

ВЕСТНИК ТОМСКОГО ГОСУДАРСТВЕННОГО УНИВЕРСИТЕТА БИОЛОГИЯ

Tomsk State University Journal of Biology

Научный журнал

2022

№ 60

Зарегистрирован в Федеральной службе по надзору в сфере
массовых коммуникаций, связи и охраны культурного наследия
(свидетельство о регистрации ПИ № ФС 77-29499 от 27 сентября 2007 г.)

Подписной индекс в объединённом каталоге «Пресса России» 44024

Журнал включен в «Перечень рецензируемых научных изданий, в которых
должны быть опубликованы основные научные результаты диссертаций
на соискание ученой степени кандидата наук, на соискание ученой
степени доктора наук» Высшей аттестационной комиссии

Учредитель – Томский государственный университет

Научный журнал «Вестник Томского государственного университета. Биология» публикует результаты завершённых оригинальных исследований (теоретические и экспериментальные статьи) в различных областях современной биологии, ранее нигде не публиковавшиеся и не представленные к публикации в другом издании; публикуются описания принципиально новых методов исследования, обзорные статьи по отдельным проблемам. Основные требования к представляемым рукописям: новизна и обоснованность фактического материала, ясность, сжатость изложения, воспроизводимость экспериментальных данных. Решение о публикации принимается редколлегией после рецензирования, учитывая соответствие материала тематике журнала, актуальность проблемы, научную и практическую новизну и значимость, профессионализм выполнения работы. Принимаются статьи на русском и английском языках. Средний срок публикации 3–6 месяцев. Журнал выходит ежеквартально. Публикации осуществляются на некоммерческой основе. Все опубликованные материалы находятся в свободном доступе.

Индексируется: SCOPUS; Web of Science (Biological Abstracts, BIOSIS Previews, Emerging Sources Citation Index, Zoological Record, RSCI); Google Scholar; eLIBRARY.RU; CYBERLENINKA. Внесён в Ulrich's Periodicals Directory.

Адрес издателя и редакции: 634050, г. Томск, пр. Ленина, 36, Национальный исследовательский Томский государственный университет, Биологический институт; сайт: <http://journals.tsu.ru/biology/>

РЕДАКЦИОННАЯ КОЛЛЕГИЯ

Воробьев Д.С. – гл. редактор (Томский государственный университет, Томск, Россия)
Покровский О.С. – зам. гл. редактора (Национальный центр научных исследований, Тулуза, Франция)
Баранова О.Г. – отв. редактор (Ботанический институт им. В.Л. Комарова РАН, Санкт-Петербург, Россия)
Бобровский М.В. – отв. редактор (Институт физико-химических и биологических проблем почвоведения РАН, Пущино, Россия)
Громовых Т.И. – отв. редактор (Московский политехнический университет, Москва, Россия)
Денисов Е.В. – отв. редактор (НИИ онкологии Томского НИМЦ РАН, Томск, Россия)
Дорогина О.В. – отв. редактор (Центральный сибирский ботанический сад СО РАН, Новосибирск, Россия)
Зверев А.А. – отв. редактор (Томский государственный университет, Томск, Россия)
Иванов Ю.В. – отв. редактор (Институт физиологии растений им. К.А. Тимирязева РАН, Москва, Россия)
Кулижский С.П. – отв. редактор (Томский государственный университет, Томск, Россия)
Лойко С.В. – отв. редактор (Томский государственный университет, Томск, Россия)
Тарасов В.В. – отв. редактор (Институт экологии растений и животных УрО РАН, Екатеринбург, Россия)
Шефтель Б.И. – отв. редактор (Институт проблем экологии и эволюции им. А.Н. Северцова РАН, Москва, Россия)
Чернова О.Д. – отв. секретарь (Томский государственный университет, Томск, Россия)
E-mail: biotsu@rambler.ru, biotsu@mail.ru
Волокитина А.В. (Институт леса им. В.Н. Сукачева СО РАН, Красноярск); **Дюкарев А.Г.** (Институт мониторинга и климатических систем РАН, Томск); **Кривец С.А.** (Институт мониторинга и климатических систем РАН, Томск); **Минеева Н.М.** (Институт биологии внутренних вод им. И.Д. Папанова РАН, пос. Борок); **Штерншис М.В.** (Всероссийский научно-исследовательский институт биологической защиты растений, Краснодар)

РЕДАКЦИОННЫЙ СОВЕТ

Александровский А.Л. (Институт географии РАН, Москва, Россия); **Ананьева Н.Б.** (Зоологический институт РАН, Санкт-Петербург, Россия); **Афанас Л.И.** (НИИ физиологии и экспериментальной медицины СО РАМН, Новосибирск, Россия); **Васильев В.П.** (Институт проблем экологии и эволюции им. А.Н. Северцова РАН, Москва, Россия); **Васильева Е.Д.** (Зоомузей МГУ, Москва, Россия); **Дюбуа А.** (Национальный музей естественной истории, Париж, Франция); **Зеллер Б.** (Национальный институт агрономических исследований, Нанси, Франция); **Зинченко Т.Д.** (Институт экологии Волжского бассейна РАН, Тольятти, Россия); **Кингма Г.** (Маастрихтский университет, Маастрихт, Нидерланды); **Крюков В.Ю.** (Институт систематики и экологии животных СО РАН, Новосибирск, Россия); **Кузнецов В.В.** (Институт физиологии растений им. К.А. Тимирязева РАН, Москва, Россия); **Лодыгин Е.Д.** (Институт биологии ФИЦ Коми НЦ УрО РАН, Коми научный центр УрО РАН, Сыктывкар, Россия); **Лупашинов В.В.** (Университет Арканзаса медицинских наук, Арканзас, США); **Максимов Т.Х.** (Институт биологических проблем криолитозоны СО РАН, Якутск, Россия); **Носов А.М.** (Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, Москва, Россия); **Оленников Д.Н.** (Институт общей и экспериментальной биологии СО РАН, Улан-Удэ, Россия); **Пердисес А.** (Национальный Музей естественных наук, Мадрид, Испания); **Смирнова О.В.** (Центр по проблемам экологии и продуктивности лесов РАН, Москва, Россия); **Соколова Ю.Я.** (Университет Луизианы, Батон Руж, Луизиана, США); **Степанов В.А.** (НИИ медицинской генетики Томского НЦ СО РАМН, Томск, Россия); **Шарахов И.В.** (Политехнический университет Вирджинии, Вирджиния, США).

Издательство: Издательство Томского государственного университета. Редактор К.Г. Шилько; редактор-переводчик В.В. Воздвиженский; оригинал-макет А.И. Лелююр; дизайн обложки Л.Д. Кривцова

Подписано в печать 29.12.2022 г. Формат 70×108¹/₁₆. Усл. печ. л. 11,8. Тираж 50 экз. Заказ № 5342. Цена свободная.

Дата выхода в свет 10.03.2023 г.

Журнал отпечатан на полиграфическом оборудовании Издательства ТГУ. 634050, Ленина, 36, Томск, Россия. Тел. 8+(382-2)-52-98-49. Сайт: <http://publish.tsu.ru>. E-mail: rio.tsu@mail.ru

**About *Vestnik Tomskogo Gosudarstvennogo Universiteta. Biologiya* =
Tomsk State University Journal of Biology**

Founder – Tomsk State University

Tomsk State University Journal of Biology is a quarterly international and peer-reviewed scientific journal publishing the results of the completed experimental research, reviews and novel methods of research in Agricultural & Biological Sciences on the basis of its originality, importance, scientific character, validity, precision and clarity. The Journal is intended for a broad range of scientists and experts in biology, agriculture and ecology.

The editorial board of the *Tomsk State University Journal of Biology* commits to the internationally accepted principles of publication ethics expressed.

International standard serial edition number: EISSN 2311-2077, ISSN 1998-8591

Language: Russian, English

Publications are on non-commercial basis (FREE)

Open access

Publication timeframe: 3-6 months

All manuscripts are to be reviewed: double blind peer review (2-10-weeks)

Abstracting and Indexing: SCOPUS; Web of Science (Biological Abstracts, BIOSIS Previews, Emerging Sources Citation Index, Zoological Record, RSCI); Google Scholar; eLIBRARY.RU; CYBERLENINKA; Ulrich's Periodicals Directory

Contact the Journal

Tomsk State University, Institute of Biology, 36 Lenin Ave., Tomsk 634050, Russian Federation
<http://journals.tsu.ru/biology/en/>

EDITORIAL COUNCIL

Vorobiev DS - Editor-in-Chief, Tomsk State University, Tomsk, Russia

Pokrovsky OS - Co Editor-in-Chief, National Centre for Scientific Research, Toulouse, France

Baranova OG - Editor, Komarov Botanical Institute, RAS, St. Petersburg, Russia

Bobrovsky MV - Editor, Institute of Physicochemical and Biological Problems in Soil Science, RAS, Pyshchino, Russia

Gromovyykh TI - Editor, Moscow Polytechnic University, Moscow, Russia

Denisov EV - Editor, Cancer Research Institute of Tomsk NRMC, Tomsk, Russia

Dorogina OV - Editor, Central Siberian Botanical Garden SB RAS, Novosibirsk, Russia

Zverev AA - Editor, Tomsk State University, Tomsk, Russia

Ivanov Yu V - Editor, Timiryazev Institute of Plant Physiology, RAS, Moscow, Russia

Kulizhskiy SP - Editor, Tomsk State University, Tomsk, Russia

Loyko SV - Editor, Tomsk State University, Tomsk, Russia

Tarasov VV - Editor, Institute of Plant and Animal Ecology, RAS, Yekaterinburg, Russia

Sheftel BI - Editor, AN Severtsov Institute of Ecology and Evolution, RAS, Moscow, Russia

Chernova OD - Associate Editor, Tomsk State University, Tomsk, Russia

biojournalsu@gmail.com, biotsu@mail.ru

Volokitina AV (Sukachev Institute of Forest, SB RAS, Krasnoyarsk, Russia); **Dukarev AG** (Institute of Monitoring of Climatic and Ecological Systems, SB RAS, Tomsk, Russia); **Krivets SA** (Institute of Monitoring of Climatic and Ecological Systems, SB RAS, Tomsk, Russia); **Mineeva NM** (Papanin Institute for Biology of Inland Waters, RAS, Borok, Russia); **Shternshis MV** (All-Russian Research Institute of Biological Plant Protection, Krasnodar, Russia)

EDITORIAL BOARD [In Russian Alphabetical order]

Alexandrovskiy AL, Institute of Geography RAS (Moscow, Russia); **Ananjeva NB**, Zoological Institute RAS (St. Petersburg, Russia); **Aftanas LI**, State Research Institute of Physiology SB RAMS (Novosibirsk, Russia); **Vasil'ev VP**, A.N. Severtsov Institute of Ecology and Evolution RAS (Moscow, Russia); **Vasil'eva ED**, Zoological Museum, MV Lomonosov Moscow State University (Moscow, Russia); **Dubois A**, French National Museum of Natural History (Paris, France); **Zeller B**, French National Institute for Agricultural Research (Nancy, France); **Zinchenko TD**, Institute of Ecology of the Volga River Basin RAS (Togliatti, Russia); **Kingma H**, Maastricht University (Maastricht, Netherlands); **Kryukov VY**, Institute of Systematics and Ecology of Animals SB RAS (Novosibirsk, Russia); **Kuznetsov VIV**, Timiryazev Institute of Plant Physiology RAS (Moscow, Russia); **Lodygin ED**, Institute of Biology of Komi Scientific Centre UB RAS (Syktyvkar, Russia); **Lupashin VV**, University of Arkansas for Medical Sciences (Arkansas, USA); **Maximov TC**, Institute for Biological Problems of the Cryolithozone SB RAS (Yakutsk, Russia); **Nosov AM**, MV Lomonosov Moscow State University (Moscow, Russia); **Olennikov DN**, Institute of General and Experimental Biology SB RAS (Ulan-Ude, Russia); **Perdices A**, National Museum of Natural Sciences (Madrid, Spain); **Smirnova OV**, Center of Ecology and Productivity of Forests RAS (Moscow, Russia); **Sokolova YY**, Louisiana State University (Baton Rouge, Louisiana, USA); **Stepanov VA**, Research Institute of Medical Genetics SB RAMS (Tomsk, Russia); **Shakhov IV**, Virginia Polytechnic Institute and State University (Blacksburg, Virginia, USA).

PUBLISHER: TSU Press (Tomsk State University, Tomsk, Russian Federation). Editor KG Shilko; Translator/Editor VV Vozdvizhenskij; camera-ready copy AI Leloyur; cover design LD Krivtsova.

Passed for printing 29.12.2022. Format 70×108¹/₁₆. Conventional printed sheets 11,8. Circulation is 50 copies. Orders No 5342. Open price. Date of publication 10.03.2023.

36 Lenin Ave, Tomsk 634050, Russian Federation. Tel. +7 (382-2)-52-98-49. <http://publish.tsu.ru>.

E-mail: rio.tsu@mail.ru

СОДЕРЖАНИЕ

БИОТЕХНОЛОГИЯ И МИКРОБИОЛОГИЯ

Ковтун И.С., Филонова М.В., Борисова А.А., Сазонов А.Э. Изучение продуктов жизнедеятельности сельскохозяйственных животных: перспективы создания биобанка	6
Назарова Н.Б., Лияськина Е.В., Ревин В.В. Получение бактериальной целлюлозы при совместном культивировании <i>Komagataeibacter sucrofermentans</i> с продуцентами декстрана <i>Leuconostoc mesenteroides</i> и ксантана <i>Xanthomonas campestris</i>	23

ЗООЛОГИЯ

Резанов А.Г., Маловичко Л.В., Литвинов Ю.В., Резанов А.А. Сравнительный эколого-географический анализ кузниц большого пёстрого дятла <i>Dendrocopos major</i> (Aves: Piciformes) на севере и юге европейской части России	43
--	----

ЭКОЛОГИЯ

Babiy K.A., Kniazev S.Yu., Abramenko A.S., Golovanova E.V. The first data regarding the effect of the exotic <i>Eisenia ventripapillata</i> (Oligochaeta, Lumbricidae) on the cation composition of soils in Western Siberia	65
Параскив А.А., Терещенко Н.Н., Проскурнин В.Ю., Чужикова-Проскурнина О.Д., Трапезников А.В., Платаев А.П. Аккумулирующая способность гидробионтов и взвешенного вещества в отношении радиоизотопов плутония в прибрежных акваториях (Севастопольская бухта, Черное море)	78

TABLE OF CONTENTS

BIOTECHNOLOGY & MICROBIOLOGY

Kovtun IS, Filonova MV, Borisova AA, Sazonov AE. The Study of Metabolic By-Products of Farm Livestock: Prospects for the Creation of a Biobank	6
Nazarova NB, Liyaskina EV, Revin VV. The Production of Bacterial Cellulose by Co-Cultivation of <i>Komagataeibacter sucrofermentans</i> with Dextran Producers <i>Leuconostoc mesenteroides</i> and Xanthan <i>Xanthomonas campestris</i>	23

ZOOLOGY

Rezanov AG, Malovichko LV, Litvinov JV, Rezanov AA. Comparative Ecological and Geographical Analysis of the Anvils of the Great Spotted Woodpecker <i>Dendrocopos major</i> (Aves: Piciformes) in the North and South of the European Part of Russia	43
---	----

ECOLOGY

Babiy KA, Kniazhev SYu, Abramenko AS, Golovanova EV. The first data regarding the effect of the exotic <i>Eisenia ventripapillata</i> (Oligochaeta, Lumbricidae) on the cation composition of soils in Western Siberia	65
Paraskiv AA, Tereshchenko NN, Proskurnin VYu, Chuzhikova-Proskurnina OD, Trapeznikov AV, Plataev AP. Accumulation Ability of Hydrobionts and Suspended Matter in Relation to Plutonium Radioisotopes in Coastal Waters (Sevastopol Bay, the Black Sea)	78

БИОТЕХНОЛОГИЯ И МИКРОБИОЛОГИЯ

Научная статья

УДК 579.64

doi: 10.17223/19988591/60/1

Изучение продуктов жизнедеятельности сельскохозяйственных животных: перспективы создания биобанка

Ирина Сергеевна Ковтун¹, Мария Васильевна Филонова²,
Анна Александровна Борисова³, Алексей Эдуардович Сазонов⁴

^{1, 2, 4} Национальный исследовательский Томский государственный университет,
Томск, Россия

³ Национальный исследовательский центр Курчатовский институт, Москва, Россия

¹ kovtunirina2@gmail.com

² Maria-Caurus7@yandex.ru

³ AnnAlexBorisova@yandex.ru

⁴ sazonov_al@mail.ru

Аннотация. Коллекционирование образцов, ассоциированных с сельскохозяйственными животными, представляет значительный научный и практический интерес. Проведение экспериментальных работ с использованием биологического материала, собранного и сохраненного в ходе широкомасштабных исследований, в том числе с привлечением возможностей гражданской науки, позволяет не только выявить параметры, характеризующие особенности физиологии животных, но и обнаружить новые виды микроорганизмов, перспективные для биотехнологий. Подход к процессу отбора проб требует особого внимания, поскольку качество отбираемого биологического материала играет решающую роль в исследовательском процессе. При этом методы и подходы гражданской науки позволяют значительно расширить территориально-географический охват мест отбора проб, что позволит увеличить достоверность получаемых научных данных. Биобанк выступает связующим звеном взаимодействия в контексте сопряжения профессиональных исследований и «гражданской науки», организует и координирует процесс. В статье приведен опыт организации биобанка НИ ТГУ, деятельность которого направлена на сохранение образцов продуктов жизнедеятельности сельскохозяйственно значимых животных (навоз, помет, компост, а также образцы кисломолочных продуктов). Кроме того, объектами хранения биобанка являются штаммы сельскохозяйственно значимых микроорганизмов, выделенных в ходе исследований собранного биологического материала. Биобанк выступает как уникальная в своем роде структура, «универсальный инструмент», созданный для реализации крупномасштабных научных проектов.

Ключевые слова: биоресурсная коллекция, биобанк, биологические образцы, продукты жизнедеятельности сельскохозяйственно значимых животных, сельскохозяйственно значимые микроорганизмы, гражданская наука

Источник финансирования: работа выполнена при финансовой поддержке Министерства науки и высшего образования Российской Федерации в рамках Фе-

деральной научно-технической программы развития генетических технологий на 2019–2027 годы (Соглашение № 075-15-2021-1401 от 03 ноября 2021 года).

Для цитирования: Ковтун И.С., Филонова М.В., Борисова А.А., Сазонов А.Э. Изучение продуктов жизнедеятельности сельскохозяйственных животных: перспективы создания биобанка // Вестник Томского государственного университета. Биология. 2022. № 60. С. 6–22. doi: 10.17223/19988591/60/1

Original article

doi: 10.17223/19988591/60/1

The Study of Metabolic By-Products of Farm Livestock: Prospects for the Creation of a Biobank

**Irina S. Kovtun¹, Maria V. Filonova²,
Anna A. Borisova³, Alexey E. Sazonov⁴**

^{1, 2, 4} *National Research Tomsk State University, Tomsk, Russian Federation*

³ *National Research Center "Kurchatov Institute", Moscow, Russian Federation*

¹*kovtunirina2@gmail.com*

²*Maria-Caurus7@yandex.ru*

³*AnnAlexBorisova@yandex.ru*

⁴*sazonov_al@mail.ru*

Summary. Biobanks are a valuable resource for conducting all types of studies, since they are fundamental structures which contain accessible and defined biological samples of various types and related data. Biobanking includes collection, treatment, storage and distribution of samples and allows conducting a wide range of biomedical research with a significant number of samples, thus ensuring the quality of results and compliance with standard laboratory methods.

The literature search confirmed an insignificant activity in the animal biobanking sector when compared to that of human biobanking. In addition, the collection of samples associated with farm livestock is of considerable scientific and practical interest. Experimental work, which is carried out using the biological material collected and stored during large-scale studies (also involving the capabilities of citizen science), allows not only identifying the parameters characteristic of animal physiology features, but also discovering new types of biotechnologically promising microorganisms. The approach to the sampling process requires special attention, since the quality of the selected biological material is crucial in the research process. Moreover, the methods and approaches of citizen science can significantly expand the territorial and geographical coverage of sampling sites, which will enable to increase the reliability of the scientific data obtained. The biobank acts as a link connecting professional studies and "citizen science", organizes and coordinates the process of their interaction. The paper presents the experience of organizing the biobank of Tomsk State University which is aimed to store the samples of metabolic by-products of agriculturally significant animals (manure, droppings, compost, and samples of fermented dairy products). In addition, the strains of agriculturally significant microorganisms isolated while studying the collected biological material are stored in the biobank. The biobank acts as a unique structure of its kind, a "universal tool" created for implementation of large-scale research projects.

When implementing major biological research projects which involve conducting large-scale studies (for example, the projects as part of the federal scientific and technical program for the development of genetic technologies for 2019-2027 approved by

the Russian Federation Government Decree No 1930 as of December 28, 2019), there arises an urgent issue of obtaining biological material for the studies. As part of the project under implementation, The TSU Biobank of Agriculturally Significant Microorganisms (TSU Biobank of ASM), a bioresource collection of the samples of metabolic by-products of agriculturally significant animals and strains of agriculturally significant microorganisms isolated while studying the collected biological material was created. The biobank was created in order to ensure proper storage conditions for the samples, cultures of ASM, and genomic DNA collected during the project implementation, and provide information about the sources of samples and biological material, and their use in biotechnology. The biobank regulations – a document regulating the biobank activities – was designed, and a list of documents which guide the biobank in its activities was presented. General provisions, including general requirements for organization of the biobank's activities, its functions and powers, and the rules for reception/storage/distribution of biological material and associated information were also provided.

The biobank acts as a unique link between professional science and citizen science. It is the context of biobanking where the works of professional scientists can be combined with the contribution of "citizen scientists". In this case, the biobank acts as a controlling link, a source of criteria and methods for assessing the quality of biological material entering the biobank, since the quality of the received biological material may differ significantly depending on the degree of professionalism of a person who collects samples.

The article contains 2 Figures, 22 References.

Keywords: bioresource collection, biobank, biological samples, metabolic by-products of agriculturally significant animals, agriculturally significant microorganisms, citizen science

Acknowledgments: This work was supported by the Ministry of Science and Higher Education of the Russian Federation in the framework of the Federal scientific-technical program of the genetic technologies development for 2019–2027 (Agreement № 075-15-2021-1401, 3 November 2021).

For citation: Kovtun IS, Filonova MV, Borisova AA, Sazonov AE. The Study of Metabolic By-Products of Farm Livestock: Prospects for the Creation of a Biobank. *Vestnik Tomskogo gosudarstvennogo universiteta. Biologiya = Tomsk State University Journal of Biology*. 2022;60:6-22. doi: 10.17223/19988591/60/1

Введение

Коллекционирование образцов живой природы является неотъемлемой частью развития науки. В настоящее время количество и разнообразие коллекционируемых биологических объектов растет с каждым годом, расширяется область их использования. Совокупность биологических образцов, хранящихся в определённых условиях и представляющая научно-практический или просветительский интерес, называется биоресурсной коллекцией [1]. Регламентирование и цифровизация биоресурсных коллекций привели к появлению нового термина «биобанк». По отношению к биоресурсным коллекциям термин «биобанк» стал применяться сравнительно недавно – начиная с 2000-х гг. [2]. При этом важно отметить принципиальную разницу между коллекцией и биобанком. Так, коллекцией можно назвать любое хранилище биологических объектов, вплоть до лабо-

раторного морозильника, в котором помещен биологический исследовательский материал разного рода. Такие коллекции, как правило, не являются структурно-организованными, а вся ассоциированная с коллекционируемыми образцами информация не является доступной для сторонних пользователей. Кроме того, отбор, хранение и процессинг образцов редко регламентируются какими-либо стандартными операционными процедурами, что значительно затрудняет использование коллекционируемых образцов другими научными группами в силу отсутствия валидации. Наиболее структурно-организованными коллекциями являются гербарии и зоологические музеи, поскольку в этих случаях процесс создания коллекции подчиняется определенным правилам и стандартам, а доступ к образцам и ассоциированной с ними информации является относительно открытым [3]. Однако идея коллекционирования гербарных образцов и экспонатов зоологического музея заключается преимущественно в столь возможно длительном сохранении каждого образца без возможности изъятия фрагментов образцов и проведения с ними лабораторных исследований.

В свою очередь, смысл деятельности биобанка заключается в предоставлении валидированных биологических образцов, которые отобраны, транспортируемы и сохраняемы при строго определённых условиях, согласно стандартизированным процедурам. Получатель биологического материала может использовать образец или его фрагмент в научно-исследовательских целях без необходимости возвращения образца в биобанк. Вся ассоциированная с образцом информация является достоверной и верифицированной, что позволяет максимально продуктивно использовать все собранные образцы в научных целях. Биобанкирование как строго регламентированный и контролируемый процесс способствует значительной оптимизации исследовательской деятельности [4].

Если обратиться к истории, то можно отметить, что коллекционирование образцов живой природы как процесс шло параллельно и даже предшествовало исследовательским процессам, что создавало необходимую материальную базу и позволяло накапливать материал для опытов. С развитием науки и профессионализацией научно-исследовательской деятельности появилась необходимость модификации биоресурсных коллекций в направлении сохранения всей информации, ассоциированной с собранными образцами, а также в направлении организации сетевого взаимодействия с другими биоколлекциями и сотрудничества с заинтересованными исследователями. Так стал развиваться процесс биобанкирования как самостоятельный раздел науки.

В современном представлении биобанк – это структура, создаваемая с целью долгосрочного хранения биологических образцов и ассоциированной с ними информации для их дальнейшего использования в научных и клинических исследованиях. При этом стоит отметить, что сама идеология биобанкирования подразумевает не только хранение биологического материала и метаданных, но и создание рекомендаций по оснащению и планировке помещений биобанка, предполагает обучение персонала биобанка,

стандартизацию процедур по отбору, транспортировке, процессингу, анализу и контролю качества образцов, а также создание современных, удобных при эксплуатации баз данных для организации научно-практического взаимодействия с потенциальными пользователями услуг биобанка [5].

В подавляющем большинстве биобанки в их современном понимании создавались для сохранения биологического материала человека с целью решения ограниченного круга медицинских задач, прежде всего связанных с гемотрансфузией и трансплантологией (банк крови, банк органов и др.). Однако с освоением и пониманием самого процесса биобанкирования, расширилась и область применения данного инструмента. Например, создание биобанков репродуктивных клеток позволило преодолеть проблемы бесплодия, а биобанки микробиоты человека позволили значительно продвинуться в диагностике и терапии ряда патологий, ассоциированных с желудочно-кишечным трактом.

В настоящее время деятельность биобанков также в основном направлена на сохранение биологического материала человека, что обусловлено востребованностью со стороны активно развивающихся медицинских биотехнологий. Однако в отношении животных такая практика не является общепринятой за исключением сохранения половых клеток породистых сельскохозяйственных и линейных экспериментальных животных, а также некоторых попыток сохранения генетического материала в интересах изучения биоразнообразия. При этом бурное развитие сельскохозяйственной биотехнологии последних лет сформировало запрос на создание коллекций биологических образцов, ассоциированных с сельскохозяйственными животными. Такие образцы могут служить как основой создания диагностических инструментов для оценки здоровья и качества питания сельскохозяйственных животных, так и являться источником ценных микроорганизмов, которые могут быть использованы в биотехнологии для нужд человека. Однако подобных биобанков до сих пор не существует [6].

Развитие биобанкирования в сфере сельского хозяйства, сохранение продуктов жизнедеятельности сельскохозяйственно значимых животных несомненно позволит значительно расширить область применения микроорганизмов кишечника сельскохозяйственных животных, предупреждать ряд заболеваний животных, а также осуществлять мониторинг состояния здоровья племенных животных и ценных особей. А использование биобанка как инструмента научно-исследовательского процесса позволит привязывать микробный состав кишечника каждой конкретной особи к месту обитания, к условиям питания и жизни в целом. Объектом коллекционирования могут быть не только непосредственно фекалии сельскохозяйственных животных, но и образцы компоста и фекалии диких сородичей, что позволит выделять штаммы сельскохозяйственно значимых микроорганизмов. Биобанк при этом становится связующим звеном и гарантом качества, стандартизируя процесс отбора и хранения проб. Таким образом, создание биобанка для сохранения продуктов жизнедеятельности сельскохозяйственно значимых животных, а также сельскохозяйственно значимых

микроорганизмов позволит расширить область и масштабы научно-исследовательского применения микробиоты.

Биобанкирование образцов, ассоциированных с сельскохозяйственными животными

Биобанкирование образцов, ассоциированных с сельскохозяйственными животными, прежде всего продуктов их жизнедеятельности, лежит в основе целого ряда научных направлений. С одной стороны, такие образцы могут служить источником ценной информации о физиологии животных, с другой стороны, могут быть источником микроорганизмов с уникальными, хозяйственно ценными свойствами. Микробиологический анализ собранных образцов должен идти с позиции изучения микробиома, поскольку такой подход обеспечивает целостное представление о микробной структуре и функциях любых экологических и клинических образцов [11, 12]. К понятию «микробиом» относятся не только микроорганизмы как таковые, но и все их функциональные и экологические взаимодействия друг с другом и со средой, что, в свою очередь, приводит к формированию специфических экологических ниш. Микробиом, образуя динамическую, интерактивную микрэкосистему, способную масштабироваться и изменяться во времени, интегрируется в макроэкосистемы, включая эукариотических хозяев, играя решающую роль в их функционировании и поддерживая гомеостаз. Таким образом, микробиом представляет собой совокупность микроорганизмов, принадлежащих к разным таксонам (прокариоты (бактерии, археи), эукариоты (простейшие, грибы, водоросли)), внедрённых в экологические условия среды обитания, а также включает микробные структуры, метаболиты, мобильные генетические элементы (транспозоны, фаги, вирусы), реликтовую ДНК [7–10]. Понимание пространственной организации и функциональности микробного сообщества необходимо для исследования роли микробного биоразнообразия в различных экосистемах [12, 13], в том числе при изучении образцов, ассоциированных с сельскохозяйственными животными.

Подавляющее большинство научных исследований микробных сообществ в настоящее время посвящено изучению микробиома кишечника, что связано со значительным разнообразием микроорганизмов, населяющих этот орган. Так, количество бактериальных клеток в кишечнике человека превышает число клеток в его организме в 10 раз, а генов бактерий – в 100 раз больше, чем человеческих генов. Состав микробиома и динамика его организации различны и зависят от взаимодействия с организмом хозяина, учитывая его метаболизм, диету, образ жизни, осложнения со здоровьем, а также воздействие антибиотиков и окружающей среды [8, 11, 14, 15]. Растущий научно-исследовательский интерес к микробиому кишечника подчеркивает важность его изучения, однако количество исследований, посвященных роли микробиома у сельскохозяйственных животных, и тем

более коллекционирование образцов продуктов их жизнедеятельности все еще остается ограниченным [12, 14].

Изучение микробиоты животных можно отнести к относительно новому научному направлению, которое стало возможным благодаря появлению технологий секвенирования для определения таксономической идентичности и функциональных признаков микроорганизмов без культивирования [9, 14]. В настоящее время наиболее актуальным является исследование микробиома животных в аспекте развития продуктивности животноводства в контексте обеспечения продовольственной безопасности. Постоянный рост населения (по оценкам, к 2050 г. оно составит 10 млрд человек, согласно отчету Организации Объединенных Наций за 2017 г.) связан с растущим спросом на продукты питания как растительного, так и животного происхождения. Предполагается, что растущий спрос на производство мяса приведет к необходимости изменения методов животноводства в сторону интенсификации и экономичного производства, но в то же время и к росту требований сократить использование антибиотиков в пищевых продуктах, повышению внимания к здоровью и благополучию животных.

Микробиом желудочно-кишечного тракта сельскохозяйственных животных модулирует несколько важных физиологических функций, таких как пищеварение и всасывание, энергетический обмен и развитие иммунной системы, и помогает в профилактике патогенных инфекций. Его исследование позволяет решать ряд задач практического животноводства, в том числе вопросы диагностики и профилактики болезней сельскохозяйственных животных. Так, одной из современных проблем сельского хозяйства и ветеринарной медицины является наличие болезней кишечника, обусловленных истощением адаптационных механизмов, иммунодефицитным состоянием и дисбактериозом, приводящим к эндогенным бактериальным инфекциям. При этом профилактика таких состояний нацелена, в первую очередь, на увеличение числа представителей полезной микрофлоры кишечника – молочно-кислых бактерий (лактобактерий и бифидобактерий) [9, 11, 16–18]. Микрофлора кишечника животных может быть источником для целевого выделения штаммов-продуцентов различных соединений, таких как антибактериальные соединения, витамины, ферменты, незаменимые аминокислоты. Кроме того, использование экспериментальных животных в качестве моделей болезней, позволяет использовать их микрофлору для разработки терапевтических и диагностических инструментов [11].

Возвращаясь к вопросам биобанкирования, можно отметить, что развитие исследований микробиома в целом и микрофлоры в частности свидетельствует о смене парадигмы в научном подходе от сохранения аксенических образцов в коллекциях культур к сохранению сложных сообществ. Экологические или прикладные исследования бактериальных сокультур, накопительных культур, консорциумов или даже образцов окружающей среды более приближены к реальным биологическим условиям *in situ*, чем работа с чистыми культурами, и поэтому обычно считаются более актуальными. Таким образом, сохранение неповрежденного образца мик-

робиоты считается одним из лучших подходов для будущей культуромики и изучения влияния внешних факторов на экологическую функциональность. Исследования по хранению таких образцов находятся в зачаточном состоянии и требуют в том числе развития поддерживающей инфраструктуры [10, 12, 19].

Создание биобанков образцов кишечной микрофлоры сельскохозяйственных животных и сопутствующая молекулярная информация о ее бактериальных членах могут стать ценным ресурсом исследований с целью внесения фундаментального вклада в понимание взаимосвязи между микробиотой и болезнями [8, 15]. Одним из несомненных преимуществ биобанкирования образцов, ассоциированных с сельскохозяйственными животными, является стабильное и долгосрочное хранение микробных ресурсов, что, в свою очередь, позволяет валидировать ранее полученные результаты, избежать случайных загрязнений или потери во время исследований, каталогизировать генетическое биоразнообразие для будущих исследований, обеспечить долгосрочную доступность культур для биотехнологического или коммерческого использования [8, 20].

Образцы микрофлоры в контексте биобанкирования требуют специальных знаний по оптимизации их хранения, поскольку биологический материал такого рода весьма специфичен. В настоящее время накоплено достаточное количество информации о сохранении образцов микрофлоры человека. Допустимо криосохранение образцов фекалий как методом шоковой заморозки жидким азотом, так и в низкотемпературных морозильных камерах (-80°C), однако такой подход требует добавления криопротекторов для максимально бережного хранения образцов. Можно предположить, что условия сохранения аналогичных образцов животного происхождения требуют похожего подхода. При этом важно учитывать, что условия хранения образцов могут отличаться в зависимости от цели их дальнейшего использования. Например, для получения чистых культур и консорциумов микроорганизмов важно сохранить образец в максимально неизменном виде после отбора, это позволит получить наиболее полную картину микробного разнообразия образца. Поэтому в данном случае целесообразным является не только строгое соблюдение температурного режима при транспортировке биологического материала, но и повышаются требования к его хранению: так, целесообразно будет помещение образца в условия сверхнизких температур (до -80°C или криоконсервация в жидком азоте). Для избегания повреждения клеток при криоконсервации и последующем оттаивании применяется широкий спектр криозащитных агентов (диметилсульфоксид, глицерин и др.) [21]. При исследовании видового разнообразия и поиска новых видов микроорганизмов в образцах допустимо высушивание или консервирование образцов, что значительно упрощает процесс их транспортировки и хранения (допустимо хранение при комнатной температуре или в условиях низких температур до $+4^{\circ}\text{C}$) [12, 19, 22].

При всем разнообразии имеющихся методов биобанкирования, сохранение образцов, ассоциированных с сельскохозяйственными животными,

требует разработки новых уникальных подходов. Необходимо учитывать, что микрофлора представляет собой динамическую систему, которая изменяется в ответ на влияние окружающей среды и биотических факторов. На функциональном уровне удаление одного критического микробного компонента из-за применения неоптимизированного подхода к хранению может необратимо повлиять на целостность системы [10]. Кроме того, неправильный отбор и хранение образцов могут существенно исказить исходные данные, создавая искусственную изменчивость результатов исследований. Таким образом, возникает необходимость в подробном описании и стандартизации процедур отбора, транспортировки и хранения, разрабатываемых специально для каждого конкретного вида животного [12].

Методы и подходы гражданской науки в контексте биобанкирования

При реализации крупных научных проектов биологического профиля, в которых подразумевается проведение масштабных исследований (например, проектов в рамках Федеральной научно-технической программы развития генетических технологий на 2019–2027 гг., утвержденной Постановлением Правительства Российской Федерации от 28.12.2019 № 1930), остро встает вопрос получения биологического материала для исследований. В этой связи использование инструментов, методов и подходов гражданской науки может быть вполне актуально. Под гражданской наукой понимается концепция проведения научных исследований с привлечением добровольцев, не имеющих специального образования и навыков в данной области предполагаемого исследования. Основным преимуществом использования такого подхода является широкий географический охват при отборе проб и возможность достижения большего разнообразия образцов, чем при использовании труда ученых-профессионалов.

Мировой опыт использования гражданской науки в области биологии не так велик в сравнении с потенциальными возможностями, которые открывает этот подход. В основном, упор делается на методы, основанные на наблюдении, а также на сбор и коллекционирование биологических объектов, не требующих определенных специальных знаний при сборе и/или отправке в лабораторию для дальнейших исследований, например, некоторых засушенных насекомых, частей растений, образцов почв [21].

В нашем проекте «Широкомасштабный поиск и изучение микроорганизмов и микробных сообществ, ассоциированных с сельскохозяйственными животными и продуктами животного происхождения» (проект ФНТП № 075-15-2021-1401 от 3.11.2021 г.) в рамках гражданской науки организованы сбор и отправка биологического материала «гражданскими учеными» (микробиологами-волонтерами, не имеющими специального образования и представляющими преимущественно сельскохозяйственные колледжи). Необходимо отметить, что обычно и сбор, и отправка биологического материала предполагают наличие специальных знаний, умений и навыков. И если в случае сотрудничества с коллегами-учеными вопрос о

навыках сводится лишь к проведению краткого инструктажа, то в случае с «гражданскими учеными» необходимо проводить обучение, чтобы качество отбираемого биологического материала соответствовало необходимым требованиям. В рамках нашего проекта обучение «гражданских ученых» организовано в рамках образовательной программы «Изучение микробиомов и молекулярная основа резистентности микроорганизмов».

Отдельно стоит отметить организацию технической части отбора и отправки проб, а также проработку вопросов, связанных с условиями транспортировки отбираемых проб. Здесь важнейшим звеном взаимодействия «гражданских ученых» с профессиональными учеными становится именно биобанк, который берет на себя огромную ответственность за контроль каждого образца, поступающего в рамках реализации научного проекта. Биобанк сельскохозяйственно значимых микроорганизмов, уникальный в своем роде, создан как структурное подразделение Национального исследовательского Томского государственного университета, на базе которого реализуется научный проект.

Биологические образцы, ассоциированные с сельскохозяйственными животными, являются достаточно сложным биологическим материалом для биобанкирования. Это связано с фактическим отсутствием мировых стандартов и протоколов отбора, транспортировки, хранения и контроля качества такого рода образцов. Образцы могут подвергаться значительным динамическим изменениям в зависимости от состояния здоровья животного, от времени отбора проб, от погодных условий в момент отбора проб и т.д. Все это, несомненно, требует разработки и внедрения стандартных операционных процедур для унификации и стандартизации всех стадий сохранения биологического материала от непосредственного отбора, транспортировки, процессинга, криосохранения до реализации, контроля качества и утилизации.

Для организации вклада трудов «гражданских ученых» в «большую» науку биобанку необходимо разрабатывать протоколы и стандартные операционные процедуры для контроля над процессом отбора и транспортировки проб «гражданскими учеными». При этом важно учитывать, что последовательность действий и описание всех процедур, связанных со сбором биологического материала, должны быть описаны по-разному для профессиональных ученых и «гражданских ученых». Поэтому разработке всех стандартных операционных процедур уделялось особое внимание, и наряду со стандартными протоколами, обеспечивающими общую организацию деятельности биобанка, разработаны процедуры отбора и транспортировки для каждого конкретного вида биологического материала. При этом для «гражданских ученых» разработана отдельная инструкция, включающая двойное толкование и употребление специфических терминов для максимально точного воспроизведения последовательности действий, описанных в протоколе при отборе проб. Кроме того, для «гражданских учёных» предложен более простой и консервативный способ сохранения образцов после их отбора, не требующий создания особых условий транспортировки, – каждый образец помещался в раствор консерванта, сохраняющий нуклеиновые кислоты от повреждений и разрушения. Такой спо-

соб значительно снижал риски, связанные с сохранностью образцов в процессе транспортировки, однако накладывал существенные ограничения на дальнейшее использование образца. Тем не менее сохранение нуклеиновых кислот позволяет с помощью секвенирования изучить метагеном каждого образца, определив филогенетическую принадлежность микроорганизмов, находящихся в образце. Этой информации может быть достаточно для понимания видового разнообразия, например, кишечника животного, а ассоциированная с каждым образцом информация даст исчерпывающее представление о месте и условиях отбора проб.

