

УДК 633.88+615.322+615.284+632.955

СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ ХИМИЧЕСКОГО СОСТАВА И НЕМАТОЦИДНОЙ АКТИВНОСТИ ЭКСТРАКТОВ БАРХАТЦЕВ *TAGETES PATULA* (L., 1753) В ЭКСПЕРИМЕНТАХ С ПОЧВЕННОЙ НЕМАТОДОЙ *CAENORHABDITIS ELEGANS* (MAUPAS, 1900)*

© Т.Б. Калинникова^{1**}, Д.А. Теренжев², Т.Г. Белов², А.Н. Меньшова², А.Ф. Гатиятуллина¹,
А.В. Егорова¹, Е.Н. Никитин²

¹ Институт проблем экологии и недропользования Академии наук
Республики Татарстан, ул. Даурская, 28, Казань, 420087, Россия,
tbkalinnikova@gmail.com

² Институт органической и физической химии им. А.Е. Арбузова ФИЦ
Казанский научный центр РАН, ул. Академика Арбузова, 8, Казань, 420088,
Россия

Фитопатогенные нематоды оказывают негативное влияние на продуктивность растениеводства. В настоящее время основным методом борьбы с этими вредителями является использование синтетических нематоцидов. Несмотря на высокую эффективность и удобство в применении синтетические нематоциды могут представлять опасность как для сельхозпроизводителей, так и для потребителей продукции растениеводства. Альтернативой использованию химических средств защиты растений может быть применение веществ природного происхождения, таких как экстракты растений. При использовании экстрактов растений для борьбы с вредителями сельского хозяйства следует иметь в виду, что биологическая активность экстрактов зависит не только от вида растений, но и от способа получения экстракта. В этой работе представлены данные о физико-химических свойствах и биологической активности экстрактов бархатцев *Tagetes patula* сорта Lemon Drop, полученных с использованием четырех экстрагентов различной полярности: этанола, хлороформа, *n*-гексана и метилтрет-бутилового эфира. Для каждого экстракта определяли pH, общее содержание каротиноидов, фенолов, флавонOIDов и тиофенов. Биологическую активность экстрактов изучали в экспериментах со свободноживущей почвенной нематодой *Caenorhabditis elegans*. Все экстракты оказывали дозозависимое токсическое действие на организмы *C. elegans*. Токсичность экстрактов в зависимости от растворителя убывала в ряду: хлороформ > этанол > *n*-гексан > метилтрет-бутиловый эфир. Выявленные различия нематоцидной активности экстрактов коррелируют с содержанием в них фенолов и каротиноидов.

Ключевые слова: нематоциды, экстракты *Tagetes patula*, этанол, хлороформ, *n*-гексан, метилтрет-бутиловый эфир, *Caenorhabditis elegans*.

Для цитирования: Калинникова Т.Б., Теренжев Д.А., Белов Т.Г., Меньшова А.Н., Гатиятуллина А.Ф., Егорова А.В., Никитин Е.Н. Сравнительный анализ химического состава и нематоцидной активности экстрактов бархатцев *Tagetes patula* (L., 1753) в экспериментах с почвенной нематодой *Caenorhabditis elegans* (Maupas, 1900) // Химия растительного сырья. 2025. №4. С. 204–215. <https://doi.org/10.14258/jcprm.20250415442>.

Введение

Большинство используемых в настоящее время систем земледелия подразумевает выращивание сельскохозяйственных культур на больших площадях. Помимо замещения естественного биоразнообразия флоры монокультурами растений это имеет и другие последствия. К наиболее значимым из них можно отнести истощение почвы и благоприятные условия для распространения болезней и вредителей растений. Использование растительного материала для улучшения свойств почвы и борьбы с болезнями растений в некоторых случаях может иметь преимущество перед использованием химических удобрений и синтетических пестицидов [1].

*Данная статья имеет электронный дополнительный материал (приложение), который доступен читателям на сайте журнала. DOI: 10.14258/jcprm.20250415442s

** Автор, с которым следует вести переписку.

Фитопаразитические нематоды представляют собой большую группу организмов, наносящих существенный ущерб растениеводству. Растения, пораженные фитопаразитическими нематодами, менее устойчивы к другим вредителям. Ежегодные потери урожая сельскохозяйственных культур из-за фитопаразитических нематод оцениваются в 157 млрд евро [1]. Большинство видов этих нематод обитают в почве или в корнях растений, и мишени действия пестицидов зачастую находятся на значительном расстоянии от места их применения. Тело нематод покрыто кутикулой, обладающей низкой проницаемостью для многих органических веществ. Поэтому большинство нематоцидов, применяемых для борьбы с фитопаразитическими нематодами, являются очень токсичными или летучими, а их действие на организмы почвенных беспозвоночных неспецифично. Побочными последствиями применения пестицидов для борьбы с почвенными нематодами могут быть загрязнение грунтовых вод и разрушение озонового слоя. Помимо химических методов борьбы с фитопаразитическими нематодами рекомендуется использовать устойчивые к ним сорта растений, ротацию культур и термическую обработку почвы [1, 2].

Применение высокотоксичных пестицидов для борьбы с почвенными фитопаразитическими нематодами нежелательно из-за их влияния на почвенную биоту. Помимо фитопаразитических нематод, таких как *Meloidogyne* spp., *Heterodera* spp., *Globodera* spp., *Pratylenchus* spp. и др., в почве обитают свободноживущие нематоды, которых нередко используют в качестве видов-биоиндикаторов состояния окружающей среды [1]. Многие нематоиды относятся к тем же химическим группам, что и инсектициды, и акарициды (например, фосфорогенные вещества и карбаматы), поэтому они очень токсичны для почвенных микроархаропод, в частности, клещей. Известны виды клещей, паразитирующих на нематодах *Meloidogyne* spp., *Tylenchulus semipenetrans* и некоторых других и существенно снижающих их численность [1]. Еще в середине XIX века в научной литературе появились сообщения о наличии в почве грибов, паразитирующих на нематодах. В настоящее время известно более 700 видов грибов нематофагов, которые повреждают не только подвижные формы нематод, но и яйца и цисты [3–5]. Применяемые для борьбы с нематодами пестициды могут уменьшить численность таких грибов в почве. Негативное влияние нематоцидов на почвенную микрофлору и микроархаропод может в значительной мере снизить эффективность их применения [1, 6].

Альтернативой синтетическим нематоидам могут стать фитохимические средства борьбы с нематодами. Высшие растения синтезируют вторичные метаболиты, многие из которых токсичны как для позвоночных, так и для беспозвоночных животных. Токсичные метаболиты являются одной из адаптаций растений, возникших в ходе эволюции, поскольку защищают их от вредителей и от поедания травоядными животными. Идентификация таких веществ и изучение спектра их биологической активности против беспозвоночных позволяет использовать эти вещества непосредственно в качестве пестицидов либо синтезировать производные этих веществ, обладающие более высокой эффективностью. Для получения веществ с нематоцидной активностью полезным оказалось изучение аллехохимических взаимодействий между растениями и фитопаразитическими нематодами [2].

