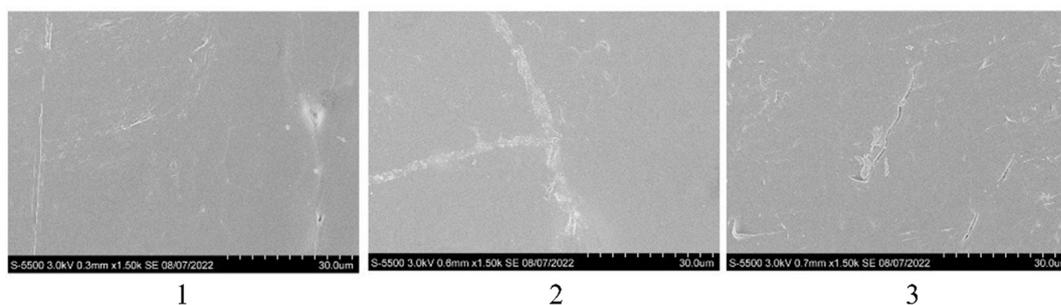


Рис. 2. СЭМ-снимки экструзионных пленок из П(ЗГБ) после экспонирования в модельных средах, имитирующих продукты: 1 – мясо, рыба свежая; 2 – мясо, рыба соленая и копченая; 3 – молоко, молочные продукты, молочные консервы

Fig. 2. SEM images of extruded P(3HB) films after exposure to model media simulating food products: 1 – fresh meat and fish; 2 – salted and smoked meat and fish; 3 – milk, dairy products, and canned dairy products

Таблица 5. Характеристики поверхности экструзионных пленок из П(ЗГБ) после экспонирования в модельных средах, имитирующих пищевые продукты

Table 5. Surface characteristics of extruded P(3HB) films after exposure to model media simulating food products

Модельные среды	Контактный краевой угол смачивания водой, °	Поверхностная энергия, мН/м	Дисперсная составляющая, мН/м	Полярная составляющая, мН/м
Мясо, рыба свежая	79,5±1,9	42,6±0,6	38,3±0,5	4,3±0,1
Мясо, рыба соленая и копченая	72,5±0,3	47,9±0,4	41,6±0,3	6,3±0,1
Молоко, молочные продукты, молочные консервы	79,3±1,4	45,3±0,5	41,6±0,4	3,7±0,1
Дистиллированная вода (контроль)	74,7±2,3	48,0±0,4	42,9±0,3	5,1±0,1

Взаимодействие экструзионных пленок с микроорганизмами

Упаковка должна препятствовать развитию микрофлоры на затаренных продуктах. Особенно это важно для мясных и молочных продуктов, которые благодаря высокому содержанию белка и влаги представляют собой богатый субстрат для развития микроорганизмов. Микроорганизмы, развиваясь на поверхности продуктов, могут ухудшать их органолептические свойства и вызывать порчу, поэтому одно из важнейших и необходимых свойств упаковочных материалов заключается в снижении скорости микробной контаминации

для продления сроков хранения пищевых продуктов (Безнаева и др., 2019; Konuk Takma, Korel, 2019; Родионов и др., 2021; Zhou et al., 2021). Полимерные материалы, используемые для изготовления упаковки, в отличие, например, от бумаги и картона, создают дополнительный барьер и способствуют защите продуктов от микробной контаминации и порчи (Шалаева, Федотова, 2012; Mlalila et al., 2018; Grzebieniarz et al., 2021).

Большинство публикаций, посвященных потенциалу применения ПГА в качестве упаковки пищевых продуктов, описывают физико-механические свойства этих мате-

риалов и их биоразлагаемость (Bhardwaj et al., 2014; Koller, 2014; Masood, 2017; Israni, Shivakumar, 2019; Tan et al., 2021; Vaithanomsat et al., 2021; Koller, Mukherjee, 2022; Adak et al., 2024), при этом очень мало сведений о взаимодействии упаковки из ПГА с микрофлорой. В представленной работе исследована способность экструзионных пленок из П(ЗГБ) противостоять микробной контаминации представителям типовой микрофлоры, инфицирующей мясные и кисломолочные продукты при хранении (табл. 6).