Содержание каждой стандартной операционной процедуры (СОП) может быть изменено, при этом важно понимать, что разработка любого протокола или процедуры невозможна без наличия обратной связи как от профессиональных ученых, так и от «гражданских ученых», поскольку даже незначительные корректировки СОП могут влиять на качество отбираемого и транспортируемого биологического материала.

Еще одной важной технической задачей, которую берет на себя биобанк, является организация получения и контроль отправки проб, отобранных «гражданскими учеными». При этом уже на старте организации работы «гражданских ученых» необходимо четко понимать, кто возьмет на себя затраты на транспортные услуги по перевозке образцов, а также спланировать четкую логистическую схему отправки и получение каждой посылки. Чем тщательнее будет продумана эта система, тем проще станет вопрос об организации сотрудничества и научного взаимодействия с гражданскими учеными. На рис. 1 представлена схема взаимодействия гражданских ученых с биобанком, как контролирующим и стандартизирующим звеном в цепи перемещения биологических образцов (рис. 1).

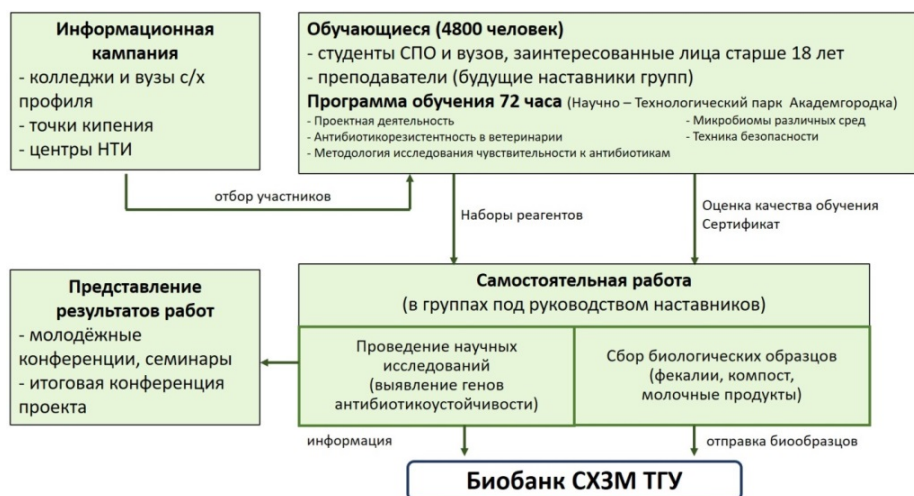


Рис. 1. Схема взаимодействия «гражданских ученых» с биобанком
[Fig. 1. Scheme of interaction between citizen scientists and the biobank]

Биобанк сельскохозяйственно значимых микроорганизмов

Анализ мирового опыта биобанкирования показал практическое отсутствие готовых решений по созданию и документальному сопровождению биобанка образцов, ассоциированных с сельскохозяйственными животными, поэтому перед нами встала задача не только по организации уникального в своем роде биобанка, но и по разработке и внедрению всех необходимых для успешного функционирования биобанка документов, в том числе правил, регламента, стандартных операционных процедур и протоколов.

При разработке положения о биобанке и регламента деятельности биобанка опирались на опыт уже существующих биобанков, учитывая специальные требования к организации помещений для биобанкирования, особенности условий хранения биологического материала, необходимость создания информационной системы, содержащей базу данных всей ассоциированной с биологическими образцами информации, а также возможность реализации научно-образовательных программ на базе биобанка. ходе работы разработаны следующие документы: положение о биобанке, регламент организации деятельности биобанка, правила пользования биобанком, штатное расписание и должностные инструкции сотрудников биобанка, а также 10 стандартных операционных процедур. При этом важно понимать, что вся разрабатываемая документация может быть при необходимости подвергнута коррекции в установленном порядке. Как положение о биобанке, так и регламент его деятельности являются основополагающими документами, и тщательность проработки их содержания впоследствии может сыграть значительную роль в организации биобанка.

Организация биобанкирования подразумевает не только процесс отбора, транспортировки, хранения биологического материала, но и создание единой информационной системы учета образцов, а также хранения всей ассоциированной с биологическим материалом информации. Особенности биобанкинга диктуют определенные требования к информационной системе, которые обязательно должны быть учтены уже на стадии разработки технического задания на создание информационной базы данных. При этом техническое задание должно включать следующие разделы:

- общие сведения, где перечислены наименование информационной системы (ИС), основания для проведения работ по созданию ИС, заказчик, исполнитель, сроки выполнения работ и источник финансирования;
- назначение и цели создания информационной системы, включающие описание назначения системы, цели создания системы, задачи ИС;
- характеристика объектов информатизации, включающая сведения об объекте информатизации, сведения об условиях эксплуатации объекта информатизации;
- требования к системе, включающие общие требования к структуре, к надежности, к безопасности, требования к эргономике и технической эстетике, к транспортабельности, к эксплуатации, техническому обслужива-

нию, ремонту и хранению, требования к защите информации от несанкционированного доступа, требования по сохранности информации при авариях, требования к защите от влияния внешних воздействий, требования к патентной чистоте, требования к стандартизации и унификации, дополнительные требования; требования к функциям, выполняемым системой; требования к видам обеспечения;

- состав и содержание работ по созданию системы;
- порядок контроля и приёмки системы;
- требования к составу и содержанию работ по подготовке объекта информатизации к вводу системы в действие;
- требования к документированию.

Кроме того, необходимо предусмотреть емкость системы с точки зрения дальнейшей работы с так называемыми карточками образцов – в системе должна быть учтена возможность дробления проб с увеличением мест хранения без создания новых карточек учета образцов. Под карточкой образца подразумевается информационная ячейка в электронной базе данных, куда при поступлении образца вносится вся исчерпывающая информация о биологическом материале (тип, место отбора, дата отбора, погодные условия в момент отбора пробы, особенности жизни, питания, режима дня сельскохозяйственного животного, с которым связан образец, условия транспортировки и описание всех манипуляций, проводимых с образцом, и т.д.). Вся заносимая в карточку образца информация в дальнейшем позволит исследователям использовать образцы в научных целях без необходимости организации экспедиций к местам отбора образцов.

Поскольку у нас нет достаточных данных о мировом опыте в области контроля качества при приеме проб на хранение в биобанк образцов, ассоциированных с сельскохозяйственными животными, отдельной задачей стала необходимость разработки процедур по контролю качества поступающих образцов. Так, наряду с визуальным контролем осуществлялась процедура выделения ДНК, качественная и количественная ее оценка с последующим помещением образцов и ДНК в криохранилище. На рис. 2 представлена общая логическая схема функционирования биобанка (рис. 2).

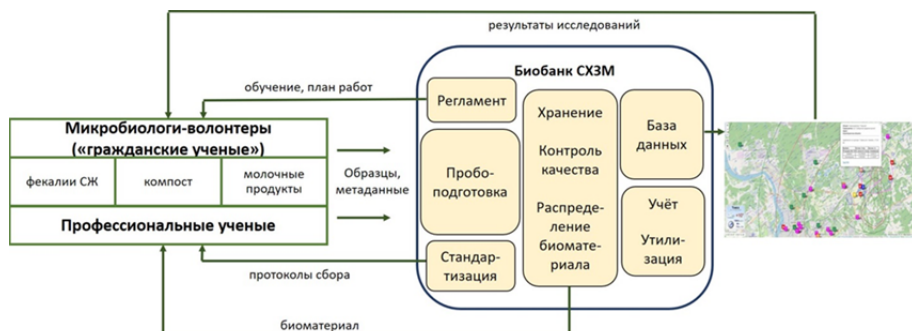


Рис. 2. Общая логическая схема функционирования биобанка
[Fig. 2. General logical scheme of the functioning of the biobank]

На данный момент в биобанке находится 473 образца фекалий, компоста, кисломолочных продуктов, 290 образцов ДНК, запущена в эксплуатацию и функционирует информационная система биобанка (<https://biobank.microbiomes.ru>), позволяющая хранить всю ассоциированную с биологическими образцами информацию, а также все необходимые нормативные документы, на основании которых осуществляется работа биобанка сельскохозяйственно значимых микроорганизмов (СХЗМ) ТГУ.

Заключение

Таким образом, в рамках реализуемого проекта создана биоресурсная коллекция образцов продуктов жизнедеятельности сельскохозяйственно значимых животных, а также штаммов сельскохозяйственно значимых микроорганизмов, выделенных в ходе исследований собранного биологического материала под названием «Биобанк сельскохозяйственно значимых микроорганизмов ТГУ» (Биобанк СХЗМ ТГУ). Биобанк создан с целью обеспечения надлежащих условий хранения собранных в ходе выполнения проекта образцов, культур СХЗМ, геномной ДНК, а также обеспечения информацией об источниках образцов и биологического материала и их применении в биотехнологиях. Разработано положение о биобанке – документ, регламентирующий деятельность биобанка, а также представлен перечень документов, которыми в своей деятельности руководствуется биобанк. Общие положения включают общие требования к организации деятельности биобанка, его функции и полномочия, а также правила приема/хранения/распределения биологического материала и ассоциированной с ним информации.

Биобанк выступает как своеобразное связующее звено между профессиональной наукой и гражданской наукой. Именно в контексте биобанкирования становится возможным объединение трудов профессиональных ученых с вкладом «гражданских ученых». В данном случае биобанк выступает в роли контролирующего звена, источником критериев и методов оценки качества биологического материала, поступающего в биобанк, поскольку качество принимаемого биологического материала может существенно отличаться в зависимости от профессионализма отбирающего образца человека.

Список источников

1. Каменский П.А., Сазонов А.Э., Федянин А.А., Садовничий В.А. Биологические коллекции: стремление к идеалу // *Acta naturae*. 2016. № 8 (2). С. 6–10.
2. Брызгалина Е.В., Аласания К.Ю., Садовничий В.А. Социально-гуманитарная экспертиза функционирования национальных депозитариев биоматериалов // *Вопросы философии*. 2016. № 2. С. 18–21.
3. Lopez A., Sassone A.B. The uses of herbaria in botanical research // *Frontiers in Plant Science*. 2019. № 10 (1363). PP. 1–10. doi:10.3389/fpls.2019.01363
4. Paskal W., Paskal A.M., Debski T. et al. Aspects of modern biobank activity – comprehensive review // *Pathology & Oncology Research*. 2018. № 24 (4). PP. 771–785. doi: 10.1007/s12253-018-0418-4

5. Долудин Ю.В., Борисова А.Л., Покровская М.С. и др. Современные передовые практики и рекомендации по биобанкированию // Клиническая лабораторная диагностика. 2019. № 64 (12). С. 769–776.
6. Groeneveld L.F., Gregusson S., Guldbrandtsen B. Domesticated Animal Biobanking: Land of Opportunity // PLoS Biol. 2016. № 14 (7). PP. e1002523. doi: 10.1371/journal.pbio.1002523
7. Read S., Marzorati M., Guimarães B.C.M. Microbial resource management revisited: successful parameters and new concepts // Applied Microbiology and Biotechnology. 2011. № 90. PP. 861–871. doi: 10.1007/s00253-011-3223-5
8. Bolan S., Seshadri B., Talley N.J., Naidu R. Bio-banking gut microbiome samples // EMBO reports. 2016. № 17 (7). PP. 929–930. doi: 10.15252/embr.201642572
9. Jarett J.K., Kingsbury D.D., Dahlhausen K.E. et al. Best practices for Microbiome study design in companion animal research // Frontiers in Veterinary Science. 2021. № 8. PP. 644836. doi: 10.3389/fvets.2021.644836
10. Ryan M.J., Schlöter M., Berg G. Development of Microbiome Biobanks – Challenges and Opportunities // Trends in Microbiology. 2021. № 29 (2). PP. 89–92. doi: 10.1016/j.tim.2020.06.009
11. Jin Song S., Woodhams D.C., Martino C. Engineering the microbiome for animal health and conservation // Experimental Biology and Medicine. 2019. № 7244 (6). PP. 494–504. doi: 10.1177/1535370219830075
12. Prakash O., Nimonkar Y., Desai D. A Recent Overview of Microbes and Microbiome Preservation // Indian Journal of Microbiology. 2020. № 60 (3). PP. 297–309. doi: 10.1007/s12088-020-00880-9
13. Berg G., Rybakova D., Fischer D. et al. Microbiome definition re-visited: old concepts and new challenges // Microbiome. 2020. № 8. PP. 103.
14. Bahrndorff S., Alemu T., Alemneh T., Lund Nielsen J. The Microbiome of Animals: Implications for Conservation Biology // International Journal of Genomics. 2016. № 2016. PP. 5304028. doi: 10.1155/2016/5304028
15. Caenazzo L., Tozzo P. Microbiome Forensic Biobanking: A Step toward Microbial Profiling for Forensic Human Identification // Healthcare (Basel). 2021. № 9 (10). PP. 1371. doi: 10.3390/healthcare9101371
16. Макаров В.В. Факторные болезни: так что же это такое? // Ветеринарный консультант. 2008. № 6. С. 3–7.
17. Chen S., Luo S., Yan C. Gut Microbiota Implications for Health and Welfare in Farm Animals: A Review // Animals (Basel). 2021. № 12 (1). PP. 93. doi: 10.3390/ani12010093
18. Wegl G., Grabner N., Köstelbauer A. et al. Toward Best Practice in Livestock Microbiota Research: A Comprehensive Comparison of Sample Storage and DNA Extraction Strategies // Frontiers in Microbiology. 2021. № 12. PP. 627539. doi: 10.3389/fmicb.2021.627539
19. Vekeman B., Heylen K. Preservation of Microbial Pure Cultures and Mixed Communities // Hydrocarbon and Lipid Microbiology Protocols: Isolation and Cultivation. 1 ed / eds. by T.J. McGenity, K.N. Timmis, B. Nogales. Berlin : Springer-Verlag, 2015. PP. 299–315.
20. Hoefman S., Van H.K., Boon N. et al. Survival or Revival: Long-Term Preservation Induces a Reversible Viable but Non-Culturable State in Methane-Oxidizing Bacteria // PLoS ONE. № 7 (4). PP. e34196. doi: 10.1371/journal.pone.0034196
21. Encarnacao J., Teodosio M.A., Morais P. Citizen science and biological invasions: a review // Frontiers in Environmental Science. 2021. Vol. 8 (602980). PP. 1–13.
22. Kerckhof F.M., Courtens E.N., Geirnaert A. Optimized cryopreservation of mixed microbial communities for conserved functionality and diversity // PLoS One. 2014. № 9 (6). PP. e99517. doi: 10.1371/journal.pone.0099517

References

1. Kamenski PA, Sazonov AE, Fedyanin AA, Sadovnichy VA. Biological collections: chasing the ideal. *Acta natura*. 2016;8(2):6-10. In Russian, In English
2. Bryzgalina EV, Alasania KY, Sadovnichy VA, Mironov VV, Gavrilenko SM, Var-khotov TA, Shkomova EM, Nabiulina EA. The Social and Humanitarian Expertise of Functioning of the National Depositories of Biomaterials. *Russian Studies in Philosophy*. 2016;2:18-21. In Russian, English summary
3. Lopez A, Sassone AB. The uses of herbaria in botanical research. *Frontiers in Plant Science*. 2019;10(1363):1-10. doi:10.3389/fpls.2019.01363
4. Paskal W, Paskal AM, Debski T, Gryziak M, Jaworowski J. Aspects of modern biobank activity – comprehensive review. *Pathology and Oncology Research*. 2018;24(4):771-785. doi: 10.1007/s12253-018-0418-4
5. Doludin YV, Borisova AL, Pokrovskaya MS, Stefanyuk OV, Sivakova OV, Botsoeva SA, Meshkov AN, Metelskaya VA, Drapkina OM. *Klinicheskaya laboratornaya diagnostika*. 2019;64(12):769-776. doi:10.18821/0000-0000-0000-00-0-0-00. In Russian, English summary
6. Groeneveld LF, Gregusson S, Guldbrandtsen B. Domesticated Animal Biobanking: Land of Opportunity. *PLOS Biology*. 2016;14(7):e1002523. doi: 10.1371/journal.pbio.1002523
7. Read S, Marzorati M, Guimarães BCM. Microbial resource management revisited: successful parameters and new concepts. *Applied Microbiology and Biotechnology*. 2011;90:861-871. doi: 10.1007/s00253-011-3223-5
8. Bolan S, Seshadri B, Talley NJ, Naidu R. Bio-banking gut microbiome samples. *EMBO reports*. 2016;17(7):929-930. doi: 10.15252/embr.201642572
9. Jarett JK, Kingsbury DD, Dahlhausen KE, Ganz HH. Best practices for Microbiome study design in companion animal research. *Frontiers in Veterinary Science*. 2021;8:644836. doi: 10.3389/fvets.2021.644836
10. Ryan MJ, Schlöter M, Berg G. Development of Microbiome Biobanks - Challenges and Opportunities. *Trends in Microbiology*. 2021;29(2):89-92. doi: 10.1016/j.tim.2020.06.009
11. Jin Song S, Woodhams DC, Martino C. Engineering the microbiome for animal health and conservation. *Experimental Biology and Medicine* (Maywood). 2019;244(6): 494-504. doi: 10.1177/1535370219830075
12. Prakash O, Nimonkar Y, Desai D. A Recent Overview of Microbes and Microbiome Preservation. *Indian Journal of Microbiology*. 2020;60(3):297-309. doi: 10.1007/s12088-020-00880-9
13. Berg G, Rybakova D, Fischer D, Cernava T, Vergès M C, Charles T, Chen X, Cocolin L, Eversole L, Corral GH, Kazou M, Kinkel L, Lange L, Lima N, Loy A, Macklin JA, Maguin E, Mauchline T, McClure R, Mitter B, Schlöter M. Microbiome definition revisited: old concepts and new challenges. *Microbiome*. 2020;8:103. doi:10.1186/s40168-020-00875-0
14. Bahrndorff S, Alemu T, Alemneh T, Lund Nielsen J. The Microbiome of Animals: Implications for Conservation Biology. *International Journal of Genomics*. 2016;2016:5304028. doi: 10.1155/2016/5304028
15. Caenazzo L, Tozzo P. Microbiome Forensic Biobanking: A Step toward Microbial Profiling for Forensic Human Identification. *Healthcare* (Basel). 2021;9(10):1371. doi:10.3390/healthcare9101371
16. Makarov VV. Faktornye bolezni: tak chto zhe jeto takoe?. *Veterinarnyj konsul'tant*. 2008;6:3-7. In Russian
17. Chen S, Luo S, Yan C. Gut Microbiota Implications for Health and Welfare in Farm Animals: A Review. *Animals* (Basel). 2021;12(1):93. doi: 10.3390/ani12010093
18. Wegl G, Grabner N, Köstelbauer A, Klose V, Ghanbari M. Toward Best Practice in Livestock Microbiota Research: A Comprehensive Comparison of Sample Storage and DNA Extraction Strategies. *Frontiers in Microbiology*. 2021;12:627539. doi: 10.3389/fmicb.2021.627539.

19. Vekeman B, Heylen, K. Preservation of Microbial Pure Cultures and Mixed Communities. In: Hydrocarbon and Lipid Microbiology Protocols: Isolation and Cultivation 1 ed [Eds. McGenity T.J., Timmis K.N., Nogales B.] Berlin: Springer-Verlag, 2015.299-315.
20. Hoefman S, Van HK, Boon N, Vandamme P, De VP, Heylen K. Survival or Revival: Long-Term Preservation Induces a Reversible Viable but Non-Culturable State in Methane-Oxidizing Bacteria. *PLoS ONE*. 2012;7(4):e34196. doi: 10.1371/journal.pone.0034196
21. Encarnacao J, Teodosio MA, Morais P. Citizen science and biological invasions: a review. *Frontiers in Environmental Science*. 2021;8(602980):1-13. doi: 10.3389/fenvs.2020.602980
22. Kerckhof FM, Courtens EN, Geirnaert A. Optimized cryopreservation of mixed microbial communities for conserved functionality and diversity. *PLoS One*. 2014;9(6):e99517. doi: 10.1371/journal.pone.0099517

Информация об авторах:

Ковтун Ирина Сергеевна – м.н.с. лаборатории биохимии и молекулярной биологии, Национальный исследовательский Томский государственный университет (Томск, Россия).

E-mail: kovtunirina2@gmail.com

Филонова Мария Васильевна – канд. биол. наук, доцент кафедры физиологии растений, биотехнологии и биоинформатики, Национальный исследовательский Томский государственный университет (Томск, Россия).

E-mail: Maria-Caurus7@yandex.ru

Борисова Анна Александровна, – лаборант-исследователь, НИЦ «Курчатовский институт» (Москва, Россия).

E-mail: AnnAlexBorisova@yandex.ru

Сазонов Алексей Эдуардович – советник при ректорате, Национальный исследовательский Томский государственный университет (Томск, Россия).

E-mail: sazonov_al@mail.ru

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Information about the authors:

Kovtun Irina S. – junior researcher Laboratory of Biochemistry and Molecular Biology, National Research Tomsk State University (Tomsk, Russian Federation).

E-mail: kovtunirina2@gmail.com

Filonova Maria V. – Cand. Sci. (Biol.) Assoc. Prof. Department of Plant Physiology, Biotechnology and Bioinformatics, National Research Tomsk State University (Tomsk, Russian Federation).

E-mail: Maria-Caurus7@yandex.ru

Borisova Anna A., – research laboratory assistant Kurchatov Institute National Research Centre (Moscow, Russian Federation).

E-mail: AnnAlexBorisova@yandex.ru

Sazonov Alexey E. – adviser to the administration of the National Research Tomsk State University (Tomsk, Russian Federation).

E-mail: sazonov_al@mail.ru

The Authors declare no conflict of interest.

*Статья поступила в редакцию 17.10.2022;
одобрена после рецензирования 19.12.2022; принята к публикации 29.12.2022.*

*The article was submitted 17.10.2022;
approved after reviewing 19.12.2022; accepted for publication 29.12.2022.*

Научная статья
УДК 579.69:604.2
doi: 10.17223/19988591/60/2

Получение бактериальной целлюлозы при совместном культивировании *Komagataeibacter sucrofermentans* с продуцентами декстрана *Leuconostoc mesenteroides* и ксантана *Xanthomonas campestris*

Наталья Борисовна Назарова¹, Елена Владимировна Лияськина²,
Виктор Васильевич Ревин³

^{1, 2, 3} Национальный исследовательский Мордовский государственный университет
им. Н.П.Огарева, Саранск, Россия

¹ n.sapunowa2016@yandex.ru

² liyaskina@yandex.ru

³ revinvv2010@yandex.ru

Аннотация. Впервые проведено совместное культивирование продуцента бактериальной целлюлозы *Komagataeibacter sucrofermentans* с продуцентами декстрана *Leuconostoc mesenteroides* и ксантана *Xanthomonas campestris* на среде с мелассой с целью увеличения выхода продукта. Доказано, что совместное культивирование продуцента бактериальной целлюлозы с продуцентом декстрана позволило увеличить выход бактериальной целлюлозы в два раза, что составило $5,99 \pm 0,02$ г/л по сравнению с $2,25 \pm 0,05$ г/л. Изучены структура и физико-химические свойства полученной бактериальной целлюлозы методами атомно-силовой микроскопии, ИК-спектроскопии и рентгеновской дифрактометрии. Показано, что при совместном культивировании штаммов степень кристалличности бактериальной целлюлозы уменьшается в 2 раза с 64 до 32%.

Ключевые слова: микробные полисахариды, совместное культивирование, бактериальная целлюлоза, декстран, ксантан

Источник финансирования: работа выполнена благодаря финансовой поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (грант РФФИ 19-515-80002) и Министерства науки и высшего образования РФ (грант FZRS-2020-0003).

Для цитирования: Назарова Н.Б., Лияськина Е.В., Ревин В.В. Получение бактериальной целлюлозы при совместном культивировании *Komagataeibacter sucrofermentans* с продуцентами декстрана *Leuconostoc mesenteroides* и ксантана *Xanthomonas campestris* // Вестник Томского государственного университета. Биология. 2022. № 60. С. 23–42. doi: 10.17223/19988591/60/2

The Production of Bacterial Cellulose by Co-Cultivation of *Komagataeibacter sucrofermentans* with Dextran Producers *Leuconostoc mesenteroides* and Xanthan *Xanthomonas campestris*

Natalia B. Nazarova¹, Elena V. Liyaskina², Viktor V. Revinv³

^{1, 2, 3} National Research Ogarev Mordovia State University, Saransk, Russian Federation

¹ n.sapunowa2016@yandex.ru

² liyaskina@yandex.ru

³ revinvv2010@yandex.ru

Summary. Bacterial cellulose (BC) is an extracellular product of bacterial metabolism. Like plant cellulose, BC has the same molecular formula but its structure is significantly different. Due to its unique properties (high degree of crystallinity, purity, good water-holding capacity), BC is widely used in many areas of human life. However, despite all the advantages of BC over plant polymers, its production is a relatively expensive process. Thus, one of the ways to increase the polymer yield can be to jointly cultivate a BC producer strain with other polysaccharide producers. The positive effect of some water-soluble polysaccharides on the BC output is known from the literature data. In addition, many biosynthetic genes remain silent and not expressed in vitro, thereby severely limiting the chemical diversity of microbial compounds that can be obtained by fermentation. In contrast, the co-cultivation of two or more different microorganisms mimics a real "situation" where microorganisms coexist in complex microbial communities. It has been proven that competition or antagonism occurring within co-cultivation leads to a significant increase in the existing compounds and / or accumulation of new compounds which are not found in axial cultures of the producer strain. The purpose of this study is to investigate co-cultivation as a way to increase the yield of BC during the cultivation of BC producers with other polysaccharide-forming strains.

The strain of *Komagataeibacter sucrofermentans* B-11267 was used as a BC producer, *Xanthomonas campestris* was used as a xanthan producer, and *Leuconostoc mesenteroides* was used as a dextran producer. The cultivation was carried out under dynamic conditions on a medium with molasses. The polysaccharide yield was expressed as the absolute dry weight of the polymers per unit volume of the culture medium. We have studied the BC morphology using atomic force microscopy (AFM) and FTIR spectroscopy. Crystallinity was checked by X-ray diffraction analysis.

The interest in BC makes it necessary to synthesize it in large quantities on an industrial scale. The problem of increasing productivity was solved by co-cultivating the BC producer *Komagataeibacter sucrofermentans* with the producers of dextran *Leuconostoc mesenteroides* and xanthan *Xanthomonas campestris*, since the addition of water-soluble polysaccharides is known to increase the viscosity of the medium and facilitate the dispersion of bacterial cellulose granules. Thereby increasing the number of free cells, which can accelerate sugar consumption and polymer formation. At the first stage of the study, the most optimal conditions for co-cultivation of the BC producer with the producers of xanthan and dextran were selected, namely, the optimal pH value of the medium. Monoculture of bacteria *X. campestris*, *L. mesenteroides*, and *K. sucrofermentans* was carried out at different pH values (See Fig. 1-3). Based on the data obtained, we can say that the most optimal pH value for co-cultivation of microorganisms is pH 5.0. In this regard, at the second stage of this

study, we carried out joint cultivation of the BC producer strain *K. sucrofermentans* with the xanthan and dextran producers *X. campestris* and *L. mesenteroides*, respectively, on molasses medium. From the data presented (See Fig. 4), it can be seen that the largest amount of polysaccharide is formed on the third day during co-cultivation of the BC producer and the dextran producer. The amount of BC was 5.99 ± 0.02 g/l, which is two and a half times higher than the amount of polymer formed during monocultivation of a BC producer (2.25 ± 0.05 g/l). Co-cultivation of the BC producer strain with the xanthan producer did not lead to an increase in the polysaccharide yield. Therefore, no further study of co-cultivation of these microorganisms was carried out. To assess the success of the joint cultivation of BC and dextran producer strains and investigate the properties of the obtained polysaccharide, studies using AFM, FTIR spectroscopy, and X-ray structural analysis were carried out. The surface relief of the obtained BC was studied using the AFM method (See Fig. 7). Analysis of the AFM images showed the presence of an association of *K. sucrofermentans* and *L. mesenteroides* cells in the BC. Also, the obtained BC was investigated using the method of FTIR spectroscopy (See Fig. 8). The obtained IR spectra show similarity of the detected peaks with the literature data of peaks corresponding to BC. To determine the degree of crystallinity, the structure of cellulose was studied by X-ray structural analysis (See Fig. 9). The degree of crystallinity of the studied cellulose samples is 64% and 32% with monocultivation of *K. sucrofermentans* and co-cultivation of *K. sucrofermentans* and *L. mesenteroides*, respectively.

The article contains 9 Figures, 1 Table, 37 References.

Keywords: microbial polysaccharides, co-cultivation, bacterial cellulose, dextran, xanthan

Funding: This work was partially supported by the international grant RFBR "Development of new generation functional materials based on hydrogels, aerogels and film forms of bacterial cellulose with antibacterial, regenerative and hemostatic properties" (Grant No 19-515-80002).

For citation: Nazarova NB, Liyaskina EV, Revin VV. The Production of Bacterial Cellulose by Co-Cultivation of *Komagataeibacter sucrofermentans* with Dextran Producers *Leuconostoc mesenteroides* and Xanthan *Xanthomonas campestris*. *Vestnik Tomskogo gosudarstvennogo universiteta. Biologiya* = *Tomsk State University Journal of Biology*. 2022;60:23-42. doi: 10.17223/19988591/60/2. In Russian, English Summary

Введение

Бактериальная целлюлоза (БЦ) – это внеклеточный продукт метаболизма бактерий [1–3]. Продуцентами бактериальной целлюлозы являются бактерии родов *Achromobacter*, *Aerobacter*, *Agrobacterium*, *Alcaligenes*, *Azotobacter*, *Komagataeibacter*, *Rhizobium* и *Salmonella* [4, 5]. Однако наиболее известным продуцентом данного полимера является бактерия *Komagataeibacter xylinus*, которая принадлежит к группе уксуснокислых бактерий [6].

К настоящему времени получено значительное количество новых продуцентов БЦ. Из симбиотического сообщества «чайный гриб» выделены штаммы *G. hansenii* GH-1/2008 (ВКПМ В-10547) [патент РФ 2464307], *G. sucrofermentans* В-11267 [патент РФ 2523606], *K. xylinus* В-12068 [патент РФ 2568605], *K. rhaeticus* CALU-1629 [патент ЕАПВ 201700517] и др.

Подобно растительной целлюлозе, БЦ имеет ту же молекулярную форму, однако их структура значительно отличается [6, 7]. Прежде всего,

БЦ – это химически чистое соединение, не требующее дополнительной очистки от примесей. В ее составе отсутствуют гемицеллюлоза, лигнин и пектин [8, 9]. Кроме того, бактериальный полимер и его растительный аналог различаются степенью полимеризации: степень полимеризации БЦ значительно ниже: типичный диапазон полимеризации составляет от 2 000 до 6 000 по сравнению с 13 000–140 000 растительной целлюлозы [7].

Структурная особенность фибриллированной сети БЦ придает полимеру уникальные свойства, такие как высокая степень кристалличности (80–90%) [1, 2, 10], высокая водоудерживающая способность (до 100 раз превышающая собственную массу полимера) [11], большая механическая прочность (100–160 ГПа для одного волокна, сравнимо со сталью или кевларом), формуемость и термохимическая стабильность [12–15].

Благодаря своим уникальным свойствам бактериальная целлюлоза находит широкое применение во многих сферах жизнедеятельности человека [16]. Это перспективный биоматериал для техники и медицины, который может использоваться в производстве пищевых продуктов для придания им волокнистой структуры, а также как наполнитель, для приготовления особых сортов бумаги и акустических диафрагм, получения сорбентов [17] и во многих других областях. БЦ имеет большой потенциал использования в медицине как биоматериал для тканевой инженерии [18, 19], создания раневых покрытий [20, 21] и систем контролируемой доставки лекарственных средств [11, 22, 23].

Несмотря на все преимущества БЦ перед полимерами растительного происхождения, ее производство является относительно дорогостоящим процессом прежде всего из-за низкой продуктивности известных штаммов и использования дорогостоящих питательных сред [24–26]. В связи с этим является целесообразным поиск новых способов и условий культивирования штаммов продуцентов бактериальной целлюлозы с целью увеличения выхода полисахарида. Так, одним из способов увеличения выхода полимера может являться совместное культивирование штамма продуцента бактериальной целлюлозы с другими продуцентами полисахаридов.

Из литературных данных известно о положительном влиянии некоторых водорастворимых полисахаридов на выход БЦ [27]. Кроме того, многие биосинтетические гены сохраняют молчание и не экспрессируются *in vitro*, тем самым серьезно ограничивая химическое разнообразие микробных соединений, которые могут быть получены путем ферментации. В противоположность этому совместное культивирование двух или более различных микроорганизмов имитирует реальную «ситуацию», когда микроорганизмы сосуществуют в сложных микробных сообществах. Доказано, что конкуренция или антагонизм, которые возникают во время совместного культивирования, приводят к значительному увеличению существующих соединений и/или к накоплению новых соединений, которые не обнаруживаются в аксиальных культурах штамма-продуцента [28].

Цель данного исследования – изучить совместное культивирование полисахаридаобразующих штаммов как способ увеличения выхода бактериальной целлюлозы.

Материалы и методики исследования

Условия культивирования. В качестве продуцента бактериальной целлюлозы использовали штамм *Komagataeibacter sucrofermentans* Н-110 (патент РФ 2523606), выделенный на кафедре биотехнологии Мордовского государственного университета (г. Саранск, Республика Мордовия) в 2012 г. Штамм идентифицирован до вида с помощью анализа 16S рРНК в ГосНИИГенетика и депонирован во Всероссийской коллекции промышленных микроорганизмов (ВКПМ) под регистрационным номером В-11267. В качестве продуцента ксантана использовали штамм *Xanthomonas campestris* М 28, выделенный также на кафедре биотехнологии Мордовского государственного университета (г. Саранск, Республика Мордовия) в 2005 г. Культура идентифицирована в ФИЦ «Фундаментальные основы биотехнологии» на основании последовательности гена 16S рРНК [29] и депонирована во Всероссийской коллекции микроорганизмов (ВКМ) под регистрационным номером В-2373D. В качестве продуцента декстрана использовали бактерию *Leuconostoc mesenteroides* ВКМ В-2317D.

В качестве исходного посевного материала использовали культуру на скошенной агаризованной среде следующего состава, г/л:

- для *Komagataeibacter sucrofermentans*: глюкоза – 10,0; дрожжевой экстракт – 10,0; пептон – 7,0; агар – 15,0; лимонная кислота – 0,2; уксусная кислота – 0,1; этанол – 10,0. рН 5,0–6,0;

- для *Leuconostoc mesenteroides*: хлорид калия – 0,1; сульфат магния – 0,1; дигидроортофосфат калия – 1,0; гидрофосфат натрия – 2,5; хлорид аммония – 0,5; соль Мора – 0,01; ПБК – 0,05; пептон – 0,2–0,3; сахароза – 140; агар – 16. рН 7,2;

- для *Xanthomonas campestris*: сахароза – 20,0; дрожжевой экстракт – 5,0; пептон – 10,0; агар – 15,0. рН 6,0–6,5.

Инокулят получали путем переноса культур, выращенных на скошенной агаризованной среде, в жидкие питательные среды следующего состава, г/л:

- для *Komagataeibacter sucrofermentans* среда HS: глюкоза – 20,0; пептон – 5,0; дрожжевой экстракт – 5,0; гидрофосфат натрия – 2,7; лимонная кислота – 1,15;

- для *Leuconostoc mesenteroides* среда следующего состава: хлорид кальция – 0,02; хлорид натрия – 0,01; дигидроортофосфат калия – 20,0; сульфат магния – 0,02; сульфат марганца – 0,01; сульфат железа – 0,01; сахароза – 140; дрожжевой экстракт – 20,0. рН 7,2.

Культивирование штаммов продуцентов полисахаридов проводили в колбах объемом 250 мл, содержащих 100 мл среды на шейкере-инкубаторе ES-20/60 (Biosan, Латвия) при 250 об/мин в течение 24 ч при температуре 28±1 °С. Полученные культуры использовали в качестве инокулята для последующих экспериментов.

В качестве опытной среды для получения полисахаридов использовали среду с мелассой следующего состава, г/л: меласса – 50; вода – 1 л. рН сред доводили до значений 4,0; 5,0; 6,0; 7,0.

Культивирование штаммов бактерий проводили в динамических условиях на шейкере-инкубаторе ES-20/60 (Biosan, Латвия) при 250 об/мин при температуре 28 ± 1 °C в течение 3 сут и в статических условиях в термостате ТС-1/80 СПУ (Россия) при температуре 28 ± 1 °C в течение 5 сут.

Очистка и определение количества бактериальной целлюлозы. Полученную при культивировании бактерий целлюлозу подвергали обработке для удаления клеток и компонентов среды 0,1 Н раствором NaOH при 80 °C в течение 30 мин. От раствора щелочи бактериальную целлюлозу отмывали дистиллированной водой, 0,5% водным раствором уксусной кислоты и снова водой до нейтральной реакции [30, 31].

Количество бактериальной целлюлозы определяли весовым методом после высушивания до постоянной массы при температуре 60 °C в сушильном шкафу ШС-80-01 СПУ (Россия). Количество полученного полисахарида определяли по формуле [8]

$$P = m/V \times 1000,$$

где m – масса сухой бактериальной целлюлозы, г; V – объем среды, мл.

Очистка и определение количества декстрана и ксантана. Количество декстрана и ксантана в культуральной жидкости определяли весовым методом после отделения клеток центрифугированием и осаждения экзополисахарида 96% этанолом [29]. Этот метод широко применяют для оценки количества полисахаридов в жидких питательных средах.

Определение состоит из следующих операций: доведения массы фильтров до постоянного значения, осаждения декстрана и ксантана из супернатанта этиловым спиртом, определения количества полисахарида в супернатанте.

Количество декстрана и ксантана определяли по формуле [29]

$$P = \frac{A-B}{V} \times 1000,$$

где A – масса фильтра с осадком, г; B – масса фильтра без осадка, г; V – объем, взятый для анализа, мл.

Определение pH. Определение pH культуральных жидкостей проводили потенциометрическим способом (в основе которого лежит зависимость равновесного потенциала электрода от активности (концентрации) определяемого иона) на pH-метре S-220 Sevencompact (MettlerToledo, Швейцария).

Инфракрасная (ИК) Фурье-спектроскопия. ИК Фурье-спектры регистрировали на ИК Фурье-спектрометре IRPrestige-21 (Shimadzu, Япония) в средней инфракрасной области $4000\text{--}400\text{ см}^{-1}$. В качестве образцов использовали очищенную и лиофильно высушенную на установке FreeZone (Labconco, США) целлюлозу, полученную при монокультивировании, а также целлюлозу, полученную при совместном культивировании двух микроорганизмов.

Индекс кристалличности образца бактериальной целлюлозы рассчитывали по формуле [32, 33]

$$ИК = A_{1430}/A_{893}.$$

Рентгеновская дифрактометрия. Степень кристалличности определяли методом рентгеновской дифрактометрии на дифрактометре ЕМРУ-

REAN (PANalytical, Нидерланды) с детектором PJXcel3D на отражение (CuK_α -излучение). Отобранные образцы размером 30×30 мм устанавливали в аппарат и производили измерение. Подложка – аморфная кремниевая. Программируемая цель с длиной освещенной области 16 мм. Степень кристалличности рассчитывали по формуле [33]

$$X = \frac{I_{002} - I_{am}}{I_{002}} \times 100\%,$$

где I_{002} – суммарная интенсивность кристаллического пика 002; $I_{002} - I_{am}$ – интенсивность кристаллического пика 002 за вычетом фонового сигнала.

Атомно-силовая микроскопия. Для изучения морфологии поверхности бактериальной целлюлозы и бактериальных клеток использовали метод атомно-силовой микроскопии (АСМ). Изображения получали с помощью сканирующего зондового микроскопа SPM 9600 (Shimadzu, Япония).