Известно, что многие виды бархатцев *Tagetes* spp. не поражаются фитопаразитическими нематодами. Более того, бархатцы подавляют развитие нематод. Использование бархатцев в севообороте или для производства зеленых удобрений позволяет существенно снижать численность корневых нематод [2]. Исследованию химического состава бархатцев и их нематоцидной активности посвящено большое количество работ [1, 2, 6–13]. Основными вторичными метаболитами *Tagetes* spp., определяющими их нематоцидную активность, являются α -тертиенил и тиофен [7, 14–16].

α -тертиенил обладает нематоцидной, инсектицидной, фунгицидной и антивирусной активностью. Механизмом действия α -тертиенила является индукция окислительного стресса как за счет генерации реактивных форм кислорода, так и ингибирования супероксиддисмутазы. Это, в свою очередь, приводит к гибели клеток за счет повреждения клеточных мембран вследствие перекисного окисления липидов. Токсическое действие α -тертиенила усиливается при фотоактивации [7, 14].

Тиофены являются вторичными метаболитами многих растений семейства Asteraceae, таких как *Tagetes* spp., *Echinops* spp., *Artemisia* spp. и некоторых других. Тиофены обладают антимикробной, антивирусной, инсектицидной и нематоцидной активностью [15, 16]. Одно из производных тиофена – комбантрин – является действующим веществом таких препаратов, как Пирантел, Гельминтокс и Немоцид, применяемых для лечения различных гельминтозов у человека. Известно, что пирантел активирует никотиновые рецепторы ацетилхолина, вызывая гиперсокращение мышц. Такое гиперсокращение приводит к параличу нематод и их гибели [17].

Нематоцидную активность бархатцев, как правило, изучают в модельных экспериментах в полевых и лабораторных условиях. В этих экспериментах сравнивают численность фитопаразитических нематод в почве на опытном и контрольном участках. В полевых экспериментах на опытных участках наряду с традиционными сельскохозяйственными культурами высаживают бархатцы. В лабораторных экспериментах применяют полив почвы экстрактами, полученными из различных частей *Tagetes* spp. Результаты таких экспериментов сложно интерпретировать, поскольку в них не учитывается действие *Tagetes* spp. на культивируемые растения и влияние температуры среды на активность экстрактов. В этих экспериментах сложно контролировать изменения концентрации экстрактов во времени и их влияние на разные стадии жизненного цикла фитопаразитических нематод.

При изучении прямого действия экстрактов *Tagetes* spp. на организмы нематод в качестве модельного организма чаще всего используют нематоду *Meloidogyne incognita* на стадии развития J2 [1, 8]. Токсическое действие экстрактов *Tagetes* spp. оценивают по гибели нематод. Удобным модельным организмом для изучения нематоцидной активности различных веществ является свободноживущая почвенная нематода *Caenorhabditis elegans* [18, 19]. Преимуществами *C. elegans* как модельного организма являются простота выращивания в лаборатории, короткий жизненный цикл (при температуре 20–22 °C эти нематоды достигают половой зрелости за три дня), наличие большого количества потомков у одной особи (до 300). Общий план строения тела *C. elegans* сходен со строением тела паразитических нематод. Отсутствие у *C. elegans* циркуляторной и дыхательной системы позволяет изучать действие токсикантов непосредственно на нервную систему, состоящую всего из 302 нейронов. Нейрохимия *C. elegans* хорошо изучена, что позволяет проводить фармакологический анализ действия токсикантов [19, 20]. Целью работы являлось проведение сравнительного группового химического анализа экстрактов лепестков бархатцев отклоненных *Tagetes patula* сорта Lemon drop, полученных с использованием экстрагентов различной полярности и установление их нематоцидной активности в экспериментах с почвенной нематодой *C. elegans*.

Экспериментальная часть

В качестве сырья использовались лепестки бархатцев отклоненных *Tagetes patula* сорта Lemon Drop (рис. 1 и 2). Бархатцы выращены при соблюдении оптимальных параметров суточного цикла и температурного режима в условиях лабораторной теплицы: температурный режим – 23–25 °C днем и 16–18 °C ночью, влажность днем – 45–50% и ночью 55–60%, суточный цикл – дневная фаза 16 часов и ночная фаза 8 ч, полив растений осуществлялся каждые 3 дня, циркуляция воздуха (эффект слабого ветра) достигается за счет расположенных на разных уровнях приточно-вытяжных вентиляторов. Цветы имели диаметр 25–30 мм и среднюю массу 6–7 г.

Для последующей работы отбирались только полностью распустившиеся соцветия, у которых в качестве сырья были отобраны лепестки. Сырье предварительно замораживали в морозильной камере лиофильной сушилки (Biobase, BK-FD12P) при -75 °C в течение 3 ч. После этого у замороженных соцветий удаляли чашелистики. Лепестки подвергали лиофилизации при температуре -40 ± 5 °C и постоянном давлении 3 Па (0.03 мбар) в течение 15–17 ч до остаточной влажности 4.5%. Сырье хранили в герметичных ZIP-LOCK пакетах в темном месте.



Рис. 1. Бархатцы отклоненные *Tagetes patula* сорта Lemon Drop.



Рис. 2. Лепестки бархатцев отклоненных сорта Lemon Drop.

Реагенты. Стандарты: галловая кислота, чистота $\geq 97.0\%$; кверцетин, чистота $\geq 94.0\%$; β -каротин, чистота $\geq 93.0\%$, были приобретены у PhytoLab GmbH & Co. KG, Германия (Merck KGaA, Дармштадт, Германия); тиофен, чистота 99+% (Acros Organics).

Получение экстрактов. Лиофилизированные лепестки бархатцев отклоненных сорта Lemon Drop массой 10 г перемалывали в порошок до размера частиц 0.05–0.1 мм на лабораторной мельнице с принудительным охлаждением размольной камеры (ЛМ-202, Россия) и экстрагировали методом трехкратной мацерации в плоскодонных конических колбах, предварительно продутых аргоном. В качестве экстрагентов использовали ряд растворителей с увеличивающейся полярностью – *n*-гексан, метилтрет-бутиловый эфир (МТБЭ), хлороформ и этанол абсолютированный (99.9%) при соотношении биомассы и растворителя 1 : 7. Мацерацию проводили в условиях постоянного перемешивания при 500 об./мин с помощью автоматической магнитной мешалки (IKA RCT basic) при температуре 45 °C в течение 1.5 ч с постоянной подачей сухого аргона во избежание окисления активных соединений [21]. Для исключения влияния ультрафиолета солнечного света, вызывающего окисление, колбы для мацерации, были обернуты алюминиевой фольгой. Полученные гомогенаты центрифугировали для осаждения крупных частиц и суспензии при 10000 об./мин в течение 10 мин при температуре 5 °C (центрифуга H3-18KR). Для более тонкой очистки экстракты пропускали через нейлоновые микрофильтры с диаметром пор 22 нм. Далее экстракты высушивали на роторном испарителе (LabTex Re 100-Pro) над водяной баней при температуре 30–32 °C и давлении 13.3 мбар до полного удаления растворителя. Конечным продуктом являлись микрокристаллические порошки светло-желтого цвета.

Анализ химического состава. pH экстрактов бархатцев определяли с помощью pH-метра (HANNA HI 2210) путем растворения сухого экстракта в 70% этаноле.