Анализ количества бактерий, выживших на поверхности пленок в течение 72 ч, показал, что гидрофобные пленки из П(ЗГБ) с гладкой поверхностью и низкими адгезионными свойствами не способствовали росту и развитию тестовых бактерий. На всех сроках наблюдали снижение численности бактерий, при этом степень ингибирования бактерий зависела от вида тест-культур. Так, через 24 ч количество выживших бактерий *M. luteus* было на уровне 10,3 %; через 72 ч – на уровне 2 % от исходной. Более низкая выживаемость клеток была у *B. subtilis*: через 24 ч численность упала до 0,11 % от исходной суспензии, через 48 ч снизилась еще в 4 раза, а через 72 ч была на уровне 0,01 %. Гибель грамотрицательных бактерий *P. fluorescens* на поверхности пленок была еще более выраженной, т.к.

к концу эксперимента осталось около 0,002 % от исходного количества.

Полученные результаты ингибирования микрофлоры согласуются с опубликованными данными исследования антимикробных свойств полимерной пищевой упаковки, полученной из различных материалов, включая П(ЗГБ). В работе (Ma et al., 2018) показано снижение в 1,4 раза общего количества бактерий на кубиках лосося, упакованных в пленки из смеси П(ЗГБ) с полилактидом, пластифицированные глицерин-монолауратом. Композитная пленка П(ЗГБ) с бактериальной наноцеллюлозой и наночастицами оксида цинка подавляла рост *Staphylococcus aureus* и *Escherichia coli* на 44 % и 63 % соответственно (Panaitescu et al., 2018). Использование пленок из полиэтилена низкой плотности, обработанных коронным разрядом (Безнаева и др., 2019), а также пленок хитозана или полиэтилентерефталата, функционализированных антимикробными пептидами (Gogliettino et al., 2020; Полищук, Котенкова, 2021), снижало количество мезофильных аэробных и факультативно анаэробных микроорганизмов, бактерий группы кишечной палочки и дрожжевых грибов в образцах мяса, упакованных в такие пленки. Композиты полиэтилена с хитозаном и альгинатом проявляли антимикробную активность в от-

Таблица 6. Выживаемость микроорганизмов при контакте с поверхностью образцов полимерных пленок (в % от исходной численности)

Table 6. Survival of microorganisms upon contact with the surface of polymer film samples (as a percentage of the initial population)

Микроорганизмы	Время экспозиции, ч			
	0 (исходное значение)	24	48	72
<i>Micrococcus luteus</i>	100	10,3 ± 2,4	12,3 ± 0,4	2,0 ± 0,7
<i>Bacillus subtilis</i>		0,11 ± 0,05	0,03 ± 0,01	0,01 ± 0,01
<i>Pseudomonas fluorescens</i>		0,028 ± 0,012	0,003 ± 0,001	0,002 ± 0,001

ношении *Staphylococcus aureus* и *Escherichia coli* (Konuk Takma, Korel, 2019).

Заключение

Получены полимерные пленки экструзией расплава биоразрушаемого поли-3-гидроксибутирата – наиболее распространенного и доступного типа полимеров семейства микробных полигидроксиалканоатов (ПГА), который был синтезирован с использованием нового и доступного субстрата, – жировых отходов рыбопереработки. Выполненные ком-

плексные исследования, включающие физико-механические свойства исходного полимера и в процессе плавления и экструзии, структуру поверхности полученных экструзионных пленок, показатели механической прочности, барьерных свойств, стойкости к воздействию жидких сред и антибактериальной активности по отношению к микрофлоре продуктов, свидетельствуют о соответствии полученных экспериментальных образцов пленочной продукции показателям, необходимым для упаковки пищевых продуктов.