Статистическая обработка данных. Результаты исследований обработаны методом вариационной статистики на персональном компьютере с использованием программы Microsoft Excel.

Полученные данные обработаны с использованием параметрических критериев и представлены в виде средней арифметической из трех повторностей, стандартной ошибки среднего; статистическую значимость различий оценивали по t-критерию Стьюдента ($p < 0,05$).

Результаты исследования и обсуждение

Интерес к бактериальной целлюлозе обуславливает необходимость синтезировать её в больших количествах в промышленных масштабах [8]. Задачу повышения продуктивности решали путем совместного культивирования продуцента бактериальной целлюлозы *Komagataeibacter sucrofermentans* с продуцентами декстрана *Leuconostoc mesenteroides* и ксантана *Xanthomonas campestris*, поскольку известно, что добавление водорастворимых полисахаридов увеличивает вязкость среды и облегчает дисперсию гранул БЦ, тем самым увеличивая количество свободных клеток, что может ускорять потребление сахара и образование полимера [27]. Кроме того, как уже упоминалось ранее, конкуренция, которая возникает во время совместного культивирования, также способна приводить к значительному увеличению существующих соединений и/или к накоплению новых продуктов [28].

В качестве полисахаридообразующих микроорганизмов для совместного культивирования выбрали продуценты ксантана и декстрана, поскольку есть сведения о положительном влиянии данных полисахаридов на выход БЦ [27]. Так, совместное культивирование бактерий *G. xylinus* и полисахаридообразующих молочнокислых бактерий *Lactobacillus mali* на среде с сахарозой увеличивает количество бактериальной целлюлозы с 1,4 до 4,2 г/л соответственно [34]. Водорастворимый полисахарид ацетан, структура которого сходна со структурой ксантана, также увеличивает выход полимера, что объяснено меньшим повреждением клеток в процессе перемешивания и меньшей коагуляцией клеток продуцента [27].

В качестве питательной среды для совместного культивирования микроорганизмов использовали мелассу в концентрации 50 г/л среды. Меласса – это побочный продукт конечной стадии кристаллизации в процессе производства сахара, который является одним из наиболее экономичных источников углерода в микробной промышленности [35].

На первом этапе исследования проводили подбор наиболее оптимальных условий совместного культивирования продуцента БЦ с продуцентами ксантана и декстрана, а именно оптимальное значение pH среды. Проводили монокультивирование бактерий *X. campestris*, *L. mesenteroides* и *K. sucrofermentans* при различных значениях pH. Результаты представлены на рис. 1–3.

Согласно представленным данным, наиболее оптимальным значением для получения декстрана и ксантана является pH 7,0. Количество образуемого полисахарида в таком случае составляет 23,01 и 22,54 г/л на третьи сутки культивирования соответственно. Для получения бактериальной целлюлозы наиболее оптимальным является значение pH 5,0, при котором количество полимера составляет $2,99 \pm 0,49$ г/л на третьи сутки культивирования.

Согласно представленным данным, наиболее оптимальным значением pH для совместного культивирования *K. sucrofermentans* и *L. mesenteroides* является pH 5,0. В связи с этим на втором этапе работы мы проводили совместное культивирование штамма продуцента БЦ с продуцентом декстрана при данном значении pH.

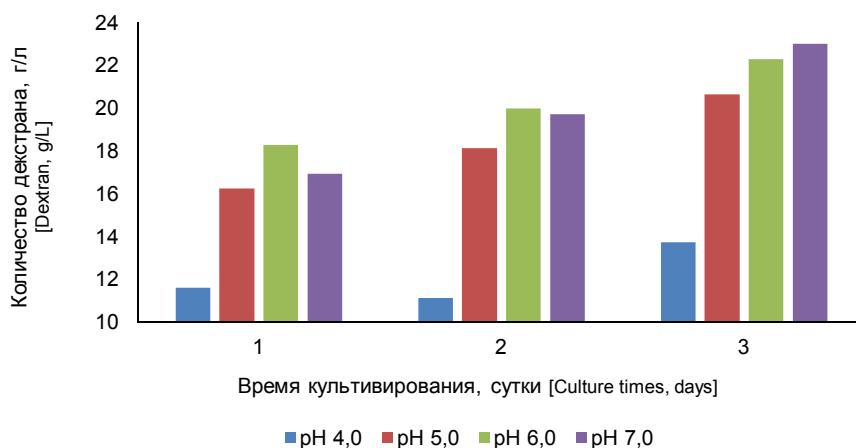


Рис. 1. Количество декстрана, синтезируемого *Leuconostoc mesenteroides* BKM B-2317D в течение 3 сут культивирования при различных значениях pH среды с мелассой

[Fig. 1. Dextran production by *Leuconostoc mesenteroides* BKM B-2317D during 3 days of cultivation at different pH values of the medium with molasses. On the X-axis – Culture times, days; on the Y-axis – Dextran, g/L]

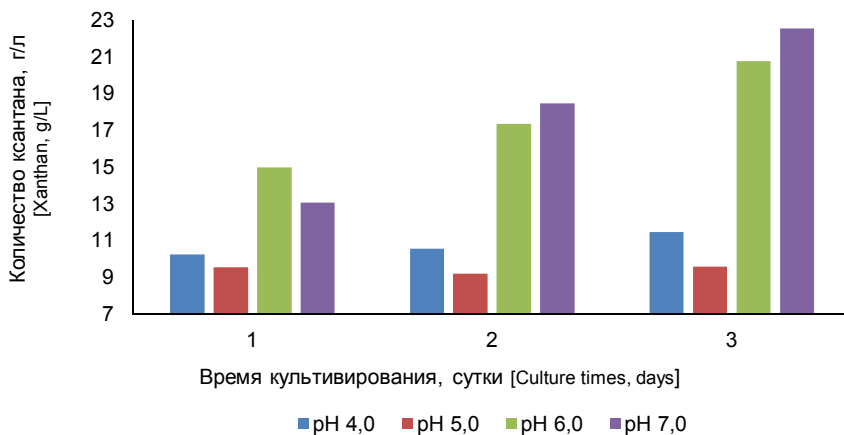


Рис. 2. Количество ксантана, синтезируемого *Xanthomonas campestris* B-2373 D в течение 3 сут культивирования при различных значениях pH среды с мелассой
 [Fig. 2. Xanthan production by *Xanthomonas campestris* B-2373 D during 3 days of cultivation at different pH values of the medium with molasses.
 On the X-axis – Culture times, days; on the Y-axis – Xanthan, g/L]

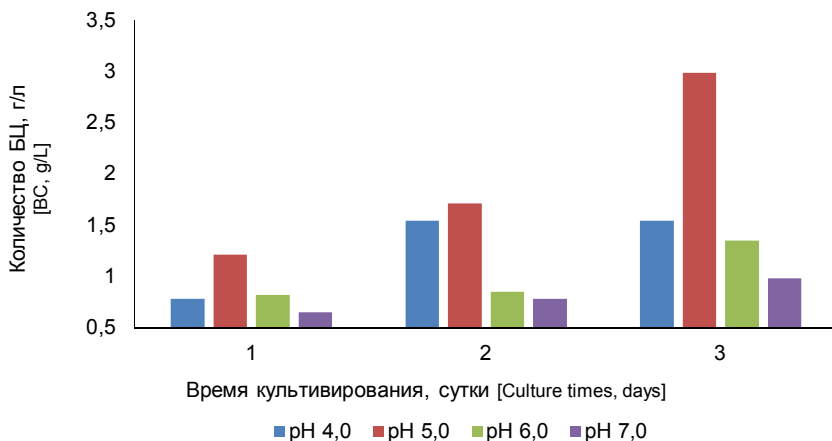


Рис. 3. Количество бактериальной целлюлозы, синтезируемой *Komagataeibacter sucrofermentans* B-11267 в течение 3 сут культивирования при различных значениях pH среды с мелассой
 [Fig. 3. BC production by *Komagataeibacter sucrofermentans* B-11267 during 3 days of cultivation at different pH values of the medium with molasses.
 On the X-axis – Culture times, days; on the Y-axis – BC, g/L]

Поскольку в ходе предыдущего опыта было показано, что при pH 5,0 количество ксантана, образуемого *X. campestris*, невысоко, то исследование совместного культивирования с продуцентом ксантана проводилось при различных значениях pH среды. Полученные результаты представлены на рис. 4.

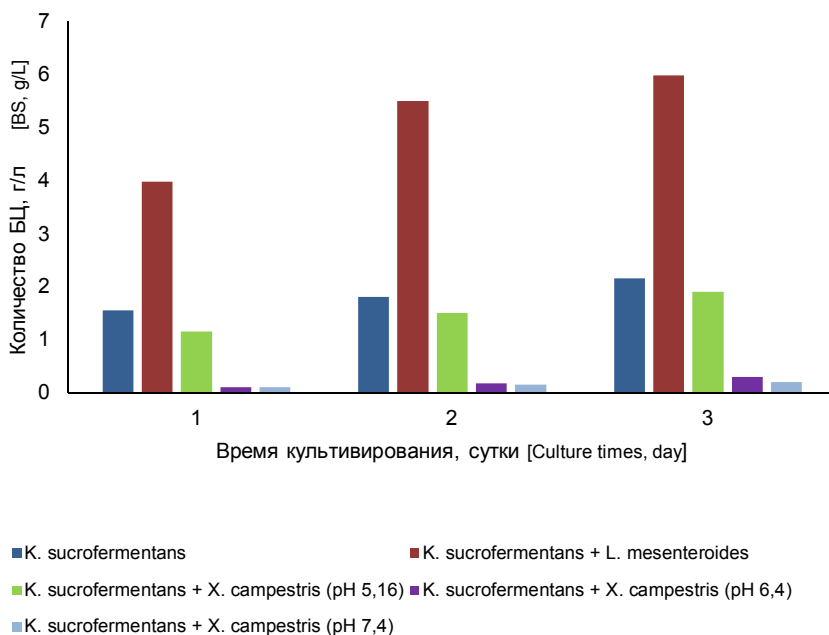


Рис. 4. Количество полисахарида, образуемого при совместном культивировании *Komagataeibacter sucrofermentans* B-11267 с *Xanthomonas campestris* B-2373 D и *Leuconostoc mesenteroides* BKM B-2317D

[Fig. 4. Polysaccharide production during co-cultivation of *Komagataeibacter sucrofermentans* B-11267 with *Xanthomonas campestris* B-2373 D and *Leuconostoc mesenteroides* BKM B-2317D
On the X-axis – Culture times, days; on the Y-axis – BC, g/L]

Из представленных на рисунке данных видно, что наибольшее количество полисахарида образуется на третьи сутки при совместном культивировании продуцента бактериальной целлюлозы и продуцента декстрана. Количество бактериальной целлюлозы составило $5,99 \pm 0,02$ г/л, что в два с половиной раза превышает количество полимера, образуемого при монокультивировании продуцента бактериальной целлюлозы, – $2,25 \pm 0,05$ г/л.

Совместное культивирование штамма продуцента бактериальной целлюлозы с продуцентом кантана не привело к увеличению выхода полисахарида. Поэтому дальнейшее исследование совместного культивирования этих микроорганизмов не проводилось.

Увеличение выхода БЦ при совместном культивировании *K. sucrofermentans* и *L. mesenteroides*, возможно, связано с тем, что фермент декстрансахараза, который образуют бактерии рода *Leuconostoc*, позволяет быстрее расщепить сахара, содержащиеся в мелассе. Образующий бактериями декстран также может способствовать образованию БЦ. Возможно также, что увеличение выхода продукта связано с фруктозой, которая образуется при расщеплении сахарозы ферментом. Известно, что фруктоза является хорошим источником углерода для культивирования продуцентов БЦ [9]. Согласно литературным данным, в результате метаболизма фрукто-

зы образуется меньше органических кислот и не происходит сильного закисления среды, как при использовании глюкозы, которая превращается в глюконовую кислоту.

Для подтверждения результатов была дополнительно проведена серия экспериментов по совместному культивированию *K. sucrofermentans* с *L. mesenteroides*. Полученные данные представлены на рис. 5.

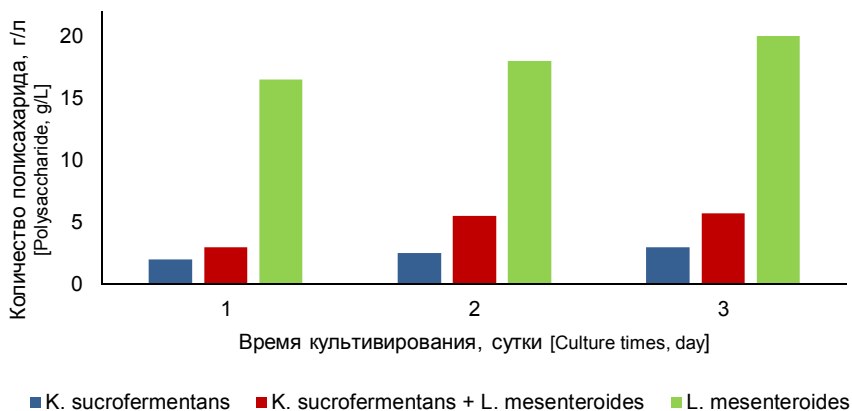


Рис. 5. Количество полисахаридов, образуемых при совместном и раздельном культивировании *Komagataeibacter sucrofermentans* B-11267 и *Leuconostoc mesenteroides* BKM B-2317D

[Fig. 5. Polysaccharides production formed during co-cultivation and separate cultivation of *Komagataeibacter sucrofermentans* B-11267 and *Leuconostoc mesenteroides* BKM B-2317D. On the X-axis – Culture times, days; on the Y-axis – Polysaccharides, g/L]

Исследовалось также изменение pH среды при культивировании в динамических условиях (рис. 6).

Согласно представленным данным, в случае монокультивирования *L. mesenteroides* наблюдается снижение значения pH в результате закисления среды, что, вероятно, связано с образованием кислот при гетероферментативном молочнокислом брожении продуцентом декстрана. При монокультивировании *K. sucrofermentans* в 1-е сут культивирования наблюдается незначительное понижение значений pH, что, вероятно, связано с активным ростом бактерий, потреблением сахаров и образованием органических кислот. Со 2-х сут происходит изменение pH в щелочную сторону, что, вероятно, связано с процессом потребления образованных органических кислот. При совместном культивировании микроорганизмов происходит плавное повышение pH среды до наиболее оптимального для синтеза бактериальной целлюлозы значения.

Для оценки успешности проведения совместного культивирования и изучения свойств полученного полисахарида проводили исследования с помощью АСМ, ИК-спектроскопии и рентгеновской дифрактометрии.

Для исследования микроскопической структуры биополимера использовалась атомно-силовая микроскопия (АСМ) (рис. 7). На рис. 7, а, б пред-

ставлены изображения БЦ, полученной в результате совместного культивирования бактерий до очистки, с включением палочковидных клеток *K. sucrofermentans* и сферических бактерий *L. mesenteroides* соответственно. На рис. 7, с изображена микроморфология БЦ после очистки от компонентов среды и клеток, представленная нанопористой трехмерной сетевой структурой со случайным расположением лентовидных фибрилл. Толщина фибрилл БЦ, формируемых на среде с мелассой, составляет 60–90 нм.

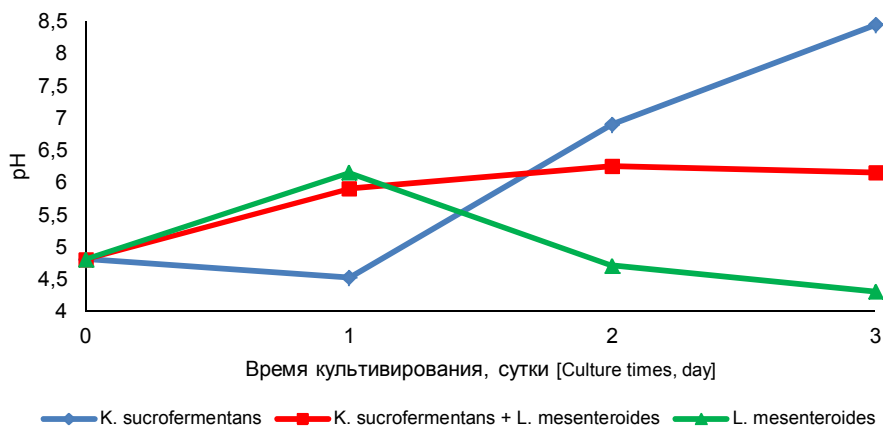


Рис. 6. Динамика изменения pH среды при совместном культивировании *Komagataeibacter sucrofermentans* B-11267 и *Leuconostoc mesenteroides* BKM B-2317D [Fig. 6. Time-course of pH of the medium during co-cultivation of *Komagataeibacter sucrofermentans* B-11267 and *Leuconostoc mesenteroides* BKM B-2317D. On the X-axis – Culture times, days; on the Y-axis – pH, g/L]

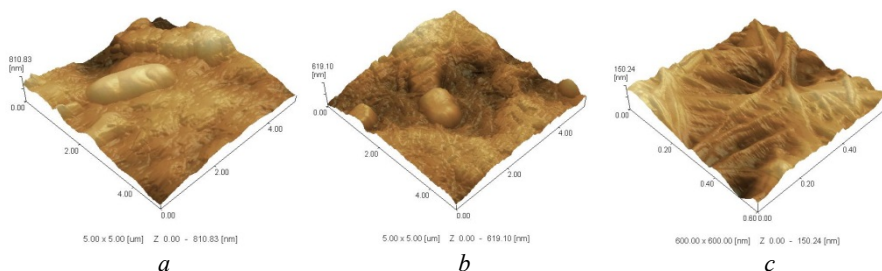


Рис. 7. АСМ-изображения неочищенной БЦ, полученной при совместном культивировании *Komagataeibacter sucrofermentans* B-11267 (a) и *Leuconostoc mesenteroides* BKM B-2317D (b) и БЦ после очистки (c) [Fig. 7. AFM-image of unpurified BC obtained by co-cultivation of *Komagataeibacter sucrofermentans* B-11267 (a) and *Leuconostoc mesenteroides* BKM B-2317D (b) and BC after purification]

Также полученную бактериальную целлюлозу исследовали с помощью метода ИК-спектроскопии. Данный метод позволяет анализировать молекулярный состав полимера и помогает обнаружить появление в спектре новых пиков или их сдвигов, что может быть связано со структурными различиями бактериальной целлюлозы, полученной при моно- и совместном культивировании. Результаты представлены на рис. 8.



Рис. 8. ИК-спектры бактериальной целлюлозы, полученной при монокультивировании *Komagataeibacter sucrofermentans* B-11267 и совместном культивировании *Komagataeibacter sucrofermentans* B-11267 и *Leuconostoc mesenteroides* BKM B-2317D

[Fig. 8. FTIR spectroscopy of bacterial cellulose obtained by monoculture of *Komagataeibacter sucrofermentans* B-11267 and co-cultivation of *Komagataeibacter sucrofermentans* B-11267 and *Leuconostoc mesenteroides* BKM B-2317D.

On the X-axis – Wave numbers, cm^{-1} ; on the Y-axis – Absorption, a.u.]

В инфракрасном спектре БЦ можно выделить область поглощения при $3\,200\text{--}3\,500\text{ см}^{-1}$, которая соответствует валентным колебаниям гидроксильных групп, связанных межмолекулярными и внутримолекулярными водородными связями. Поглощение в областях $1\,164$ и $1\,061\text{ см}^{-1}$ вызвано асимметричными колебаниями С-О-С-группы и вибрациями С-С-, С-ОН-, С-Н-групп пиранозного кольца глюкозы соответственно [36].

Полученные ИК-спектры показывают сходство обнаруженных пиков с литературными данными пиков, соответствующих бактериальной целлюлозе.

Поскольку оба полисахарида состоят из остатков глюкозы и отличие имеется только по типу связи, ИК-спектры являются идентичными. Факт наличия дектрана в целлюлозе пытались определить с помощью индекса кристалличности. Согласно литературным данным, при внесении дополнительных полисахаридов может происходить снижение степени и индекса кристалличности.

Определяли данный показатель с помощью метода ИК-спектроскопии путем измерения относительных высот или областей пика. Это является самым простым методом, но дает примерные значения, поскольку спектр всегда содержит показатели и кристаллической, и аморфной областей. Результаты представлены в таблице.

Для оценки кристалличности БЦ использовали рентгеновскую дифрактометрию, дифрактограммы БЦ представлены на рис. 9.

Индекс кристалличности и содержание α и β фаз БЦ, полученной на мелассной среде при монокультивировании *Komagataeibacter sucrofermentans* B-11267 и совместном культивировании *Komagataeibacter sucrofermentans* B-11267 и *Leuconostoc mesenteroides* BKM B-2317D
[Crystallinity index and content of α and β phases of BC obtained on molasses medium during monoculture of *Komagataeibacter sucrofermentans* B-11267 and co-cultivation of *Komagataeibacter sucrofermentans* B-11267 и *Leuconostoc mesenteroides* BKM B-2317D]

Бактериальная целлюлоза, полученная при монокультивировании и совместном культивировании микроорганизмов [Bacterial cellulose obtained by monoculture and co-cultivation of microorganisms]	I_{α} , %	I_{β} , %	Индекс кристалличности [Crystallinity index]
<i>K. sucrofermentans</i>	42,8	57,2	1,66
<i>K. sucrofermentans</i> и <i>L. mesenteroides</i>	47,6	52,4	1,31

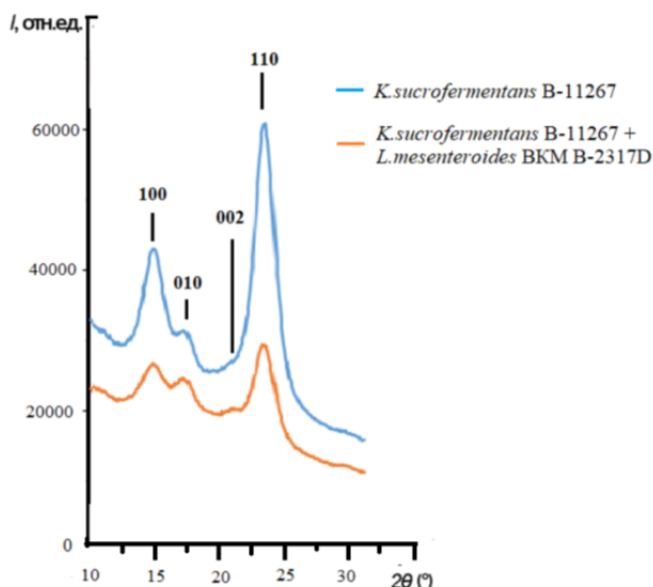


Рис. 9. Дифрактограммы (режим отражения) БЦ, полученной при монокультивировании *Komagataeibacter sucrofermentans* B-11267 и совместном культивировании *Komagataeibacter sucrofermentans* B-11267 и *Leuconostoc mesenteroides* BKM B-2317D
[Fig. 9. X-ray diffraction spectra (reflection mode) of BC obtained by single cultivation of *Komagataeibacter sucrofermentans* B-11267 and co-cultivation of *Komagataeibacter sucrofermentans* B-11267 and *Leuconostoc mesenteroides* BKM B-2317D]

На дифракционных диаграммах БЦ, полученных от всех образцов БЦ, присутствуют три основных пика при 2θ 14,4, 16,8 и 22,5°, соответствующих кристаллографическим плоскостям (100), (010) и (110) соответственно [37]. Интенсивность отражения 100 больше, чем у отражения 010, когда пленка параллельна рентгеновскому лучу, и эффект меняется на противо-

положный при перпендикулярной ориентации. При этом обнаруживается сильная унипланарность, связанная с тем, что ленты целлюлозы преимущественно ориентированы параллельно поверхности пленки во время сушки. Степень кристалличности исследуемых образцов целлюлозы составляет 64 и 32% при монокультивировании *K. sucrofermentans* и совместном культивировании *K. sucrofermentans* и *L. mesenteroides* соответственно.

Заключение

В настоящем исследовании установлено, что совместное культивирование штамма продуцента бактериальной целлюлозы *Komagataeibacter sucrofermentans* B-11267 и штамма продуцента декстрана *Leuconostoc mesenteroides* ВКМ В-2317D позволяет увеличить выход бактериальной целлюлозы в два раза по сравнению с монокультивированием с 2,64 до 5,99 г/л соответственно. Таким образом, использование смешанного культивирования продуцентов бактериальной целлюлозы и декстрана на среде с мелассой, являющейся отходом сахарного производства, является перспективным для создания эффективной и недорогой технологии получения бактериальной целлюлозы.

Список источников

1. Revin V.V., Liyaskina E.V., Parchaykina M.V., Kuzmenko T.P., Kurgaeva I.V., Revin V.D., Ullah M.W. Bacterial Cellulose-Based Polymer Nanocomposites: A Review // *Polymers*. 2022. Vol. 14. P. 4670. doi: 10.3390/polym14214670.
2. Moniri M., Boroumand Moghaddam A., Azizi S., Rahim R., Ariff A., Saad W., Mohamad R. Production and Status of Bacterial Cellulose in Biomedical Engineering // *Nanomaterials*. 2017. Vol. 7. No. 9. PP. 257–283. doi: 10.3390/nano7090257
3. Revin V.V., Nazarova N.B., Tsareva E.E., Liyaskina E.V., Revin V.D., Pestov N.A. Production of Bacterial Cellulose Aerogels With Improved Physico-Mechanical Properties and Antibacterial Effect // *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*. 2020. Vol. 8. PP. 603407. doi: 10.3389/fbioe.2020.603407
4. Rangaswamy B.E., Vanith K.P., Hungund B.S. Microbial Cellulose Production from Bacteria Isolated from Rotten Fruit // *International Journal of Polymer Science*. 2015. Vol. 2015. PP. 1–8. doi: 10.1155/2015/280784
5. Скворцова З.Н., Громовых Т.И., Грачев В.С., Траскин В.Ю. Физико-химическая механика бактериальной целлюлозы // *Коллоидный журнал*. 2019. Т. 81, № 4. С. 441–452. doi: 10.1134/S0023291219040165
6. Blanco Parte F.G., Santoso S.P., Chou C.C., Verma V., Wang H.T., Ismadji S., Cheng, K.C. Current progress on the production, modification, and applications of bacterial cellulose // *Critical Reviews in Biotechnology*. 2020. Vol. 40. No. 16. PP. 1–18. doi: 10.1080/07388551.2020.1713721
7. Ahmed J., Gultekinoglu M., Edirisinghe M. Bacterial cellulose micro-nano fibres for wound healing applications // *Biotechnology Advances*. 2020. Vol. 41. No. 8. PP. 1–14. doi: 10.1016/j.biotechadv.2020.107549
8. Киселева О.И., Луценко С.В., Фельдман Н.Б., Гаврюшина И.А., Садыкова В.С., Пигалева М.А., Рубина М.С., Громовых Т.И. Структура популяции *Komagataeibacter hansenii* GH 1/2008 в статической культуре на различных источниках углерода // *Вестник Томского государственного университета. Биология*. 2021. № 53. С. 22–46. doi: 10.17223/19988591/53/2

9. Ревин В.В., Лияськина Е.В., Сапунова Н.Б., Богатырева А.О. Выделение и характеристика штаммов – продуцентов бактериальной целлюлозы // Микробиология. 2020. Т. 89. № 1. – С. 88–98. doi: 10.31857/S0026365620010139
10. Gorgieva S., Trček J. Bacterial Cellulose: Production, Modification and Perspectives in Biomedical Applications // *Nanomaterials*. 2019. Vol. 9. No. 10. PP. 1352–1372. doi: 10.3390/nano9101352
11. Ullah H., Wahid F., Santos H.A., Khan T. Advances in biomedical and pharmaceutical applications of functional bacterial cellulose-based nanocomposites // *Carbohydrate Polymer*. 2016. Vol. 150. PP. 330–352. doi: 10.1016/j.carbpol.2016.05.029
12. Singhsa P., Narain R., Manuspiya H. Physical structure variations of bacterial cellulose produced by different *Komagataeibacter xylinus* strains and carbon sources in static and agitated conditions // *Cellulose*. 2018. Vol. 25. PP. 1571–1581. doi: 10.1007/s10570-018-1699-1
13. Sulaeva I., Henniges U., Rosenau T. Bacterial cellulose as a material for wound treatment: Properties and modifications. A review // *Biotechnology Advances*. 2015. Vol. 33. PP. 1547–1571. doi: 10.1016/j.biotechadv.2015.07.009
14. Hussain Z., Sajjad W., Khan T. Production of bacterial cellulose from industrial wastes: a review // *Cellulose*. 2019. Vol. 26. PP. 2895–2911. doi: 10.1007/s10570-019-02307-1
15. Lee K.Y., Buldum G., Mantalaris A., Bismarck A. More than meets the eye in bacterial cellulose: biosynthesis, bioprocessing, and applications in advanced fiber composites // *Macromol. Biosci*. 2014. Vol. 14. PP. 10–32. doi: 10.1002/mabi.201300298
16. Ревин В.В., Лияськина Е.В., Пестов Н.А. Получение бактериальной целлюлозы и нанокмпозиционных материалов: монография. Саранск : Изд-во Мордов. ун-та, 2014. 128 с.
17. Revin V.V., Dolganov A.V., Liyaskina E.V., Nazarova N.B., Balandina A.V., Devyataeva A.A., Revin V.D. Characterizing Bacterial Cellulose Produced by *Komagataeibacter sucrofermentans* H-110 on Molasses Medium and Obtaining a Biocomposite Based on It for the Adsorption of Fluoride // *Polymers*. 2021. Vol. 13 (9). P. 1422. doi: 10.3390/polym13091422.
18. Pang M., Huang Y., Meng F., Zhuang Y., Liu H., Du M., Ma Q., Wang Q., Chen Z., Chen L., Cai T., Cai Y. Application of bacterial cellulose in skin and bone tissue engineering // *Eur. Polym. J*. 2020. Vol. 122. PP. 109365. doi: 10.1016/j.eurpolymj.2019.109365
19. Khan S., Ul-Islam M., Ullah M.W., Zhu Y., Narayanan K.B., Han S.S., Park J.K. Fabrication strategies and biomedical applications of three-dimensional bacterial cellulose-based scaffolds: A review // *Int. J. Biol. Macromol*. 2022. Vol. 209. PP. 9–30. doi: 10.1016/j.ijbiomac.2022.03.191
20. Volova T.G., Prudnikova S.V., Kiselev E.G., Nemtsev I.V., Vasiliev A.D., Kuzmin A.P., Shishatskaya E.I. Bacterial Cellulose (BC) and BC Composites: Production and Properties // *Nanomaterials*. 2022. Vol. 12. PP. 192. doi: 10.3390/nano12020192
21. Liu W., Due H., Zhang M., Liu K., Liu H., Xie H., Zhang X., Si C. Bacterial cellulose based composite scaffolds for biomedical applications: a review // *ACS Sustain. Chem. Eng*. 2020. Vol. 8. PP. 7536–7562. doi: 10.1021/acssuschemeng.0c00125
22. Solomevich S.O., Dmitruk E.I., Bychkovsky P.M., Nebytov A.E., Yurkshtovich T.L., Golub N.V. Fabrication of oxidized bacterial cellulose by nitrogen dioxide in chloroform/cyclohexane as a highly loaded drug carrier for sustained release of cisplatin // *Carbohydrate Polymers*. 2020. Vol. 248. PP. 116745. doi: 10.1016/j.carbpol.2020.116745
23. Carvalho T., Guedes G., Sousa F.L., Freire C.S.R., Santos H.A. Latest advances on bacterial cellulose-based materials for wound healing, delivery systems, and tissue engineering // *Biotechnol. J*. 2019. Vol. 14. P. 1900059. doi: 10.1002/biot.201900059
24. Lin D., Lopez-Sanchez P., Li R., Li Z. Production of bacterial cellulose by *Gluconacetobacter hansenii* CGMCC 3917 using only waste beer yeast as nutrient source // *Biore-source Technology*. 2014. Vol. 151. P. 113–119. doi: 10.1016/j.biortech.2013.10.052
25. Islam M.U., Ullah M.W., Khan S., Shah N., Park J.K. Strategies for cost-effective and enhanced production of bacterial cellulose // *International Journal of Biological Macromolecules*. 2017. Vol. 102. PP. 1166–1173. doi: 10.1016/j.ijbiomac.2017.04.110

26. Revin V., Liyaskina E., Nazarkina M., Bogatyreva A., Shchankin M. Cost-effective production of bacterial cellulose using acidic food industry by-products // *Brazilian Journal of Microbiology*. 2018. Vol. 49. No. 1. PP. 1–9. doi: 10.1016/j.bjm.2017.12.012
27. Ishida T., Mitarai M., Sugano Y., Shoda M. Role of water-soluble polysaccharides in bacterial cellulose production // *Biotechnol. Bioeng.* 2003. Vol. 83. PP. 474–478. doi: 10.1002/bit.10690
28. Marmann A., Aly A., Lin W., Wang B., Proksch P. Co-Cultivation – A Powerful Emerging Tool for Enhancing the Chemical Diversity of Microorganisms // *Marine Drugs*. 2014. Vol. 12. No. 2. PP. 1043–1065. doi: 10.3390/md12021043
29. Ревин В.В., Лияськина Е.В., Покидько Б.В., Пименов Н.В., Марданов А.В., Равин Н.В. Характеристика нового штамма *Xanthomonas campestris* М 28 – продуцента ксантана, исследование генома, условий культивирования и физико-химических и реологических свойств полисахарида // *Прикладная биохимия и микробиология*. 2021. Том 57, № 3. С. 251–261. doi: 10.31857/S0555109921030107
30. Wu R.Q., Li Z.X., Yang J.P., Xing X.H., Shao D.Y., Xing, K.L. Mutagenesis induced by high hydrostatic pressure treatment: a useful method to improve the bacterial cellulose yield of a *Gluconacetobacter xylinus* strain // *Cellulose*. 2009. Vol. 17. P. 399–405. doi: 10.1007/s10570-009-9388-8
31. Castro C., Zuluaga R., Putaux J.L., Caro G., Mondragon I., Ganan P. Structural characterization of bacterial cellulose produced by *Komagataeibacter swingsii* sp. from Colombian agroindustrial wastes // *Carbohydrate Polym.* 2011. Vol. 84. PP. 96–102. doi: 10.1016/j.carbpol.2010.10.072
32. Ciolacu D., Ciolacu F., Popa V.I. Amorphous cellulose – structure and characterization // *Cellulose chemistry and technology*. – 2011. – Vol. 45, I.1. – P.13–21.
33. Keshk S., Sameshima K. Influence of lignosulfonate on crystal structure and productivity of bacterial cellulose in a static culture // *Enzyme Microb. Technol.* 2006. Vol. 40. P. 4–8. doi: 10.1016/j.enzmtec.2006.07.037
34. Seto A., Saito Y. Effective cellulose production by a coculture of *Komagataeibacter xylinus* and *Lactobacillus mali* // *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 2006. Vol. 73. No. 4. PP. 915–992. doi: 10.1007/s00253-006-0515-2
35. Сапунова Н.Б., Богатырева А.О., Щанкин М.В., Лияськина Е.В., Ревин В.В. Получение бактериальной целлюлозы на среде с мелассой // *Вестник технологического университета*. 2016. Т. 19. № 24. С.154–156.
36. Czaja W., Romanovicz D., Brown R. Structural investigations of microbial cellulose produced in stationary and agitated culture // *Cellulose*. 2004. Vol.11. PP. 403–411. doi: 10.1023/B:CELL.0000046412.11983.61
37. Castro C., Zuluaga R., Álvarez C, et al. Putaux J., Caro G., Rojas O.J., Mondragon I., Gañán P. Bacterial cellulose produced by a new acid-resistant strain of *Gluconacetobacter* genus // *Carbohydr. Polym.* 2012. Vol. 89. P.1033–1037. doi: 10.1016/j.carbpol.2012.03.045

References

1. Revin VV, Liyaskina EV, Parchaykina MV, Kuzmenko TP, Kurgaeva IV, Revin VD, Ullah MW. Bacterial Cellulose-Based Polymer Nanocomposites: A Review. *Polymers*. 2022;14:4670. doi: 10.3390/polym14214670.
2. Moniri M, Boroumand Moghaddam A, Azizi S, Rahim R, Ariff A, Saad W, Mohamad R. Production and Status of Bacterial Cellulose in Biomedical Engineering. *Nanomaterials*. 2017;7(9):257-283. doi: 10.3390/nano7090257
3. Revin VV, Nazarova NB, Tsareva EE, Liyaskina EV, Revin VD, Pestov NA. Production of Bacterial Cellulose Aerogels With Improved Physico-Mechanical Properties and Antibacterial Effect. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*. 2020;8(3):603407. doi: 10.3389/fbioe.2020.603407
4. Rangaswamy BE, Vanith KP, Hungund BS. Microbial Cellulose Production from Bacteria Isolated from Rotten Fruit. *International Journal of Polymer Science*. 2015;15:1-8. doi: 10.1155/2015/280784

5. Skvortsova ZN, Grachev VS, Traskin VY, Gromovych TI. Physicochemical mechanics of bacterial cellulose. *Kolloidnyy zhurnal – Colloid Journal*. 2019;81(4):441-452. doi: 10.1134/S0023291219040165. In Russian, English summary
6. Blanco Parte FG, Santos SP, Chou CC, Verma V, Wang HT, Ismadji S, Cheng KC. Current progress on the production, modification, and applications of bacterial cellulose. *Critical Reviews in Biotechnology*. 2020;40(16):1-18. doi: 10.1080/07388551.2020.1713721
7. Ahmed J, Gultekinoglu M, Edirisinghe M. Bacterial cellulose micro-nano fibres for wound healing applications. *Biotechnology Advances*. 2020;41(8):1-14. doi: 10.1016/j.biotechadv.2020.107549
8. Kiselyova OI, Lutsenko SV, Feldman NB, Gavryushina IA, Sadykova VS, Pigaleva MA, Rubina MS, Gromovych TI. The structure of *Gluconacetobacter hansenii* GH 1/2008 population cultivated in static conditions on various sources of carbon. *Vestnik Tomskogo gosudarstvennogo universiteta. Biologiya – Tomsk State University Journal of Biology*. 2021;53:22-46. doi: 10.17223/19988591/53/2. In Russian, English Summary
9. Revin VV, Liyaskina EV, Sapunova NB, Bogatyreva AO. Isolation and characterization of the strains producing bacterial cellulose. *Mikrobiologiya – Microbiology*. 2020;89(1):88-98. doi: 10.31857/S0026365620010139. In Russian, English Summary
10. Gorgieva S, Trček J. Bacterial Cellulose: Production, Modification and Perspectives in Biomedical Applications. *Nanomaterials*. 2019;9(10):1352-1372. doi: 10.3390/nano9101352
11. Ullah H, Wahid F, Santos HA, Khan T. Advances in biomedical and pharmaceutical applications of functional bacterial cellulose-based nanocomposites. *Carbohydrate Polymer*. 2016;150:330-352. doi: 10.1016/j.carbpol.2016.05.029
12. Singhsa P, Narain R, Manuspiya H. Physical structure variations of bacterial cellulose produced by different *Komagataeibacter xylinus* strains and carbon sources in static and agitated conditions. *Cellulose*. 2018;25:1571-1581. doi: 10.1007/s10570-018-1699-1
13. Sulaeva I, Henniges U, Rosenau T. Bacterial cellulose as a material for wound treatment: Properties and modifications. A review. *Biotechnology Advances*. 2015;33:1547-1571. doi: 10.1016/j.biotechadv.2015.07.009
14. Hussain Z, Sajjad W, Khan T. Production of bacterial cellulose from industrial wastes: a review. *Cellulose*. 2019;26:2895-2911. doi: 10.1007/s10570-019-02307-1
15. Lee KY, Buldum G, Mantalaris A, Bismarck A. More than meets the eye in bacterial cellulose: biosynthesis, bioprocessing, and applications in advanced fiber composites. *Macromol. Biosci*. 2014;14:10-32. doi: 10.1002/mabi.201300298
16. Revin VV, Liyaskina EV, Pestov NA. Poluchenie bakterial'noy tsellyulozy i nanokompozitsionnykh materialov [Production of bacterial cellulose and nanocomposite materials]. Saransk: Izdatel'stvo Mordovskogo universiteta; 2014. 128 p. In Russian
17. Revin VV, Dolganov AV, Liyaskina EV, Nazarova NB, Balandina AV, Devyataeva AA, Revin VD. Characterizing Bacterial Cellulose Produced by *Komagataeibacter sucrofermentans* H-110 on Molasses Medium and Obtaining a Biocomposite Based on It for the Adsorption of Fluoride. *Polymers*. 2021;13(9):1422. doi: 10.3390/polym13091422
18. Pang M, Huang Y, Meng F, Zhuang Y, Liu H, Du M, Ma Q, Wang Q, Chen Z, Chen L, Cai T, Cai Y. Application of bacterial cellulose in skin and bone tissue engineering. *Eur. Polym. J*. 2020;122:109365. doi: 10.1016/j.eurpolymj.2019.109365
19. Khan S, Ul-Islam M, Ullah MW, Zhu Y, Narayanan KB, Han SS, Park JK. Fabrication strategies and biomedical applications of three-dimensional bacterial cellulose-based scaffolds: A review. *Int. J. Biol. Macromol*. 2022;209:9-30. doi: 10.1016/j.ijbiomac.2022.03.191
20. Volova TG, Prudnikova SV, Kiselev EG, Nemtsev IV, Vasiliev AD, Kuzmin AP, Shishatskaya EI. Bacterial Cellulose (BC) and BC Composites: Production and Properties. *Nanomaterials*. 2022;12:192. doi: 10.3390/nano12020192
21. Liu W, Due H, Zhang M, Liu K, Liu H, Xie H, Zhang X, Si C. Bacterial cellulose based composite scaffolds for biomedical applications: a review. *ACS Sustain. Chem. Eng*. 2020;8:7536-7562. doi: 10.1021/acssuschemeng.0c00125
22. Solomevich SO, Dmitruk EI, Bychkovsky PM, Nebytov AE, Yurkshtovich TL, Golub NV. Fabrication of oxidized bacterial cellulose by nitrogen dioxide in chloro-