Общее содержание флавоноидов определяли по методу Станковича [22] с некоторыми модификациями. Навеску сухого экстракта растворяли в 70% этаноле. 0.5 мл раствора экстракта помещали в разные пробирки и добавляли в каждую 0.1 мл 10% раствора хлорида алюминия, 0.1 мл 1 М ацетата калия, 1.5 мл 96% этанола и дистиллированную воду. Полученные растворы перемешивали и инкубировали при 25 °C в течение 30 мин. Раствор сравнения готовили аналогично, только вместо экстракта использовали раствор кверцетина известной концентрации. Оптическую плотность определяли при $\lambda_{\text{max}} = 440$ нм с помощью сканирующего спектрофотометра в режиме стационарной длины волн (UV/VIS spectrometer T7DS) в кювете с длиной оптического пути 10 мм. Концентрацию флавоноидов выражали в миллиграммах эквивалента кверцетина на грамм сухого экстракта (мг Que/g сухого экстракта).

Общее фенольное число определяли спектрофотометрическим методом с использованием реактива Фолина-Чокальтеу [23] с некоторыми модификациями. Для анализа 0.5 мл аликвоты экстракта смешивали с 0.5 мл реактива Фолина-Чокальтеу. Раствор выдерживали при 25 °C в течение 5–8 мин, затем добавляли 2 мл 7.5% раствора карбоната натрия, доводили объем водой до 8 мл и инкубировали в течение 30 мин в темном месте. Затем измеряли оптическую плотность при 725 нм. Галловая кислота использовалась в качестве стандарта для калибровочной кривой. Общее содержание фенолов в образцах определяли количественно по калибровочной кривой, построенной со стандартом галловой кислоты с различными концентрациями в диапазоне от 0 до 200 мкг/мл, и выражали в мг-эквивалентах галловой кислоты на грамм сухого экстракта (мг GAE/g сухого экстракта).

Суммарное содержание каротиноидов в экстрактах определяли спектрофотометрически. Для этого навеску сухого экстракта массой 0.01 г перерастворяли в *n*-гексане и доводили до метки в мерной колбе емкостью 10 мл. Фотометрию раствора осуществляли при длине волны 450 нм относительно чистого *n*-гексана в оптической кювете с длиной оптического пути 10 мм [24]. Качественное подтверждение наличия природных тиофенов в экстрактах бархатцев определено методом тонкослойной хроматографии на силикагелевых пластинах (TLC Silica gel 60 F254) с флуоресцентным индикатором и с этанолом в качестве подвижной фазы. В центр пластины (50×50 мм) наносилась аликвота объемом 25 мкл, через 5 мин опрыскивалась 0.4%-ным раствором изатина в концентрированной серной кислоте. Детектирование тиофенов проводилось в УФ диапазоне (254 нм).

Дополнительно наличие тиофенов в высушенных экстрактах подтверждено методом ИК-спектроскопии. ИК спектры записывались на спектрометре Tensor 27 «Bruker» (Германия) в таблетках KBr в диапазоне длин волн от 4000 до 400 cm^{-1} . Для проведения измерений, преобразований и оценки полученных спектральных данных использовалось программное обеспечение OPUS 7/2012.

Количественно сумму тиофенов определяли в соответствии с ГОСТ 2706.5-74 «Углеводороды ароматические бензольного ряда. Метод определения тиофена в бензоле» и ASTM D1685-00 с некоторыми модификациями. Для этого навеску 0.001 г экстракта перерастворяли в очищенном бензоле и доводили до метки в 10 мл мерной колбе. В сухую делительную воронку вместимостью 50 мл наливали пипеткой 5 мл раствора изатина, затем приливали 5 мл анализируемого экстракта и 10 мл 0.01% раствора сернокислого железа. Содержимое воронки энергично взбалтывали в течение 2 мин, после 10 мин отстаивания сливали кислотный слой из воронки или отбирали пипеткой из колбы в кювету и измеряли оптическую плотность на спектрофотометре при 540 нм. В качестве образца сравнения готовили аналогичный раствор без добавления экстракта.

Определение токсичности экстрактов. Эксперименты проводили при 22 °C с молодыми половозрелыми особями *C. elegans* линии дикого типа N2, полученной из Caenorhabditis Genetic Center. Нематод выращивали при 22 °C в чашках Петри со стандартной средой выращивания (3 г/л NaCl, 17 г/л бактоагар, 2.5 г/л бактопептон, 5 мг/л холестерин, 1 mM CaCl₂, 1 mM MgSO₄, 25 mM калийфосфатный буфер (pH 6.0)), засеянной *E. coli* OP50 [20]. Для каждого эксперимента нематод отмывали от среды выращивания, бактерий и экзометаболитов буфером M9 (3 г/л K₂HPO₄, 6 г/л Na₂HPO₄, 5 г/л NaCl, 1 mM MgSO₄) [20]. После этого нематод переносили в стеклянные центрифужные пробирки объемом 10 мл по 50 особей в каждую пробирку. Для изучения нематоцидной активности экстракты перерастворяли в диметилсульфоксиде (ДМСО) с получением 1% раствора. ДМСО традиционно используется в качестве растворителя в экспериментах с *C. elegans*, поскольку он повышает проницаемость кутикулы для исследуемых веществ, но не оказывает негативного влияния на организм нематод [17, 25]. В пробирки с нематодами добавляли M9 буфер и 1% раствор экстрактов в диметилсульфоксиде (ДМСО) в количестве, необходимом для получения нужной концентрации итогового раствора. Конечный объем среды инкубации – 1 мл. Диапазон концентраций экстрактов подбирали таким образом, чтобы гибель нематод составляла не менее 95% и не более 10%. Через 24 ч подсчитывали количество погибших нематод. Погибшими считали нематод, которые не реагировали на механический стимул. Все эксперименты проводили в четырех повторностях.

Результаты и их обсуждение

Физико-химические показатели экстрактов. Бархатцы отклоненные *T. patula* содержат широкий спектр соединений различной химической природы, для извлечения максимально возможного количества компонентов целесообразно использовать растворители различной полярности. В данном исследовании для выбора наиболее эффективного способа извлечения биологически активных веществ из лепестков *T. patula* сорта Lemon Drop были использованы экстрагенты различной полярности: *n*-гексан, метилтрет-бутиловый эфир, хлороформ и абсолютированный этанол. Характеристики pH сухих экстрактов, перерастворенных в 70% этаноле, представлены в таблице 1.

Значения pH экстрактов лепестков бархатцев, перерастворенных в 70% этаноле, варьировались в зависимости от выбора растворителя и составляли от 5.73 до 6.43 соответственно. Более низкое значение pH соответствовало этанольному экстракту, самое высокое – при использовании МТБЭ.

Определение pH важно для определения возможности применения инсектицидов. В литературе имеется информация о влиянии pH на организмы нематод рода *Meloidogyne* [26, 27]. В данных работах указывается, что более кислое значение (pH≤6) экстракта при обработке почвы существенно подавляет развитие нематод рода *Meloidogyne*.

В работе также определяли влияние выбора экстрагента на выход экстракта. Выход сухого экстракта по отношению к исходному сырью определяли гравиметрически [28]. Выходы экстрактов представлены в таблице 1, из которой видно, что этанольный экстракт имел самый высокий выход экстрактивных соединений (8.11%), в случае использования *n*-гексана выход самый низкий (1.96%).