Список литературы / References

Безнаева О. В., Кириш И. А., Машентцева Н. Г. (2019) Упаковка мяса птиц в физически модифицированные пленочные материалы. *Хранение и переработка сельхозсырья*, 4: 28–34 [Beznaeva O. V., Kirsh I. A., Mashentseva N. G. (2019) Packaging of poultry meat in physically modified membranous materials. *Storage and Processing of Farm Products* [Khranenie i pererabotka sel'khozsyrg`ya], 4: 28–34 (in Russian)]

Волова Т. Г., Шишачкая Е. И. (2012) Штамм бактерий *Cupriavidus eutrophus* ВКПМ В-10646 – продуцент полигидроксиалканоатов и способ их получения. Патент РФ No 2439143 [Volova T. G., Shishatskaja E. I. (2012) *Cupriavidus eutrophus* VKPM В-10646 bacteria strain – producer of polyhydroxyalkanoates and production method thereof. RF Patent No. 2439143 (in Russian)]

Ермоленко З. М., Фурсова Н. К. (2018) Микробиологическая порча пищевых продуктов и перспективные направления борьбы с этим явлением. *Бактериология*, 3(3): 46–57 [Ermolenko Z. M., Fursova N. K. (2018) Microbiological spoilage of food and promising approaches to combat the phenomenon. *Bacteriology* [Bakteriologiya], 3(3): 46–57 (in Russian)]

Инструкция № 880–71 (1972) Инструкция по санитарно-химическому исследованию изделий, изготовленных из полимерных и других синтетических материалов, предназначенных для контакта с пищевыми продуктами. Утв. 02.02.1971 зам. главного санитарного врача СССР Д. Н. Лоранским. Москва, Министерство здравоохранения СССР, 229 с. [Instruction No. 880–71 (1972) Instructions for sanitary and chemical studies of products made from polymeric and other synthetic materials intended for contact with food products. Approved 02.02.1971 by Deputy Chief Sanitary Doctor of the USSR D. N. Loransky. Moscow, Ministry of Health of the USSR, 229 p. (in Russian)]

Полищук Е. К., Котенкова Е. А. (2021) Разработка биоактивной упаковки на основе хитозана с включенными антимикробными пептидами. *Пищевые системы*, 4(3S): 217–222 [Polishchuk E. K., Kotenkova E. A. (2021) Development of bioactive packaging based on chitosan with incorporated antimicrobial peptides. *Food Systems* [Pishchevye sistemy], 4(3S): 217–222 (in Russian)]

Родионов Г. В., Олесюк А. П., Колтинова Е. Я., Егоров В. В., Малофеева Н. А., Ощепков М. С. (2021) Полиэтиленовая упаковка с микрочастицами серебра и цинка, и ее влияние на качество молока. *Известия высших учебных заведений. Серия Химия и химическая технология*, 64(3): 82–

91 [Rodionov G. V., Olesyuk A. P., Koltinova E. Ya., Egorov V. V., Malofeeva N. A., Oshchepkov M. S. (2021) Polyethylene packaging with silver and zinc microparticles and its influence on milk quality. *ChemChemTech* [Izvestiya Vysshikh Uchebnykh Zavedenii, Seriya Khimiya i Khimicheskaya Tekhnologiya], 64(3): 82–91 (in Russian)]

Ухарцева И. Ю., Гольдаде В. А., Ветров В. С. (2005) Гигиенические аспекты газоселективных упаковочных пленок. *Пластические массы*, 9: 43–44 [Ukhartseva I. Yu, Gol'dade V. A., Vetrov V. S. (2005) Hygienic aspects of gas-selective packaging films. *Plasticheskie Massy*, 9: 43–44 (in Russian)]