- form/cyclohexane as a highly loaded drug carrier for sustained release of cisplatin. *Carbohydrate Polymers*. 2020;248:116745. doi: 10.1016/j.carbpol.2020.116745
23. Carvalho T, Guedes G, Sousa FL, Freire CSR, Santos HA. Latest advances on bacterial cellulose-based materials for wound healing, delivery systems, and tissue engineering. *Biotechnol. J*. 2019;14:1900059. doi: 10.1002/biot.201900059
 24. Lin D, Lopez-Sanchez P, Li R, Li Z. Production of bacterial cellulose by *Gluconacetobacter hansenii* CGMCC 3917 using only waste beer yeast as nutrient source. *Biore-source Technology*. 2014;151:113-119. doi: 10.1016/j.biortech.2013.10.052
 25. Islam MU, Ullah MW, Khan S, Shah N, Park JK. Strategies for cost-effective and enhanced production of bacterial cellulose. *International Journal of Biological Macromolecules*. 2017;102:1166-1173. doi: 10.1016/j.ijbiomac.2017.04.110
 26. Revin V, Liyaskina E, Nazarkina M, Bogatyreva A, Shchankin M. Cost-effective production of bacterial cellulose using acidic food industry by-products. *Brazilian Journal of Microbiology*. 2018;49(1):1-9. doi: 10.1016/j.bjm.2017.12.012
 27. Ishida T, Mitarai M, Sugano Y, Shoda M. Role of water-soluble polysaccharides in bacterial cellulose production. *Biotechnol. Bioeng*. 2003;83:474-478. doi: 10.1002/bit.10690
 28. Marmann A, Aly A, Lin W, Wang B, Proksch P. Co-Cultivation – A Powerful Emerging Tool for Enhancing the Chemical Diversity of Microorganisms. *Marine Drugs*. 2014;12(2):1043-1065. doi: 10.3390/md12021043
 29. Revin VV, Liyaskina EV, Pokidko BV, Pimenov NV, Mardanov AV, Ravin NV. Characteristics of the new xanthan-producing strain *Xanthomonas campestris* M 28: study of the genome, cultivation conditions, and physicochemical and rheological properties of the polysaccharide. *Prikladnaya biokhimiya i mikrobiologiya – Applied Biochemistry and Microbiology*. 2021;57(3):356-365. doi: 10.31857/S0555109921030107. In Russian, English summary
 30. Wu RQ, Li ZX, Yang JP, Xing XH, Shao DY, Xing KL. Mutagenesis induced by high hydrostatic pressure treatment: a useful method to improve the bacterial cellulose yield of a *Gluconacetobacter xylinus* strain. *Cellulose*. 2009;17:399-405. doi: 10.1007/s10570-009-9388-8
 31. Castro C, Zuluaga R, Putaux JL, Caro G, Mondragon I, Ganan P. Structural characterization of bacterial cellulose produced by *Komagataeibacter swingsii* sp. from Colombian agroindustrial wastes. *Carbohydrate Polym*. 2011;84:96-102. doi: 10.1016/j.carbpol.2010.10.072
 32. Ciolacu D, Ciolacu F, Popa VI. Amorphous cellulose – structure and characterization. *Cellulose chemistry and technology*. 2011;45(1):13-21.
 33. Keshk S, Sameshima K. Influence of lignosulfonate on crystal structure and productivity of bacterial cellulose in a static culture. *Enzyme Microb. Technol*. 2006;40:4-8. doi: 10.1016/j.enzmictec.2006.07.037
 34. Seto A, Saito Y. Effective cellulose production by a coculture of *Komagataeibacter xylinus* and *Lactobacillus mali*. *Appl. Microbiol. Biotechnol*. 2006;73(4):915-992. doi: 10.1007/s00253-006-0515-2
 35. Sapunova NB, Bogatyreva AO, Shchankin MV, Liyaskina EV, Revin VV. Poluchenie bakterial'noy tsellyulozy na srede s melassoy [Preparation of bacterial cellulose on a medium with molasses]. *Vestnik tekhnologicheskogo universiteta – Herald of technological university*. 2016;19(24):154-156. In Russian
 36. Czaja W, Romanovicz D, Brown R. Structural investigations of microbial cellulose produced in stationary and agitated culture. *Cellulose*. 2004;11:403-411. doi: 10.1023/B:CELL.0000046412.11983.61
 37. Castro C, Zuluaga R, Álvarez C, Putaux J, Caro G, Rojas OJ, Mondragon I, Gañán P. Bacterial cellulose produced by a new acid-resistant strain of *Gluconacetobacter* genus. *Carbohydr. Polym*. 2012;89:1033-1037. doi: 10.1016/j.carbpol.2012.03.045

Информация об авторах:

Назарова Наталья Борисовна – канд. биол. наук, преподаватель кафедры биотехнологии, биохимии и биоинженерии факультета биотехнологии и биологии, Национальный исследовательский Мордовский государственный университет им. Н.П. Огарева (Саранск, Россия).

ORCIDiD: <https://orcid.org/0000-0002-4237-5148>

E-mail: n.sapunowa2016@yandex.ru

Лняськина Елена Владимировна – канд. биол. наук, доцент кафедры биотехнологии, биохимии и биоинженерии факультета биотехнологии и биологии, Национальный исследовательский Мордовский государственный университет им. Н.П. Огарева (Саранск, Россия).

ORCIDiD: <https://orcid.org/0000-0003-1719-8052>

E-mail: liyaskina@yandex.ru

Ревин Виктор Васильевич – д-р биол. наук, профессор, декан факультета биотехнологии и биологии, Национальный исследовательский Мордовский государственный университет им. Н.П. Огарева (Саранск, Россия).

ORCIDiD: <https://orcid.org/0000-0001-6542-2667>

E-mail: revinvv2010@yandex.ru

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Information about the authors:

Nazarova Natalia B., Cand. Sci. (Biol.), lecturer at the Department of Biotechnology and Biochemistry, Faculty of Biotechnology and Biology National Research Ogarev Mordovia State University (Saransk, Russian Federation).

ORCIDiD: <https://orcid.org/0000-0002-4237-5148>

E-mail: n.sapunowa2016@yandex.ru

Liyaskina Elena V., Cand. Sci. (Biol.), associate professor of the Department of Biotechnology and Biochemistry, Faculty of Biotechnology and Biology National Research Ogarev Mordovia State University (Saransk, Russian Federation).

ORCIDiD: <https://orcid.org/0000-0003-1719-8052>

E-mail: liyaskina@yandex.ru

Revin Viktor V., Professor, Dr. Sci. (Biol.), Head of the Department of Biotechnology and Biochemistry, Faculty of Biotechnology and Biology National Research Ogarev Mordovia State University (Saransk, Russian Federation).

ORCIDiD: <https://orcid.org/0000-0001-6542-2667>

E-mail: revinvv2010@yandex.ru

The Authors declare no conflict of interest.

*Статья поступила в редакцию 14.11.2021;
одобрена после рецензирования 15.11.2022; принята к публикации 29.12.2022.*

*The article was submitted 14.11.2021;
approved after reviewing 15.11.2022; accepted for publication 29.12.2022.*

ЗООЛОГИЯ

Научная статья

УДК 598.272.6:574.3:591.53:591.9

doi: 10.17223/19988591/60/3

Сравнительный эколого-географический анализ кузниц большого пёстрого дятла *Dendrocopos major* (Aves: Piciformes) на севере и юге европейской части России

Александр Геннадиевич Резанов¹, Любовь Васильевна Маловичко²,
Юрий Владимирович Литвинов³, Андрей Александрович Резанов⁴

^{1, 4} Московский городской педагогический университет, Москва, Россия

^{2, 3} Российский государственный аграрный университет –

МСХА имени К.А. Тимирязева, Москва, Россия

¹ RezanovAG@mgpu.ru; RezanovAG@mail.ru

² l-malovichko@yandex.ru

³ litvinov9496@gmail.com

⁴ RezanovAA@mgpu.ru

Аннотация. Материал собран в 1973–1974 гг. в Плесецком районе Архангельской области (АО) и в 2008–2022 гг. в 6 районах Ставропольского края (СК). Проведён сравнительный анализ особенностей расположения и использования кузниц большим пёстрым дятлом *Dendrocopos major* (БПД). В АО кузницы использовались в течение 5 месяцев с ноября по март, а в СК – круглогодично. В АО кузницы ($n = 43$) располагались на деревьях ($67 \pm 14\%$) и пнях ($33 \pm 14\%$). Для устройства кузниц БПД предпочитали осины ($53 \pm 16\%$), остальной выбор пришёлся на ель и берёзу. В СК для размещения кузниц ($n = 34$) из 12 видов деревьев БПД предпочитали вяз ($27 \pm 15\%$). Коэффициенты сходства по разнообразию используемых под кузницы видов деревьев варьировались в пределах от 0,07 (K_j) до 0,21 (K_k). Различия по высоте расположения кузниц статистически незначимы ($U = 523,0$, $p = 0,22$). На долю «низких» (высотой до 2 м) кузниц пришлось $69 \pm 15\%$ в АО и $50 \pm 16\%$ в СК. С высотой дерева в обоих регионах увеличивалась высота расположения кузниц – в АО ($p < 0,01$), а в СК результаты статистически незначимы ($p > 0,05$). В АО в ориентации кузниц преобладали восточные румбы ($61 \pm 22\%$), в СК – южные ($71 \pm 15\%$). В АО под кузницами обнаружено 3 вида пищевосодержащих объектов ($n = 1639$): на долю шишек ели пришлось $84 \pm 1\%$, лиственницы – $7 \pm 1\%$ и сосны – $9 \pm 1\%$. Доля обработанных шишек ели составила $98 \pm 1,5\%$, лиственницы – $76 \pm 8\%$, сосны – $17 \pm 8\%$. В СК под кузницами БПД обнаружено 10 видов пищевосодержащих объектов ($n = 2607$), из которых на долю абрикоса, грецкого ореха и сливы пришлось $79 \pm 1,5\%$.

Ключевые слова: кормовые деревья, пищевосодержащие объекты, сравнительный анализ, Архангельская область, Ставропольский край

Для цитирования: Резанов А.Г., Маловичко Л.В., Литвинов Ю.В., Резанов А.А. Сравнительный эколого-географический анализ кузниц большого пёстрого дятла *Dendrocopos major* (Aves: Piciformes) на севере и юге европейской части России // Вестник Томского государственного университета. Биология. 2022. № 60. С. 43–64. doi: 10.17223/19988591/60/3

Comparative Ecological and Geographical Analysis of the Anvils of the Great Spotted Woodpecker *Dendrocopos major* (Aves: Piciformes) in the North and South of the European Part of Russia

Alexander G. Rezanov¹, Lubov V. Malovichko²,
Jury V. Litvinov³, Andrew A. Rezanov⁴

^{1,4} Moscow City University, Moscow, Russian Federation

^{2,3} Russian State Agrarian University – Moscow Timiryazev Agricultural Academy,
Moscow, Russian Federation

¹ RezanovAG@mgpu.ru; RezanovAG@mail.ru

² l-malovichko@yandex.ru

³ litvinov9496@gmail.com

⁴ RezanovAA@mgpu.ru

Summary. The Great Spotted Woodpecker (GSW), *Dendrocopos major*, has a huge range stretching from the Canary Islands and Northwest Africa east to Kamchatka and Sakhalin Island. The feeding behavior of the GSW is characterised by a high diversity and pronounced seasonality. Thus, in late spring and summer in the feeding repertoire of the GSW in the North and in the Central regions of the European part of Russia, there are exclusively methods of searching for and picking openly living invertebrates. The search for prey is carried out both on woody vegetation and on the ground surface. We have also repeatedly observed the hunting from perches in the manner of Flycatchers on flying dragonflies and butterflies. From late summer, GSWs begin to use chiseling tree trunks and branches in search of xylophages larvae. The GSW intensively uses anvils in winter (starting in November) and early spring. The relevance of this study is determined not only by the fragmentation and insufficient information on the GSW's anvils, but also by the fact that there is no comparison of anvils from distant geographical regions where different subspecies of the GSW are common. For the first time in a comparative aspect, the features of the GSW's anvils from different geographical populations are analyzed. The GSW's use of the so-called "anvils" – the places of processing food-containing and food objects – is well known, which is reflected both in general articles on ecology and feeding behavior of this species and in some publications devoted to this particular issue (mainly fragmentary in nature). This well-known phenomenon is also reflected in monographs and faunal reports. Within the vast range of the GSW, various authors distinguish from 14 to 26 subspecies. In Russia and adjacent territories, there are 7 subspecies. In Arkhangelsk oblast (AO), the nominative subspecies *D. m. major* is distributed. In Stavropol oblast (SO), the subspecies *D. m. tenuirostris* is common, according to other sources, it is considered as *D. m. pinetorum*. Unlike the nominative subspecies, *D. m. tenuirostris* has a longer and narrower bill, well adapted for punching holes in the strong shells of stone fruits (apricot, plum), walnut, and almonds. In Ciscaucasia, there is a wide zone of intergradation of *D. m. candidus* and *D. m. tenuirostris*. It can be assumed that in some areas of SO, an intergradation zone of *D. m. major* and *D. m. tenuirostris* may also exist. A comparative analysis of the features of location and use of anvils by the GSW was carried out based on the materials collected in 1973-1974 in Plesetsk district of AO and in 2008-2022 in 6 districts of SO. The following parameters were analysed: the choice of tree species used for anvils, the altitude and orientation of anvils, the seasons of use of anvils, the dependence of location of anvils on the

altitude and diameter of the tree, types of food-containing objects, etc. The period of use of anvils lasted for 5 months (from November to March) in AO, and in SO, this was almost a year-round period. In AO, anvils ($n = 43$) were located on trees ($67 \pm 14\%$) and stumps ($33 \pm 14\%$). As for the choice of tree species, the GSW preferred aspens ($53 \pm 16\%$); other choices were spruce and birch. In SO, 36 GSW's anvils were discovered. The preferred type of tree (12 species) was elm (9 anvils out of 33 located on trees). In the remaining 3 cases, the anvils were located in the objects of anthropogenic origin (a wooden telegraph pole, holes in a metal pipe, and a metal fence). The majority of the GSW's anvils are found in the gardens. Walnut trees dominated, but woodpeckers preferred elm to arrange their anvils because of softer wood and more irregularities in the bark suitable for their placement. In general, the variety of tree species used for the GSW's anvils was significantly higher in SO than in AO (3 and 12, respectively). Coefficients of similarity in the variety of tree species used for anvils varied from 0.07 (Kj) to 0.21 (Kk). In AO, the average altitude of the anvils was 3.3 ± 2.3 m (lim 0.2–25, SD = 5.21, $n = 35$, $p = 0.01$), median = 1 m, the share of "low" anvils (including up to 2 m high) accounted for $69 \pm 15\%$ and $50 \pm 16\%$ in SO. In SO, the average altitude of the trees (including stumps), where the anvils were located, was 8.9 ± 3.1 (lim 0.4–25.0, SD = 5.4, $p = 0.001$, $n = 34$), median = 9 m. The anvils were located on an average altitude of 2.6 ± 1.1 m (lim 0.01–6.5, SD = 1.98, $p = 0.001$, $n = 34$), the median = 2.3 m, the share of "low" anvils accounted for $50 \pm 16\%$. The differences in altitude of the anvils in the compared regions according to the nonparametric Mann-Whitney criterion are statistically insignificant ($U = 523.0$, $p = 0.22$). The altitude of the located anvils increased with the altitude of trees in both regions: in AO ($p < 0.01$), in SO ($p > 0.05$; not statistically significant). In AO, the anvils were directed mostly to the east ($61 \pm 22\%$), in SO – to the south ($71 \pm 15\%$). In AO, 3 types of food-containing objects were found under the anvils ($n = 1639$). Spruce cones accounted for $84 \pm 1\%$; larch cones – $7 \pm 1\%$, and pine cones – $9 \pm 1\%$. The GSW's treatment of cones of various species of conifers in anvils was not equally effective. The proportion of treated spruce cones was $98 \pm 1.5\%$, larch – $76 \pm 8\%$, pine – only $17 \pm 8\%$. The most difficult (inconvenient) to process were pine cones, and the easiest were spruce cones. Some trees with GSW's anvils were also used by Crossbills *Loxia curvirostra* ticks and Squirrels *Sciurus vulgaris*. In SO, 10 types of food-containing objects were found under the anvils of the GSW ($n = 2607$): apricot, walnut, and plum accounted for $79 \pm 1.5\%$. Walnut was found under 18 anvils (occurrence of 50%), apricot seeds – under 9 (25%). On average, there were 72 ± 35 food-containing objects under the anvil (lim 5–350, SD = 80.91, median = 42, $n = 36$, $p = 0.01$). The *Pinetorum* subspecies (common in SO) are in contrast to the nominative subspecies major with a longer and narrower bill, well adapted for punching holes in the strong shell of stone fruits (apricot, plum) and nuts (walnuts and almonds). For example, the thickness of an apricot kernel shell is 1.74 ± 0.11 mm (lim 1.4–2.0, SD = 0.20, $n = 37$, $p = 0.001$), median = 1.8. On the whole, a comparative analysis of the GSW's anvils in the North (AO) and South (SO) of the European part of Russia showed a significantly higher diversity of both tree species used for anvils (3 and 12, respectively) and processed food-containing objects (3 and 10, respectively) in SO. The results obtained are quite expected due to the significantly higher species diversity of the dendroflora of the south of the European part of Russia compared to its North.

The paper contains 9 Figures, 4 Tables and 41 References.

Keywords: Great Spotted Woodpecker, anvils, food-containing objects, Arkhangelsk district, Stavropol district

For citation: Rezanov AG, Malovichko LV, Litvinov JV, Rezanov AA. Comparative Ecological and Geographical Analysis of the Anvils of the Great Spotted Woodpecker *Dendrocopos major* (Aves: Piciformes) in the North and South of the European Part of Russia. *Vestnik Tomskogo gosudarstvennogo universiteta. Biologiya* = Tomsk State University Journal of Biology. 2022;60:43-64. doi: 10.17223/19988591/60/3

Введение

Кормовое поведение большого пёстрого дятла *Dendrocopos major* L. (БПД) отличается высоким разнообразием [1–17]. Использование БПД так называемых кузниц (места обработки пищесодержащих и пищевых объектов) общеизвестно, что отражено как в работах по экологии и кормовому поведению этого вида [18–21], так и в отдельных публикациях, посвящённых рассматриваемому вопросу [22–24, 26, 27–29 и др.], которые в основном носят фрагментарный характер. Также использование кузниц БПД как общеизвестное явление отражено в монографиях [11] и фаунистических сводках [12, 13, 30–35].

Первое упоминание о кузницах дятла можно найти в трудах Аристотеля [36], относящихся к IV в. до н.э. Аристотель писал: «...один ручной дятел, положив миндальный орех в щель дерева, чтобы, будучи укреплён, он оставался на месте во время удара, с третьего удара расколол его и съел зерно» (Кн. 9, гл. IX, § 69, с. 356). К сожалению, из текста не ясно, о каком виде дятлов идёт речь. Актуальность исследования определяется не только фрагментарностью и недостаточностью информации по кузницам, но и тем фактом, что в известной нам литературе отсутствует сравнение кузниц из удалённых друг от друга географических регионов, в которых распространены разные подвиды БПД. Сравнительный анализ кузниц БПД в Архангельской области и Ставропольском крае явился основной целью нашего исследования. Впервые в сравнительном аспекте проанализированы особенности кузниц БПД из различных географических популяций.

Материал и методика

Материал собран в Архангельской области (Плесецкий район, окрестности пос. Липаково, осень 1973 г. – весна 1974 г.) и Ставропольском крае (2008–2022 гг.) (рис. 1, табл. 1).

Таблица 1 [Table 1]

Время наблюдений и объем собранного материала по кузницам *Dendrocopos major*
[Observation time and volume of collected material on *Dendrocopos major* anvils]

Материал [Material]	Архангельская область (осень–весна 1973/74 г.) [Arkhangelsk Region (autumn–spring 1973/74)]	Ставропольский край (2008–2022, кроме 2010, 2012, 2014 гг.) [Stavropol Region (2008–2022, excluding 2010, 2012, 2014)]
Обследовано районов [Districts surveyed]	1	6
Обследовано кузниц [Anvils surveyed]	43	36
Виды деревьев с кузницами [Species of trees with anvils]	3	13
Виды пищесодержащих объектов, фрагменты которых найдены под кузницами [Types of food-containing objects, fragments of which were found under the anvils]	3	10

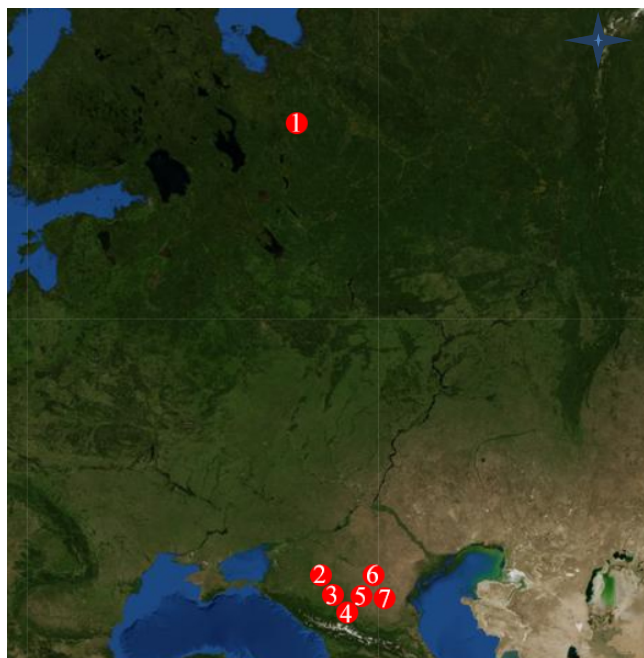


Рис. 1. Карта-схема мест проведения наблюдений. 1 – Архангельская область, Плесецкий район, окрестности пос. Липаково; 2–7 – Ставропольский край: 2 – Изобильненский район, 3 – Шпаковский район, 4 – Минераловодский район, 5 – Александровский район, 6 – Новоселицкий район, 7 – Степновский район
[Fig. 1. Map-scheme of observation sites. 1 – Arkhangelsk region, Plesetsky district, vicinity of Lipakovo settlement; 2–7 – Stavropol Region: 2 – Izbilensky District, 3 – Shpakovsky District, 4 – Mineralovodsky District, 5 – Alexandrovsky District, 6 – Novoselitsky District, 7 – Stepnovsky District]

Поиск кузниц в Архангельской области, благодаря хорошо заметным на снегу скоплениям обработанных шишек (в основном, ели), был наиболее успешным с конца октября до начала мая. После таяния снега поиск был не результативен. Часть кузниц обнаружена во время работы на них БПД. Кузницы, расположенные высоко, фиксировали при нахождении на них БПД или при осмотре ствола дерева (в основном это было возможно на сухостойных деревьях или лиственных породах до начала распускания листвы) при помощи бинокля. Кузницы смешанного происхождения определяли по следам дополнительного долбления, направленного на углубление или расширение естественной выемки в стволе дерева. Подсчитывали число шишек и определяли долю обработанных и необработанных (обро- ненных) БПД.

В Ставропольском крае наблюдения за кузницами БПД проводили, начиная с 2008 г., в 6 районах: Изобильненском, Шпаковском, Александровском, Минераловодском, Степновском, Новоселицком. Определяли вид дерева, используемого под кузницу, высоту расположения кузницы и её ориентацию, обнаруженные под кузницей пищесодержащие объекты и их число. Виды деревьев указаны в табл. 2.

Таблица 2 [Table 2]

**Расположение кузниц *Dendrocopos major* на различных видах деревьев
в Архангельской области и Ставропольском крае**
[Location of *Dendrocopos major* anvils on different species
of trees in Arkhangelsk region and Stavropol region]

Виды деревьев [Tree species]	Кузницы БПД на деревьях, n (%) [Anvils of BSW on trees, n (%)]	
	Архангельская область [Arkhangelsk region]	Ставропольский край [Stavropol region]
Осина <i>Populus tremula</i>	20 (53)	–
Ель <i>Picea abies</i>	11 (29)	–
Береза <i>Betula pendula</i>	7 (18)	1 (3)
Вяз мелколистный <i>Ulmus parvifolia</i>	–	9 (26)
Робиния, или лжеакация <i>Robinia pseudoacacia</i>	–	6 (18)
Ясень <i>Fraxinus excelsior</i>	–	4 (12)
Груша <i>Pyrus communis</i>	–	3 (9)
Слива <i>Prunus domestica</i>	–	3 (9)
Тополь <i>Populus suaveolens</i>	–	2 (6)
Клен <i>Acer platanoides</i>	–	2 (6)
Сосна <i>Pinus sylvestris</i>	–	1 (3)
Яблоня <i>Malus domestica</i>	–	1 (3)
Черешня <i>Cerasus avium</i>	–	1 (3)
Грецкий орех <i>Juglans regia</i>	–	1 (3)

Полученные результаты статистически обработаны с применением программы Microsoft Excel и STATISTICA 10.0. Для оценки предельной ошибки выборочной доли с вероятностью 0,95 использован коэффициент доверия $t = 2,0$.

Заметки по систематике. В пределах обширного ареала БПД различные авторы выделяют от 14 до 26 подвидов. В России и сопредельных территориях выделяют 7 подвидов [37]. В Архангельской области обитает номинативный подвид *major*. В Ставропольском крае распространен подвид *tenuirostris* [31, 36], по другим данным эта форма рассматривается как *pinetorum* [17]). По данным В.П. Белика [18, 38], в Предкавказье проходит широкая зона интерградации *candidus* и *tenuirostris*. Особи, сходные с формой *candidus*, преобладают на Нижнем Дону и в северных районах Краснодарского края, а птицы, диагностируемые как *tenuirostris*, характерны для горных и предгорных районов, но встречаются и севернее, вплоть до Азовского района Ростовской области. Можно полагать, что в некоторых районах Ставропольского края также возможна зона интерградации *major* и *tenuirostris*.

Результаты исследования и обсуждение

Поведение БПД на кузницах как часть кормового поведения

Поведение БПД на кузнице рассматривается как манипулирование (*handling*) пищесодержащими пищевыми объектами и является заключи-

тельным этапом кормовой поведенческой последовательности. В конкретных случаях происходит манипулирование пищесодержащими объектами [5] с целью извлечения собственно пищевых объектов: шишки хвойных, орехи (фундук, грецкий орех) и косточковые плоды (абрикосы, слива, алыча). Пищесодержащие пищевые объекты БПД срывают при помощи клюва и в клюве транспортируют к кузнице. По наблюдениям в Архангельской области, БПД транспортировал еловые шишки, держа их в клюве в горизонтальном положении за одну из чешуй. Такое поведение наблюдали 22 декабря 1973 г., 20 января и 8 марта 1974 г. Отмечены случаи, когда БПД извлекал семена из шишки, не срывая её. Так, 3 февраля и 2 марта 1974 г. самец БПД «подвешивался» к ответвлению еловой ветви головой вниз и выклёвывал семена из шишки.

Кузницы представляют собой различного рода углубления в стволах деревьев (в древостое, пнях, поваленных стволах) или объектах антропогенного происхождения. Кузницы в стволах деревьев могут быть как целиком естественные (щели в коре и пр.), так и углубленные естественные (смешанное происхождение) или заново выдолбленные (искусственное происхождение) БПД. После закрепления в кузнице пищесодержащий объект обрабатывается при помощи долбления клювом до извлечения пищевого объекта.

Сравнительный анализ состояния кузниц на севере и юге европейской части России

1. Сезоны функционирования кузниц. Время использования кузниц и обрабатываемые объекты сильно варьируются в зависимости от географии мест. Так, на севере европейской части России (Архангельская область) БПД обрабатывают на кузницах практически исключительно шишки хвойных, в основном ели, как наиболее удобные для извлечения семян, особенно в период, когда они близки к созреванию и открыванию (с ноября по февраль–март). По данным В.С. Новикова и И.А. Губанова [39], семена ели до середины зимы продолжают оставаться в шишках, высыпаясь в январе–марте, рассеиваясь по насту. Таким образом, здесь время использования кузниц ограничено началом периода созревания шишек и временем их раскрытия и соответственно выпадения созревших семян. Так, по наблюдениям в Архангельской области, первая регистрация БПД на кузнице отмечена 28 октября 1973 г. К 9 апреля 1974 г. все еловые шишки были полностью раскрыты. Таким образом, период использования БПД продолжался 5 мес с ноября по март. Тот же период (ноябрь–март) приводится и для Ленинградской области [34]. Зимой на раздавливание шишек БПД тратит до 5,6 ч/сут, при этом энергетические затраты составляют 0,39 ВМ (базальный метаболизм) [40].

По нашим наблюдениям, опавшие на наст семена или упавшие шишки БПД никогда не подбирали. В то же время такое поведение известно: иногда БПД подбирают с земли, а затем обрабатывают шишки, выроненные

клестами-еловиками *Loxia curvirostra* и белками *Sciurus vulgaris* [40], или собирают с земли высыпавшиеся семена [41].

На юге европейской части России (Ставропольский край), по данным Л.В. Маловичко, содержимое кузниц БПД разнообразнее и время их использования практически круглогодичное, поскольку урожай в селах и на дачах собирают, в лучшем случае, наполовину, и оставшиеся орехи и косточковые плоды доступны дятлам.

2. Характеристики кузниц.

Места расположения. В Архангельской области из 43 кузниц 29 ($67 \pm 14\%$) располагались на древостое, 14 ($33 \pm 14\%$) – на пнях. В 38 случаях определены виды деревьев, в 5 случаях (старые пни и обломы) видовую принадлежность деревьев определить не удалось. Предпочитаемой древесной породой была осина ($53 \pm 16\%$). Высокая концентрация кузниц ($n = 9$) отмечена в старом разреженном ельнике с примесью осины и берёзы на небольшой возвышенности в 5 км от пос. Липаково. В принципе, кузницы БПД располагались на деревьях с мягкой древесиной (осина), в которых значительно легче выдалбливать (углублять) место для закрепления шишки, и в преобладающих древесных породах (ель). Учитывая абсолютное доминирование ели в исследуемом участке тайги, с большой долей вероятности можно говорить о предпочтении БПД осины для устройства кузниц.

В Ставропольском крае обнаружено 36 кузниц БПД. Предпочитаемым видом деревьев был вяз (9 кузниц из 33, расположенных на деревьях; остальные 24 размещались на других 11 видах деревьев – табл. 3). В остальных 3 случаях кузницы располагались в объектах антропогенного происхождения (деревянный телеграфный столб, отверстия в металлической трубе и металлическом заборе). Основное число кузниц БПД найдено в садах. Доминировали деревья грецкого ореха, однако для устройства кузниц дятлы предпочитали вяз, имеющий более мягкую древесину и больше неровностей в коре, пригодных для их размещения.

В целом разнообразие видов деревьев, используемых БПД для кузниц, было значительно выше в Ставропольском крае, чем в Архангельской области, – 3 и 12 соответственно (см. табл. 2). Коэффициенты сходства Жаккара, Серенсена, Кульчинского и Отиаи невелики: соответственно $K_j = 0,07$, $K_s = 0,13$, $K_k = 0,21$, $K_o = 0,16$. Следует отметить, что коэффициент Жаккара показывает самый низкий уровень сходства.

Высота расположения. В Архангельской области средняя высота расположения кузниц составила $3,3 \pm 2,3$ м ($\lim 0,2\text{--}25$, $SD = 5,21$, $n = 35$, $p = 0,01$), медиана = 1 м, на долю «низких» кузниц (высотой до 2 м включительно) пришлось $69 \pm 15\%$ (рис. 2). В Ставропольском крае кузницы располагались в среднем на высоте $2,6 \pm 1,1$ м ($\lim 0,01\text{--}6,5$, $SD = 1,98$, $p = 0,001$, $n = 34$), медиана = 2,3 м, на долю «низких» кузниц пришлось $50 \pm 16\%$. Различия по высоте расположения кузниц в сравниваемых регионах по непараметрическому критерию Манна–Уитни статистически незначимы ($U = 523,0$, $p = 0,22$).

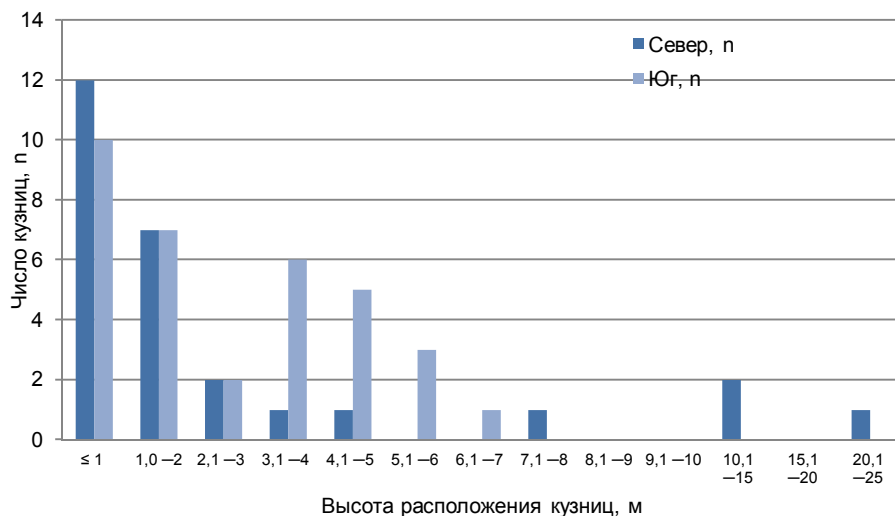


Рис. 2. Распределение кузниц по высотам в Архангельской области (север) и Ставропольском крае (юг)

[Fig. 2. Distribution of anvils by height in the Arkhangelsk region (North) and Stavropol Region (South)]

Зависимость высоты расположения кузниц от высоты и диаметра дерева. В Архангельской области высота деревьев (включая пни), на которых были расположены кузницы, составила в среднем $13,9 \pm 5,4$ (lim 0,15–30,0, $SD = 9,70$, $p = 0,001$, $n = 35$), медиана = 15 м. С высотой дерева увеличивалась высота расположения кузниц (рис. 3).

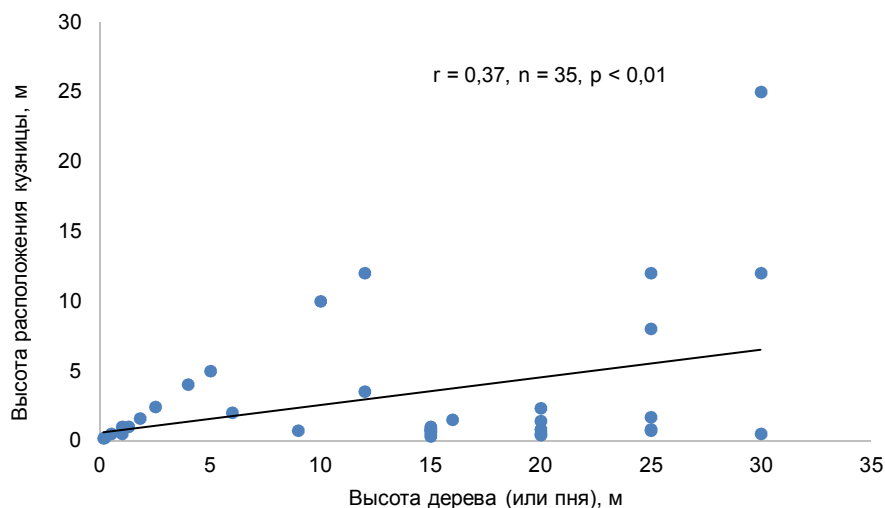


Рис. 3. Зависимость высоты расположения кузниц *Dendrocopos major* от высоты дерева, Архангельская область

[Fig. 3. The dependence of the height of the location of the *Dendrocopos major* anvils on the height of the tree, Arkhangelsk region]

С ростом диаметра ствола дерева высота расположения кузниц несколько возрастала. Отмеченная тенденция статистически незначима (рис. 4), однако можно предположить некоторый выбор БПД определённого оптимального диаметра ствола дерева.

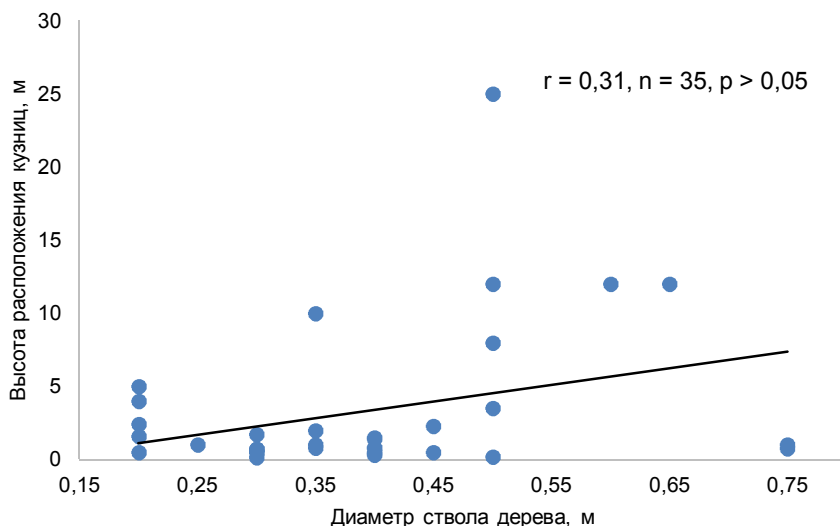


Рис. 4. Зависимость высоты расположения кузниц *Dendrocopos major* от диаметра ствола дерева. Архангельская область

[Fig. 4. The dependence of the height of the location of the *Dendrocopos major* anvils on the diameter of the tree trunk. Arkhangelsk region]

В Ставропольском крае средняя высота деревьев (включая пни), на которых были расположены кузницы, составила $8,9 \pm 3,1$ (lim 0,4–25,0, $SD = 5,4$, $P = 0,001$, $n = 34$), медиана = 9 м. С высотой дерева высота расположения кузниц несколько увеличивалась, но зависимость статистически незначима (рис. 5).

С ростом диаметра ствола дерева высота расположения кузниц сначала возрастала, а потом шла на снижение (рис. 6). Вероятно, это связано с тем, что с увеличением диаметра дерева кора ближе к комлю становится сильнее изрезанной, что предоставляет дятлам больше возможностей для закрепления пищесодержащих объектов.

Ориентация. В Архангельской области ориентация определена для 18 кузниц (рис. 8). Заметно преобладали восточные румбы – NO–SO ($n = 11,61\%$). В одном случае отмечена верхняя ориентация кузницы – она располагалась на поваленном стволе дерева. В Ставропольском крае ориентация определена для 35 кузниц, преобладала южная ориентация (SO–SW) ($n = 25,71\%$), в одном случае также отмечена верхняя ориентация. Поскольку большинство кузниц были естественного происхождения, можно полагать, что БПД выбирали не их ориентацию, а уже имеющиеся удобные места для размещения.