Таблица 1. Характеристики pH 1% растворов экстрактов *T. patula* сорта Lemon Drop в 70% этаноле

Экстрагент	Выход экстракта, %	pH*
<i>n</i> -Гексан	1.96±0.05	6.27±0.03
Метилтрет-бутиловый эфир	3.15±0.08	6.43±0.01
Хлороформ	6.89±0.04	5.83±0.02
Этанол	8.11±0.05	5.73±0.02

* 1% раствор в 70% этаноле.

Групповой химический состав экстрактов. Для характеристики химического состава экстрактов было исследовано общее содержание фенолов, флавоноидов, каротиноидов и тиофенов. Обобщенные результаты представлены в таблице 2.

Среди классически используемых растворителей для экстракции полифенолов в литературе упоминаются метанол, вода, хлороформ, *n*-гексан, этанол, *n*-пропанол, этилацетат и ацетон [29]. Эти растворители различаются по полярности; следовательно, они по разному влияют на экстракцию фитохимических веществ.

Экстракты бархатцев отклоненных сорта Lemon Drop, полученные путем мацерации с разнополярными растворителями, имели различное содержание биологически активных веществ. Так, суммарное содержание фенолов в исследуемых экстрактах было выше при использовании хлороформа (51.11 мг ГАЕ/г сухого экстракта), что объясняется большей избирательной способностью данного растворителя при извлечении фенольных соединений [30]. По данным таблицы можно сказать, что по способности к экстракции фенолов из данного сырья растворители можно ранжировать в следующем порядке: хлороформ > этанол > *n*-гексан > МТБЭ (51.11–8.55 мг ГАЕ/г сухого экстракта).

Общее количество флавоноидов максимально у этанольного экстракта (32.17 мг Que/г сухого экстракта), в остальных экстрактах содержание составляло от 18.57 мг Que/г сухого экстракта (в случае хлороформа) до 8.22 и 4.71 мг Que/г сухого экстракта (в случае гексанового и МТБЭ экстрактов соответственно). В литературе имеется упоминание о высокой нематоцидной активности флавоноидной фракции 80% метанольного экстракта копеечника венечного *Hedysarum coronarium* L. по отношению к нематодам вида *Meloidogyne incognita* (экстракт в концентрации 125 мкг/мл приводил к гибели более 80% нематод) [31].

Как показано в таблице 2, высокое содержание каротиноидов выявлено при использовании хлороформа и этанола (8.63 и 7.15 мг β-Сар/г сухого экстракта соответственно), меньшее содержание каротиноидов в гексановом и МТБЭ экстрактах (соответственно 6.31 и 4.93 мг β-Сар/г сухого экстракта). Снижение содержания каротиноидов в случае использования *n*-гексана, возможно, связано с попутно извлекаемыми при экстракции балластными соединениями (липиды, воска) [29]. В литературе уделяется достаточно мало внимания влиянию каротиноидов на нематоцидную активность. Авторам удалось найти лишь единичное упоминание в статье [32], указывающее на среднюю восприимчивость нематод к каротиноидам.

Качественно наличие тиофенов подтверждало ИК-спектроскопией. В ИК спектрах трех высушившихся экстрактов (этанол, хлороформ, *n*-гексан) присутствовали три характеристические полосы поглощения в диапазоне 1519–1522 см⁻¹ и 1038–1040 см⁻¹, относящиеся к колебаниям С-Н связи кольца, а также при 715–717 см⁻¹, относящиеся к колебаниям связи С-С в цикле [33–34] (рис. 1–3 электронного приложения). В случае МТБЭ сигналы не были идентифицированы, что может быть связано с низкой концентрацией тиофенов (рис. 4 электронного приложения). Количественно, общее содержание тиофенов было выше в ряду растворителей: этанол > хлороформ > *n*-гексан > МТБЭ (0.64–0.18 мг/г сухого экстракта). Во многих литературных источниках описано, что природные тиофены обладают высокой нематоцидной активностью [35].

Нематоцидная активность экстрактов. Высушенный на ротационном испарителе хлороформный экстракт, перерастворенный в ДМСО и разбавленный до концентраций 18.8, 9.4, 4.7 и 2.3 мкг/мл, вызывал гибель 99.0, 32.8, 18.5 и 8.0% нематод после 24-часовой инкубации. Экспозиция *C. elegans* к этанольному экстракту в течение 24 ч вызывала гибель 100, 81, 68.8, 22.9, 16.3 и 7.3% особей при концентрации экстракта, перерастворенного в ДМСО, 450, 300, 225, 150, 75 и 37.5 мкг/мл соответственно. Гексановый экстракт, перерастворенный в ДМСО, приводил к гибели 100, 68 и 8% нематод в ряду концентраций 750, 375 и 187.5 мкг/мл. Наименее токсичным для *C. elegans* оказался МТБЭ экстракт, который вызывал гибель 100% нематод при концентрации высушенного экстракта перерастворенного в ДМСО 3000 мкг/мл и 13% – при концентрации 187.5 мкг/мл (табл. 3).

Таблица 2. Групповой химический состав экстрактов лепестков *T. patula* сорта Lemon Drop

Растворитель	Общее содержание фенолов ¹ , мг ГАЕ/г сухого экстракта	Общее число флавоноидов ² , мг Que/г сухого экстракта	Общее содержание каротиноидов ³ , мг β-Сар/г сухого экстракта	Общее содержание тиофенов, мг/г сухого экстракта
<i>n</i> -Гексан	21.73±0.11	8.22±0.09	6.31±0.04	0.32±0.04
Метилтрет-бутиловый эфир	8.55±0.05	4.71±0.11	4.93±0.03	0.18±0.03
Хлороформ	51.11±0.23	18.57±0.08	8.63±0.07	0.47±0.05
Этанол	43.14±0.17	32.17±0.09	7.15±0.09	0.64±0.02

¹общее количество фенольных соединений на эквивалент галловой кислоты; ²общее количество флавоноидов на эквивалент рутин; ³общее содержание каротиноидов на эквивалент β-каротина.

Таблица 3. Токсическое действие экстрактов *T. patula* сорта Lemon Drop на почвенную нематоду *Caenorhabditis elegans*

Доля погибших нематод, %					
Хлороформный экстракт					
18.8 мкг/мл	9.4 мкг/мл	4.7 мкг/мл	2.3 мкг/мл		
99.0±0.6	32.8±2.3	18.5±2.7	8.0±1.9		
Этанольный экстракт					
450 мкг/мл	300 мкг/мл	225 мкг/мл	150 мкг/мл	75 мкг/мл	37.5 мкг/мл
100	81.0±1.0	68.8±2.3	22.9±1.8	16.3±1.4	7.3±1.3
МТБЭ экстракт					
3000 мкг/мл	1500 мкг/мл	750 мкг/мл	375 мкг/мл	187.5 мкг/мл	93.8 мкг/мл
100	85.0±2.0	44.5±3.5	30.0±4.6	13.0±3.4	0
Гексановый экстракт					
750 мкг/мл	375 мкг/мл	187.5 мкг/мл	93.8 мкг/мл		
100	68.0±4.7	8.0±2.7	0		

Настоящее исследование было разработано с учетом двух основных аспектов: характеристики экстрактов лепестков бархатцев отклоненных *T. patula* сорта Lemon Drop, полученных с использованием растворителей различной полярности, и оценки их нематоцидной активности.