Ухарцева И., Кадолич Ж., Цветкова Е. (2016) Современная упаковка для пищевых продуктов. *Tara и упаковка*, 2: 18–23 [Ukhartseva I., Kadolich Zh., Tsvetkova E. (2016) Current packaging for food products. *Containers and Packaging* [Tara i upakovka], 2: 18–23 (in Russian)]

Ухарцева И. Ю., Цветкова Е. А., Гольдаде В. А. (2019) Полимерные упаковочные материалы для пищевой промышленности: классификация, функции и требования (обзор). *Пластические массы*, 9–10: 56–64 [Ukhartseva I. Yu., Tsvetkova E. A., Goldade V. A. (2019) Polymer packaging materials for foodstuffs: classification, functions and requirements. *Plasticheskie Massy*, 9–10: 56–64 (in Russian)]

Ухарцева И. Ю., Цветкова Е. А., Гольдаде В. А. (2020a) Методы изготовления полимерной упаковки для пищевых продуктов (обзор). *Пластические массы*, 7–8: 40–48 [Ukhartseva I. Yu., Tsvetkova E. A., Goldade V. A. (2020a) Methods of manufacturing polymer packaging for foodstuffs (overview). *Plasticheskie Massy*, 7–8: 40–48 (in Russian)]

Ухарцева И. Ю., Цветкова Е. А., Гольдаде В. А. (2020b) Методы контроля свойств полимерных упаковочных материалов для пищевых продуктов (обзор). *Пластические массы*, 1–2: 48–56 [Ukhartseva I. Yu., Tsvetkova E. A., Goldade V. A. (2020) Methods of control of properties of polymer packaging materials for foodstuffs. *Plasticheskie Massy*, 1–2: 48–56 (in Russian)]

Федотова О. Б., Мьяленко Д. М. (2016) Нетрадиционный подход к обеззараживанию пищевой упаковки. *Молочная промышленность*, 1: 25–27 [Fedotova O. B., Myalenko D. M. (2016) Non-traditional approach to the decontamination of food package. *Dairy Industry* [Molochnaya promyshlennost'], 1: 25–27 (in Russian)]

Фролова Ю. В. (2020) Методы оценки защитных полимерных покрытий, предназначенных для контакта с пищевыми продуктами. *Health, Food & Biotechnology*, 2(1): 98–111 [Frolova Yu. V. (2020) Evaluation methods for protective polymer coatings for food contact. *Health, Food & Biotechnology*, 2(1): 98–111 (in Russian)]

Шалаева А. В., Федотова О. Б. (2012) Хранение творожных продуктов в антибактериальном упаковочном материале. *Молочная промышленность*, 7: 40–41 [Shalaeva A. V., Fedotova O. B. (2012) Storage of curds products in antibacterial packing material. *Dairy Industry* [Molochnaya promyshlennost'], 7: 40–41 (in Russian)]

Шварц О., Эбелинг Ф.-В., Фурт Б. (2005) *Переработка пластмасс*. Паниматченко А. Д. (ред.) Санкт-Петербург, Профессия, 320 с. [Schwartz O., Ebeling F.-V., Furth B. (2005) *Plastics processing*. Panimatchenko A. D. (Ed.). St. Petersburg, Professiya, 320 p. (in Russian)]

Adak S., Kayalvizhi R., Bishai M., Jacob S., Kundu D. (2024) Advancements in microbial production of polyhydroxyalkanoates (PHA) from wastes for sustainable active food packaging: An eclectic review. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 60: 103288