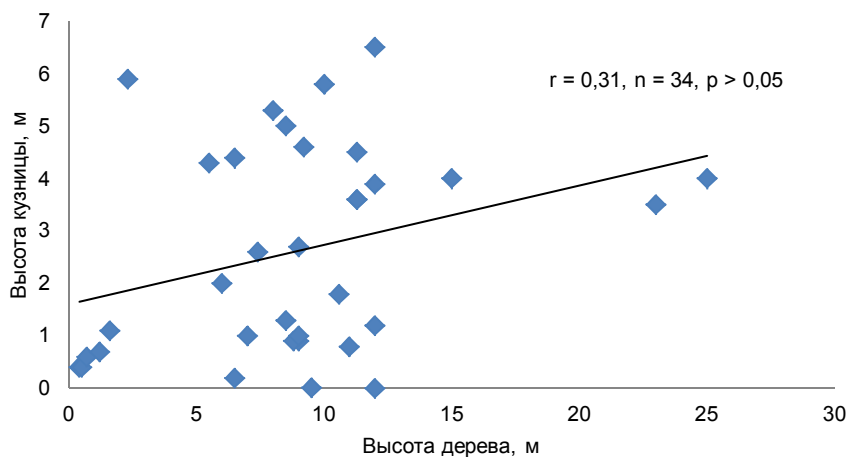


Рис. 5. Зависимость высоты расположения кузниц *Dendrocopos major* от высоты дерева. Ставропольский край

[Fig. 5. The dependence of the height of the location of the *Dendrocopos major* anvils on the height of the tree. Stavropol Region]

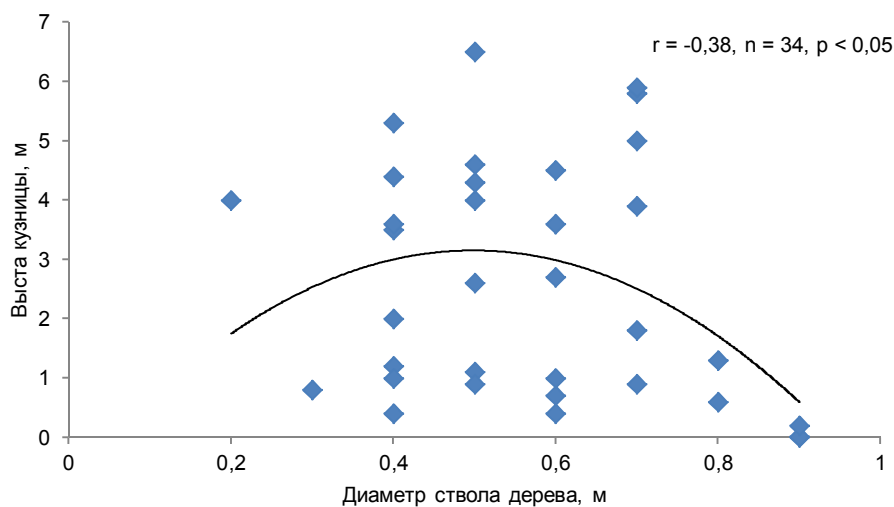


Рис. 6. Зависимость высоты расположения кузниц БПД от диаметра ствола дерева. Ставропольский край

[Fig. 6. The dependence of the height of the location of the GSW anvils on the diameter of the tree trunk. Stavropol Region]

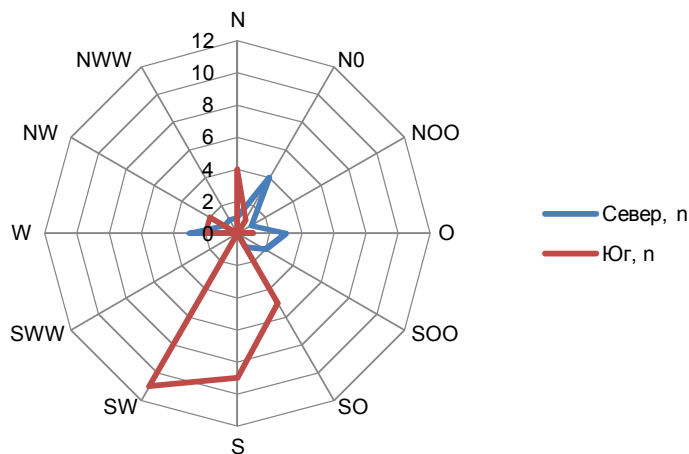


Рис. 7. Ориентация кузниц БПД в Архангельской области (север) и в Ставропольском крае (юг)

[Fig. 7. Orientation of GSW anvils in the Arkhangelsk region (North) and in the Stavropol Region (South)]

3. Пищесодержащие объекты: видовое разнообразие, число, «смешанные» кузницы. В Архангельской области под кузницами БПД ($n = 36$) обнаружено 1 639 шишек под деревьями 3 видов хвойных деревьев, преимущественно – под елью (рис. 8).

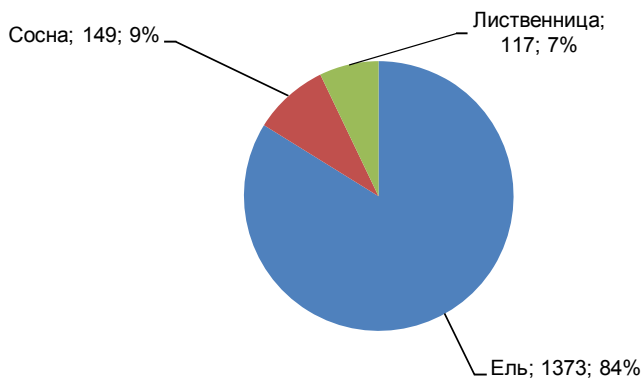


Рис. 8. Соотношение шишек хвойных деревьев под кузницами БПД в Архангельской области

[Fig. 9. The ratio of conifer cones under the anvils of GSW in the Arkhangelsk region]

В среднем под одной кузницей насчитывали 46 ± 28 (lim 1–506, $SD = 85$, $n = 36$, $p < 0,05$) шишек. По данным А.А. Иноземцева [19], в Московской области к концу зимы под некоторыми кузницами БПД находили до 3–5 тыс. обработанных шишек. Шишки лиственницы встречены под 2 кузницами (110 и 1 шишка), шишки сосны – под 11 кузницами (14 ± 13 , lim 1–86, $SD = 25$, $p = 0,08$), медиана = 7 и шишки ели – под 36 кузницами (38 ± 24 , lim 1–310, $SD = 56$, $p = 0,01$) (± 18 для $p < 0,05$), медиана = 20.

Места расположения кузниц (в скобках указано число кузниц) [Locations of anvils (number of anvils in parentheses)]	Пищесодержащие объекты (n = 2 607) [Food-containing objects (n = 2 607)]										
	Грецкий орех [Walnut]	Фундук [Hazelnut]	Миндаль [Almond]	Абрикос [Apricot]	Слива [Plum]	Алыча [Cherry plum]	Курага [Dried apricots]	Яблоко [Apple]	Шишки ели [Fir cones]	Шишки сосны [Pine cones]	Итого [Total]
Деревянный столб (1) [Wooden pole (1)]	–	–	–	–	–	–	–	–	117	–	117
Металлическая труба (1) [Metal Pipe (1)]	24	–	–	–	–	–	–	–	–	–	24
Металлический забор (1) [Metal fence (1)]	100	–	–	–	–	–	–	–	–	–	100
Итого, n [Total, n]	684	229	60	992	376	13	36	1	176	40	2 607
Доля, % [Share, %]	26,2	8,8	2,3	38,1	14,4	0,5	1,4	0,04	6,8	1,5	100

Примечание. Через двоеточие даны числа объектов из разных кузниц. В круглых скобках указана их сумма.
[Note. The colon shows the numbers of objects from different anvils. The sum in parentheses is indicated].



Рис. 9. Пищесодержащие объекты в кузницах БПД, Ставропольский край (фото Л.В. Маловичко): *а* – грецкий орех в кузнице, 28.04.2009 г., Изобильненский район; *б* – обработанные грецкие орехи под кузницей, 03.10.2015 г., Александровский район; *в* – грецкие орехи в кузнице на пне, 09.10.2018, Степновский район; *г* – плоды абрикоса в кузнице, 01.06.2019, Изобильненский район; *д* – косточка абрикоса в кузнице, 20.11. 2010, Минераловодский район; *е* – косточки сливы в кузнице, 05.08.2010, Шпаковский район

[**Fig. 9.** Food-containing objects in GSW anvils, Stavropol region (photo by L.V. Malovichko): *a* – walnut in the anvil, 28.04.2009, Izobilensky district; *b* – processed walnuts in the anvil, 03.10.2015, Alexandrovsky district; *c* – walnuts in the anvil on a stump, 09.10.2018, Stepnovsky district; *g* – apricot fruits in the anvil, 01.06.2019, Izobilensky district; *d* – apricot seed in the anvil, 20.11. 2010, Mineralovodsky district; *e* – plum pits in the anvil. 05.08.2010. Shpakovsky district]

В Ставропольском крае под кузницами БПД ($n = 36$) обнаружены пище-содержащие объекты и их фрагменты, принадлежащие 10 видам растений (см. табл. 3). Грецкий орех обнаружен под 18 кузницами (50% по встречаемости), косточки абрикосов – под 9 (25%). В среднем под кузницей нахо-

дилось 72 ± 35 пищесодержащих объектов ($\lim 5\text{--}350$; $SD = 80,91$; $n = 36$; $p = 0,01$), медиана = 42.

Распространенный в Ставропольском крае подвид *pinetorum*, в отличие от номинативного подвида *major*, имеет более длинный и узкий клюв, хорошо приспособленный для продавливания отверстий в прочной скорлупе косточковых плодов (абрикос, слива) и орехов (грецкого ореха и миндаля). Например, толщина скорлупы косточки абрикоса $1,74 \pm 0,11$ мм ($\lim 1,4\text{--}2,0$, $SD = 0,20$, $n = 37$, $p = 0,001$), медиана = 1,8. Из табл. 3 видно, что в Ставропольском крае БПД предпочитали кормиться плодами грецкого ореха, абрикоса и сливы (рис. 9).

В сумме на их долю приходится $79 \pm 1,5\%$. «Несовпадение» числа кузниц, указанных в первом столбце, с суммарным числом кузниц в 2–10 столбцах объясняется тем, что под некоторыми из них было найдено по 2 вида пищесодержащих объектов.

Полнота извлечения семян из шишек (по Архангельской области)

Обработка БПД шишек различных видов хвойных на кузницах оказалась неодинаково эффективной. Например, под одной из кузниц найдено 506 шишек, из 310 шишек ели были обработаны 305 ($98 \pm 1,5\%$), из 110 шишек лиственницы – 83 ($76 \pm 8\%$), из 86 шишек сосны – только 15 ($17 \pm 8\%$). Самыми трудными (неудобными) для обработки оказались шишки сосны, а самыми лёгкими – шишки ели.

Некоторые деревья с кузницами БПД использовались также клестами и белками (табл. 4). Неясно, были ли шишки в этих случаях сорваны и обработаны на том же дереве, где расположена кузница, или имела место вторичная обработка шишек, оброненных БПД или недоиспользованных им на кузницах. Под одной из кузниц, где помимо БПД кормились клесты-еловики, обнаружено 150 шишек ели, из которых 30 ($67 \pm 14\%$) были обработаны клестами, 15 ($33 \pm 14\%$) – БПД, 105 ($70 \pm 6\%$) остались необработанными.

Таблица 4 [Table 4]

Соотношение шишек ели, обработанных *Dendrocopos major*, *Loxia curvirostra* и *Sciurus vulgaris* под кузницами

[The ratio of spruce cones treated with *Dendrocopos major*, *Loxia curvirostra* and *Sciurus vulgaris* under the anvils]

Вид	Число обработанных шишек ели из различных кузниц					Итого
<i>Dendrocopos major</i>	97 (56%)	17 (27%)	15 (33%)	100 (67%)	15 (33%)	244 (51%)
<i>Loxia curvirostra</i>	50 (29%)	5 (8%)	30 (67%)	50 (33%)	30 (67%)	165 (35%)
<i>Sciurus vulgaris</i>	25 (15%)	40 (65%)	0	0	0	65 (14%)
Итого	172 (100%)	62 (100%)	45 (100%)	150 (100%)	45 (100%)	474 (100%)

Заключение

В Архангельской области БПД используют кузницы в течение определённого ограниченного сезона (ноябрь–март), приходящегося на период

массового созревания шишек хвойных деревьев (ель, лиственница и сосна), в то время как в Ставропольском крае дятлы кормятся на кузницах в течение круглого года. Существенные различия выявлены в ориентации кузниц: в Архангельской области преобладала восточная (NO–SO, $61 \pm 22\%$), а в Ставропольском крае – южная (SO–SW, $71 \pm 15\%$). Выявленные различия в высоте расположения кузниц статистически незначимы. В обоих регионах БПД предпочитали устраивать кузницы ближе к комлю деревьев, где изрезанность коры значительно выше и тем самым больше удобных мест для их размещения. В Архангельской области на долю «низких» кузниц (высотой до 2 м включительно) пришлось $69 \pm 15\%$, в Ставрополье – $50 \pm 16\%$. В целом сравнительный анализ кузниц БПД на севере (Архангельская область) и юге (Ставропольский край) европейской части России показал значительно более высокое разнообразие как используемых под кузницы видов деревьев (3 и 12, соответственно), так и обрабатываемых пищесодержащих объектов (3 и 10, соответственно) в Ставропольском крае. Полученные результаты оказались вполне ожидаемыми вследствие значительно более высокого видового разнообразия дендрофлоры юга европейской части России по сравнению с её севером.

Список источников

1. Резанов А.Г. Кормодобывательные методы большого пёстрого дятла в период выкармливания птенцов // Экология гнездования птиц и методы её изучения. Самарканд : СамГУ, 1979. С. 177–178.
2. Резанов А.Г. Случай воздушного кормления большого пёстрого дятла // Орнитология. 1982. № 17. С. 188.
3. Резанов А.Г. Кормовое поведение и некоторые аспекты экологии большого пёстрого дятла // Экология животных лесной зоны. М. : МОПИ, 1990. С. 85–96.
4. Резанов А.Г. Использование большим пёстрым *Dendrocopos major* и белоспинным *D. leucotos* дятлами метода наземного долбления пищесодержащего субстрата // Русский орнитологический журнал. 1997. Т. 6, № 8. С. 19–20.
5. Резанов А.Г., Резанов А.А. Оценка разнообразия кормового поведения большого пёстрого дятла *Dendrocopos major* // Русский орнитологический журнал. 2010. Т. 19, № 570. С. 831–860.
6. Резанов А.Г., Резанов А.А. Поведение большого пёстрого дятла *Dendrocopos major* при добывании кормов антропогенного происхождения: к вопросу об индивидуальной специализации // Русский орнитологический журнал. 2016. Т. 25, № 1328. С. 3117–3123.
7. Резанов А.Г., Резанов А.А. Большой пёстрый дятел *Dendrocopos major* кормится в нетрадиционных для вида луговых биотопах в гнездовой период // Русский орнитологический журнал. 2021. Т. 30, № 2032. С. 593–599.
8. Резанов А.Г., Маловичко Л.В., Литвинов Ю.В., Резанов А.А. Кормовое поведение большого пёстрого дятла *Dendrocopos major* на юге европейской части России (Ставропольский край) // Вестник Тверского государственного университета. Сер. Биология и экология. 2021. № 2 (62). С. 36–45. doi: 10.26456/vtbio197.
9. Фетисов С.А. Необычный способ кормодобывания и вид корма в летнем рационе большого пёстрого дятла *Dendrocopos major* в Псковской области // Русский орнитологический журнал. 2015. Т. 24, № 1158. С. 2215–2220.
10. Alatalo R. Resource partitioning in Fennish woodpeckers // Ornis Fennica. 1978. Vol. 55, № 2. PP. 49–59.
11. Blume D. Die Buntspechte. Neue Brehm-Bücherei. Wittenberg Lutherstadt, 1968. 112 p.

12. Cramp S. Handbook of the Birds of Europe, the Middle East and North Africa. The Birds of the Western Palearctic. V.IV. Terns to Woodpeckers. Oxford Univ. Press, 1985. 960 p.
13. Glutz von Blotzheim U.N., Bauer K.M. Handbuch der Vogel Mitteleuropas. Columbiformes – Piciformes. Wiesbaden 9. 1980. 1148 p.
14. Jiao Zb., Wan T., Wen Jb., Hu Jf., Luo Yq., Fu Lj., Zhang Lg. Seasonal diet of the Great Spotted Woodpecker (*Picoides major*) in shelterwood plantations of Wulate Qianqi County, Inner Mongolia // Forestry Studies in China. 2008. Vol. 10. PP. 119. doi: 10.1007/s11632-008-0018-6
15. Osiejuk T.S. Sexual dimorphism in foraging behaviour of the Great Spotted Woodpecker *Dendrocopos major* during winters with rich crops of Scotch pine cones // Ornithologia Fennica. 1994. Vol. 71. PP. 144–150.
16. Stański T., Czeszczewik D., Stańska M., Walankiewicz W. Foraging Behaviour of the Great Spotted Woodpecker *Dendrocopos major* in Relation to Sex in Primeval Stands of the Białowieża National Park // Acta Ornithologica. 2020. Vol. 55, № 1. PP. 120–128. doi: 10.3161/00016454AO2020.55.1.012
17. Winkler H., Christie D. A. Family Picidae (Woodpeckers) // Handbook of the birds of the world. Vol. 7: Jacamars to Woodpeckers. Barcelona : Lynx Edicions, 2002. PP. 484–485.
18. Белик В.П. Птицы Южной России: Материалы к кадастру. Том 1. Неворобьиные – Non-Passerines. Ростов-на-Дону; Таганрог : Издательство Южного федерального университета, 2021. 812 с.
19. Иноземцев А.А. Значение высокоспециализированных птиц-дереволазов в лесном биоценозе // Орнитология. 1965. Вып. 7. С. 416–436.
20. Осмоловская В.И., Формозов А.Н. Очерки экологии некоторых полезных птиц леса: дятлы // Русский орнитологический журнал. 2009. Т. 18, № 476. С. 575–605.
21. Формозов А.Н. К вопросу о межвидовой конкуренции. Взаимоотношения белки (*Sciurus vulgaris* L.), клестов (*Loxia curvirostra* L.) и большого пёстрого дятла (*Dryobates major* L.) // Докл. АН СССР. Нов. сер. 3. 1934. С. 197–201.
22. Киселёв Ю.Н. Лесной орех в «кузнице» дятла // Труды Окского государственного заповедника. 1971. Вып. 8. С. 238.
23. Киселёв Ю.Н. Орех лещины *Corylus avellana* в «кузнице» большого пёстрого дятла *Dendrocopos major* // Русский орнитологический журнал. 2019. Т. 28, № 1858. С. 5717–5718.
24. Бардин А.В. Большой пёстрый дятел *Dendrocopos major* долбит сосновые шишки в июне // Русский орнитологический журнал. 1996. Т. 5, № 1. С. 4–5.
25. Ковалев В.А. О потреблении семян сосны большим пёстрым дятлом *Dendrocopos major* в летне-осенний период: история одной «кузницы» // Русский орнитологический журнал. 2001. Т. 10, № 139. С. 283–287.
26. Ковалев В.А. Повторное использование большим пёстрым дятлом *Dendrocopos major* раздолблённых на «кузнице» шишек ели // Русский орнитологический журнал. 2015. Т. 24, № 1220. С. 4306–4308.
27. Резанов А.Г. О летнем использовании «кузниц» большим пёстрым дятлом *Dendrocopos major* // Русский орнитологический журнал. 2001. Т. 10, № 138. С. 268–270.
28. Березовиков Н.Н. Использование большими пёстрыми дятлами *Dendrocopos major* деревянных столбов линий электропередачи для устройства кузниц // Русский орнитологический журнал. 2018. Т. 27, № 1581. С. 1250–1255.
29. Березовиков Н.Н. Необычная кузница большого пёстрого дятла *Dendrocopos major* на столбе ЛЭП // Русский орнитологический журнал. 2021. Т. 30, № 2023. С. 175–177.
30. Холодковский Н.А., Силантьев А.А. Птицы Европы. СПб. : Изд-во А.Ф. Девриена, 1901. 636 с.
31. Гладков Н.А. Отряд дятлы // Птицы Советского Союза. Т. 1 / ред. Г.П. Деметьева и Н.А. Гладкова. М. : Сов. наука, 1951. С. 548–617.

32. Птушенко Е.С., Иноземцев А.А. Биология и хозяйственное значение птиц Московской области и сопредельных территорий. М. : МГУ, 1968. 461 с.
33. Гаврин В.Ф. Отряд дятлы – Picariae // Птицы Казахстана. Т. 3 / ред. И.А. Долгушин и др. Алма-Ата : Изд-во Акад. наук КазССР, 1970. С. 264–311.
34. Мальчевский А.С., Пукинский Ю.Б. Птицы Ленинградской области и сопредельных территорий. Т. 1. Л. : Изд-во Ленингр. ун-та, 1983. 480 с.
35. Бутьев В.Т., Фридман В.С. Большой пёстрый дятел *Dendrocopos major* (Linnaeus, 1758) // Птицы России и сопредельных регионов. Сивообразные, Козодоеобразные, Стрижеобразные, Ракшеобразные, Удодообразные, Дятлообразные / ред. В.Т. Бутьев и др. М. : Товарищество научных изданий КМК, 2005. С. 328–353.
36. Аристотель. История животных. М. : Издательский центр РГГУ, 1996. 528 с.
37. Степанян Л.С. Конспект орнитологической фауны России и сопредельных территорий (в границах СССР как исторической области). М. : Наука, 2003. 807 с.
38. Белик В.П. Птицы искусственных лесов степного Предкавказья: Состав и формирование орнитофауны в засушливых условиях. Кривой Рог : Минерал, 2009. 216 с.
39. Новиков В.С., Губанов И.А. Популярный атлас-определитель. Дикорастущие растения. М. : Дрофа, 2008. 416 с.
40. Бардин А.В. Бюджеты времени и энергии большого пёстрого дятла *Dendrocopos major major* L. в зимний период // Тр. Зоол. ин-та АН СССР. 1982. Т. 113. С. 45–57.
41. Глазов М.В., Тишков А.А., Чернышев Н.В. Значение деятельности животных в репродуктивном цикле ели // Бюлл. МОИП. Отд. биол. 1978. Т. 83, № 5. С. 16–25.

References

1. Rezanov AG. Kormodobyvatel'nye metody bol'shogo pyostrogo dyatla v period vykarmlivaniya ptencov. In: *Ekologiya gnezdovaniya ptic i metody eyo izucheniya*. Samarkand: SamGU Publ.; 1979. pp. 177-178. In Russian
2. Rezanov AG. Sluchai vozdushnogo kormleniya bol'shogo pyostrogo dyatla. *Ornitologiya*. 1982;17:188. In Russian
3. Rezanov AG. Kormovoe povedenie i nekotorye aspekty ekologii bol'shogo pyostrogo dyatla. In: *Ekologiyaivotnyh lesnoi zony*. Inozemcev AA, editor. Moscow: MOPI; 1990. pp. 85-96. In Russian
4. Rezanov A.G. Ispolzovanie bol'shim pyostrym *Dendrocopos major* i belospinnym *D. leucotos* dyatlami metoda nazemnogo dolbleniya pishesoderjaschego substrata. *Russkii ornitologicheskii jurnal = The Russian Journal of Ornithology*. 1997;6(8):19-20. In Russian
5. Rezanov AG, Rezanov AA. Ocenka raznoobraziya kormovogo povedeniya bol'shogo pyostrogo dyatla *Dendrocopos major*. *Russkii ornitologicheskii jurnal = The Russian Journal of Ornithology*. 2010;19(570):831-860. In Russian
6. Rezanov AG, Rezanov AA. Behaviour of the great spotted woodpecker *Dendrocopos major* during of feeding anthropogenic food: on individual specialization. *Russkii ornitologicheskii jurnal = The Russian Journal of Ornithology*. 2016;25(1328):3117-3123. In Russian
7. Rezanov AG, Rezanov AA. Bol'shoi pyostryi dyatel *Dendrocopos major* kormitsya v netradicionnyh dlya vida lugovyh biotopah v gnezdovoi period. *Russkii ornitologicheskii jurnal = The Russian Journal of Ornithology*. 2021;30(2032):593-599. In Russian
8. Rezanov AG., Malovichko LV, Litvinov YuV, Rezanov AA. Forage Behavior of the Great spotted Woodpecker *Dendrocopos major* in the southern of the European Part of Russia (Stavropol Territory). *Vestnik Tverskogo gosudarstvennogo universiteta. Seriya Biologiya i ekologiya = Bulletin of Tver State University. Series: Biology and Ecology*. 2021;2(62):36-45. doi: 10.26456/vtbio197. In Russian, English summary
9. Fetisov SA. An unusual method of foraging and unusual food in the summer diet of the great spotted woodpecker *Dendrocopos major* in the Pskov Oblast. *Russkii*

- ornitologicheskii jurnal = The Russian Journal of Ornithology*. 2015;24(1158):2215-2220. In Russian
10. Alatalo R. Resource partitioning in Fennish woodpeckers. *Ornis Fennica*. 1978;55(2):49-59.
11. Blume D. Die Buntspechte. Neue Brehm-Bücherei. Wittenberg Lutherstadt, A. Ziemsen Verlag Publ.; 1968. 112 p. In German
12. Cramp S. Handbook of the Birds of Europe, the Middle East and North Africa. The Birds of the Western Palearctic. V.IV. Terns to Woodpeckers. Oxford Univ. Press. Publ; 1985. 960 r.
13. Glutz von Blotzheim UN, Bauer KM. Handbuch der Vogel Mitteleuropas. Columbiformes – Piciformes. Wiesbaden 9 Publ; 1980. 1148 p. In German
14. Jiao Zb, Wan T, Wen Jb, Hu Jf, Luo Yq, Fu Lj, Zhang Lg. Seasonal diet of the Great Spotted Woodpecker (*Picoides major*) in shelterwood plantations of Wulate Qianqi County, Inner Mongolia. *Forestry Studies in China*. 2008;10:119-124 doi: 10.1007/s11632-008-0018-6
15. Osiejuk TS. Sexual dimorphism in foraging behaviour of the Great Spotted Woodpecker *Dendrocopos major* during winters with rich crops of Scotch pine cones. *Ornis Fennica*. 1994;71:144-150.
16. Stański T, Czeszczewik D, Stańska M, Walankiewicz W. Foraging Behaviour of the Great Spotted Woodpecker *Dendrocopos major* in Relation to Sex in Primeval Stands of the Białowieża National Park. *Acta Ornithologica*. 2020;55(1):120-128. doi: 10.3161/00016454AO2020.55.1.012
17. Winkler H, Christie DA. Family Picidae (Woodpeckers). In: *Handbook of the birds of the world. Vol. 7: Jacamars to Woodpeckers*. Barcelona: Lynx Edicions Publ; 2002. pp. 484-485.
18. Belik VP. Pticy YUjnoi Rossii: Materialy k kadastru. Tom 1. Nevorob'inye – Non-Passerines. Rostov-na-Donu; Taganrog: Izdatel'stvo YUjnogo federal'nogo universiteta Publ; 2021. 812 p. In Russian
19. Inozemcev AA. Znachenie vysokospecializirovannyh ptic-drevolazov v lesnom biocenoze. *Ornitologiya*. 1965;7:416-436. In Russian
20. Osmolovskaya VI, Formozov AN. Oчерки ekologii nekotoryh poleznyh ptic lesa: dyatly. *Russkii ornitologicheskii jurnal = The Russian Journal of Ornithology*. 2019;18(476):575-605. In Russian
21. Formozov AN. K voprosu o mejvidovoi konkurencii. V zaimootnosheniya belki (*Sciurus vulgaris* L.), klestov (*Loxia curvirostra* L.) i bol'shogo pyostrogo dyatla (*Dryobates major* L.). In: *Dokl. AN SSSR. Nov. ser.* 3. 1934. pp. 197-201. In Russian
22. Kiselyov YuN. Lesnoi oreh v "kuznice" dyatla. *Trudy Okskogo gosudarstvennogo zapovednika*. 1971;8:238. In Russian
23. Kiselyov YuN. The great spotted woodpecker *Dendrocopos major* eats nuts of the common hazel *Corylus avellana*. *Russkii ornitologicheskii jurnal = The Russian Journal of Ornithology*. 2019;28(1858):5716-5718. In Russian
24. Bardin AV. Bol'shoi pyostryi dyatel *Dendrocopos major* dolbit sosnovye shishki v iyune. *Russkii ornitologicheskii jurnal = The Russian Journal of Ornithology*. 1996;5(1):4-5. In Russian
25. Kovalev VA. O potreblenii semyan sosny bol'shim pyostrym dyatlom *Dendrocopos major* v letne-osennii period: istoriya odnoi "kuznicy". *Russkii ornitologicheskii jurnal = The Russian Journal of Ornithology*. 2001;10(139):283-287. In Russian
26. Kovalev VA. Reuse of spruce cones by great spotted woodpecker *Dendrocopos major*. *Russkii ornitologicheskii jurnal = The Russian Journal of Ornithology*. 2015;24(1220):4306-4308. In Russian
27. Rezanov AG. O letnem ispol'zovanii «kuznic» bol'shim pyostrym dyatlom *Dendrocopos major*. *Russkii ornitologicheskii jurnal = The Russian Journal of Ornithology*. 2001;10(138):268-270. In Russian

28. Berezovikov NN. Ispol'zovanie bol'shimi pyostrymi dyatlami *Dendrocopos major* derevyannyh stolbov linii elektroperedachi dlya ustroystva kuznic. *Russkii ornitologicheskii jurnal = The Russian Journal of Ornithology*. 2018; 27(1581):1250-1255. In Russian
29. Berezovikov NN. Unusual anvil of great spotted woodpecker *Dendrocopos major* on a power line pole. *Russkii ornitologicheskii jurnal = The Russian Journal of Ornithology*. 2021;30(2023):175-177. In Russian
30. Holodkovskii NA, Silant'ev AA. Pticy Evropy. S.-Peterburg: Izd-vo A.F. Devriena Publ.; 1901. 636 p. In Russian
31. Gladkov NA. Otryad dyatly. In: *Pticy Sovetskogo Soyuz. T.1*. Dement'ev GP, Gladkova NA, editors. Moscow: Sov. Nauka Publ.; 1951. pp. 548-617. In Russian
32. Ptushenko ES, Inozemcev AA. Biologiya i hozyaistvennoe znachenie ptic Moskovskoi oblasti i sopredel'nyh territorii. Moscow: Moscow State University Publ.; 1968. 461 p. In Russian
33. Gavrin VF. Otryad dyatly – Picariae. In: *Pticy Kazakhstana*. Vol. 3. Dolgushin IA, editor. Alma-Ata: Akad. nauk KazSSR Publ.; 1970. pp. 264-311. In Russian
34. Mal'chevskii AS, Pukinskii YuB. Pticy Leningradskoi oblasti i sopredel'nyh territorii. Vol. 1. Leningrad: Leningrad State University Publ.; 1983. 480 p. In Russian
35. But'ev VT, Fridman VS. Bol'shoi pyostryi dyatel *Dendrocopos major* (Linnaeus, 1758). In: *Pticy Rossii i sopredel'nyh regionov. Sovoobraznye, Kozodoobraznye, Strijeobraznye, Raksheobraznye, Udodoobraznye, Dyatloobraznye*. But'ev VT, editor. Moscow: Tovarischestvo nauchnyh izdaniy KMK Publ.; 2005. pp. 328-353. In Russian
36. Aristotel'. Istoriya zhivotnyh. Moscow: Izdatel'skii centr RGGU Publ.; 1996. 528 p. In Russian
37. Stepanyan LS. Konspekt ornitologicheskoi fauny Rossii i sopredel'nyh territorii (v granichakh SSSR kak istoricheskoi oblasti). Moscow: Nauka Publ.; 2003. 807 p. In Russian
38. Belik VP. Pticy iskusstvennyh lesov stepnogo Predkavkaz'ya: Sostav i formirovanie ornitofauny v zasushlivykh usloviyakh. Krivoi Rog: Mineral Publ.; 2009. 216 p. In Russian
39. Novikov V.S, Gubanov IA. Populyarnyi atlas-opredelitel'. Dikorastushchie rasteniya. Moscow: Drofa Publ.; 2008. 416 p. In Russian
40. Bardin AV. Byudjety vremeni i energii bol'shogo pyostrogo dyatla *Dendrocopos major major* L. v zimnii period. *Tr. Zool. in-ta AN SSSR*. 1982;113:45-57. In Russian
41. Glazov MV, Tishkov AA, Chernyshev NV. Znachenie deyatel'nosti zhivotnyh v reproduktivnom tsikle eli. *Byull. MOIP. Otd.biol*. 1978;83(5):16-25. In Russian

Информация об авторах:

Резанов Александр Геннадиевич – д-р биол. наук, профессор кафедры биологии и физиологии человека, Институт естествознания и спортивных технологий, Московский городской педагогический университет (Москва, Россия).

E-mail: RezanovAG@mgpu.ru; RezanovAG@mail.ru

Маловичко Любовь Васильевна – д-р биол. наук, профессор кафедры зоологии, Институт зоотехнии и биологии, РГАУ-МСХА имени К.А. Тимирязева (Москва, Россия).

ORCID iD: <https://orcid.org/0000-0003-1040-2890>

E-mail: l-malovichko@yandex.ru

Литвинов Юрий Владимирович – аспирант кафедры зоологии, Институт зоотехнии и биологии, РГАУ-МСХА имени К.А. Тимирязева (Москва, Россия).

E-mail: litvinov9496@gmail.com

Резанов Андрей Александрович – канд. биол. наук, доцент Института естествознания и спортивных технологий, Московский городской педагогический университет (Москва, Россия).

E-mail: RezanovAA@mgpu.ru

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Information about the authors:

Rezanov Alexander G. – Dr. Sci. (Biol.), Professor of the Department of Biology and Human Physiology, Institute of Natural Science and Sports Technologies, Moscow City University (Moscow, Russian Federation).

E-mail: RezanovAG@mgpu.ru; RezanovAG@mail.ru

Malovichko Lubov V. Dr. Sci. (Biol.), Professor, Department of Zoology, Institute of Animal Science and Biology, Russian State Agrarian University – Moscow Timiryazev Agricultural Academy (Moscow, Russian Federation).

ORCID iD: <https://orcid.org/0000-0003-1040-2890>

E-mail: l-malovichko@yandex.ru

Litvinov Yuri V. – Postgraduate student of the Department of Zoology, Institute of Zootechnics and Biology, RSAU-MCA named after K.A. Timiryazev (Moscow, Russian Federation).

E-mail: litvinov9496@gmail.com

Rezanov Andrey A. – Candidate of Biol. Sci., Associate Professor of the Institute of Natural Science and Sports Technologies of the Moscow City University (Moscow, Russian Federation).

E-mail: RezanovAA@mgpu.ru

The Authors declare no conflict of interest.

*Статья поступила в редакцию 30.06.2022;
одобрена после рецензирования 22.12.2022; принята к публикации 29.12.2022.*

*The article was submitted 30.06.2022;
approved after reviewing 22.12.2022; accepted for publication 29.12.2022.*

ЭКОЛОГИЯ

Original article

UDC 57.033:595.14

doi: 10.17223/19988591/60/4

The first data regarding the effect of the exotic *Eisenia ventripapillata* (Oligochaeta, Lumbricidae) on the cation composition of soils in Western Siberia

Kirill A. Babiy¹, Stanislav Yu. Kniazev²,
Anna S. Abramenko³, Elena V. Golovanova⁴

^{1, 2, 3, 4} Omsk State Pedagogical University, Omsk, Russian Federation

^{1, 2}labinvert@omgpu.ru

³abramenko_97@mail.ru

⁴nilseb@omgpu.ru

Summary. We have performed laboratory experiments to determine the impact of earthworms (exotic *Eisenia ventripapillata* and peregrine *Aporrectodea caliginosa*) on the water-soluble forms of ammonium, potassium, sodium, magnesium, calcium in Calcic Chernozem, Greyic Phaeozem, and Haplic Chernozem, which are widespread in the south of Western Siberia. The differences between the impacts made by the two above-mentioned species have been estimated according to the changes they make in the initial cation concentrations in soil. For *E. ventripapillata*, the obtained evidence regarding the influence of this species on soil characteristics is first-ever data. We found that *E. ventripapillata* and *A. caliginosa* changed the content of all cations in the soils under this study, but the nature of these changes varied from one soil type to another. In contrast to *A. caliginosa*, *E. ventripapillata* reliably increased the content of potassium and calcium ions in Calcic Chernozem. In comparison with the *A. caliginosa* influence, the *E. ventripapillata* variants reliably differed in the content of ammonium, potassium, and sodium ions in Greyic Phaeozem. In Haplic Chernozem, the ammonium, magnesium, and sodium ions content in the *E. ventripapillata* variants was reliably lower than in the *A. caliginosa* variants. Thus, the observed difference between native and exotic species in the effects on the content of available cations can trigger changes in the mineral nutrition of plants growing in the examined soils.

The article contains 2 Figures, 1 Table and 49 References.

Keywords: earthworms, exotic species, *Eisenia ventripapillata*, soil cations, laboratory microcosms; capillary electrophoresis

Funding: This work was supported by the Russian Science Foundation (grant no. 22-14-20034) and the grant of the Ministry of Industry, communications, digital and scientific and technical development of the Omsk region (no. 32-C dated 22.06.2022).

For citation: Babiy KA, Kniazev SYu, Abramenko AS, Golovanova EV. The first data regarding the effect of the exotic *Eisenia ventripapillata* (Oligochaeta, Lumbricidae) on the cation composition of soils in Western Siberia. *Vestnik Tomskogo gosudarstvennogo universiteta. Biologiya* = *Tomsk State University Journal of Biology*. 2022;60:65-77. doi: 10.17223/19988591/60/4

Научная статья
УДК 57.033:595.14
doi: 10.17223/19988591/59/4

Первые данные о влиянии экзотического *Eisenia ventripapillata* (Oligochaeta, Lumbricidae) на катионный состав почв Западной Сибири

Кирилл Анатольевич Бабий¹, Станислав Юрьевич Князев²,
Анна Сергеевна Абраменко³,
Елена Васильевна Голованова⁴

^{1, 2, 3, 4} Омский государственный педагогический университет, Омск, Российская
Федерация

^{1, 2}labinvert@omgpu.ru

³abramenko_97@mail.ru

⁴nilseb@omgpu.ru

Аннотация. В лабораторном эксперименте исследовано влияние дождевых червей: экзотического *Eisenia ventripapillata* и перекрестного *Aporrectodea caliginosa* на водорастворимые формы аммония, калия, натрия, магния, кальция в Calcic Chernozem, Greyic Phaeozem и Haplic Chernozem, распространенных на юге Западной Сибири. Различия во влиянии между видами оценивалось на основании изменения ими начальных концентраций катионов в почве. Для *E. ventripapillata* полученные данные о воздействии вида на характеристики почвы приводятся впервые. Установлено, что *E. ventripapillata* и *A. caliginosa* изменяли содержание всех катионов в исследуемых почвах. При этом в каждом типе почв изменения носили специфический характер. В Calcic Chernozem *E. ventripapillata* достоверно увеличивал содержание ионов калия и кальция в отличие от *A. caliginosa*. В Greyic Phaeozem варианты с *E. ventripapillata* достоверно отличались по содержанию ионов аммония, калия и натрия. В Haplic Chernozem содержание аммония, магния и кальция в вариантах с *E. ventripapillata* было достоверно ниже, чем в вариантах с *A. caliginosa*. Таким образом, наблюдаемая разница между перекрестным и экзотическим видами во влиянии на содержание доступных катионов может спровоцировать изменения в минеральном питании растений, произрастающих на исследованных почвах.

Ключевые слова: дождевые черви, экзотические виды, *Eisenia ventripapillata*, катионы почвы, лабораторные микрокосмы, капиллярный электрофорез

Источник финансирования: работа выполнена при финансовой поддержке Российского научного фонда (грант № 22-14-20034) и гранта Министерства промышленности, связи, цифрового и научно-технического развития Омской области (№ 32-С от 22.06.2022).

Для цитирования: Babiy K.A., Kniazev S.Yu., Abramenko A.S., Golovanova E.V. The first data regarding the effect of the exotic *Eisenia ventripapillata* (Oligochaeta, Lumbricidae) on the cation composition of soils in Western Siberia// Вестник Томского государственного университета. Биология. 2022. № 60. С. 65–77. doi: 10.17223/19988591/60/4

Introduction

The Intergovernmental Science-Policy Platform on Biodiversity and Ecosystem Services (IPBES) identified five major global drivers of environmental change. One such factor is invasive species [1]. Invasive plant, insect, and vertebrate invasions into terrestrial ecosystems are thoroughly studied [2]. At the same time, soil invasions are invisible and hard to detect, so these processes are less highlighted in the relevant literature on the subject. Nonetheless, these invasions result in ecosystem shifts that are as serious as those caused by terrestrial invasions [3-4]. Earthworm invasions are a striking example of this process [5].