Большое количество биологически активных веществ содержится не только в корнях, но и в надземных частях *Tagetes* spp. Химический состав цветков и листьев бархатцев разных видов, произрастающих в разных климатических зонах, подробно описан в работе [10]. Считается, что наибольшей биологической активностью среди всех веществ, выделенных из *Tagetes* spp., обладают а-тертиенил и тиофен [7, 14–16]. Между тем любые экстракты, полученные из растений, представляют собой многокомпонентную смесь химических веществ, которые могут оказывать различное действие на живые организмы, как антагонистическое, так и аддитивное или синергическое [2].

Фитохимические анализы полученных экстрактов давали первое представление о составе экстракта. Содержание экстрагируемых биологически активных компонентов, потенциально отвечающих за нематоцидную активность по данным литературы, было выше у хлороформного и этанольного экстрактов. Так, наибольшее количество фенолов и каротиноидов выявлено при использовании хлороформа в качестве экстрагента; в случае использования этанола – выше количество извлекаемых флавоноидов и тиофенов (табл. 2).

Анализ литературных исследований и наши экспериментальные результаты ясно указывают на высокий потенциал хлороформного и этанольного экстрактов *T. patula* сорта Lemon Drop в качестве источников новых эффективных нематоцидных продуктов, пригодных для борьбы с нематодами на ценных садовых и плодовых культурах.

В литературе упоминается о нематоцидном действии фенольных и сероорганических (тиофены) соединений, а также флавоноидов и каротиноидов [36, 37]. Нематоцидные свойства *Tagetes* spp. известны давно. В 1930–1940-х гг. в научной литературе была описана устойчивость *Tagetes* spp. к фитопаразитическим нематодам, гибель нематод при их контакте с корнями бархатцев и отсутствие повреждения фитопаразитическими нематодами растений *Narcissus tazetta* и *Nicotiana tabacum* при их выращивании после бархатцев [2]. К настоящему времени накоплено большое количество данных о негативном влиянии *Tagetes* spp. на фитопаразитических нематод. При выращивании в лабораторных условиях огурцов и томатов полив почвы экстрактом *Tagetes minuta* в течение 45 дней снижал общую численность фитопаразитических нематод на 20% [9]. Выращивание *Tagetes patula* в почве, зараженной *Meloidogyne incognita*, оказывало сильное негативное влияние на подвижные формы половозрелых нематод, незначительно снижало подвижность нематод на стадии развития J2 и почти не влияло на развитие яиц [8]. Гибель нематод наблюдается не только при их непосредственном контакте с корнями *Tagetes* spp., но и при попадании в ризосферу [6]. Показана эффективность экстрактов из корней бархатцев против нематод *Heterodera rostochiensis*, *Ditylenchus dipsaci* и *Anguina tritici* [10]. В экспериментах *in vitro* показана высокая чувствительность свободноживущей почвенной нематоды *Caenorhabditis elegans* и *Pratylenchus penetrans*, паразитирующей на корнях растений, к тиенилам и другим активным веществам, секрецируемым корнями бархатцев [11, 12].

В наших экспериментах экстракты из цветков *Tagetes patula* оказывали дозозависимое токсическое действие на организмы почвенных нематод *C. elegans*. Токсичность экстрактов при оценке ее по гибели 99–100% нематод в зависимости от экстрагента убывала в ряду: хлороформ > этанол > н-гексан > МТБЭ

(табл. 3). Общее содержание фенолов и каротиноидов (мг/г сухого экстракта) уменьшалось в ряду: хлороформ (51.11 и 8.63) > этанол (43.14 и 7.15) > *n*-гексан (21.73 и 6.31) > МТБЭ (8.55 и 4.93) (табл. 2). На основании этих данных можно сделать вывод о том, что выявленные различия нематоцидной активности экстрактов коррелируют с содержанием в них фенолов и каротиноидов.

Заключение

В работе получены новые данные о групповом фитохимическом составе и нематоцидной активности экстрактов лепестков бархатцев отклоненных *T. patula* сорта Lemon Drop с использованием растворителей различной полярности. Изучение химического состава экстрактов выявило различия содержания в них биологически активных веществ с потенциальной нематоцидной активностью. В зависимости от выбора растворителей выход экстрактивных соединений уменьшался в ряду: этанол (8.11%) > хлороформ (6.89%) > МТБЭ (3.15%) > *n*-гексан (1.96%).

Групповой состав экстрактов, получаемых с помощью разных экстрагентов, существенно различался по количественному составу. Общее содержание фенолов (мг/г сухого экстракта) уменьшалось в ряду: хлороформ (51.11) > этанол (43.14) > *n*-гексан (21.73) > МТБЭ (8.55). Аналогичным образом изменялось содержание каротиноидов: хлороформ (8.63) > этанол (7.15) > *n*-гексан (6.31) > МТБЭ (4.93). Содержание флавоноидов и тиофенов, соответственно, убывало в ряду: этанол (32.17 и 0.64) > хлороформ (18.57 и 0.47) > *n*-гексан (8.22 и 0.32) > МТБЭ (4.93 и 0.18).

Нематоцидная активность экстрактов снижалась в ряду: хлороформ > этанол > *n*-гексан > МТБЭ. Наибольшая нематоцидная активность выявлена у хлороформного экстракта – вызывает гибель 99% особей почвенных нематод *C. elegans* при концентрации 18.8 мкг/мл, наименьшая – экстракт на основе МТБЭ (вызывает гибель 100% нематод при концентрации 3000 мкг/мл). С учетом выхода экстрактивных веществ наиболее перспективным является использование хлороформа в качестве экстрагента.

Дальнейшие исследования токсического действия экстрактов бархатцев на организм *C. elegans* позволяют идентифицировать отдельные компоненты этих экстрактов, эффективные в качестве нематоцидов. После идентификации таких веществ станет возможным получение их производных с более высокой нематоцидной активностью.

Дополнительная информация

В электронном приложении к статье (DOI: <http://www.doi.org/10.14258/jcprm.20250415442s>) приведен дополнительный экспериментальный материал, раскрывающий основные положения, изложенные в статье.

Финансирование

Данная работа финансировалась за счет средств бюджета Института проблем экологии и недропользования и Института органической и физической химии имени А.Е. Арбузова. Никаких дополнительных грантов на проведение или руководство данным конкретным исследованием получено не было.

Конфликт интересов

Авторы данной работы заявляют, что у них нет конфликта интересов.

Открытый доступ

Эта статья распространяется на условиях международной лицензии Creative Commons Attribution 4.0 (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>), которая разрешает неограниченное использование, распространение и воспроизведение на любом носителе при условии, что вы дадите соответствующие ссылки на автора(ов) и источник и предоставите ссылку на Лицензию Creative Commons и укажете, были ли внесены изменения.