- Arrieta M.P., López J., Hernández A., Rayón E. (2014) Ternary PLA–PHB–Limonene blends intended for biodegradable food packaging applications. *European Polymer Journal*, 50: 255–270
- Bano S., Aslam A.A., Khan A., Shabbir A., Qayyum F., Wahab N., Jabar A., Ul Islam I., Ng S.L. (2024) A mini-review on polyhydroxyalkanoates: Synthesis, extraction, characterization, and applications. *Process Biochemistry*, 146: 250–261
- Bhardwaj U., Dhar P., Kumar A., Katiyar V. (2014) Polyhydroxyalkanoates (PHA)-cellulose based nanobiocomposites for food packaging applications. *Food additives and packaging. ACS Symposium Series, Volume 1162*. Washington, DC, American Chemical Society, p. 275–314
- Bugnicourt E., Cinelli P., Lazzeri A., Alvarez V. (2014) Polyhydroxyalkanoate (PHA): review of synthesis, characteristics, processing and potential applications in packaging. *Express Polymer Letters*, 8(11): 791–808
- Chen G. Q. (2010) Plastics completely synthesized by bacteria: polyhydroxyalkanoates. *Plastics from bacteria. Microbiology monographs, Volume 14*. Chen G. Q. (Ed.) Springer, Berlin, Heidelberg, p. 17–37
- Chen G.Q., Jiang X.R., Guo Y. (2016) Synthetic biology of microbes synthesizing polyhydroxyalkanoates (PHA). *Synthetic and Systems Biotechnology*, 1(4): 236–242
- Conceição I.D. da, Silva L.R. C. da, Alves T.S., Silva H. de S. e, Barbosa R., Sousa R.R. M. de (2019) Investigation of the wettability using contact angle measurements of green polyethylene flat films and expanded vermiculite clay treated by plasma. *Materials Research*, 22(suppl. 1): e20180918
- da Cruz Pradella J. G. (2020) Economics and industrial aspects of PHA production. *The handbook of polyhydroxyalkanoates*. Koller M. (Ed.) CRC Press, p. 389–404
- Divyashree M.S., Shamala T.R. (2009) Effect of gamma irradiation on cell lysis and polyhydroxyalkanoate produced by *Bacillus flexus*. *Radiation Physics and Chemistry*, 78(2): 147–152
- Drnovská H., Lapčík L., Buršíková V., Zemek J., Barros-Timmons A. M. (2003) Surface properties of polyethylene after low-temperature plasma treatment. *Colloid and Polymer Science*, 281(11): 1025–1033
- Dziadowiec D., Matykiewicz D., Szostak M., Andrzejewski J. (2023) Overview of the cast polyolefin film extrusion technology for multi-layer packaging applications. *Materials*, 16(3): 1071
- Fabra M.J., Lopez-Rubio A., Lagaron J.M. (2014) Nanostructured interlayers of zein to improve the barrier properties of high barrier polyhydroxyalkanoates and other polyesters. *Journal of Food Engineering*, 127: 1–9
- Gogliettino M., Balestrieri M., Ambrosio R.L., Anastasio A., Smaldone G., Proroga Y.T. R., Moretta R., Rea I., De Stefano L., Agrillo B., Palmieri G. (2020) Extending the shelf-life of meat and dairy products via PET-modified packaging activated with the antimicrobial peptide MTP1. *Frontiers in Microbiology*, 10: 2963
- Grzebieniarsz W., Nowak N., Khachatryan G., Krzan M., Krystyjan M., Kosiński J., Khachatryan K. (2021) The preparation and characterization of quantum dots in polysaccharide carriers (starch/chitosan) as elements of smart packaging and their impact on the growth of microorganisms in food. *Materials*, 14(24): 7732
- Grzesiak J., Rogala M.M., Gawor J., Kouřilová X., Obruča S. (2024) Polyhydroxyalkanoate involvement in stress-survival of two psychrophilic bacterial strains from the High Arctic. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 108(1): 273

Hermida E. B., Mega V. I., Yashchuk O., Fernández V., Eisenberg P., Miyazaki S. S. (2008) Gamma irradiation effects on mechanical and thermal properties and biodegradation of poly(3-hydroxybutyrate) based films. *Macromolecular Symposia*, 263(1): 102–113