Changes in climatic conditions [6], including soil temperature rise [7], facilitate the range expansion of earthworm species [3, 8-9] and enhance the intensity of exotic earthworm species' invasions of new territories [9].

It has been reported that the increase of the average winter temperatures allowed earthworms of the genus *Amyntas* to expand their range into new areas [6, 9]. The appearance of exotic *Lumbricus terrestris* Linnaeus, 1758 in Romania is also considered to be related to climatic changes [10]. Likewise, the soil temperature rise is common in Russia [11]; Western Siberia is characterized as a region of accelerated warming [12]. For example, the soil freezing depth has decreased by 40 cm in the south of Western Siberia [13, 14]. This factor also contributed to the changes in the earthworm species composition in the area. According to Vsevolodova-Perel's data [15], ten species and two subspecies of Lumbricidae are distributed in the lowland territory of Western Siberia. The most recent survey, however, [13] lists 18 species and 4 subspecies for the same area. Earthworms are classified as ecosystem engineering organisms because they modify soil system functioning [16]. This impact can be both direct and indirect [17]. One effect caused by earthworms is shifting the chemical composition of the soil. The knowledge of this effect is important from several perspectives, especially when earthworms invade new territories, and their effects on soil differ from the impact made by the native earthworm species inhabiting the area.

The invasions of endogeic earthworms can most drastically modify soil chemical composition [18-19], nutrient redistribution [20], and the availability of nutrients (Ca, K, Mg, Na, NH₄) for plants [21-22] as earthworms ingest and transform a large amount of soil [23]. The exotic endogeic *Pontoscolex corethrurus* (Müller, 1857) changed the Mg, Ca, K, NH₄ content and pH in Colombian soils compared to the endogeic earthworms already inhabiting the area [24]. In addition, the exotic endogeic *Aporrectodea caliginosa* (Savigny, 1826) and *Octolasion lacteum* Örley, 1881 changed the ammonium content and pH in New Zealand soils, whereas the native species did not [25]. The directions of change caused by exotic species invasions in both cases depended on the soil type [24-25].

A. caliginosa is one of the most common endogeic earthworm species in the south of Western Siberia. At present, this species is widely distributed in the

natural habitats throughout Omsk Oblast [13], in the southern taiga of Tyumen Oblast [26], and the forest-steppe of the Ob region [27]. The endogeic *Eisenia ventripapillata* Perel 1985 was first recorded in Omsk Oblast in 2018. Its range in Omsk Oblast is similar to that of *A. caliginosa*, and in several habitats the two species are found in sympatry [13, 14]. According to the Russian earthworm checklist, this species has not been registered in the country yet [15]. *E. ventripapillata* was registered in the Rudny Altai Mts, East Kazakhstan [28], and it was considered endemic to that area. Currently, no relevant publications describing the biology, ecology, and environmental impact of *E. ventripapillata* are available.

The impact of *E. ventripapillata* on the availability of soil cations can differ from that of *A. caliginosa*. The ground for such assumption is the outcomes of invasions of exotic endogeic earthworms in Colombia [24] and New Zealand [25], where soils had already been inhabited by endogeic earthworms before the invasions. As a result, the nutrient availability changes can give a competitive advantage to certain plant species [20] and reduce plant species diversity in communities [4].

This research aims to investigate the changes in the availability of cations (NH_4^+ , K^+ , Na^+ , Mg^{2+} , Ca^{2+}) in three soil types of Western Siberia colonized by *E. ventripapillata* and to perform a comparative study of the impact of the exotic *E. ventripapillata* and peregrine *A. caliginosa* on the availability of soil cations.

Materials and methods

Two endogeic earthworm species were used in the experiment: exotic *E. ventripapillata* and peregrine *A. caliginosa*. Mature individuals were collected in the vicinity of Chernoluchie village located in Omsk District, Omsk Oblast (55°16'33" N, E 73°02'35" E). Three soil types were used in the study: **Calcic Chernozem (Cal)** (Sand 20%; clay 34%; silt 27%; humus 6.0%; pH 7.52; NH_4^+ 0.33 mg/kg; K^+ 4.55 mg/kg; Na^+ 88.8 mg/kg; Mg^{2+} 8.84 mg/kg, Ca^{2+} 39.3 mg/kg), **Greyic Phaeozem (Gre)** (Sand 11%; clay 61%; silt 17%; humus 3.5%; pH 6.03; NH_4^+ 3.9 mg/kg; K^+ 41.9 mg/kg; Na^+ 4.48 mg/kg; Mg^{2+} 4.35 mg/kg, Ca^{2+} 26.2 mg/kg), **Haplic Chernozem (Hap)** (Sand 18%; clay 44%; silt 18%; humus 5.2%; pH 6.86; NH_4^+ 1.07 mg/kg; K^+ 17.2 mg/kg; Na^+ 8.63 mg/kg; Mg^{2+} 8.63 mg/kg, Ca^{2+} 47.8 mg/kg). The sampling sites for the above-mentioned soil types were as follows: Hap – the research field station of the Omsk Ecological Station of Young Naturalists, Omsk City (54°58'50" N, 73°18'10" E); Cal – the OmSPU research field station, Omsk (55°02'38" N, 73°22'52" E); Gre – the vicinity of Chernoluchie village, Omsk District, Omsk Oblast (55°16'33" N, 73°02'35" E). The soil was dried and sifted using a 4-mm mesh sieve to remove macrofauna.

Two-liter plastic containers with perforated lids were employed for the experiment. Each container was filled with 1.6 liters of soil. Leaf litter of *Populus tremula* L., 1753 dry leaves weighing 8.00 ± 0.05 g was placed on the soil surface for the approximation to natural conditions. Five individuals of a

single earthworm species were placed into each container. The average earthworm biomass in the microcosms was 4.10 ± 0.20 g/vessel for *A. caliginosa* and 3.99 ± 0.26 g/vessel for *E. ventripapillata*. Before the start of the experiment, the earthworms were kept for two days in the containers with the same soil which was added to the microcosms. Microcosms without earthworm treatment were used as the control. Nine experiment variants were performed; five replicates of each variant were analyzed. All microcosms were kept in constant climate chambers at 12°C. The soil moisture content was maintained at 40% with deionized water. In 90 days, the soil samples were taken and dried at 60 °C.

The NH_4^+ , K^+ , Na^+ , Mg^{2+} , Ca^{2+} content in the soil samples was determined with a capillary electrophoresis system “Capel 104T” (Lumex Instruments, Russia). The preparation of soil samples and aqueous soil extracts, the analysis of cation content were conducted following the Lumex Method M 03-08-2011 standardized technique. The conditions for conducting the analysis were as follows: a capillary with an effective length of 60 cm and a diameter of 75 μm ; sample injection by a pressure of 30 mbar $\times$ sec; electric power: 25kW; temperature: 20 °C; photometric detector wavelength: 254 nm. The leading electrolyte for cations contained benzimidazole, tartaric acid, and 18-crown-6. The pH values of the aqueous extracts were measured using an “ANION-4100” pH-meter (SPE Infraspak-Analit, Russia) with an “ESK-10301” glass combination electrode (soil to water ratio was 1:5, ISO 10390). The experimental data were processed with the Chrom&Spec software for Windows.

All data were converted using the natural logarithm response ratio (LnRR) where $\text{LnRR (variable)} = \ln (\text{coprolite property} / \text{control soil property})$. $\text{LnRR} < 0$ implies a negative effect of earthworms on nutrient availability in each soil type, whereas $\text{LnRR} > 0$ implies their positive impact on nutrient availability. The normality of the data was evaluated by applying the Shapiro-Wilk test with Statistica 13.0 (StatSoft Inc., United States). The principal component analysis (PCA) was performed using the PAST 4.05 statistical software package [29] with a matrix of 45 samples and 6 variables. This method permits visualizing the data of a smaller set of variables, but at the same time, it retains maximum information from the original set of variables. The PCA results were presented as two-dimensional plots using the first two principal components with higher data variability. A two-factor ANOVA was employed to evaluate the effect of earthworms and the initial soil characteristics on the changes to cation availability. The reliability of the influence exerted by earthworms on the shifts in cation availability in comparison with $\text{LnRR} = 0$ and the differences in the effects caused by the species in each soil type was checked using Student’s t-test. ANOVA and t-test were performed utilizing the Statistica 13.0 software package (StatSoft Inc., United States).

Results and discussion

Changes in the chemical composition of soil driven by exotic earthworms are registered in various regions of the world [18-19, 25]. This is a threat to the

stability of ecosystem functioning [9, 25]. In Russia, this problem remains underexplored, though it is reliably known that exotic earthworm species [30] are presented in Western Siberia [31], the European part of Russia [8], and in the Kamchatka Peninsula [32].

According to the results of this research, *E. ventripapillata* is able to change the availability of cations in all three studied soil types. This species lowered the soil pH and the content of accessible ammonium, potassium, and sodium in most soils, as well as magnesium in Gre. However, an increase in potassium and calcium accessibility was identified in Cal. Additionally, an increase in sodium availability was observed in Hap. The nature of the changes in cation availability depended on the soil type (Fig. 1).

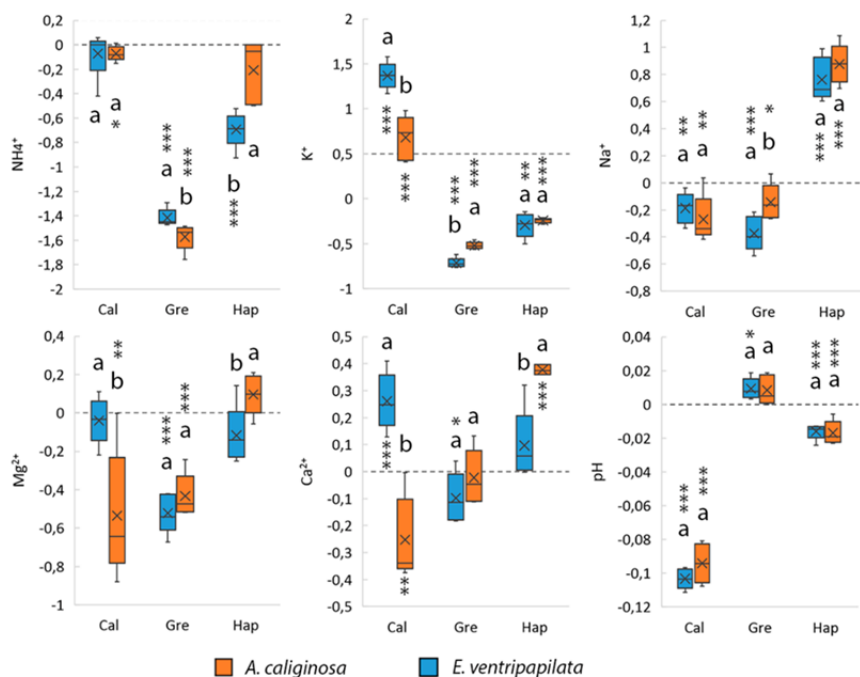


Fig. 1. Box-plot of the intensity of earthworm species effects ($\text{LnRR} = \text{Ln}(\text{variant} / \text{control})$) on the soil cation composition. The comparisons within the earthworm species are in lower-case letters. The variants with different letters are reliably dissimilar ($p \leq 0.05$). The dashed line represents the zero impact of earthworms ($\text{LnRR} = 0$). The significant variation from 0 was verified with a one-sample t-test, and it is indicated with asterisks («*»: $p < 0.05$; «**»: $p < 0.01$; «***»: $p < 0.001$). Cal - Calcic Chernozem, Gre - Greyic Phaeozem, Hap - Haplic Chernozem.

The PCA shows that *E. ventripapillata* and *A. caliginosa* modified the soil composition differently. The nature of these changes depended on the soil type for all cations (Fig. 2). Axis 1 explains 62.4% of the total inertia. This axis is positively correlated with NH_4^+ ($r=0.92$), K^+ ($r=0.95$) and, to a lesser extent, with Mg^{2+} ($r=0.40$) and Ca^{2+} ($r=0.28$). It is also negatively correlated with pH

($r=-0.93$). Axis 2 explains 29.6% of the total inertia. It is positively correlated with Na^+ ($r=0.99$), Mg^{2+} ($r=0.72$), and Ca^{2+} ($r=0.65$), but it is negatively correlated with K^+ ($r=0.27$).

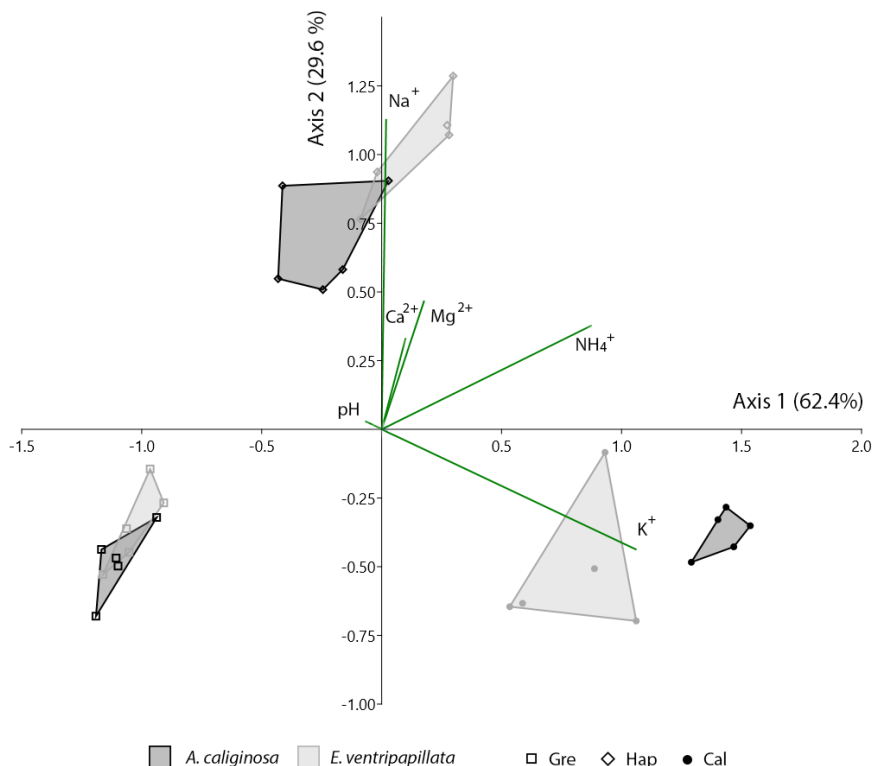


Fig. 2. PCA biplot of five different soil cations and pH. The factorial planes and the corresponding correlation vectors (superimposed on the plane) of the two earthworm species' influence on the changes in the soil cation composition were explored using the PCA method. Cal - Calcic Chernozem, Gre - Greyic Phaeozem, Hap - Haplic Chernozem.

According to the multivariate ANOVA (Table), the soil type factor affected changes in all cations ($p<0.001$), and the earthworm species influenced the concentration change of K^+ ($p<0.01$). The factor interaction was associated with changes in NH_4^+ , K^+ , Mg^{2+} , Ca^{2+} ($p<0.001$). Our results correspond to the conclusions drawn by other researchers stating that both soil type and the original content of elements determine the processes related to elemental soil composition changes caused by earthworms [21, 33]. This holds true for exotic endogeic *A. caliginosa* and *O. lacteum* in New Zealand [25] as the nature of their impact on the cation content also depends on the properties of soil.

ANOVA for each soil type (Fig. 1) demonstrates that the impact of the exotic *E. ventripapillata* on the water-soluble NH_4^+ , K^+ , Mg^{2+} , Ca^{2+} content differed from the effects caused by *A. caliginosa* ($p<0.05$) in most soils. The difference in the change of the Na^+ availability was only in Gre ($p<0.05$).

**Multivariate ANOVA for testing the influence of the factors
on the changes in the ion composition of three soil types with the LnRR index**

	NH ₄ ⁺	Na ⁺	K ⁺	Mg ²⁺	Ca ²⁺	pH
Species	4.03	9.31**	2.09	1.02	1.73	0.74
Soil	220.00***	422.70***	180.20***	18.00***	20.60***	533.60***
Type×Species	10.80***	31.80***	2.45	11.70***	35.78***	1.40

Note. «*»: p < 0.05; «**»: p < 0.01; «***»: p < 0.001.

The specific biological features of earthworm species can explain the observed differences in the Ca²⁺, Mg²⁺ content, and pH in the soil. Calcium slowly returns to the soil in a form available to plants [34]. Earthworms contribute to an increase in the availability of calcium ions by producing calcium carbonate granules [34-35]. It is a species-specific process [36], which explain the difference in the changes of the Ca²⁺ content in the soil caused by *E. ventripapillata* and *A. caliginosa* in our research. The change in the magnesium content shows a pattern similar to calcium because earthworms' gut can be the major route for the release of these cations [37].

In our study, the soil pH after earthworm treatment differed from the pH of the original soil (Figure 1), but there is no significant difference between *E. ventripapillata* and *A. caliginosa*. Calcium carbonate production by earthworms can account for the pH increase in Gre (*A. caliginosa* p<0.05) which was less alkaline than the other soil types. *E. ventripapillata* and *A. caliginosa* decreased the soil pH in Cal and Hap (p<0.001) due to the activation of the nitrification process which leads to the release of protons [38]. Earthworm-driven pH decrease is rarely observed [33]; more often, earthworms contribute to soil alkalinization [39].

There is an evidence that earthworms stimulate the development of several functional groups of soil bacteria, including *Proteobacteria*, *Actinobacteria*, *Firmicutes* и *Acidobacteria* [40]. Consequently, it is correct to assume that the change in the availability of nutrients is related to the metabolic activity of bacteria and not the direct impact of earthworms [40-41]. Several authors note that the soil K⁺ и Na⁺ content is formed by microbial processes, including those occurring in earthworm gut [42]. In this research, the change in the K⁺ content caused by *E. ventripapillata* differed from the effects produced by *A. caliginosa* (p<0.001) (Fig. 1). It can be explained by the specific features of the earthworm gut microflora and the soil aggregation process because they actively modify the microbial composition of soil and depend on the earthworm species identity [43-44]. It is also known that the availability of K⁺ decreases when pH increases and vice versa [45], which was also confirmed by our data (Fig. 1). The availability of Na⁺ also negatively correlates with the pH value [45]. However, our study did not reveal such dependence. Supposedly, the impact of microbiota is more significant, and it forms the species specificity (Fig. 2) [46]. At the same time, the increase in the water-soluble Na⁺ form in the Hap soil (p<0.001) coincides with the data obtained by Wu [37] while studying the *P. corethrurus* impact on soil.

It is reported that a rise in the NH_4^+ content is associated with earthworm presence due to the increased mineralization of organic nitrogen [47]. In our study, earthworms either didn't change the NH_4^+ content (Fig. 1), which conforms to the results obtained by Bohlen & Edwards [48] or decreased the NH_4^+ content due to bacterial oxidation. The difference between *A. caliginosa* and *E. ventripapillata* (Fig. 1, 2) confirms the previously revealed dependence of soil nitrogen dynamics on the earthworm species [41]. This can be related to the species-specific difference of the gut bacterial composition and the earthworms casts responsible for nitrogen transformation [49].

Conclusions

The effects of *E. ventripapillata* mainly contribute to the lower availability of the water-soluble forms of ammonium, potassium, and sodium in soils. The content of available water-soluble cation forms in the soil after *E. ventripapillata* treatment differs from the impact made by *A. caliginosa*; the nature of these dissimilarities depends on soil characteristics. The potential replacement of *A. caliginosa*, a species that is widespread in Western Siberia, by the exotic *E. ventripapillata* species can cause a shift in the content of water-soluble K^+ , Na^+ , Mg^{2+} , Ca^{2+} и NH_4^+ in soils.

As the soil environment characteristics are much more diverse under natural condition than in laboratory settings, to fully understand the changes in nutrient availability related to *E. ventripapillata* invasion, it is necessary to carry out field research using various soil types and consider not only specific earthworm species but also earthworm communities.

References

1. Summary for policymakers of the global assessment report on biodiversity and ecosystem services of the Intergovernmental Science-Policy Platform on Biodiversity and Ecosystem Services. Diaz S, Settele J, Brondizio ES, Ngo HT, Gueze M, Agard J, Arneth A, Balvanera P, Brauman KA, Butchart SHM, Chan KMA, Garibaldi LA, Ichii K, Liu J, Subramanian SM, Midgley GF, Miloslavich P, Molnár Z, Obura D, Pfaff A, Polasky S, Purvis A, Razzaque J, Reyers B, Chowdhury RR, Shin YJ, Visseren-Hamakers IJ, Willis KJ, Zayas CN, editors. Bonn, Germany: IPBES secretariat. 2019. 56 p. doi: 10.5281/zenodo.3553579
2. Hendrix PF, Baker GH, Callahan MA, Damoff GA, Fragoso C, González G, James SW, Lachnicht SL, Winsome T, Zou X. Invasion of exotic earthworms into ecosystems inhabited by native earthworms. *Biological Invasions*. 2006;8:1287-1300. doi: 10.1007/s10530-006-9022-8
3. Hendrix PF, Callahan MA, Drake JM, Huang CY,1 James SW, Snyder BA, Zhang W. Pandora's box contained bait: the global problem of introduced earthworms. *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics*. 2008;39:593-613. doi: 10.1146/annurev.ecolsys.39.110707.173426
4. Craven D, Thakur MP, Cameron EK LE Frelich, R Beauséjour, Blair RB, Blossey B, Burtis J, Choi A, Dávalos A, Fahey TJ, Fisichelli NA, Gibson K, Handa IT, Hopfensperger K, Loss SR, Nuzzo V, Maerz JC, Sackett T, Scharenbroch BC, Smith SM, Vellend M, Umek LG, Eisenhauer N. The unseen invaders: introduced earthworms as drivers of change in plant communities in North American forests (a metaanalysis). *Global Change Biology*. 2016;23(3):1065-1074. doi: 10.1111/gcb.13446

5. Frelich LE, Blossey B, Cameron EK, Dávalos A, Eisenhauer N, Fahey T, Ferlian O, Groffman PM, Larson E, Loss SR, Maerz JC, Nuzzo V, Yoo K, Reich PB. Side-swiped: ecological cascades emanating from earthworm invasions. *Frontiers in Ecology Environment*. 2019;17:502-510. doi: 10.1002/fee.2099
6. Singh J, Schädler M, Demetrio W, Brown GG, Eisenhauer N. Climate change effects on earthworms - a review. *Soil Organisms*. 2019;91(3):114-138. doi: 10.25674/so91iss3pp114
7. Lembrechts JJ, Aalto J, Ashcroft MB, De Frenne P, Kopecký M, Lenoir J, Luoto M, Maclean IMD, Rouspard O, Fuentes-Lillo E, García RA, Pellissier L, Pitteloud C, Alatalo JM, Smith SW, Björk RG, Muffler L, Backes AR, Cesarz S, Gottschall F, Okello J, Urban J, Plichta R, Svátek M, Phartyal SS, Wipf S, Eisenhauer N, Puşcaş M, Turtureanu PD, Varlagin A, Dimarco RD, Jump AS, Randall K, Dorrepaal E, Larson K, Walz J, Vitale L, Svoboda M, Higgins RF, Halbritter AH, Curasi SR, Klupar I, Koontz A, Pearce WD, Simpson E, Stenkovski M, Graae BJ, Sørensen MV, Høye TT, Calzado MRF, Lorite J, Carbognani M, Tomaselli M, Forte TGW, Petraglia A, Haesen S, Somers B, Van Meerbeek K, Björkman MP, Hylander K, Merinero S, Gharun M, Buchmann N, Dolezal J, Matula R, Thomas AD, Bailey JJ, Ghosn D, Kazakis G, de Pablo MA, Kemppinen J, Niittynen P, Rew L, Seipel T, Larson C, Speed JDM, Ardö J, Cannone N, Guglielmin M, Malfasi F, Bader MY, Canessa R, Stanisci A, Kreyling J, Schmeddes J, Teuber L, Aschero V, Čiliak M, Máliš F, De Smedt P, Govaert S, Meeussen C, Vangansbeke P, Gigauri K, Lamprecht A, Pauli H, Steinbauer K, Winkler M, Ueyama M, Nuñez MA, Ursu TM, Haider S, Wedegärtner REM, Smiljanic M, Trouillier M, Wilmking M, Altman J, Brůna J, Hederová L, Macek M, Man M, Wild J, Vittoz P, Pärtel M, Barančok P, Kanka R, Kollár J, Palaj A, Barros A, Mazzolari AC, Bauters M, Boeckx P, Benito Alonso JL, Zong Sh, Di Cecco V, Sitková Z, Tielbörger K, van den Brink L, Weigel R, Homeier J, Dahlberg CJ, Medinets S, Medinets V, De Boeck HJ, Portillo-Estrada M, Verryckt LT, Milbau A, Daskalova GN, Thomas HJD, Myers-Smith IH, Blonder B, Stephan JG, Descombes P, Zellweger F, Frei ER, Heinesch B, Andrews C, Dick J, Siebicke L, Rocha A, Senior RA, Rixen C, Jimenez JJ, Boike J, Pauchard A, Scholten T, Scheffers B, Klings D, Basham EW, Zhang J, Zhang Zh, Géron Ch, Fazlioglu F, Candan O, Bravo JhS, Hrbacek F, Laska K, Cremonese E, Haase P, Moyano FE, Rossi C, Nijs I. A global database of near-surface temperature. *Global Change Biology*. 2020;26:6616-6629. doi: 10.1111/gcb.15123
8. Tiunov AV, Hale CM, Holdsworth AR, Vsevolodova-Perel TS. Invasion patterns of Lumbricidae into the previously earthworm-free areas of northeastern Europe and the western Great Lakes region of North America. *Biological Invasions*. 2006;8:223-1234. doi: 10.1007/s10530-006-9018-4
9. Eisenhauer N, Stefanski A, Fisichelli NA, Rice K, Rich R, Reich PB. Warming shifts 'worming': effects of experimental warming on invasive earthworms in northern North America. *Scientific Reports*. 2014;4:6890. doi: 10.1038/srep06890
10. Pop VV, Pop AA. Lumbricid earthworm invasion in the Carpathian Mountains and some other sites in Romania. *Biological Invasions*. 2006;8(6):1219-1222. doi: 10.1007/s10530-006-9017-5
11. Chen L, Aalto J, Luoto M. Significant shallow-depth soil warming over Russia during the past 40 years. *Global and Planetary Change*. 2021;197:103394. doi: 10.1016/j.gloplacha.2020.103394
12. Sada R, Schmalz B, Kiesel J, Fohrer N. Projected changes in climate and hydrological regimes of the Western Siberian lowlands. *Environmental Earth Sciences*. 2019;78(2):1-15. doi: 10.1007/s12665-019-8047-0
13. Golovanova EV. Alien species of earthworms in Western Siberia. In: Ecology and evolution: new challenges. Proc. of the International Symposium dedicated to the celebration of 100th anniversary of RAS Academician S. S. Shwartz. Ushakova KI, Veselkin DV, Vasiliev AG, editors. Ekaterinburg: Liberal Arts University - University for Humanities; 2019, pp. 494-495. In Russian, English summary.
14. Golovanova EV, Kniazev SY, Babiy KA, Tsvirko EI, Karaban K, Solomatina DV. Dispersal of earthworms from the Rudny Altai (Kazakhstan) into Western Siberia. *Ecologica Montenegrina*. 2021;45: 48-61. doi: 10.37828/em.2021.45.9.

15. Vsevolodova-Perel TS. The Earthworms of the Fauna of Russia. Kadaster and Key. Moscow: Nauka Publ.; 1997. 102 p. In Russian.
16. Jones CG, Lawton JH, Shachak M. Organisms as ecosystem engineers. *Oikos*. 1994;69(3):373-386. doi: 10.2307/3545850
17. Lavelle P. Faunal activities and soil processes: Adaptive strategies that determine ecosystem function. *Advances in Ecological Research*. 1997;27:93-132. doi: 10.1016/S0065-2504(08)60007-0
18. Resner K, Yoo K, Sebestyen SD, Aufdenkampe A, Hale C, Lyttle A, Blum A. Invasive Earthworms Deplete Key Soil Inorganic Nutrients (Ca, Mg, K, and P) in a Northern Hardwood Forest. *Ecosystems*. 2015;18:89-102 2015. doi: 10.1007/s10021-014-9814-0.
19. Ferlian O, Thakur MP, Gonzalez A, Emeterio L, Marr S, Rocha B, Eisenhauer N. Soil chemistry turned upside down: A meta-analysis of invasive earthworm effects on soil chemical properties. *Ecology*. 2020;101:e02936. doi: 10.1002/ecy.2936
20. Zaller JG, Wechselberger KF, Gorfer M, Hann P, Frank T, Wanek W, Drapela T. Subsurface earthworm casts can be important soil microsites specifically influencing the growth of grassland plants. *Biology and Fertility of Soils*. 2013;49:1097-1107. doi: 10.1007/s00374-013-0808-4
21. Mudrák O, Frouz J. Earthworms increase plant biomass more in soil with no earthworm legacy than in earthworm-mediated soil, and favour late successional species in competition. *Functional Ecology*. 2018;32(3):626-635. doi: 10.1111/1365-2435.12999
22. Bottinelli N, Jouquet P, Capowiez Y, Podwojewski P, Grimald M, Peng X. Why is the influence of soil macrofauna on soil structure only considered by soil ecologists? *Soil & Tillage Research*, 2015;146:118-124. doi: 10.1016/j.still.2014.01.007
23. Curry JP, Schmidt O. The feeding ecology of earthworms – a review. *Pedobiologia*. 2007;50:463-477. doi: 10.1016/j.pedobi.2006.09.001
24. Marichal R, Martinez AF, Praxedes C, Ruiz D, Carvajal AF, Oszwald J, Hurtado M, Brown GG, Grimaldi M, Desjardins T, Sarrazin M, Decaëns T, Velasquez E, Lavelle P. Invasion of *Pontoscolex corethrurus* (Glossoscolecidae, Oligochaeta) in landscapes of the Amazonian deforestation arc. *Applied Soil Ecology*. 2010;46:443-449. doi: 10.1016/j.apsoil.2010.09.001
25. Kim Y-N, Robinson B, Boyer S, Zhong H-T, Dickinson N. Interactions of native and introduced earthworms with soils and plant rhizospheres in production landscapes of New Zealand. *Applied Soil Ecology*. 2015;96:141-150. doi: 10.1016/j.apsoil.2015.07.008
26. Sergeeva EV. Vidovoe raznoobrazie pochvennykh bespozvonochnykh soobshchestv korennoy terrasy Irtysha [Species Diversity of Soil Invertebrate Communities of the Irtysh Root Terrace]. *Nauchnye vedomosti belgorodskogo gosudarstvennogo universiteta. seriya: estestvennye nauki*. 2014;17(28):70-75. In Russian.
27. Ermolov SA. Biotopical distribution of earthworms (Oligochaeta, Lumbricidae) in small river valleys of the forest-steppe Ob region. *Russian Journal of Ecosystem Ecology*. 2019;4(2). In Russian, English summary. doi: 10.21685/2500-0578-2019-2-5
28. Perel' TS. Osobennosti fauny dozhdevykh chervy (Oligochaeta, Lumbricidae) v altayskikh refugiumakh nemoral'noy rastitel'nosti. *Doklady Akademii Nauk SSSR*. 1985;283(3):752-756
29. Hammer Ø, Harper DAT, Ryan PD. PAST: Paleontological statistics software package for education and data analysis. *Palaeontologia Electronica*. 2001;4(1):9. Available at: http://palaeo-electronica.org/2001_1/past/issue1_01.htm
30. Shekhovtsov SV, Golovanova EV, Peltek SE. Different dispersal histories of lineages of the earthworm *Aporrectodea caliginosa* (Lumbricidae, Annelida) in the Palearctic. *Biological Invasions*. 2016;18(3):751-761. doi: 10.1007/s10530-015-1045-6
31. Shekhovtsov SV, Bazarova NE, Berman DI, Bulakhova NA, Golovanova EV, Konyaev SV, Krugova TM, Lyubchanskii II, Peltek SE. DNA barcoding: how many earthworm species are there in the south of West Siberia? *Russian Journal of Genetics: Applied Research*. 2017;7:57-62. doi: 10.18699/VJ15.110
32. Shekhovtsov SV, Golovanova EV, Peltek SE. Invasive lumbricid earthworms of Kamchatka (Oligochaeta). *Zoological Studies*. 2014;53(1):52. doi: 10.1186/s40555-014-0052-0

33. Jouquet P, Bottinelli N, Podwojewski P, Hallaire V, Tran Duc T. Chemical and physical properties of earthworm casts as compared to bulk soil under a range of different land-use systems in Vietnam. *Geoderma*. 2008;146(1-2):231-238. doi: 10.1016/j.geoderma.2008.05.030
34. Petrochenko KA, Kurovsky AV, Babenko AS, Yakimov YuE. Leaf litter-based vermicompost as promising calcium fertilizer. *Vestnik Tomskogo gosudarstvennogo universiteta. Biologiya - Tomsk State University Journal of Biology*. 2015;2(30):20-34. In Russian, English summary. doi: 10.17223/19988591/30/2
35. Versteegh EAA, Black S, Hodson ME. Environmental controls on the production of calcium carbonate by earthworms. *Soil Biology and Biochemistry*. 2014;70:159-161. doi: 10.1016/j.soilbio.2013.12.013
36. Canti MG, Pearce TG. 2003. Morphology and dynamics of calcium carbonate granules produced by different earthworm species: The 7th International Symposium on Earthworm Ecology Cardiff Wales 2002. *Pedobiologia*. 2003;47:511-521. doi: 10.1078/0031-4056-00221
37. Wu J, Zhang C, Xiao L, Motelica-Heino M, Ren Z, Deng T, Dai J. Impacts of earthworm species on soil acidification, Al fractions, and base cation release in a subtropical soil from China. *Environmental Science and Pollution Research*. 2020;27(27):33446-33457. doi: 10.1007/s11356-019-05055-8
38. Scharenbroch BC, Johnston DP. A microcosm study of the common night crawler earthworm (*Lumbricus terrestris*) and physical, chemical and biological properties of a designed urban soil. *Urban Ecosystems*. 2011;14(1):119-134. doi: 10.1007/s11252-010-0145-4
39. Van Groenigen JW, Van Groenigen KJ, Koopmans GF, Stokkermans L, Vos HMJ, Lubbers IM. How fertile are earthworm casts? A meta-analysis. *Geoderma*. 2019;338:525-535. doi: 10.1016/j.geoderma.2018.11.001
40. Schlatter D, Baugher C, Kendall K, Huggins D, Johnson-Maynard J, Paulitz T. Bacterial communities of soil and earthworm casts of native Palouse Prairie remnants and no-till wheat cropping systems. *Soil Biology and Biochemistry*. 2019;139:107625. doi: 10.1016/j.soilbio.2019.107625
41. Medina-Sauza RM, Álvarez-Jiménez M., Delhal A, Reverchon F, Blouin M, Guerrero-Analco JA, Cerdán CR, Guevara R, Villain L., Barois I. Earthworms building up soil microbiota, a review. *Frontiers in Environmental Science*. 2019;7:81. doi: 10.3389/fenvs.2019.00081
42. Iordache M, Tudor C, Brei L. Earthworms diversity (Oligochaeta: Lumbricidae) and casting chemical composition in an urban park from Western Romania. *Polish Journal Environmental Studies*. 2021;30:645-654. doi: 10.15244/pjoes/123187
43. Frazao J, de Goede RGM, Capowiez Y, Pulleman MM. Soil structure formation and organic matter distribution as affected by earthworm species interaction and crop residues placement. *Geoderma*. 2019;338:453-463. doi: 10.1016/j.geoderma.2018.07.033
44. Sapkota R, Santos S, Farias P, Krogh PH, Winding A. Insights into the earthworm gut multi-kingdom microbial communities. *Science of The Total Environment*. 2020;727:138301. doi: 10.1016/j.scitotenv.2020.138301
45. Sharples AN. Effect of soil pH on cation and anion solubility. *Communications in Soil Science and Plant Analysis*. 1991;22(9-10): 827-841.
46. Luo AX, Wang M, Hu G, Weng B. Seasonal Change of Microbial Diversity and Its Relation with Soil Chemical Properties in Orchard. *PLoS ONE*. 2019;14(12):e0215556. doi: 10.1371/journal.pone.0215556
47. Chapuis-Lardy L, Brauman A, Bernard L, Pablo AL, Toucet J, Mano MJ, Weber L, Brunet D, Razafimbelo T, Chotte JL, Blanchart E. Effect of the endogeic earthworm *Pontoscolex corethrurus* on the microbial structure and activity related to CO₂ and N₂O fluxes from a tropical soil (Madagascar). *Applied Soil Ecology*. 2010;45(3):201-208. doi: 10.1016/j.apsoil.2010.04.006
48. Bohlen PJ, Edwards CA. Earthworm effects on N dynamics and soil respiration in microcosms receiving organic and inorganic nutrients. *Soil Biology and Biochemistry*. 1995;27:341-348. doi: 10.1016/0038-0717(94)00184-3

49. Kostina NV, Bogdanova TV, Umarov MM. Biological activity of the coprolites of earthworms. *Moscow University Soil Science Bulletin*. 2011;66:18-23. doi: 10.3103/S0147687411010029

Information about the authors:

Babiy Kirill A, Junior researcher, Research laboratory of systematics and ecology of invertebrates, Omsk State Pedagogical University (Omsk, Russian Federation).

E-mail: labinvert@omgpu.ru

ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0001-7735-9052>

Kniazev Stanislav Yu, Researcher, Research laboratory of systematics and ecology of invertebrates, Omsk State Pedagogical University (Omsk, Russian Federation).

E-mail: labinvert@omgpu.ru

ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0003-0031-0618>

Abramenko Anna S, Junior researcher, Research laboratory of systematics and ecology of invertebrates, Omsk State Pedagogical University (Omsk, Russian Federation).

E-mail: abramenko_97@mail.ru

Golovanova Elena V, Cand. Sci. (Biol.), Senior Researcher, Research laboratory of systematics and ecology of invertebrates, Omsk State Pedagogical University (Omsk, Russian Federation).

E-mail: nilseb@omgpu.ru

ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0003-0871-9274>

The Authors declare no conflict of interest.

Информация об авторах:

Бабий Кирилл Анатольевич, м.н.с., Научно-исследовательская лаборатория систематики и экологии беспозвоночных, Омский государственный педагогический университет (Омск, Россия).

E-mail: labinvert@omgpu.ru

ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0001-7735-9052>

Князев Станислав Юрьевич, научный сотрудник, Научно-исследовательская лаборатория систематики и экологии беспозвоночных, Омский государственный педагогический университет (Омск, Россия).

E-mail: labinvert@omgpu.ru

ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0003-0031-0618>

Абраменко Анна Сергеевна, м.н.с., Научно-исследовательская лаборатория систематики и экологии беспозвоночных, Омский государственный педагогический университет (Омск, Россия).

E-mail: abramenko_97@mail.ru

Голованова Елена Васильевна, с.н.с., Научно-исследовательская лаборатория систематики и экологии беспозвоночных, Омский государственный педагогический университет (Омск, Россия).

E-mail: nilseb@omgpu.ru

ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0003-0871-9274>

*The article was submitted 26.10.2022;
approved after reviewing 05.11.2022; accepted for publication 29.12.2022.*

*Статья поступила в редакцию 26.10.2022;
одобрена после рецензирования 05.11.2022; принята к публикации 29.12.2022.*

Научная статья

УДК 574.5

doi: 10.17223/19988591/60/5

Аккумулялирующая способность гидробионтов и взвешенного вещества в отношении радиоизотопов плутония в прибрежных акваториях (Севастопольская бухта, Черное море)

Артем Алексеевич Параскив¹, Наталия Николаевна Терещенко²,
Владислав Юрьевич Проскурнин³,
Ольга Дмитриевна Чужикова-Проскурнина⁴,
Александр Викторович Трапезников⁵, Анатолий Петрович Платаев⁶

^{1, 2, 3, 4} *Федеральный исследовательский центр «Институт биологии южных морей
имени А.О. Ковалевского РАН» (Севастополь, Россия)*

^{5, 6} *Институт экологии растений и животных УрО РАН (Екатеринбург, Россия)*

¹ *paraskiv@ibss-ras.ru*

² *ntereshchenko@yandex.ru*

³ *v_proskurnin@ibss-ras.ru*

⁴ *olga88.chp@ya.ru*

⁵ *vera_zar@mail.ru*

⁶ *ty1985@mail.ru*

Аннотация. Представлены данные об аккумулялирующей способности гидробионтов и взвешенного вещества на основе современных уровней концентраций антропогенных радиоизотопов плутония $^{239+240}\text{Pu}$ в гидробионтах, воде и взвешенном веществе в Севастопольской бухте (Черное море). Были исследованы представители многоклеточных бурых и зеленых водорослей, двустворчатых моллюсков, демерсальных и пелагических рыб, крабов и зоопланктона из подкласса *Copepoda*. Установлено, что все изученные виды имеют достаточно высокую аккумулялирующую способность в отношении $^{239+240}\text{Pu}$, количественно характеризующуюся коэффициентами накопления (K_H). Наибольшей аккумулялирующей способностью среди исследованных компонент экосистемы обладает взвешенное вещество ($K_H^{^{239+240}\text{Pu}} = n \cdot 10^5$), а среди изученных гидробионтов – двустворчатые моллюски, многолетние многоклеточные бурые водоросли, пелагические хищные рыбы ($K_H^{^{239+240}\text{Pu}} = n \cdot 10^3$). Для представителей референтных групп морских организмов разных трофических уровней проведены расчеты дозовых нагрузок, создаваемых $^{239+240}\text{Pu}$, на основе полученных результатов и информации из баз данных программного комплекса ERICA Assessment Tool 2.0. Критическими звеньями трофической цепи в экосистеме Севастопольской бухты по дозовым нагрузкам определены для звена первичных продуцентов: фитопланктон и многолетние бурые водоросли, для консументов I порядка – двустворчатые моллюски, для консументов II порядка – пелагические хищные рыбы.