Список литературы

1. Ntalli N., Adamski Z., Doula M., Monokrounos N. Nematicidal amendments and soil remediation // Plants. 2020. Vol. 9. Pp. 1–20. <https://doi.org/10.3390/plants9040429>.
2. Chitwood D.J. Phytochemical based strategies for nematode control // Annual Review of Phytopathology. 2002. Vol. 40. Pp. 221–249. <https://doi.org/10.1146/annurev.phyto.40.032602.130045>.
3. Herrera-Estrella A., Casas-Flores S., Kubicek C.P. Nematophagous fungi // The Mycota IV: Environmental and microbial relationships. 3rd edition. Heidelberg: Springer, 2016. Pp. 247–267. https://doi.org/10.1007/978-3-319-29532-9_13.
4. Abd-Elgawad M.M.M., Askary T.H. Fungal and bacterial nematicides in integrated nematode management strategies // Egyptian Journal of Biological Pest Control. 2018. Vol. 28. Pp. 1–24. <https://doi.org/10.1186/s41938-018-0080-x>.

5. Soares F.E.de F., Sulfate B.L., de Queiroz J.H. Nematophagous fungi: Far beyond the endoparasite, predator and ovicidal groups // *Agriculture and Natural Resources*. 2018. Vol. 52. Pp. 1–8. <https://doi.org/10.1016/j.anres.2018.05.010>.
6. Wang K.-H., Hooks C.R., Ploeg A. Protecting crops from nematode pests: using marigold as an alternative to chemical nematicides // *Plant Disease*. 2007. PD-35. Pp. 1–7.
7. Hamaguchi T., Sato K., Vicente C.S.L., Hasegawa K. Nematicidal action of the marigold exudate α -terthienyl: oxidative stress-inducing compound penetrates nematode hypodermis // *Biology Open*. 2019. Pp. 1–9. <https://doi.org/10.1242/bio.038646>.
8. Marahata S.P., Wang K.-H., Sipes B.S., Hooks C.R.R. Effects of *Tagetes patula* on active and inactive stages of root-knot nematodes // *Journal of Nematology*. 2012. Vol. 44. Pp. 26–30.
9. Gabda D.D., Aglave B. Studies of bionematicide for the control of plant parasitic nematodes in grape vine & vegetable crops // *Advances in Plant & Agriculture Research*. 2015. Vol. 2. Pp. 213–219. <https://doi.org/10.15406/apar.2015.02.00064>.
10. Salehi B., Valussi M., Moraes-Braga M.F.B., Carneiro J.N.P., Leal A.L.A.B., Coutinho H.D.M., Vitalini S., Kregiel D., Antolak H., Sharifi-Rad M., Silva N.C.C., Yousaf Z., Martorell M., Iriti M., Carradori S., Sharifi-Rad J. *Tagetes* spp. Essential oils and other extracts: chemical characterization and biological activity // *Molecules*. 2018. Vol. 23. Pp. 1–35. <https://doi.org/10.3390/molecules23112847>.
11. Kyo M., Miyauchi Y., Fujimoto T., Mayama S. Production of nematocidal compounds by hairy root cultures of *Tagetes patula* L. // *Plant Cell Reports*. 1990. Vol. 9. Pp. 393–397. <https://doi.org/10.1007/BF00232407>.
12. Fujimoto T., Kyo M., Miyauchi Y., Mayama S. Nematocidal activity and α -terthiophene content in marigold callus // *Plant Tissue Culture Letters*. 1990. Vol. 7. Pp. 177–180. <https://doi.org/10.5511/plantbiotechnology1984.7.177>.
13. Sturz A.V., Kimpinski J. Endoroot bacteria derived from marigolds (*Tagetes* spp.) can decrease soil population densities of root-lesion nematodes in the potato root zone // *Plant and Soil*. 2004. Vol. 262. Pp. 241–249. <https://doi.org/10.1023/B:PLSO.0000037046.86670.a3>.
14. Nivsarkar M., Cherian B., Padh H. Alpha-terthienyl: A plant-derived new generation insecticide // *Current Science*. 2001. Vol. 81. Pp. 667–672.
15. Ibrahim S.R.M., Abdallah H.M., El-Halawany A.M., Mohamed G.A. Naturally occurring thiophenes: isolation, purification, structural elucidation, and evaluation of bioactivities // *Phytochemistry Reviews*. 2016. Vol. 15. Pp. 197–220. <https://doi.org/10.1007/s11101-015-9403-7>.
16. Xu L.-w., Chen J., Qi H.-y., Shi Y.-p. Phytochemicals and their biological activities of plants in *Tagetes* L. // *Chinese Herbal Medicine*. 2012. Vol. 4. Pp. 103–117. <https://doi.org/10.3969/j.issn.1674-6384.2012.02.004>.
17. Sleigh J.N. Functional analysis of nematode nicotinic receptors // *Bioscience Horizons*. 2010. Vol. 3. Pp. 29–39. <https://doi.org/10.1093/biohorizons/hzq005>.
18. Dent J.A. What can *Caenorhabditis elegans* tell us about nematocides and parasites? // *Biotechnology and Bioprocess Engineering*. 2001. Vol. 6. Pp. 252–263. <https://doi.org/10.1007/BF02931986>.
19. Leung M.C.K., Williams P.L., Benedetto A., Au C., Helmcke K.J., Aschner M., Meyer J.N. *Caenorhabditis elegans*: an emerging model in biomedical and environmental toxicology // *Toxicological Sciences*. 2008. Vol. 106. Pp. 5–28. <https://doi.org/10.1093/toxsci/kfn121>.
20. Brenner S. The genetics of *Caenorhabditis elegans* // *Genetics*. 1974. Vol. 77. Pp. 71–94. <https://doi.org/10.1093/genetics/77.1.71>.
21. Sharonova N., Nikitin E., Terenzhev D., Lyubina A., Amerhanova S., Bushmeleva K., Rakhmaeva A., Fitsev I., Sinyashin K. Comparative assessment of the phytochemical composition and biological activity of extracts of flowering plants of *Centaurea cyanus* L., *Centaurea jacea* L. and *Centaurea scabiosa* L. // *Plants*. 2021. Vol. 10. Article 1279. <https://doi.org/10.3390/plants10071279>.
22. Bushmeleva K., Vyshtakalyuk A., Terenzhev D., Belov T., Parfenov A., Sharonova N., Nikitin E., Zobov V. Radical scavenging actions and immunomodulatory activity of *Aronia melanocarpa* propylene glycol extracts // *Plants*. 2021. Vol. 10. Article 2458. <https://doi.org/10.3390/plants10112458>.
23. Tang J., Dunshea F.R., Suleria H.A.R. LC-ESI-QTOF/MS characterization of phenolic compounds from medicinal plants (hops and juniper berries) and their antioxidant activity // *Foods*. 2020. Vol. 9. Article 7. <https://doi.org/10.3390/foods9010007>.
24. Benea A., Ciobanu C., Cojocaru-Toma M., Ciobanu N. Determination of carotenoids in extracts from species of *Tagetes* and *Calendula* // *Moldovan Medical Journal*. 2020. Vol. 63. Pp. 23–26. <https://doi.org/10.5281/zenodo.4016806>.
25. Katiki L.M., Ferreira J.F.S., Zajac A.M., Master C., Lindsay D.S., Chagas A.C.S., Amarante A.F.T. *Caenorhabditis elegans* as a model to screen plant extracts and compounds as natural anthelmintics for veterinary use // *Veterinary Parasitology*. 2011. Vol. 182. Pp. 264–268. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2011.05.020>.
26. Wang C., Bruening G., Williamson V.M. Determination of preferred pH for root-knot nematode aggregation using pluronic F-127 gel // *Journal of Chemical Ecology*. 2009. Vol. 35. Pp. 1242–1251. <https://doi.org/10.1007/s10886-009-9703-8>.
27. Rocha T.L., Soll C.B., Boughton B.A., Silva T.S., Oldach K., Firmino A.A.P., Callahan D.L., Sheedy J., Silveira E.R., Carneiro R.M.D.G., Silva L.P., Polez V.L.P., Pelegrini P.B., Bacic A., Grossi-de-Sa M.F., Roessner U. Prospection and identification of nematotoxic compounds from *Canavalia ensiformis* seeds effective in the control of the root knot nematode *Meloidogyne incognita* // *Biotechnology Research and Innovation*. 2017. Vol. 1. Pp. 87–100. <https://doi.org/10.1016/j.biori.2017.10.003>.