Israni N., Shivakumar S. (2019) Polyhydroxyalkanoates in packaging. *Biotechnological applications of polyhydroxyalkanoates*. Kalia V. (Ed.) Springer, Singapore, p. 363–388

Janorkar A. V., Metters A. T., Hirt D. E. (2004) Modification of poly(lactic acid) films: Enhanced wettability from surface-confined photografting and increased degradation rate due to an artifact of the photografting process. *Macromolecules*, 37(24): 9151–9159

Jenkins W. A., Osborn K. R. (1992) *Plastic films: Technology and packaging applications*. Boca Raton, CRC Press, 272 p.

Kanekar P. P., Kulkarni S. O., Nilegaonkar S. S., Sarnaik S. S., Kshirsagar P. R., Jog J. P. (2012) Microbial biodegradable polymer having potential application in packaging. *Proceedings of the First Indo-US International Conference on Polymers for Packaging Applications (ICPPA)*

Keshavarz T., Roy I. (2010) Polyhydroxyalkanoates: bioplastics with a green agenda. *Current Opinion in Microbiology*, 13(3): 321–326

Kiselev E. G., Demidenko A. V., Zhila N. O., Shishatskaya E. I., Volova T. G. (2022) Sugar beet molasses as a potential C-substrate for PHA production by *Cupriavidus necator*. *Bioengineering*, 9(4): 154

Kiselev E. G., Demidenko A. V., Zhila N. O., Volkov V. V., Volova T. G. (2025) Waste fish oil is a promising substrate for productive synthesis of degradable polyhydroxyalkanoates. *Journal of Polymers and the Environment*, 33(2): 1022–1034

Koller M. (2014) Poly(hydroxyalkanoates) for food packaging: Application and attempts towards implementation. *Applied Food Biotechnology*, 1(1): 3–15

Koller M. (2019) Polyhydroxyalkanoate biosynthesis at the edge of water activity-haloarchaea as biopolyester factories. *Bioengineering*, 6(2): 34

Koller M., Mukherjee A. (2020) Polyhydroxyalkanoates – linking properties, applications, and end-of-life options. *Chemical and Biochemical Engineering Quarterly*, 34(3): 115–129

Koller M., Mukherjee A. (2022) A new wave of industrialization of PHA biopolyesters. *Bioengineering*, 9(2): 74

Konuk Takma D., Korel F. (2019) Active packaging films as a carrier of black cumin essential oil: Development and effect on quality and shelf-life of chicken breast meat. *Food Packaging and Shelf Life*, 19: 210–217

Kudryavtseva V. L., Zhuravlev M. V., Tverdokhlebov S. I. (2017) Surface modification of polylactic acid films by atmospheric pressure plasma treatment. *AIP Conference Proceedings*, 1882(1): 020037

Kumar V., Darnal S., Kumar S., Kumar S., Singh D. (2021) Bioprocess for co-production of polyhydroxybutyrate and violacein using Himalayan bacterium *Iodobacter* sp. PCH194. *Bioresource Technology*, 319: 124235

Lebreton L., Andrady A. (2019) Future scenarios of global plastic waste generation and disposal. *Palgrave Communications*, 5: 6

Luque-Agudo V., Hierro-Oliva M., Gallardo-Moreno A. M., González-Martín M. L. (2021) Effect of plasma treatment on the surface properties of polylactic acid films. *Polymer Testing*, 96: 107097

Ma Y., Li L., Wang Y. (2018) Development of PLA-PHB-based biodegradable active packaging and its application to salmon. *Packaging Technology and Science*, 31(11): 739–746

Malek N. S. A., Faizuwan M., Khusaimi Z., Bonnia N. N., Rusop M., Asli N. A. (2021) Preparation and characterization of biodegradable polylactic acid (PLA) film for food packaging application: A review. *Journal of Physics: Conference Series*, 1892: 012037