Ключевые слова: радиоизотопы плутония, гидробионты, Севастопольская бухта, коэффициенты накопления, дозовые нагрузки

Источник финансирования: исследование выполнено при поддержке РФФИ по научному гранту Аспиранты № 20-35-90041 и в рамках темы государственного задания ФИЦ ИнБЮМ, номер гос. регистрации 121031500515-8.

Благодарности: коллектив авторов выражает благодарность вед.н.с., канд. биол. наук Н.А. Мильчаковой и с.н.с., канд. биол. наук В.В. Александрову за помощь в определении видового состава макроводорослей.

Для цитирования: Параскив А.А., Терещенко Н.Н., Проскурнин В.Ю., Чужикова-Проскурнина О.Д., Трапезников А.В., Платаев А.П. Аккумуляционная способность гидробионтов и взвешенного вещества в отношении радиоизотопов плутония в прибрежных акваториях (Севастопольская бухта, Черное море) // Вестник Томского государственного университета. Биология. 2022. № 60. С. 78–101. doi: 10.17223/19988591/60/5

Original article

doi: 10.17223/19988591/60/5

Accumulation Ability of Hydrobionts and Suspended Matter in Relation to Plutonium Radioisotopes in Coastal Waters (Sevastopol Bay, the Black Sea)

Artem A. Paraskiv¹, Nataliya N. Tereshchenko², Vladislav Yu. Proskurnin³, Olga D. Chuzhikova-Proskurnina⁴, Alexander V. Trapeznikov⁵, Anatoliy P. Plataev⁶

^{1, 2, 3, 4} *A.O. Kovalevsky Institute of Biology of the Southern Seas of the Russian Academy of Sciences (Sevastopol, Russian Federation)*
^{5, 6} *Institute of Plant and Animal Ecology, Ural Branch of the Russian Academy of Sciences (Yekaterinburg, Russian Federation)*

¹ *paraskiv@ibss-ras.ru*

² *ntereshchenko@yandex.ru*

³ *v_proskurnin@ibss-ras.ru*

⁴ *olga88.chp@ya.ru*

⁵ *vera_zar@mail.ru*

⁶ *ty1985@mail.ru*

Summary. The accumulation ability of marine ecosystems biotic and abiotic components is one of the water masses self-purification mechanisms. Hydrobionts and suspended matter accumulate anthropogenic substances from the water, thereby contributing to its self-purification. It is important to study the quantitative characteristics of this process in order to assess the ecological state of aquatic ecosystems and a possible impact of anthropogenic substances on marine organisms and ensure their protection. Anthropogenic substances entering the water systems include technogenic radionuclides. Among them, the plutonium radioisotopes ²³⁹⁺²⁴⁰Pu occupy a special place. Being long-lived alpha-emitting radioisotopes, ²³⁹⁺²⁴⁰Pu are especially dangerous if they enter inside the organism. Therefore, it is required to assess hydrobionts accumulation ability in relation to these radioisotopes, and the dose loads that they create on marine biota. This study was carried out in Sevastopol Bay of the Black Sea which was subjected to pollution by anthropogenic radionuclides and is currently serving as a model object for studying the redistribution of ²³⁹⁺²⁴⁰Pu in marine coastal ecosystems.

This work was aimed to assess the accumulation ability of hydrobionts and suspended matter in relation to plutonium and the dose loads created by ²³⁹⁺²⁴⁰Pu on marine organisms, representatives of different trophic levels, based on determining the ²³⁹⁺²⁴⁰Pu activity concentration in the components of the bay ecosystem.

Representatives of multicellular brown and green algae, bivalves, demersal and pelagic fish, crabs and zooplankton of the subclass Copepoda were studied. The $^{239+240}\text{Pu}$ activity concentration in the ecosystem components was determined by standard radiochemical methods and alpha-spectrometry. The accumulation ability of hydrobionts and suspended matter in relation to $^{239+240}\text{Pu}$ was estimated by the concentration factors (C_f). The dose loads on marine biota were calculated using the ERICA Assessment Tool 2.0 software package.

It was found that suspended matter has the highest accumulation ability among the studied components ($C_f^{239+240}\text{Pu} - n \cdot 10^5$), as well as bivalve mollusks, perennial multicellular brown algae and pelagic predatory fish among the studied hydrobionts ($C_f^{239+240}\text{Pu} - n \cdot 10^3$). It is concluded that the processes of plutonium redistribution in the bay lead to its deposition in the bottom sediments and long-term biotic components of the bay. At the same time, $^{239+240}\text{Pu}$ are not removed from the ecosystem and, under certain conditions, they can enter the water as secondary pollution. The critical links of the trophic chain in the bay ecosystem according to the dose loads are determined for the link of primary producers: phytoplankton and perennial brown algae, for consumers of the first order – bivalve mollusks, for consumers of the second order – pelagic predatory fish.

The paper contains 5 Figures, 1 Tables, and 48 References.

Keywords: plutonium radioisotopes, hydrobionts, Sevastopol Bay, concentration factors, dose loads

Funding: The reported study was funded by RFBR, project number 20-35-90041 and the state assignment of the IBSS RAS "Molismological and Biogeochemical Basis of the Homeostasis of Marine Ecosystems", No. 121031500515-8.

Acknowledgments: The authors are grateful to leading researcher, Ph.D. Milchakova N.A. and senior researcher, Ph.D. Alexandrov V.V. for their help in determining the species of macroalgae.

For citation: Paraskiv AA, Tereshchenko NN, Proskurnin VYu, Chuzhikova-Proskurnina OD, Trapeznikov AV, Plataev AP. Accumulation Ability of Hydrobionts and Suspended Matter in Relation to Plutonium Radioisotopes in Coastal Waters (Sevastopol Bay, the Black Sea). *Vestnik Tomskogo gosudarstvennogo universiteta. Biologiya = Tomsk State University Journal of Biology*. 2022;60:78-101. doi: 10.17223/19988591/60/5

Введение

Как известно, в учении В.И. Вернадского о биосфере говорится, что живое вещество в процессе своей жизнедеятельности воссоздает свою среду обитания. Водная среда – основная среда обитания гидробионтов, и поддержание экологически приемлемого ее состава очень важно для существования и развития водных организмов. Одним из механизмов самоочищения водных масс от техногенных веществ, поступающих в результате антропогенной деятельности в водоемы, служит аккумулирующая способность биотических и абиотических компонент водной экосистемы. Гидробионты и взвешенное вещество, накапливая техногенные вещества из водной среды, тем самым способствуют ее самоочищению. Поэтому знание количественных характеристик этого процесса важно как для оценки экологического состояния водной среды, так и оценки возможного биологиче-

ского воздействия техногенных веществ на гидробионты для обеспечения защищенности биоты от антропогенной нагрузки.

К числу техногенных веществ относятся, в частности, антропогенные радионуклиды [1, 2]. Ранее проведенные исследования по аккумулярованию радионуклидов различными видами черноморских гидробионтов показали, что оно происходит в результате двух процессов: поступления пищевым путем, а также, в значительной степени, через внешние покровы гидробионтов в результате минерального обмена с внешней средой [2, 3]. Это приводит к формированию определенного уровня концентрации радионуклидов в гидробионтах в зависимости от аккумуляционной способности организма. При этом для различных таксономических групп гидробионтов аккумуляционная способность в отношении разных техногенных радионуклидов отличалась [2, 4, 5]. Особое место среди техногенных радиоизотопов занимают ^{239}Pu и ^{240}Pu , периоды полураспада которых составляют 24 400 и 6 620 лет соответственно, что характеризует их как долговременную составляющую радиационного фактора в окружающей среде [1]. Объектом наших исследований были радиоизотопы плутония $^{239+240}\text{Pu}$, широкое использование которых в ядерных технологиях и их радиологические свойства определяют и их важное радиэкологическое значение в водных экосистемах.

Экспериментальные работы по изучению аккумуляционной способности гидробионтов в отношении плутония были начаты в 1960–1970 гг. Так, в результате экспериментальных исследований кинетики плутония в организмах креветок, проведенных в Международной лаборатории Монако, было установлено, что коэффициенты накопления (K_n) составляют $(0,9\text{--}4,1) \cdot 10^3$. При этом также было показано, что 30–60% накопленного плутония может затем перераспределяться из организма креветки в результате линьки и сбрасывания панциря [7]. Одни из первых натурных данных о накоплении плутония в гидробионтах пресноводных экосистем были получены в результате радиэкологических исследований цепи прудов-отстойников в районе ядерного центра Флэт-Рок (США), на котором в 1950-е гг. в среднем ежегодно перерабатывалось более 2 000 кг ^{239}Pu . Были оценены K_n ^{239}Pu для фитопланктона ($n \cdot 10^5$), водорослей ($n \cdot 10^4$) и зоопланктона ($n \cdot 10^3$) [8]. В начале 1970-х гг. были выполнены комплексные исследования перераспределения радиоизотопов плутония в Ирландском море. Установлено, что наибольшие величины K_n плутония среди исследованных видов биоты были характерны для красных водорослей *Porphyra sp.* ($n \cdot 10^3$), двусторчатых моллюсков *Mytilus edulis* ($2 \cdot 10^3$) и брюхоногих моллюсков *Littorina littorea* ($2 \cdot 10^3$) [9]. Также была оценена аккумуляционная способность в отношении плутония для одних из основных промысловых видов рыб данного региона – атлантического лосося *Salmo salar* и морской камбалы *Pleuronectes platessa*. Было установлено, что для данных звеньев трофической цепи K_n плутония были на 2–3 порядка величин меньше, чем для водорослей и моллюсков. Так, для лосося, обитающего в пелагиали, K_n плутония составил $1 \cdot 10^0$, а для камбалы, ведущей преимущественно придонный образ жизни, – $3 \cdot 10^1$ [9].

В дальнейшем исследования аккумулярующей способности пресноводных и морских гидробионтов в отношении радиоизотопов плутония были приурочены к акваториям, которые подверглись радиоактивному загрязнению в результате испытаний ядерного оружия [10, 11], аварий на АЭС [2, 12], сбросов радиоактивных отходов [13, 14, 41], захоронения ядерных объектов [15].

Помимо определения аккумулярующей способности гидробионтов в отношении радиоизотопов плутония, интерес вызывает оценка дозовых нагрузок от их ионизирующего излучения на гидробионты. Радиоизотопы $^{239+240}\text{Pu}$ – альфа-излучающие, с высокой энергией альфа-частиц, что делает их особо опасными при попадании внутрь организма [2]. Для альфа-частиц их высокая относительная биологическая эффективность выражается через взвешивающий коэффициент излучения (или коэффициент качества ионизирующего излучения) – W_R . В радиационной гигиене для альфа-излучения $W_R = 20$ [6]. Также рекомендовано для альфа-излучения применять $W_R = 20$ и для биоты [16, 17]. В нашей статье использована рекомендованная величина $W_R = 20$ при расчетах дозовых нагрузок на гидробионты. Но необходимо отметить, что имеются результаты экспериментальных исследований, в которых значение W_R превышало рекомендованное значение. Так, анализ международных архивов радиобиологических данных о радиационных эффектах у биоты при разных мощностях дозы хронического облучения альфа-излучателями показал, что относительная биологическая эффективность, в частности, для радиоизотопов плутония, может быть выше и W_R может составлять 50 единиц [18]. Это говорит о высокой радиотоксичности радиоизотопов плутония и необходимости дальнейшего изучения этого вопроса. Учитывая высокую радиологическую опасность $^{239+240}\text{Pu}$, важно исследовать процессы его перераспределения в водоеме, включая аккумулярование (накопление) $^{239+240}\text{Pu}$ морскими организмами, и проводить оценку создаваемых ими дозовых нагрузок на гидробионты для решения задач прикладной гидробиологии по обеспечению экологической безопасности гидробионтов.

Не только гидробионты, но и взвешенное вещество аккумулирует радиоизотопы плутония. Как известно, находясь в водной толще, радиоизотопы плутония могут в высокой степени сорбироваться взвешенным веществом [19], и взвесь, оседая из толщи вод в донные отложения, тем самым выносит радиоизотопы плутония и способствует самоочищению водной среды от них [20, 21].

В Черном море, подвергнувшемся значительному поступлению техногенных радионуклидов [1], исследования радиоизотопов плутония были сосредоточены, в основном, в западной и северо-западной глубоководной части моря, а для прибрежных зон выполнялись эпизодически по отдельным аспектам [2, 5, 20, 22]. В то же время прибрежные морские экосистемы, такие как полузакрытые бухты с большим удельным водосбором, могут служить своего рода накопителем техногенных веществ и модельным объектом для комплексного изучения процессов перераспределения радиоизотопов плутония в биотических компонентах.

Береговая линия Крымского полуострова характеризуется значительной изрезанностью и наличием множества бухт. В рамках нашего исследования была выбрана Севастопольская бухта, широко используемая в хозяйственных и туристическо-рекреационных целях и относящаяся к акваториям повышенного экологического риска [21, 23–25].

Таким образом, целью нашей работы была оценка аккумуляционной способности гидробионтов и взвешенного вещества в отношении плутония, а также расчет дозовых нагрузок, создаваемых $^{239+240}\text{Pu}$, на морские организмы – представители разных трофических уровней на основе определения удельной активности $^{239+240}\text{Pu}$ в компонентах морской экосистемы Севастопольской бухты.

Материалы и методики исследования

Пробы воды и гидробионтов отбирались в 2018–2021 гг. в Большой Севастопольской бухте (за исключением её южной части – бухты Южная) в трех районах-боксах, а также в открытой части моря на внешнем рейде бухты (рис. 1). Такое деление акватории бухты на боксы было выполнено на основании исследований гидролого-гидрохимических и морфометрических характеристик бухты, где было показано, что каждый выделенный район отличается в рамках изученных параметров [26].

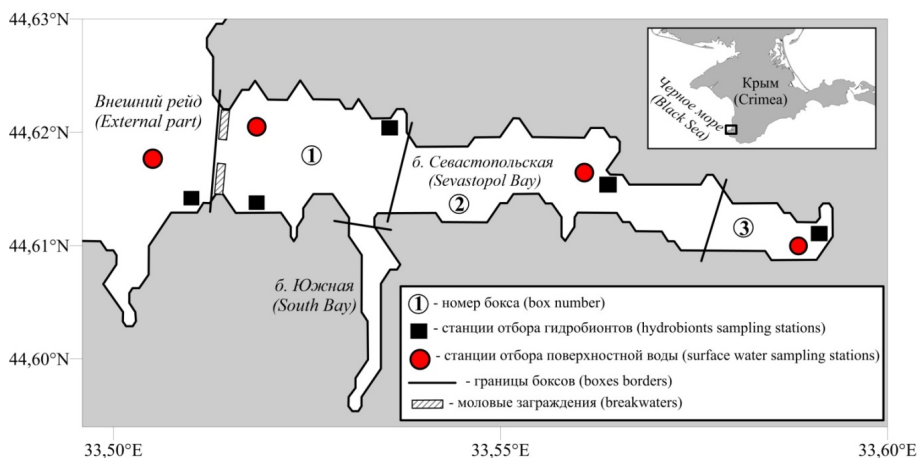


Рис. 1. Карта-схема Севастопольской бухты со станциями отбора проб
[Fig. 1. Scheme map of Sevastopol Bay with sampling stations]

Для определения удельной активности $^{239+240}\text{Pu}$ в поверхностной воде пробы объемом 1 м^3 отбирали с маломерного научного судна в две пластиковые емкости объемом $0,5 \text{ м}^3$ каждая. Отбор проб воды большого объема осуществлялся с использованием центробежного насоса, оснащенного пластиковыми трубами.

Как известно, плутоний – сорбционно-активный элемент, связываясь с литогенным взвешенным веществом, он перераспределяется в составе оса-

дочного вещества в донные отложения в результате седиментационных процессов, приводящих к осадконакоплению. Следовательно, плутоний поступает в донные отложения в виде абиогенного потока его перераспределения из водной толщи в осадки. В то же время образование первичной продукции фитопланктоном и биомассы разных групп планктона в поверхностном слое вод формирует биогенную взвесь в результате жизнедеятельности и отмирания планктонных организмов, аккумулирующих радиоизотопы плутония, и поступления биогенного потока плутония с биогенным осадочным материалом в донные отложения [20]. Таким образом, как литогенное, так и биогенное взвешенное вещество играет важную роль в процессе перераспределения плутония в водной экосистеме. Поэтому в нашей работе исследовались пробы общего взвешенного вещества. На внешнем рейде Севастопольской бухты были отобраны и проанализированы на определение $^{239+240}\text{Pu}$ пробы взвешенного вещества во все сезоны года. Объем проб составлял 4–8 м³ воды, взвесь из которых отфильтровывали на полипропиленовый фильтр-картридж с диаметром пор 0,45 мкм. Фильтры со взвесью озолотили в муфельной печи со ступенчатым подъемом температуры до 500 °С, и полученную золу подвергали радиохимическому анализу. Масса зольного остатка определяется объемом отфильтрованной воды и концентрацией взвеси в ней. В настоящей работе масса зольного остатка от сжигания фильтров варьировалась от 2 до 12 г. В каждый из четырех сезонов года в боксах бухты и на внешнем рейде отбирали пробы поверхностной воды объемом 10 л для определения количества взвешенного вещества в поверхностном слое вод. Пробы воды фильтровали на предварительно взвешенные мембранные фильтры с диаметром пор 0,45 мкм. Количество собранного взвешенного вещества определяли весовым методом по разнице масс фильтров, доведенных до постоянного веса при температуре 60 °С до и после фильтрации.

В связи с тем, что морская биота характеризуется огромным видовым разнообразием, оценка радиационного воздействия на каждый вид биоты практически невозможна. Поэтому в настоящее время методология радиационной защиты окружающей среды как в международной, так и в отечественной практике опирается на анализ сравнительно небольшого числа референтных (представительных) видов [17, 27, 28]. При изучении морских экосистем в качестве референтных видов гидробионтов для оценки радиационного воздействия рекомендуется выбирать из следующих групп гидробионтов: макроводоросли, моллюски, ракообразные, рыбы пелагические, рыбы придонные, водоплавающие птицы и водные млекопитающие [17, 27, 28].

В качестве референтных видов гидробионтов в Севастопольской бухте были отобраны представители макроводорослей, моллюсков, пелагических и придонных рыб. Ключевым звеном макрофитобентоса бухты являются многолетние бурые водоросли рода *Cystoseira*, в летний период широкое распространение получают однолетние зеленые водоросли рода *Cladophora* [29]. Поэтому был произведен отбор представителей этих ро-

дов, а именно: виды *Cystoseira barbata* (C. Agardh, 1820) и *Cladophora laetevirens* (Kützinger, 1843). Среди моллюсков Севастопольской бухты особый интерес вызывает изучение двустворчатых моллюсков-фильтраторов, в частности, представителей мидий вида *Mytilus galloprovincialis* (Lamarck, 1819). Это обусловлено тем, что мидии являются одним из основных биоиндикаторных видов в силу своей способности накапливать загрязняющие вещества до высоких уровней и вести оседлый образ жизни, а также широкой распространенности в бухтах Севастопольской морской акватории [30, 31]. Кроме того, *M. galloprovincialis* используется как один из основных объектов хозяйственного (устрично-мидийные фермы) и стихийного промысла в Севастопольской бухте [32, 33]. В качестве представителей пелагических хищных рыб были отобраны особи *Spicara taena* (Linnaeus, 1758), а среди придонных – *Scorpaena porcus* (Linnaeus, 1758), также являющиеся биоиндикаторными видами для Севастопольской морской акватории [34]. Согласно рекомендациям для отбора проб референтных видов масса пробы рыб составляла не менее 1,5 кг, моллюсков – 100 г, макрофитов 0,5–1 кг. Все пробы мидий отбирались на коллекторах в акватории внешнего рейда Севастопольской бухты и были дифференцированы по полу и размеру створок.

Отбор проб фито- и зоопланктона в Севастопольской бухте (средняя глубина которой составляет 12,5 м) не проводили ввиду необходимости для получения достоверного результата анализа на содержание $^{239+240}\text{Pu}$ большой массы данных организмов (0,5–1 кг). Поэтому были использованы результаты ранее выполненных исследований, согласно которым была установлена высокая аккумулярующая способность морских планктонных организмов в отношении плутония [35–37]. В указанных работах и согласно обобщающим данным радиоэкологических исследований Международного агентства по атомной энергии (МАГАТЭ) [1, 4], было определено высокое значение коэффициента накопления $^{239+240}\text{Pu}$ фитопланктоном ($n \cdot 10^5$), которое было использовано в данной работе.

В августе–сентябре 2018 г. в ходе 103-го рейса НИС «Профессор Водяницкий» был осуществлен отбор проб зоопланктона – представителей подкласса *Copepoda* (веслоногие ракообразные). Отбор проб был выполнен сетью Богорова–Расса (диаметр 80 см, размер ячеек 500 мкм) на 10 станциях вдоль южного побережья Крымского полуострова. Облавливали слой воды 0–50 м. В результате вес интегральной пробы зоопланктона составил 654,4 г, этого было достаточно для проведения радиохимического анализа и дальнейшего определения удельной активности $^{239+240}\text{Pu}$ в зоопланктоне.

Все пробы гидробионтов после отбора тщательно промывали морской водой, добиваясь полного отделения от налипших частиц донных отложений и обрастаний. Затем пробы высушивали в сушильном шкафу при 80 °С до постоянной сухой массы и озоляли в муфельной печи со ступенчатым подъемом температуры до 550 °С. Для радиохимического анализа использовали навески золы массой от 10 до 20 г.

Радиохимический анализ проб воды, взвешенного вещества и гидробионтов проводили по стандартной многоступенчатой методике [22, 38]. Для контроля химического выхода использовали стандартный раствор ^{242}Pu , 10 мБк которого вносили в каждую пробу перед проведением радиохимического анализа. Тонкослойные счетные образцы для альфаспектрометрии подготавливали путем электроосаждения проб на стальные диски из нержавеющей стали. Измерения проб проводили на альфаспектрометрическом комплексе фирмы «ORTEC» (США) в лаборатории общей радиоэкологии Института экологии растений и животных УрО РАН (г. Екатеринбург). Время измерения счетных образцов составляло 10 сут. Статистическая обработка полученных результатов проводилась с помощью стандартных в радиоэкологии и радиометрии методов, ошибка измерения приведена в виде одного стандартного отклонения ($\pm 1\sigma$) [39]. Результаты определения удельной активности $^{239+240}\text{Pu}$ приведены в мБк·м⁻³ для проб воды, для проб гидробионтов – в мБк·кг⁻¹ сырой массы и для проб взвешенного вещества – в мБк·кг⁻¹ сухой массы. Минимально детектируемая активность (МДА) составляла 10⁻⁵ Бк·проба⁻¹. Для различных видов гидробионтов фактические величины МДА определяются степенью усушки материала проб и коэффициентами его озоления. Так, для навески золы в 20 г МДА в пробах макрофитов составляла 0,5 мБк·кг⁻¹ сырой массы, в пробах рыб и моллюсков – 0,2 мБк·кг⁻¹, взвешенного вещества – 10 мБк·кг⁻¹. В пробах воды объемом 1 000 л МДА составляла 0,1 мБк·м⁻³.

Для оценки аккумулирующей способности гидробионтов в отношении плутония проводили расчет коэффициентов накопления, которые показывают, во сколько раз концентрация вещества выше в компоненте экосистемы по сравнению с таковой в воде [40]. Известно, что в области микроконцентраций (10⁻¹²–10⁻⁵ моль·л⁻¹) концентрация химических элементов в гидробионтах прямо пропорциональна их концентрации в воде, вследствие чего коэффициенты накопления остаются постоянными [40, 41]. В связи с этим для видов, пробы которых не были отобраны в конкретном боксе бухты, уровень удельной активности $^{239+240}\text{Pu}$ оценивался исходя из удельной активности плутония в воде этого бокса и усредненного коэффициента накопления плутония этими видами в других боксах бухты. На основе расчета коэффициента накопления $^{239+240}\text{Pu}$ зоопланктоном прибрежной части Крыма была проведена оценка удельной активности $^{239+240}\text{Pu}$ для зоопланктона Севастопольской бухты, с учетом того, что представители подкласса *Copepoda* являются одним из ключевых звеньев зоопланктона бухты, достигая в зимне-весенние месяцы до 70–80% по численности и биомассе [42]. Кроме того, на основе ранее полученных данных по аккумулированию плутония черноморскими крабами *Carcinus sp.* оценивали удельную активность $^{239+240}\text{Pu}$ в них, характерную для Севастопольской бухты [5].

Мощность дозы для изученных видов гидробионтов оценивали с использованием программного комплекса ERICA Assessment Tool 2.0 [43]. Данный программный комплекс позволяет рассчитывать мощности доз с учетом взвешивающего коэффициента излучения (W_R) и проводить оценку

радиационного риска для водной биоты, основываясь на функциях распределения вероятностей используемых для расчета параметров. Использовался уровень детализации 3, на котором имеется возможность редактирования большинства параметров, которые были определены по полученным нами натурным и экстраполированным данным для биоты в Севастопольской бухте и использованы в расчетах. Кроме того, с помощью данного программного комплекса есть возможность оценки дозовых нагрузок для тех референтных групп организмов, пробы которых не отбирались в Севастопольской бухте: фитопланктона, ракообразных, водоплавающих птиц и водных млекопитающих. Для этих видов недостающие данные берутся программой из архива баз данных по радиоэкологическим параметрам радионуклидов, дозиметрическим характеристикам и радиобиологическим эффектам у биоты [43]. Проведение оценки экологического состояния акватории по референтным видам представляет собой модельную оценку с рядом условий, допущений, упрощений и дает усредненную оценку, являясь первой ступенью многоступенчатого подхода к оценке экологической ситуации в акватории. В случае обнаружения экологически опасного для гидробионтов состояния водоема следующим шагом будет необходимо проводить более полные, конкретизированные оценки для детализации ситуации. При этом должны быть учтены количественные характеристики исследуемого водоема, условия и факторы, действующие в нем, характеристики его биоты, а также источники загрязнения, что даст более точную и детальную оценку ситуации [17]. Определение количественных параметров перераспределения и формирования дозовых нагрузок и является одной из задач целенаправленного радиоэкологического мониторинга в водных экосистемах.

Результаты исследования и обсуждение

Результаты определения удельной активности $^{239+240}\text{Pu}$ в воде и гидробионтах в районах исследования представлены на рис. 2, они свидетельствуют, что величина удельной активности $^{239+240}\text{Pu}$ в воде бухты в целом соответствует средним значениям, наблюдавшимся в поверхностных водах Черного моря за последние годы [22]. Самая высокая удельная активность $^{239+240}\text{Pu}$ в воде была определена в боксе 3, в который впадает река Черная, воды которой несут большое количество взвешенного вещества. Данный район бухты характеризуется малыми глубинами (2–4 м), и возможное взмучивание илистых донных отложений может приводить к увеличению взвешенного вещества в поверхностном слое вод, которое, вероятно, влечет за собой увеличение общего содержания радиоизотопов плутония в воде.

Это предположение подтверждается нашими данными по содержанию общего взвешенного вещества в акватории Севастопольской бухты в разные сезоны года (рис. 3). Показано, что для бокса 3 характерны наибольшие величины содержания взвешенного вещества в поверхностном слое

вод, особенно весной, в период усиленного поступления взвеси из водосборного бассейна реки Черная (рис. 3).

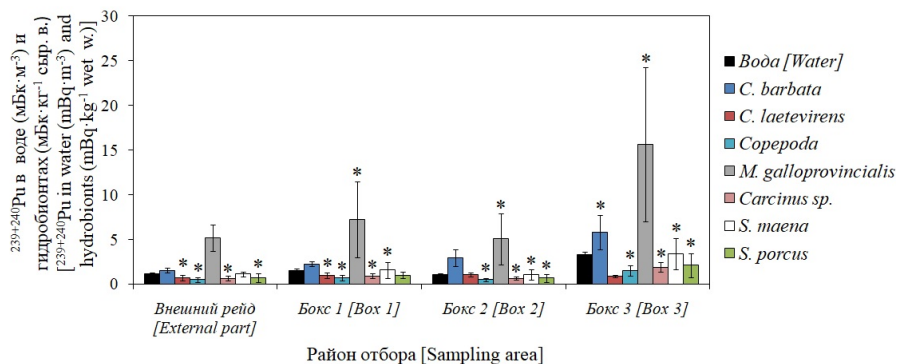


Рис. 2. Удельная активность $^{239+240}\text{Pu}$ в воде и гидробионтах из акваторий внешнего рейда и боксов Севастопольской бухты (* – расчетные результаты)
[Fig. 2. Activity concentration of $^{239+240}\text{Pu}$ in water and hydrobiota from external part and boxes of Sevastopol Bay (* - calculated results)]

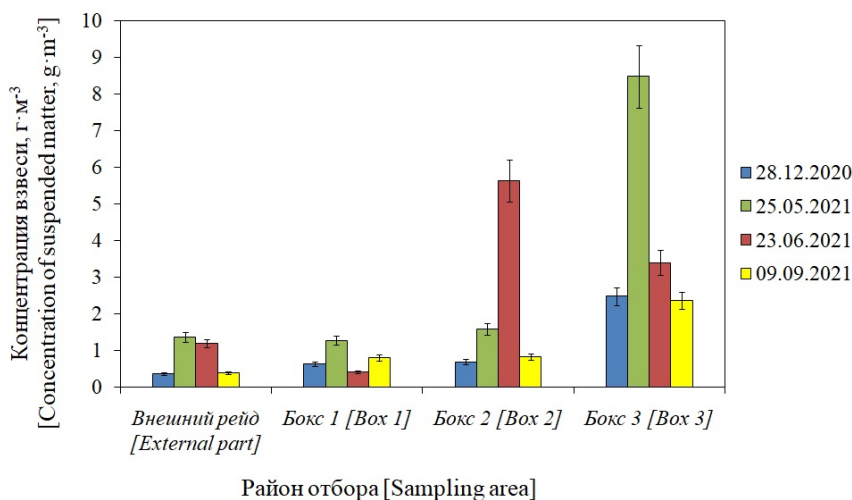


Рис. 3. Концентрация взвешенного вещества в поверхностном слое вод на внешнем рейде и в боксах Севастопольской бухты в различные сезоны года
[Fig. 3. Concentration of suspended matter in the surface water in the external part and boxes of Sevastopol Bay in different seasons of the year]

Данные по определению удельной активности $^{239+240}\text{Pu}$ во взвешенном веществе представлены на рис. 4, а. Пробы для количественной оценки концентрации взвешенного вещества в воде в данной части акватории проводились синхронно в день отбора проб для определения удельной активности радиоизотопов плутония и представлены на рис. 4, б.

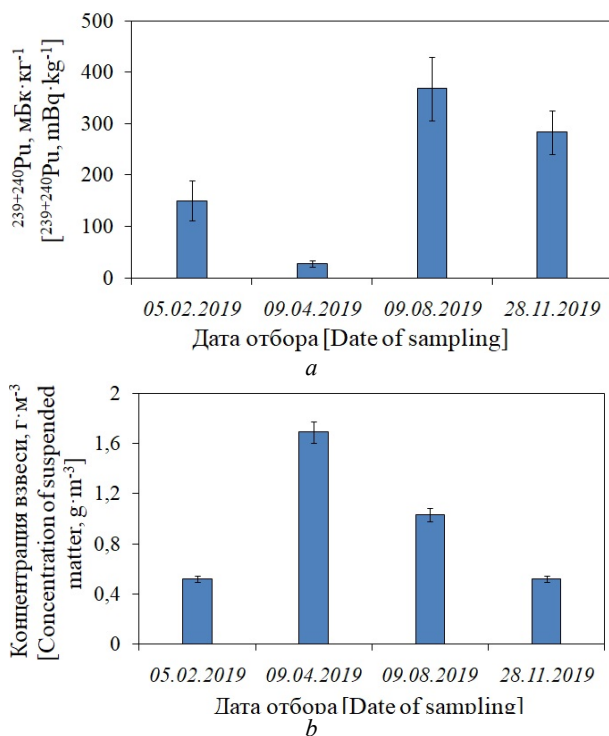


Рис. 4. Удельная активность $^{239+240}\text{Pu}$ во взвешенном веществе (а) и концентрация взвешенного вещества (b) в воде на внешнем рейде Севастопольской бухты в разные сезоны года
[Fig. 4. Activity concentration of $^{239+240}\text{Pu}$ in suspended matter (a) and concentration of suspended matter (b) in water in the external part of Sevastopol Bay in different seasons of the year]

Полученные результаты свидетельствуют об относительно высоком содержании $^{239+240}\text{Pu}$ во взвешенном веществе в изучаемой части акватории. Порядок величин удельной активности $^{239+240}\text{Pu}$ во взвешенном веществе аналогичен ранее полученным таковым величинам для 0–5 см слоя донных отложений в Севастопольской бухте [21].

Наибольшие уровни удельной активности $^{239+240}\text{Pu}$ среди исследованных видов гидробионтов определены в мидиях *M. galloprovincialis* (см. рис. 2). Монотонной зависимости уровней удельной активности от размера особей не выявлено. Среднее значение удельной активности $^{239+240}\text{Pu}$ было выше у самок ($6,4 \pm 1,5 \text{ MBq} \cdot \text{kg}^{-1}$), чем у самцов ($3,7 \pm 1,4 \text{ MBq} \cdot \text{kg}^{-1}$).

Полученные данные об уровнях удельной активности $^{239+240}\text{Pu}$ в воде, взвешенном веществе и гидробионтах Севастопольской бухты позволили оценить их аккумуляционную способность в отношении плутония (рис. 5). Наибольшие значения коэффициентов накопления характерны для взвешенного вещества, что еще раз подтверждает высокую сорбционную ак-

тивность радиоизотопов плутония в черноморских экосистемах. Многие морские организмы поглощают взвешенное вещество в процессе питания, например рыбы или моллюски-фильтраторы, такие как *M. galloprovincialis*. В результате происходит усиление потока $^{239+240}\text{Pu}$ по трофическим цепям и его накопление обитателями бухты до уровней концентраций, значительно превышающих таковые в воде.

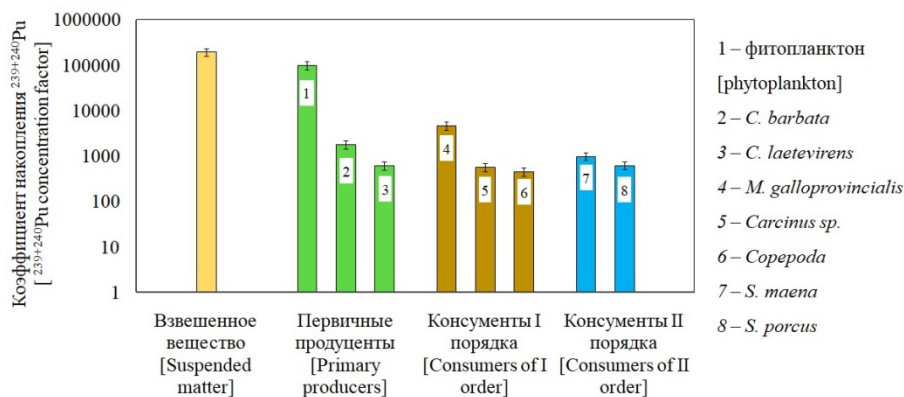


Рис. 5. Величина аккумулирующей способности в отношении плутония для представителей разных звеньев трофической цепи и взвешенного вещества из Севастопольской бухты

[Fig. 5. The value of accumulation ability in relation to plutonium for representatives of different trophic chain links and suspended matter from Sevastopol Bay]

Самые высокие коэффициенты накопления $^{239+240}\text{Pu}$ ($n \cdot 10^5$) среди гидробионтов характерны для фитопланктона, относящегося к трофическому звену первичных продуцентов. Для макробионтов в Севастопольской бухте наибольшая аккумулирующая способность в отношении радиоизотопов плутония с коэффициентом накопления $\sim n \cdot 10^3$ определена у представителей разных звеньев трофической цепи: для первичных продуцентов – у многолетних многоклеточных бурых водорослей *C. barbata*; для консументов I порядка – у двусторчатых моллюсков *M. galloprovincialis* и для консументов II порядка – у пелагических хищных рыб *S. maena* (рис. 5).

Полученные величины коэффициентов накопления $^{239+240}\text{Pu}$ в целом согласуются с обобщенными величинами K_H , приведенными в международных базах данных МАГАТЭ и отечественных рекомендательных документах: 4 000 для макроводорослей, 3 000 для моллюсков и 100 для рыб [17, 28, 44]. Однако отмечены региональные особенности в аккумулирующей способности гидробионтов Севастопольской бухты в отношении плутония. Так, для многолетних бурых водорослей *C. barbata* усредненная величина K_H $^{239+240}\text{Pu}$ в 2,3 раза меньше, а для однолетних зеленых водорослей *C. laetevirens* – в 6,5 раза меньше обобщенной величины, приведенной в отечественных и международных документах. Также значительные отличия определены для рыб. K_H $^{239+240}\text{Pu}$ для *S. maena* и *S. porcus* были выше обобщенных величин в 10 и 6,3 раза соответственно.

Ранее было показано, что в Черном море мидии, отобранные с донных субстратов, обладают значительной концентрирующей способностью в отношении плутония, но коэффициенты накопления $^{239+240}\text{Pu}$ для них были на порядок величин меньше ($n \cdot 10^2$) [45], чем полученные нами величины ($n \cdot 10^3$). Наше исследование показало, что для мидий, которые обитают в толще воды (мидии были отобраны с коллекторов), аккумуляционная способность двустворчатых моллюсков несколько выше, чем у моллюсков, обитающих на донных субстратах, что, вероятно, связано с различиями в образе жизни и условий питания моллюсков. Так, было установлено, что скорости биологических процессов у мидий, обитающих в толще воды, значительно выше, чем у особей, живущих на грунте [46]. Это связано с равномерным распределением мидий на коллекторах в толще воды, где каждая особь моллюска лучше омывается водой и лучше обеспечивается пищей, в результате чего наблюдали более высокие показатели жизненных процессов, что и может приводить к усиленной аккумуляции из водной среды веществ, включая радиоизотопы плутония.

Остальные группы гидробионтов, такие как однолетние многоклеточные зеленые водоросли, копеподы, крабы и придонные рыбы, характеризуются сравнительно более низкой аккумуляционной способностью в отношении радионуклидов плутония, но в целом достаточно значимой, так как их коэффициенты накопления плутония составили величины порядка $n \cdot 10^2$. Хотя плутоний не является биологически активным элементом, как показали исследования, его накопление гидробионтами характеризуется значительными величинами коэффициентов накопления, и в мелководных прибрежных акваториях при высокой численности и биомассе биотические компоненты могут оказывать существенное влияние на самоочищение вод от плутония.

Стоит отметить, что в Севастопольской бухте наибольшие значения величин удельной активности $^{239+240}\text{Pu}$ ранее были определены в донных осадках ее устьевой части, составив $1,02 \pm 0,06 \text{ Бк} \cdot \text{кг}^{-1}$ в поверхностном 0–1 см слое и достигая $3,70 \pm 0,16 \text{ Бк} \cdot \text{кг}^{-1}$ в слое 10–11 см [47]. В целом, вертикальное распределение $^{239+240}\text{Pu}$ в донных осадках данного района бухты наблюдалось до глубины 20 см [47]. Однако данный факт не оказывает влияния на аккумуляционную способность в отношении плутония для гидробионтов, ведущих придонный образ жизни или даже частично зарывающихся в грунт, как это характерно, например, для рыб *S. porcus*, так как пробег альфа-частиц и в воде, и в биологической ткани составляет доли миллиметров [48].