28. Девяткина И.А., Зюбр Т.П., Дудкин Р.В., Бардаков А.И. Разработка технологии получения сухого экстракта «Секрет молодости», применяемого в гериатрической практике // Вестник ВГУ. Серия: Химия. Биология. Фармация. 2005. №1. С. 166–169.
29. Zhang Q., Lin L., Ye W. Techniques for extraction and isolation of natural products: a comprehensive review // Chinese Medicine. 2018. Vol. 13. Article 20. <https://doi.org/10.1186/s13020-018-0177-x>.
30. Alara O.R., Abdurahman N.H., Ukaegbu C.I. Extraction of phenolic compounds: A review // Current Research in Food Science. 2021. Vol. 4. Pp. 200–214. <https://doi.org/10.1016/j.crfs.2021.03.011>.
31. D'Addabbo T., Tava A., Argentieri M.P., Biazz E., Candido V., Avato P. Nematicidal potential of sulla (*Hedysarum coronarium* L.) against the root-knot nematode *Meloidogyne incognita* // Plants. 2022. Vol. 11. Article 2550. <https://doi.org/10.3390/plants11192550>.
32. Kyndt T., Nahar K., Haeck A., Verbeek R., Demeestere K., Gheysen G. Interplay between carotenoids, abscisic acid and jasmonate guides the compatible rice-*Meloidogyne graminicola* interaction // Frontiers in Plant Science. 2017. Vol. 8. Article 951. <https://doi.org/10.3389/fpls.2017.00951>.
33. Li L.B., Xiao G.D., Xiang W., Yang X., Cao K.X., Huang R.S. Novel substituted thiophenes and sulf-polyacetylene ester from *Echinops ritro* L. // Molecules. 2019. Vol. 24. Article 805. <https://doi.org/10.3390/molecules24040805>.
34. Гольдштейн И.П., Ильичева З.Ф., Словохотова Н.А., Гурьянова Е.Н., Кочешков К.А. Спектроскопическое исследование комплексов тиофана и тиофена с четыреххлористым оловом // Доклады АН СССР. 1962. Т. 144. С. 788–791.
35. Liu T., Wu H., Jiang H., Zhang L., Zhang Y., Mao L. Thiophenes from *Echinops grisii* as a preliminary approach to control disease complex of root-knot nematodes and Soil-borne fungi: isolation, activities, and structure-nonphototoxic activity relationship analysis // Journal of Agricultural and Food Chemistry. 2019. Vol. 67. Pp. 6160–6168. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.9b01306>.
36. Desmedt W., Mangelinckx S., Kyndt T., Vanholme B. A phytochemical perspective on plant defense against nematodes // Frontiers in Plant Science. 2020. Vol. 11. Article 602079. <https://doi.org/10.3389/fpls.2020.602079>.
37. Petrikovszki R., Tóth F., Nagy P.I. Aqueous extracts of organic mulch materials have nematicide and repellent effect on *Meloidogyne incognita* infective juveniles: A laboratory study // Journal of Nematology. 2023. Vol. 55. Article 20230037. <https://doi.org/10.2478/jofnem-2023-0037>.

Поступила в редакцию 1 июля 2024 г.

После переработки 20 февраля 2025 г.

Принята к публикации 22 марта 2025 г.

Kalinnikova T.B.^{1*}, Terenzhev D.A.², Belov T.G.², Menshova A.N.², Gatiyatullina A.F.¹, Egorova A.V.¹, Nikitin E.N.²
COMPARATIVE ANALYSIS OF CHEMICAL COMPOSITION AND NEMATOCIDAL ACTIVITY OF *TAGETES PATULA*
(L., 1753) EXTRACTS IN EXPERIMENTS WITH THE SOIL NEMATODE *CAENORHABDITIS ELEGANS* (MAUPAS,
1900)

¹ Research Institute for Problems of Ecology and Mineral Wealth Use of Tatarstan Academy of Sciences, st.
Daurskaya, 28, Kazan, 420087, Russia, tbkalinnikova@gmail.com

² Arbuzov Institute of Organic and Physical Chemistry, FRC Kazan Scientific Center of RAS, st. Arbuzova, 8, Kazan,
420088, Russia

Phytopathogenic nematodes have a negative impact on crop productivity. Currently, the main method of controlling these pests is the use of synthetic nematicides. Despite their high efficacy and ease of use, synthetic nematicides can pose a risk to both agricultural producers and consumers of crop products. An alternative to the use of chemical plant protection products can be the use of substances of natural origin, such as plant extracts. When using plant extracts to control agricultural pests, it should be borne in mind that the biological activity of extracts depends not only on the plant species, but also on the method of obtaining the extract. This work presents data on the physicochemical properties and biological activity of the extracts of *Tagetes patula* Lemon Drop variety obtained using four extractants of different polarity: ethanol, chloroform, n-hexane and methyl tert-butyl ether. The pH, total carotenoids, phenols, flavonoids and thiophenes content were determined for each extract. The biological activity of the extracts was studied in experiments with the free-living soil nematode *Caenorhabditis elegans*. All extracts had dose-dependent toxic effects on *C. elegans* organisms. The toxicity of the extracts depending on the solvent decreased in the series: chloroform > ethanol > n-hexane > methyl tert-butyl ether. The revealed differences in nematicidal activity of the extracts correlated with the content of phenols and carotenoids in them.

Keywords: nematicides, *Tagetes patula* extracts, ethanol, chloroform, n-hexane, methyl tert-butyl ether, *Caenorhabditis elegans*.

For citing: Kalinnikova T.B., Terenzhev D.A., Belov T.G., Menshova A.N., Gatiyatullina A.F., Egorova A.V., Nikitin E.N. *Khimiya Rastitel'nogo Syr'ya*, 2025, no. 4, pp. 204–215. (in Russ.). <https://doi.org/10.14258/jcprm.20250415442>.

* Corresponding author.