Masood F. (2017) Polyhydroxyalkanoates in the food packaging industry. *Nanotechnology applications in food*. Oprea A. E., Grumezescu A. M. (Eds.) Elsevier, Academic Press, p. 153–177

MatWeb (February 18, 2025) <https://www.matweb.com/Search/MaterialGroupSearch.aspx?GroupID=15>

Mlalila N., Hilonga A., Swai H., Devlieghere F., Ragaert P. (2018) Antimicrobial packaging based on starch, poly(3-hydroxybutyrate) and poly(lactic-co-glycolide) materials and application challenges. *Trends in Food Science and Technology*, 74: 1–11

Muizniece-Brasava S., Dukalska L. (2006) Impact of biodegradable PHB packaging composite materials on dairy product quality. *Proceedings of the Latvia University of Agriculture*, 16(311): 79–87

Panaitescu D. M., Ionita E. R., Nicolae C. A., Gabor A. R., Ionita M. D., Trusca R., Lixandru B. E., Codita I., Dinescu G. (2018) Poly(3-hydroxybutyrate) modified by nanocellulose and plasma treatment for packaging applications. *Polymers*, 10(11): 1249

Part IV – Environmental Impact of Food Contact Substance (21 CFR part 25) (February 18, 2025) <https://www.fda.gov/media/155034/download>

Paszkiwicz S., Kwiatkowska M., Roslaniec Z., Szymczyk A., Jotko M., Lisiecki S. (2016) The influence of different shaped nanofillers (1D, 2D) on barrier and mechanical properties of polymer hybrid nanocomposites based on PET prepared by *in situ* polymerization. *Polymer Composites*, 37(7): 1949–1959

Pati S., Mohapatra S., Maity S., Dash A., Samantaray D. P. (2021) Polyhydroxyalkanoates for sustainable smart packaging of fruits. *Environmental and agricultural microbiology: Applications for sustainability*. p. 183–195

Plackett D., Siró I. (2011) Polyhydroxyalkanoates (PHAs) for food packaging. *Multifunctional and nanoreinforced polymers for food packaging*. Lagarón J.-M. (Ed.) Woodhead Publishing, p. 498–526

Popa M. S., Frone A. N., Panaitescu D. M. (2022) Polyhydroxybutyrate blends: A solution for biodegradable packaging? *International Journal of Biological Macromolecules*, 207: 263–277

Prasad P., Kochhar A. (2014) Active packaging in food industry: a review. *IOSR Journal of Environmental Science, Toxicology and Food Technology*, 8(5): 1–7

Pratt S., Vandi L.-J., Gapes D., Werker A., Oehmen A., Laycock B. (2019) Polyhydroxyalkanoate (PHA) bioplastics from organic waste. *Biorefinery. Integrated sustainable processes for biomass conversion to biomaterials, biofuels, and fertilizers*. Bastidas-Oyanedel J.-R., Schmidt J. E. (Eds.) Springer, Cham, p. 615–638

Quecholac-Piña X., Hernández-Berriel M. d. C., Mañón-Salas M. d. C., Espinosa-Valdemar R. M., Vázquez-Morillas A. (2020) Degradation of plastics under anaerobic conditions: A short review. *Polymers*, 12(1): 109

Shaikh S., Yaqoob M., Aggarwal P. (2021) An overview of biodegradable packaging in food industry. *Current Research in Food Science*, 4: 503–520

Sohn Y. J., Kim H. T., Baritugo K. A., Jo S. Y., Song H. M., Park S. Y., Park S. K., Pyo J., Cha H. G., Kim H., Na J. G., Park C., Choi J. I., Joo J. C., Park S. J. (2020) Recent advances in sustainable plastic upcycling and biopolymers. *Biotechnology Journal*, 15(6): 1900489