Степень воздействия радиоактивных изотопов на биоту определяется величиной дозовой нагрузки на гидробионты, которую создает ионизирующее излучение, испускаемое радиоизотопами. Поэтому для оценки воздействия радиоизотопов на биоту необходимо определение мощности дозы (с учетом коэффициента качества ионизирующего излучения $W_R = 20$) от радиоизотопов плутония для гидробионтов. В таблице приведены расчеты мощностей доз от внешнего и внутреннего облучения, создаваемые радио-

изотопами $^{239+240}\text{Pu}$ для референтных групп морских организмов бухты. Расчеты выполнялись с помощью программного комплекса ERICA Assessment Tool 2.0. Это позволило выполнить оценку дозовых нагрузок не только для исследованных групп гидробионтов, но также для фитопланктона, водоплавающих птиц и млекопитающих. Данные для этих групп морских организмов берутся программным комплексом из открытой международной базы данных по радиационным эффектам FREDERICA [43]. В нее входят материалы исследований по радиационным эффектам на флору и фауну в районах, загрязненных естественными и антропогенными радионуклидами, а также данные экспериментальных работ. При этом в расчетные формулы программы ERICA входят коэффициенты накопления радионуклидов гидробионтами и донными отложениями, а также факторы дозовой конверсии, учитывающие особенности как внутреннего облучения организма, так и внешнего облучения от радионуклидов, находящихся в воде и донных отложениях [43]. Возможное поглощение гидробионтами частиц донного осадка в процессе питания также учитывается при расчете дозовых нагрузок в программном комплексе ERICA [43].

Стоит отметить, что в соответствии с документами международной комиссии по радиационной защите и отечественными рекомендательными документами в качестве границ допустимого радиационного воздействия на объекты биоты принимаются следующие значения мощности поглощенной дозы: $1 \text{ мГр} \cdot \text{сут}^{-1}$ для млекопитающих и позвоночных животных, $10 \text{ мГр} \cdot \text{сут}^{-1}$ – для растений и беспозвоночных животных. При этом с учетом возможной неопределенности в оценках дозовых нагрузок рекомендуется использовать коэффициент запаса 10 при проведении оценки радиационного воздействия на объекты биоты, т.е. использовать в качестве пороговых критериев величины $0,1$ и $1 \text{ мГр} \cdot \text{сут}^{-1}$ [17, 27, 28].

Результаты нашего исследования (см. таблицу) показали, что такие уровни мощности дозы в гидробионтах Севастопольской бухты не достигаются. Установлено, что при современных уровнях величин удельной активности $^{239+240}\text{Pu}$ в воде и донных отложениях Севастопольской бухты дозовые нагрузки от внешнего облучения на 5–10 порядков величин меньше, чем от внутреннего облучения. В связи с этим при исследованиях процессов аккумуляции радионуклидов плутония важно учитывать лишь внутреннее облучение от инкорпорированных в организмах радиоизотопов (см. таблицу).

Наибольшие величины мощности дозы от внутреннего облучения определены для фитопланктона и моллюсков. Очевидно, это обусловливается тем, что эти группы морских организмов обладают наибольшей аккумуляционной способностью в отношении $^{239+240}\text{Pu}$ наряду с многолетними бурыми водорослями и пелагическими хищными рыбами. Поэтому можно заключить, что по дозовому критерию критическими звеньями в трофических цепях в Севастопольской бухте являются представители фитопланктона, двустворчатых моллюсков, многолетних бурых водорослей и пелагических хищных рыб, так как они в наибольшей степени накапливают радиоизотопы плутония. При этом планктонные организмы имеют короткий

жизненный цикл, они изымают плутоний из водной морской среды, но не служат долговременным депо радиоизотопов. Они служат вторичным источником их поступления в другие компоненты экосистемы, как биотические (в виде корма для разных таксономических групп гидробионтов), так и абиотические (в виде отмерших особей и их остатков, составляющих биогенную взвесь, являющуюся одним из компонентов осадочного вещества, формирующего донные отложения). В свою очередь, многолетние бурые водоросли, двусторчатые моллюски и рыбы могут на продолжительные отрезки времени изымать плутоний из водной толщи, являясь его долговременным многолетним биогенным депо.

Дозовые нагрузки, создаваемые ионизирующим излучением $^{239+240}\text{Pu}$, для референтных групп гидробионтов в Севастопольской бухте: суммарная мощность дозы приведена с точностью до тысячной доли
[Dose loads from $^{239+240}\text{Pu}$ ionizing radiation for reference groups of hydrobionts in Sevastopol Bay: the total dose rate is given to the nearest thousandth]

Референтная группа гидробионтов [Reference group of hydrobionts]	Мощность дозы, мГр·сут ⁻¹ [Dose rate, mGy·day ⁻¹]		
	От внешнего облучения [external exposure]	От внутреннего облучения [internal exposure]	Суммарная [total]
Фитопланктон [Phytoplankton]	$7,36 \cdot 10^{-14}$	$7,25 \cdot 10^{-4}$	$7,250 \cdot 10^{-4}$
Зоопланктон [Zooplankton]	$6,03 \cdot 10^{-14}$	$2,15 \cdot 10^{-6}$	$2,150 \cdot 10^{-6}$
Бурые макроводоросли [Brown macroalgae]	$1,88 \cdot 10^{-9}$	$6,47 \cdot 10^{-6}$	$6,472 \cdot 10^{-6}$
Моллюски [Mollusks]	$1,76 \cdot 10^{-9}$	$1,51 \cdot 10^{-5}$	$1,510 \cdot 10^{-5}$
Рыба пелагическая [Pelagic fish]	$1,37 \cdot 10^{-14}$	$3,22 \cdot 10^{-6}$	$3,220 \cdot 10^{-6}$
Рыба бентосная [Benthic fish]	$8,45 \cdot 10^{-10}$	$2,81 \cdot 10^{-6}$	$2,811 \cdot 10^{-6}$
Ракообразные [Crustaceans]	$7,06 \cdot 10^{-10}$	$2,90 \cdot 10^{-6}$	$2,901 \cdot 10^{-6}$
Водоплавающие птицы [Water birds]	$1,05 \cdot 10^{-14}$	$2,51 \cdot 10^{-6}$	$2,510 \cdot 10^{-6}$
Млекопитающие [Mammals]	$2,44 \cdot 10^{-15}$	$7,34 \cdot 10^{-6}$	$7,340 \cdot 10^{-6}$

Очевидно, что современная реальная радиозэкологическая ситуация в прибрежных черноморских акваториях не представляет опасности для морской биоты. Однако несомненна важность таких исследований в научно-методическом плане, так как развитие и распространение атомных технологий, возможные аварии и террористические угрозы могут поставить нас перед необходимостью срочной оценки ситуации и принятия экстренных мер по ее ограничению и устранению последствий. Поэтому наработка параметров и критериев для оценки радиозэкологической ситуации и воздействия радиоизотопов на биоту будут фундаментальной научной основой решения таких проблем, а также для установления и контроля над регламентом функционирования атомных технологий, обеспечивающих защищенность водной биоты при хроническом воздействии.

Заключение

Выполнена оценка аккумулирующей способности морских организмов в прибрежной акватории в отношении плутония на основе определения

современных уровней величин удельной активности антропогенных радиоизотопов $^{239+240}\text{Pu}$ в воде, взвешенном веществе и референтных видах гидробионтов Севастопольской бухты, а также выявлена их возможная роль в самоочищении вод морских экосистем.

Установлено, что для двустворчатых моллюсков *M. galloprovincialis*, многолетних бурых водорослей *C. barbata* и пелагических хищных рыб *S. taena* характерны коэффициенты накопления порядка величин $n \cdot 10^3$, в результате чего данные виды в наибольшей степени усиливают биогенный поток плутония из водной толщи бухты. В свою очередь, это способствует самоочищению вод бухты от техногенных радиоизотопов плутония и усиленному поступлению $^{239+240}\text{Pu}$ в вышестоящие звенья пищевой цепи.

Показано, что взвешенное вещество обладает повышенной аккумуляционной способностью ($K_n = n \cdot 10^5$) в отношении плутония и благодаря этому играет важную роль в перераспределении его радиоизотопов из водной толщи в донные отложения в процессе седиментации взвеси на дно водоема, тем самым реализуя один из механизмов самоочистительной способности вод в отношении $^{239+240}\text{Pu}$ в прибрежных морских экосистемах.

Определены радиозэкологические параметры перераспределения $^{239+240}\text{Pu}$ в прибрежной морской акватории на примере Севастопольской бухты для взвешенного вещества и гидробионтов – представителей референтных групп морской биоты для оценки экологической ситуации по дозовому критерию. Выполнена количественная оценка дозовых нагрузок, создаваемых альфа-излучением $^{239+240}\text{Pu}$, для морских организмов Севастопольской бухты. Полученные результаты свидетельствуют о том, что критическими группами организмов по дозовым нагрузкам являются представители фитопланктона и многолетних бурых водорослей в звене первичных продуцентов, двустворчатые моллюски – в звене консументов первого порядка, пелагические хищные рыбы – в звене консументов второго порядка.

Следует отметить, что процессы перераспределения плутония в бухте приводят к его депонированию в донных отложениях и многолетних биотических компонентах бухты, но не удаляются из экосистемы, и при определенных условиях (например, сильных штормах) эти компоненты могут служить вторичным источником загрязнения вод бухты.

Список источников

1. Worldwide Marine Radioactivity Studies. Radionuclide Levels in Oceans and Seas. Vienna : IAEA, 2005. 287 p.
2. Радиозэкологический отклик Черного моря на Чернобыльскую аварию / под ред. Г.Г. Поликарпова, В.Н. Егорова. Севастополь : ЭКОСИГидрофизика, 2008. 667 с.
3. Пути миграции искусственных радионуклидов в окружающей среде: Радиозэкология после Чернобыля / под ред. Ф. Уорнера и Р. Харрисона ; пер. с англ. Д.В. Гринчука и др. М. : Мир, 1999. 511 с.
4. Santschi P.H., Honeyman B.D. Radionuclides in aquatic environments // International Journal of Radiation Applications and Instrumentation. Part C. Radiation Physics and Chemistry. 1989. Vol. 34, № 2. PP. 213–240. doi: 10.1016/1359-0197(89)90231-2

5. Терещенко Н.Н. Плутоний в гидробионтах Черного моря // Наукові праці. Техногенна безпека. 2013. Вип. 198, т. 210. С. 52–60.
6. СанПиН 2.6.1.2523-09 Нормы радиационной безопасности (НРБ-99/2009).
7. Fowler S., Heyraud M., Beastley T.M. Experimental Studies on Plutonium Kinetics in Marine Biota // Impacts of Nuclear Releases into the Aquatic Environment. Vienna, 1975. 157 p.
8. Thompson M.A. Plutonium in the aquatic environment around the Rocky Flats facility // Impacts of Nuclear Releases into the Aquatic Environment. Vienna, 1975. 157 p.
9. Hetheington J.A., Jefferies D.F., Lovett M.B. Some investigations into the behavior of plutonium in the marine environment // Impacts of Nuclear Releases into the Aquatic Environment. Vienna. 1975. 157 p.
10. Hamilton T.F., Martinelli R.E., Kehl S.R., McAninch J.E. The plutonium isotopic composition of marine biota on Enewetak Atoll: a preliminary assessment // Journal of Environmental Monitoring. 2008. Vol. 10. P. 1134. doi: 10.1039/B806077K
11. Voigt G.M., Semiochkina N., Dodd B., Howard B.J., Karabalin B., Mukuschewa M., Rosner G., Sanchez A., Sinleton D.L., Strand R. The present radiological situation at the nuclear weapons test site at Semipalatinsk in Kazakhstan with regard to plutonium contamination // Radioactivity in the Environment. 2001. Vol. 1. PP. 363–373. doi: 10.1016/S1569-4860(01)80024-3
12. Johansen M.P., Anderson D., Child D., Hotchkis M.A., Tsukada H., Okuda K., Hinton T.G. Differentiating Fukushima and Nagasaki plutonium from global fallout using $^{241}\text{Pu}/^{239}\text{Pu}$ atom ratios: Pu vs. Cs uptake and dose to biota // Science of The Total Environment. 2021. Vol. 754. P. 141890. doi: 10.1016/j.scitotenv.2020.141890
13. Кузьменкова Н.В., Власова И.Э., Рожкова А.К., Романчук А.Ю., Петров В.Г., Калмыков С.Н., Осипов Д.И., Пряхин Д.А., Плямина О.В., Грачев В.А., Алексин А.И., Мокров Ю.Г. Распределение радионуклидов между биотическими и абиотическими компонентами радиоактивно-загрязнённых водоёмов В-17 и В-4 // Вопросы радиационной безопасности. 2017. Т. 1. С. 54–66.
14. Rozhkova A.K., Kuzmenkova N.V., Pryakhin E.A., Mokrov Y.G., Kalmykov S.N. Artificial radionuclides association with bottom sediment components from Mayak Production Association industrial reservoirs // Journal of Environmental Radioactivity. 2021. Vol. 232. PP. 106569. doi: 10.1016/j.jenvrad.2021.106569
15. Rissanen K., Ikaeheimonen T.K., Matishov D.G., Matishov G.G. Radioactive cesium, cobalt and plutonium in biota, algae and sediments in the nonrestricted areas of the Russian Arctic Seas // International Atomic Energy Agency. 1999. № IAEA-TECDOC-1094. P. 12.
16. ICRP – International Commission on Radiological Protection. Publication 103. Annals ICRP 37(2–4). Amsterdam : Elsevier, 2007. 264 p.
17. П52.18.820-2015 «Оценка радиационно-экологического воздействия на объекты природной среды по данным мониторинга радиационной обстановки» / Министерство природных ресурсов и экологии Российской Федерации, Роскомгидромет. Обнинск, 2015. 65 с.
18. Sazykina T.G., Kryshev A.I. Lower thresholds for lifetime health effects in mammals from high-LET radiation –Comparison with chronic low-LET radiation // Journal of Environmental Radioactivity. 2016. Vol. 165. PP. 227–242. doi: 10.1016/j.jenvrad.2016.10.013
19. Hirose K. Plutonium in the ocean environment: its distributions and behavior // Journal of Nuclear and Radiochemical Sciences. 2009. Vol. 10, № 1. PP. 1_R7-1_R16. doi: 10.14494/jnrs.10.1_R7
20. Терещенко Н.Н. Влияние трофности морских вод на миграцию и депонирование техногенных радионуклидов плутония // Журнал Сибирского федерального университета. Биология. 2017. Т. 10, № 1. С. 20–34. doi: 10.17516/1997-1389-0005
21. Егоров В.Н., Гулин С.Б., Малахова Л.В., Мирзоева Н.Ю., Поповичев В.Н., Терещенко Н.Н., Лазоренко Г.Е., Плотицына О.В., Малахова Т.В., Проскурнин В.Ю.,

- Сидоров И.Г., Стецюк А.П., Гулина Л.В., Марченко Ю.Г. Биогеохимические характеристики седиментационного самоочищения Севастопольской бухты от радионуклидов, ртути и хлорорганических загрязнителей // Морской биологический журнал. 2018. Т. 3, № 2. С. 40–52. doi: 10.21072/mbj.2018.03.2.03
22. Tereshchenko N.N., Gulin S.B., Proskurnin V.Yu. Distribution and migration of ²³⁹⁺²⁴⁰Pu in abiotic components of the Black Sea ecosystems during the post-Chernobyl period // Journal of Environmental Radioactivity. 2018. Vol. 188. PP. 67–78. doi: 10.1016/j.jenvrad.2017.10.002
23. Костова С.К., Егоров В.Н., Поповичев В.Н. Многолетние исследования загрязнения ртутью Севастопольских бухт (Чёрное море) // Экология моря. 2001. Вып. 56. С. 99–103.
24. Малахова Л.В. Распределение полихлорированных бифенилов в поверхностном слое донных осадков Севастопольской бухты (Чёрное море) // Экологическая безопасность прибрежной и шельфовой зон и комплексное использование ресурсов шельфа. 2005. Вып. 12. С. 268–272.
25. Орехова Н.А., Вареник А.В. Современный гидрохимический режим Севастопольской бухты // Морской гидрофизический журнал. 2018. Т. 34, № 2. С. 134–146. doi: 10.22449/0233-7584-2018-2-134-146
26. Иванов В.А., Овсяный Е.И., Репетин Л.Н., Романов А.С., Игнатъева О.Г. Гидролого-гидрохимический режим Севастопольской бухты и его изменения под воздействием климатических и антропогенных факторов. Севастополь : МГИ НАН Украины, 2006. 90 с.
27. ICRP – International Commission on Radiological Protection. Publication 108. Environmental Protection: the Concept and Use of Reference Animals and Plants // Annals of the ICRP. 2009. 251 p.
28. ICRP – International Commission on Radiological Protection. Publication 114. Environmental Protection: Transfer Parameters for Reference Animals and Plants // Annals of the ICRP. 2009. 111 p.
29. Современное состояние биоразнообразия прибрежных вод Крыма (Черноморский сектор) / под ред. В.Н. Еремеева, А.В. Гаевской. Севастополь : ЭКОСИ-Гидрофизика, 2003. 511 с.
30. Промысловые биоресурсы Черного и Азовского морей / под ред. В.Н. Еремеева, А.В. Гаевской, Г.Е. Шульмана, Ю.А. Загородной. Севастополь : ЭКОСИ-Гидрофизика, 2011. 367 с.
31. Скуратовская Е.Н., Дорошенко Ю.В., Алёмова А.С., Ковалева М.А. Биоиндикационная оценка экологического состояния прибрежных акваторий г. Севастополя // Актуальные вопросы биологической физики и химии. 2020. Т. 5, № 3. С. 517–523.
32. Трощенко О.А., Субботин А.А., Еремин И.Ю. Изменчивость основных лимитирующих факторов среды в процессе выращивания двусторчатых моллюсков на ферме в районе Севастополя // Ученые записки Крымского федерального университета им. В.И. Вернадского. География. Геология. 2019. Т. 5, № 2. С. 308–321.
33. Chelyadina N., Pospelova N., Popov M. Effects of environmental factors on changing sex structure of cultivated mussels (*Mytilus galloprovincialis*, Lamarck, 1819) in the coastal zone of the Black Sea // International Review of Hydrobiology. 2021. Vol. 106, № 3–4. PP. 183–190. doi: 10.1002/iroh.202002050
34. Малахова Л.В., Скуратовская Е.Н., Малахова Т.В., Болтачев А.Р., Лобко В.В. Хлорорганические соединения в ерше *Scorpaena porcus* Linnaeus, 1785 в акватории Севастополя (Черное море): пространственное распределение и биологический отклик на уровень накопления загрязнителей // Морской биологический журнал. 2018. Т. 3, № 4. С. 51–63. doi: 10.21072/mbj.2018.03.4.06
35. Merino J., Sanchez-Cabeza J., Pujol L., Leonard K., McCubbin D. Plutonium activity ratios in plankton: new evidence of hold-up time in Irish Sea sediments // Journal of Radioanalytical and Nuclear Chemistry. 2000. Vol. 243, № 2. PP. 517–524. doi: 10.1023/a:1016067206948

36. Sanchez-Cabeza J.A., Merino J., Masqué P., Mitchell P.I., Vintró L.L., Schell W.R., Cross L., Calbet A. Concentrations of plutonium and americium in plankton from the western Mediterranean Sea // *Science of the Total Environment*. 2003. Vol. 311, № 1–3. PP. 233–245. doi: 10.1016/S0048-9697(03)00053-6
37. Wilson R.C., Watts S.J., i Batlle J.V., McDonald P. Laboratory and field studies of polonium and plutonium in marine plankton // *Journal of Environmental Radioactivity*. 2009. Vol. 100, № 8. PP. 665–669. doi: 10.1016/j.jenvrad.2009.05.007
38. Методика измерений активности плутония-239, 240, 238 в пробах окружающей среды с радиохимическим концентрированием в ФГБУ НПО «Тайфун». 2015. 25 с.
39. ISO 11929:2010 Determination of the characteristic limits (decision threshold, detection limit and limits of the coverage interval) for measurements of ionizing radiation // *Fundamentals and application*. 2019. 68 p.
40. Поликарпов Г.Г. Радиоэкология морских организмов. М. : Атомиздат, 1964. 295 с.
41. Трапезников А.В. ^{60}Co , ^{90}Sr , ^{137}Cs и $^{239,240}\text{Pu}$ в пресноводных экосистемах. М. : Обракадемнаука, 2010. 510 с.
42. Финенко Г.А., Романова З.А., Аболмасова Г.И., Дацк Н.А., Аннинский Б.Е. *Mnemiopsis leidyi*: скорость питания гребневиков в море и пищевой пресс популяции на кормовой зоопланктон // *Морской экологический журнал*. 2010. Т. 9, № 1. С. 73–83.
43. Brown J.E., Alfonso B., Avila R., Beresford N.A., Copplestone D., Hosseini A. A new version of the ERICA tool to facilitate impact assessments of radioactivity on wild plants and animals // *Journal of Environmental Radioactivity*. 2016. Vol. 153. PP. 141–148. doi: 10.1016/j.jenvrad.2015.12.011
44. IAEA – International Atomic Energy Agency. Sediment K_d s and Concentration Factors for Radionuclides for Biota in the Marine Environment // *Technical Reports Series No. 247*. Vienna, 1985. 73 p.
45. Tereshchenko N.N., Mirzoeva N.Yu., Gulín S.B., Milchakova N.A. Contemporary radioecological state of the North-Western Black Sea and the problems of environment conservation // *Marine Pollution Bulletin*. 2014. Vol. 81, № 1. PP. 7–23. doi: 10.1016/j.marpolbul.2014.01.003
46. Супрунович А.В., Макаров Ю.Н. Культивируемые беспозвоночные. Пищевые беспозвоночные: мидии, устрицы, гребешки, раки, креветки / отв. ред. В.Н. Золотарев. Киев : Наук. думка, 1990. 264 с.
47. Paraskiv A.A., Tereshchenko N.N., Proskurnin V.Yu., Chuzhikova-Proskurnina O.D. Change in plutonium sedimentation fluxes into the bottom sediments of the Sevastopol Bay before and after the Chernobyl NPP accident // *Marine Biological Journal*. 2021. Vol. 6, № 2. PP. 69–82. doi: 10.21072/mbj.2021.06.2.05
48. The Chemistry of the Actinide and Transactinide Elements / ed. by L.R. Morss, N.M. Edelstein, J. Fuger. Springer, 2010. 4520 p.

References

1. Worldwide Marine Radioactivity Studies. Radionuclide Levels in Oceans and Seas. Vienna: IAEA, 2005. 287 p.
2. Radioekologicheskij otklik Chernogo morja na Chernobyl'skuju avariju [Radioecological response of the Black Sea to the Chernobyl accident]. Polikarpov GG, Egorov VN, editors. Sevastopol: EKOSIGidrofizika Publ.; 2008. 667 p. In Russian.
3. Radioecology after Chernobyl: Biogeochemical Pathways of Artificial Radionuclides. Grinchuk DV et al., translated from English; Warner F, Harrison M, editors. Moscow: Mir Publ.; 1999. 511 p. In Russian.
4. Santschi PH, Honeyman BD. Radionuclides in aquatic environments. *International Journal of Radiation Applications and Instrumentation. Part C. Radiation Physics and Chemistry*. 1989;34(2):213-240. doi: 10.1016/1359-0197(89)90231-2
5. Tereshchenko NN. Plutoniý v gidrobiontakh Chernogo morya [Plutonium in the hydrobionts of the Black Sea]. *Naukovi pratsi. Tekhnogenna bezpeka*. 2013;198(210):52-60. In Russian.

6. SanPiN 2.6.1.2523-09 Normy radiatsionnoy bezopasnosti [Radiation safety standards] (NRB-99/2009).
7. Fowler S, Heyraud M, Beastley TM. Experimental Studies on Plutonium Kinetics in Marine Biota. Impacts of Nuclear Releases into the Aquatic Environment. IAEA, Vienna. 1975. 157 p.
8. Thompson MA. Plutonium in the aquatic environment around the Rocky Flats facility. Impacts of Nuclear Releases into the Aquatic Environment. IAEA, Vienna. 1975. 157 p.
9. Hetheington JA, Jefferies DF, Lovett MB. Some investigations into the behavior of plutonium in the marine environment. Impacts of Nuclear Releases into the Aquatic Environment. IAEA, Vienna. 1975. 157 p.
10. Hamilton TF, Martinelli RE, Kehl SR, McAninch JE. The plutonium isotopic composition of marine biota on Enewetak Atoll: a preliminary assessment. *Journal of Environmental Monitoring*. 2008;10:1134. doi: 10.1039/B806077K
11. Voigt GM, Semiochkina N, Dodd B, Howard BJ, Karabalin B, Mukuschewa M, Rosner G, Sanchez A, Sinleton DL, Strand R. The present radiological situation at the nuclear weapons test site at Semipalatinsk in Kazakhstan with regard to plutonium contamination. *Radioactivity in the Environment*. 2001;1:363-373. doi: 10.1016/S1569-4860(01)80024-3
12. Johansen MP, Anderson D, Child D, Hotchkis MA, Tsukada H, Okuda K, Hinton TG. Differentiating Fukushima and Nagasaki plutonium from global fallout using $^{241}\text{Pu}/^{239}\text{Pu}$ atom ratios: Pu vs. Cs uptake and dose to biota. *Science of The Total Environment*. 2021;754:141890. doi: 10.1016/j.scitotenv.2020.141890
13. Kuzmenkova NV, Vlasova IE, Rozhkova AK, Romanchuk AY, Petrov VG, Kalmykov SN, Osipov DI, Pryakhin DA, Plyamina OV, Grachev VA, Aleksakhin AI, Mokrov YuG. Raspredelenie radionuklidov mezhdru bioticheskimi i abioticheskimi komponentami radioaktivno-zagryaznennykh vodoemov V-17 i V-4 [Distribution of radionuclides between biotic and abiotic components of radioactively contaminated reservoirs V-17 and V-4]. *Voprosy radiatsionnoy bezopasnosti*. 2017;1:54-66. In Russian.
14. Rozhkova A.K, Kuzmenkova NV, Pryakhin EA, Mokrov YG, Kalmykov SN. Artificial radionuclides association with bottom sediment components from Mayak Production Association industrial reservoirs. *Journal of Environmental Radioactivity*. 2021;232:106569. doi: 10.1016/j.jenvrad.2021.106569
15. Rissanen K, Ikaheimonen TK, Matishov DG, Matishov GG. Radioactive cesium, cobalt and plutonium in biota, algae and sediments in the nonrestricted areas of the Russian Arctic Seas. *International Atomic Energy Agency*. 1999. №. IAEA-TECDOC-1094. P. 12.
16. ICRP – International Commission on Radiological Protection. Publication 103. Annals ICRP 37(2-4), Elsevier, Amsterdam, 2007. 264 p.
17. R52.18.820-2015 Otsenka radiatsionno-ekologicheskogo vozdeystviya na ob'ekty prirodnoy sredy po dannym monitoringa radiatsionnoy obstanovki [Assessment of the radiation and environmental impact on the objects of the natural environment according to the monitoring of the radiation situation]. Ministerstvo prirodnykh resursov i ekologii Rossiyskoy Federatsii, Roskomgidromet, Obninsk, 2015. 65 p.
18. Sazykina TG, Kryshev AI. Lower thresholds for lifetime health effects in mammals from high-LET radiation - Comparison with chronic low-LET radiation. *Journal of Environmental Radioactivity*. 2016;165:227-242. doi: 10.1016/j.jenvrad.2016.10.013
19. Hirose K. Plutonium in the ocean environment: its distributions and behavior. *Journal of Nuclear and Radiochemical Sciences*. 2009;10(1):1_R7-1_R16. doi: 10.14494/jnrs.10.1_R7
20. Tereshchenko NN. Effect of sea water trophic level on migration and deposition of man-made plutonium radionuclides. *Zhurnal Sibirskogo federal'nogo universiteta. Biologiya – Journal of Siberian Federal University. Biology*. 2017;10(1):20-34. In Russian, English summary. doi: 10.17516/1997-1389-0005
21. Egorov VN, Gulin SB, Malakhova LV, Mirzoyeva NYu, Popovichev VN, Tereshchenko NN, Lazorenko GE, Plotitsyna OV, Malakhova TV, Proskurnin VYu, Sidorov IG, Stetsyuk AP, Gulina LV, Marchenko YuG. Biogeochemical characteristics of the Sevastopol Bay sedimentation self-purification from radionuclides, mercury and chlorogenic contam-

- inants. *Morskoy biologicheskiy zhurnal – Marine Biological Journal*. 2018;3(2):40-52. In Russian, English summary. doi: 10.21072/mbj.2018.03.2.03
22. Tereshchenko NN, Gulin SB, Proskurnin VYu. Distribution and migration of $^{239+240}\text{Pu}$ in abiotic components of the Black Sea ecosystems during the post-Chernobyl period. *Journal of Environmental Radioactivity*. 2018;188:67-78. doi: 10.1016/j.jenvrad.2017.10.002
23. Kostova SK, Egorov VN, Popovichev VN. Mnogoletnie issledovaniya zagryazneniya rtut'yu Sevastopol'skikh bukht (Chernoe more) [Long-term studies of mercury pollution in the Sevastopol bays (the Black Sea)]. *Ekologiya morya*. 2001;56: 99-103. In Russian.
24. Malakhova LV. Raspredelenie polikhlorirovannykh bifenilov v poverkhnostnom sloe donnykh osadkov Sevastopol'skoy bukhty (Chernoe more) [Distribution of polychlorinated biphenyls in the surface layer of the Sevastopol Bay bottom sediments (the Black Sea)]. *Ekologicheskaya bezopasnost' pribrezhnoy i shel'fovoy zon i kompleksnoe ispol'zovanie resursov shel'fa*. 2005;12:268-272. In Russian.
25. Orekhova NA, Varenik AV. Current hydrochemical regime of the Sevastopol Bay. *Morskoy gidrofizicheskiy zhurnal – Physical Oceanography*. 2018;32(2):134-146. In Russian, English summary. doi:10.22449/0233-7584-2018-2-134-146
26. Ivanov VA, Ovsyanyy EI, Repetin LN, Romanov AS, Ignat'eva OG. Gidrologo-gidrokhimicheskiy rezhim Sevastopol'skoy bukhty i ego izmeneniya pod vozdeystviem klimaticheskikh i antropogennykh faktorov [Hydrological and hydrochemical regime of the Sevastopol Bay and its changes under the influence of climatic and anthropogenic factors]. Sevastopol: Marine Hydrophysical Institute Publ.; 2006. 90 p. In Russian.
27. ICRP – International Commission on Radiological Protection. Publication 108. Environmental Protection: the Concept and Use of Reference Animals and Plants. Annals of the ICRP. 2009. 251 p.
28. ICRP – International Commission on Radiological Protection. Publication 114. Environmental Protection: Transfer Parameters for Reference Animals and Plants. Annals of the ICRP. 2009. 111 p.
29. Sovremennoe sostoyanie bioraznobraziya pribrezhnykh vod Kryma (Chernomorskiy sektor) [The current state of biodiversity of Crimea coastal waters (the Black Sea sector)]. Eremeev VN, Gaevskaya AV, editors. Sevastopol: EKOSI-Gidrofizika Publ.; 2003. 511 p. In Russian.
30. Promyslovye bioresursy Chernogo i Azovskogo morey [Commercial bioresources of the Black and Azov Seas]. Eremeev VN, Gaevskaya AV, Shulman GE, Zagorodnyaya YuA, editors. Sevastopol: EKOSI-Gidrofizika Publ.; 2011. 367 p.
31. Skuratovskaya EN, Doroshenko YuV, Alyomova AS, Kovaleva MA. Bioindication assessment of the ecological state of Sevastopol coastal waters. *Aktual'nye voprosy biologicheskoy fiziki i khimii – Russian Journal of Biological Physics and Chemistry*. 2020;5(3):517-523. In Russian, English summary.
32. Troshchenko OA, Subbotin AA, Eremin IYu. Izmenchivost' osnovnykh limitiruyushchikh faktorov sredi v protsesse vyrashchivaniya dvustvorchatykh mollyuskov na ferme v rayone Sevastopolya [Variability of main limiting environmental factors in the process of bivalve mollusk cultivation at the mussel farm in Sevastopol]. *Uchenye zapiski Krymskogo federal'nogo universiteta im. V. I. Vernadskogo. Geografiya. Geologiya*. 2019;5(2):308-321. In Russian.
33. Chelyadina N, Pospelova N, Popov M. Effects of environmental factors on changing sex structure of cultivated mussels (*Mytilus galloprovincialis*, Lamarck, 1819) in the coastal zone of the Black Sea. *International Review of Hydrobiology*. 2021;106(3-4): 183-190. doi: 10.1002/iroh.202002050
34. Malakhova LV, Skuratovskaya EN, Malakhova TV, Boltachev AR, Lobko VV. Organochlorine compounds in scorpion fish *Scorpaena porcus* Linnaeus, 1758 in the Sevastopol marine area (Black Sea): spatial distribution and biological response. *Morskoy biologicheskiy zhurnal – Marine Biological Journal*. 2018;3(4):51-63. In Russian, English summary. doi: 10.21072/mbj.2018.03.4.06

35. Merino J, Sanchez-Cabeza J, Pujol L, Leonard K, McCubbin D. Plutonium activity ratios in plankton: new evidence of hold-up time in Irish Sea sediments. *Journal of Radioanalytical and Nuclear Chemistry*. 2000;243(20):517-524. doi: 10.1023/a:1016067206948
36. Sanchez-Cabeza JA, Merino, J, Masqué P, Mitchell PI, Vintró LL, Schell WR, Cross L, Calbet A. Concentrations of plutonium and americium in plankton from the western Mediterranean Sea. *Science of the Total Environment*. 2003;311(1-3):233-245. doi: 10.1016/S0048-9697(03)00053-6
37. Wilson RC, Watts, SJ, i Batlle JV, McDonald, P. Laboratory and field studies of polonium and plutonium in marine plankton. *Journal of Environmental Radioactivity*. 2009;100(8):665-669. doi: 10.1016/j.jenvrad.2009.05.007
38. Metodika izmereniy aktivnosti plutoniya-239,240,238 v probakh okruzhayushchey sredy s radiohimicheskim kontsentrirovaniem v FGBU NPO "Typhoon" [Method for measuring the activity of plutonium-239,240,238 in environmental samples with radiochemical concentration at the FGBU NPO "Typhoon"]. 2015. 25 p.
39. ISO 11929:2010 Determination of the characteristic limits (decision threshold, detection limit and limits of the coverage interval) for measurements of ionizing radiation // Fundamentals and application. 2019. 68 p.
40. Polikarpov GG. Radioekologiya morskikh organizmov [Radioecology of marine organisms]. Moscow: Atomizdat Publ.; 1964. 295 p. In Russian.
41. Trapeznikov AV. ^{60}Co , ^{90}Sr , ^{137}Cs i $^{239,240}\text{Pu}$ v presnovodnykh ekosistemakh [^{60}Co , ^{90}Sr , ^{137}Cs and $^{239,240}\text{Pu}$ in the freshwater ecosystems]. Moscow: Obrakademnauka Publ.; 2010. 510 p. In Russian.
42. Finenko GA, Romanova ZA, Abolmasova GI, Datsyk NA, Anninskiy BE. *Mnemiopsis leidyi*: skorost' pitaniya grebnevikov v more i pishchevoy press populyatsii na kormovoy zooplankton [*Mnemiopsis leidyi*: ingestion rate of the ctenophores in the sea and predatory impact of the population on forage zooplankton]. *Morskoy ekologicheskiy zhurnal*. 2010;9(1):73-83. In Russian.
43. Brown JE, Alfonso B, Avila R, Beresford, NA, Copplestone D, Hosseini A. A new version of the ERICA tool to facilitate impact assessments of radioactivity on wild plants and animals. *Journal of Environmental Radioactivity*. 2016;153:141-148. doi: 10.1016/j.jenvrad.2015.12.011
44. IAEA – International Atomic Energy Agency. Sediment K_{ds} and Concentration Factors for Radionuclides for Biota in the Marine Environment. Technical Reports Series No. 247, Vienna. 1985. 73 p.
45. Tereshchenko NN, Mirzoeva NYu, Gulin SB, Milchakova NA. Contemporary radioecological state of the North-Western Black Sea and the problems of environment conservation. *Marine Pollution Bulletin*. 2014;81(1):7-23. doi: 10.1016/j.marpolbul.2014.01.003
46. Suprunovich AV, Makarov YuN. Kul'tiviruemye bespozvonochnye. Pishchevye bespozvonochnye: midii, ustritsy, grebeshki, raki, krevetki [Cultivated invertebrates. Food invertebrates: mussels, oysters, scallops, crayfish, shrimps]. Zolotarev VN, editor. Kiev: Naukova dumka Publ.; 1990. 264 p. In Russian.
47. Paraskiv AA, Tereshchenko NN, Proskurnin VYu, Chuzhikova-Proskurnina OD. Change in plutonium sedimentation fluxes into the bottom sediments of the Sevastopol Bay before and after the Chernobyl NPP accident. *Marine Biological Journal*. 2021;6(2):69-82. doi: 10.21072/mbj.2021.06.2.05
48. The Chemistry of the Actinide and Transactinide Elements. Morss LR, Edelstein NM, Fuger J, editors. Springer: 2010. 4520 p.

Информация об авторах:

Параскив Артем Алексеевич – м.н.с., аспирант отдела радиационной и химической биологии, ФИЦ Институт биологии южных морей им. А.О. Ковалевского РАН (Севастополь, Россия).

E-mail: paraskiv@ibss-ras.ru

Терещенко Наталия Николаевна – канд. биол. наук, вед.н.с. отдела радиационной и химической биологии, ФИЦ Институт биологии южных морей им. А.О. Ковалевского РАН (Севастополь, Россия).

E-mail: ntereshchenko@yandex.ru

Проскурнин Владислав Юрьевич – м.н.с. отдела радиационной и химической биологии, ФИЦ Институт биологии южных морей им. А.О. Ковалевского РАН (Севастополь, Россия).

E-mail: v_proskurnin@ibss-ras.ru

Чужикова-Проскурнина Ольга Дмитриевна – вед. инж. отдела радиационной и химической биологии, ФИЦ Институт биологии южных морей им. А.О. Ковалевского РАН (Севастополь, Россия).

E-mail: olga88.chp@ya.ru

Трапезников Александр Викторович – д-р биол. наук, заведующий филиалом «Биофизическая станция», ФГБУН Институт экологии растений и животных УрО РАН (Екатеринбург, Россия).

E-mail: vera_zar@mail.ru

Платаев Анатолий Петрович – ведущий инженер лаборатории общей радиоэкологии, ФГБУН Институт экологии растений и животных УрО РАН (Екатеринбург, Россия).

E-mail: ty1985@mail.ru

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Information about the authors:

Paraskiv Artem A., Junior Researcher, Post-Graduate Student, Department of Radiation and Chemical Biology, A.O. Kovalevsky Institute of Biology of the Southern Seas of RAS (Sevastopol, Russian Federation).

E-mail: paraskiv@ibss-ras.ru

Tereshchenko Nataliya N., Cand. Sci. (Biol.), Leading Researcher, Department of Radiation and Chemical Biology, A.O. Kovalevsky Institute of Biology of the Southern Seas of RAS (Sevastopol, Russian Federation).

E-mail: ntereshchenko@yandex.ru

Proskurnin Vladislav Yu., Junior Researcher, Department of Radiation and Chemical Biology, A.O. Kovalevsky Institute of Biology of the Southern Seas of RAS (Sevastopol, Russian Federation).

E-mail: v_proskurnin@ibss-ras.ru

Chuzhikova-Proskurnina Olga D., Leading Engineer, Department of Radiation and Chemical Biology, A.O. Kovalevsky Institute of Biology of the Southern Seas of RAS (Sevastopol, Russian Federation).

E-mail: olga88.chp@ya.ru

Trapeznikov Alexander V., Dr. Sci. (Biol.), Head of the “Biophysical Station” Branch, Institute of Plant and Animal Ecology Ural Branch of the Russian Academy of Sciences (Yekaterinburg, Russian Federation).

E-mail: vera_zar@mail.ru

Plataev Anatoliy P., Leading Engineer, General Radioecology Laboratory, , Institute of Plant and Animal Ecology Ural Branch of the Russian Academy of Sciences (Yekaterinburg, Russian Federation).

E-mail: ty1985@mail.ru

The Authors declare no conflict of interest.

*Статья поступила в редакцию 08.04.2022;
одобрена после рецензирования 19.12.2022; принята к публикации 29.12.2022.*

*The article was submitted 08.04.2022;
approved after reviewing 19.12.2022; accepted for publication 29.12.2022.*