- Sudesh K., Abe H., Doi Y. (2000) Synthesis, structure and properties of polyhydroxyalkanoates: Biological polyesters. *Progress in Polymer Science*, 25(10): 1503–1555
- Tan D., Wang Y., Tong Y., Chen G.-Q. (2021) Grand challenges for industrializing polyhydroxyalkanoates (PHAs). *Trends in Biotechnology*, 39(9): 953–963
- Vaithanomsat P., Kongsin K., Trakunjae C., Boonyarit J., Jarerat A., Sudesh K., Chollakup R. (2021) Biosynthesized poly(3-hydroxybutyrate) on coated pineapple leaf fiber papers for biodegradable packaging application. *Polymers*, 13(11): 1733
- Volova T. G., Shishatskaya E. I., Sinsky A. J. (2013) *Degradable polymers: Production, properties, applications*. Hauppauge, New York, Nova Science Publishers, Inc., 380 p.
- Volova T. G., Kiselev E. G., Demidenko A. V., Zhila N. O., Nemtsev I. V., Lukyanenko A. V. (2022) Production and properties of microbial polyhydroxyalkanoates synthesized from hydrolysates of Jerusalem artichoke tubers and vegetative biomass. *Polymers*, 14(1): 132
- Volova T., Demidenko A., Kiselev E., Baranovskiy S., Shishatskaya E., Zhila N. (2019) Polyhydroxyalkanoate synthesis based on glycerol and implementation of the process under conditions of pilot production. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 103(1): 225–237
- Volova T., Sapozhnikova K., Zhila N. (2020) *Cupriavidus necator* B-10646 growth and polyhydroxyalkanoates production on different plant oils. *International Journal of Biological Macromolecules*, 164: 121–130
- Volova T., Zhila N., Sapozhnikova K., Menshikova O., Kiselev E., Sukovatyi A., Volkov V., Peterson I., Ipatova N., Shishatskaya E. (2025) From waste to biopolymer: Synthesis of P(3HB-co-4HB) from renewable fish oil. *Journal of Renewable Materials*, 13(3): 413–432
- Yaptenco K. F., Kim J. G., Lim B. S. (2007) Gas transmission rates of commercially available polyethylene and polypropylene films for modified atmosphere packaging. *Philippine Agricultural Scientist*, 90(1): 22–27
- Yousefi A. M., Wnek G. E. (2025) Poly(hydroxyalkanoates): Emerging biopolymers in biomedical fields and packaging industries for a circular economy. *Biomedical Materials & Devices*, 3(1): 19–44
- Zhila N. O., Kiselev E. G., Volkov V. V., Mezenova O. Ya., Sapozhnikova K. Yu., Shishatskaya E. I., Volova T. G. (2023a) Properties of degradable polyhydroxyalkanoates synthesized from new waste fish oils (WFOs). *International Journal of Molecular Sciences*, 24(19): 14919
- Zhila N. O., Sapozhnikova K. Yu., Kiselev E. G., Shishatskaya E. I., Volova T. G. (2023b) Synthesis and properties of polyhydroxyalkanoates on waste fish oil from the production of canned sprats. *Processes*, 11(7): 2113
- Zhila N. O., Sapozhnikova K. Yu., Kiselev E. G., Shishatskaya E. I., Volova T. G. (2024) Biosynthesis of polyhydroxyalkanoates in *Cupriavidus necator* B-10646 on saturated fatty acids. *Polymers*, 16(9): 1294
- Zhou X., Zong X., Zhang M., Ge Q., Qi J., Liang J., Xu X., Xiong G. (2021) Effect of konjac glucomannan/carrageenan-based edible emulsion coatings with camellia oil on quality and shelf-life of chicken meat. *International Journal of Biological Macromolecules*, 183: 331–339
- Zhou S., Cui J., Fang M., Ke Y., Jiang Y., Jia H., Zhu X., Yin X. (2024) Effect of ultraviolet aging and neonicotinoids on the transport of degradable microplastics in saturated porous media. *Journal of Cleaner Production*, 479: 144044