References

1. Ntalli N., Adamski Z., Doula M., Monokrousos N. *Plants*, 2020, vol. 9, pp. 1–20. <https://doi.org/10.3390/plants9040429>.
2. Chitwood D.J. *Annual Review of Phytopathology*, 2002, vol. 40, pp. 221–249. <https://doi.org/10.1146/annurev.phyto.40.032602.130045>.
3. Herrera-Estrella A., Casas-Flores S., Kubicek C.P. *The Mycota IV: Environmental and microbial relationships. 3rd edition*. Hedelberg: Springer, 2016, pp. 247–267. https://doi.org/10.1007/978-3-319-29532-9_13.
4. Abd-Elgawad M.M.M., Askary T.H. *Egyptian Journal of Biological Pest Control*, 2018, vol. 28, pp. 1–24. <https://doi.org/10.1186/s41938-018-0080-x>.
5. Soares F.E.de F., Sulfate B.L., de Queiroz J.H. *Agriculture and Natural Resources*, 2018, vol. 52, pp. 1–8. <https://doi.org/10.1016/j.anres.2018.05.010>.
6. Wang K.-H., Hooks C.R., Ploeg A. *Plant Disease*, 2007, PD-35, pp. 1–7.
7. Hamaguchi T., Sato K., Vicente C.S.L., Hasegawa K. *Biology Open*, 2019, pp. 1–9. <https://doi.org/10.1242/bio.038646>.
8. Marahata S.P., Wang K.-H., Sipes B.S., Hooks C.R.R. *Journal of Nematology*, 2012, vol. 44, pp. 26–30.
9. Gabda D.D., Aglave B. *Advances in Plant & Agriculture Research*, 2015, vol. 2, pp. 213–219. <https://doi.org/10.15406/apar.2015.02.00064>.
10. Salehi B., Valussi M., Morais-Braga M.F.B., Carneiro J.N.P., Leal A.L.A.B., Coutinho H.D.M., Vitalini S., Kregiel D., Antolak H., Sharifi-Rad M., Silva N.C.C., Yousaf Z., Martorell M., Iriti M., Carradori S., Sharifi-Rad J. *Molecules*, 2018, vol. 23, pp. 1–35. <https://doi.org/10.3390/molecules23112847>.
11. Kyo M., Miyauchi Y., Fujimoto T., Mayama S. *Plant Cell Reports*, 1990, vol. 9, pp. 393–397. <https://doi.org/10.1007/BF00232407>.
12. Fujimoto T., Kyo M., Miyauchi Y., Mayama S. *Plant Tissue Culture Letters*, 1990, vol. 7, pp. 177–180. <https://doi.org/10.5511/plantbiotechnology1984.7.177>.
13. Sturz A.V., Kimpinski J. *Plant and Soil*, 2004, vol. 262, pp. 241–249. <https://doi.org/10.1023/B:PLSO.0000037046.86670.a3>.
14. Nivsarkar M., Cherian B., Padh H. *Current Science*, 2001, vol. 81, pp. 667–672.
15. Ibrahim S.R.M., Abdallah H.M., El-Halawany A.M., Mohamed G.A. *Phytochemistry Reviews*, 2016, vol. 15, pp. 197–220. <https://doi.org/10.1007/s11101-015-9403-7>.
16. Xu L.-w., Chen J., Qi H.-y., Shi Y.-p. *Chinese Herbal Medicine*, 2012, vol. 4, pp. 103–117. <https://doi.org/10.3969/j.issn.1674-6384.2012.02.004>.
17. Sleigh J.N. *Bioscience Horizons*, 2010, vol. 3, pp. 29–39. <https://doi.org/10.1093/biohorizons/hzq005>.
18. Dent J.A. *Biotechnology and Bioprocess Engineering*, 2001, vol. 6, pp. 252–263. <https://doi.org/10.1007/BF02931986>.
19. Leung M.C.K., Williams P.L., Benedetto A., Au C., Helmcke K.J., Aschner M., Meyer J.N. *Toxicological Sciences*, 2008, vol. 106, pp. 5–28. <https://doi.org/10.1093/toxsci/kfn121>.
20. Brenner S. *Genetics*, 1974, vol. 77, pp. 71–94. <https://doi.org/10.1093/genetics/77.1.71>.
21. Sharonova N., Nikitin E., Terenzhev D., Lyubina A., Amerhanova S., Bushmeleva K., Rakhmaeva A., Fitsev I., Sinyashin K. *Plants*, 2021, vol. 10, article 1279. <https://doi.org/10.3390/plants10071279>.
22. Bushmeleva K., Vyshtakalyuk A., Terenzhev D., Belov T., Parfenov A., Sharonova N., Nikitin E., Zobov V. *Plants*, 2021, vol. 10, article 2458. <https://doi.org/10.3390/plants10112458>.
23. Tang J., Dunshea F.R., Suleria H.A.R. *Foods*, 2020, vol. 9, article 7. <https://doi.org/10.3390/foods9010007>.
24. Benea A., Ciobanu C., Cojocaru-Toma M., Ciobanu N. *Moldovan Medical Journal*, 2020, vol. 63, pp. 23–26. <https://doi.org/10.5281/zenodo.4016806>.
25. Katiki L.M., Ferreira J.F.S., Zajac A.M., Master C., Lindsay D.S., Chagas A.C.S., Amarante A.F.T. *Veterinary Parasitology*, 2011, vol. 182, pp. 264–268. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2011.05.020>.
26. Wang C., Bruening G., Williamson V.M. *Journal of Chemical Ecology*, 2009, vol. 35, pp. 1242–1251. <https://doi.org/10.1007/s10886-009-9703-8>.
27. Rocha T.L., Soll C.B., Boughton B.A., Silva T.S., Oldach K., Firmino A.A.P., Callahan D.L., Sheedy J., Silveira E.R., Carneiro R.M.D.G., Silva L.P., Polez V.L.P., Pelegrini P.B., Bacic A., Grossi-de-Sa M.F., Roessner U. *Biotechnology Research and Innovation*, 2017, vol. 1, pp. 87–100. <https://doi.org/10.1016/j.biori.2017.10.003>.
28. Devyatkina I.A., Zyubr T.P., Dudkin R.V., Bardakov A.I. *Vestnik VGU. Seriya: Khimiya. Biologiya. Farmatsiya*, 2005, no. 1, pp. 166–169. (in Russ.).
29. Zhang Q., Lin L., Ye W. *Chinese Medicine*, 2018, vol. 13, article 20. <https://doi.org/10.1186/s13020-018-0177-x>.
30. Alara O.R., Abdurahman N.H., Ukaegbu C.I. *Current Research in Food Science*, 2021, vol. 4, pp. 200–214. <https://doi.org/10.1016/j.crfcs.2021.03.011>.
31. D'Addabbo T., Tava A., Argentieri M.P., Biazzi E., Candido V., Avato P. *Plants*, 2022, vol. 11, article 2550. <https://doi.org/10.3390/plants11192550>.
32. Kyndt T., Nahar K., Haeck A., Verbeek R., Demeestere K., Gheysen G. *Frontiers in Plant Science*, 2017, vol. 8, article 951. <https://doi.org/10.3389/fpls.2017.00951>.
33. Li L.B., Xiao G.D., Xiang W., Yang X., Cao K.X., Huang R.S. *Molecules*, 2019, vol. 24, article 805. <https://doi.org/10.3390/molecules24040805>.

34. Gol'dshteyn I.P., Il'icheva Z.F., Slovokhotova N.A., Gur'yanova Ye.N., Kocheshkov K.A. *Doklady AN SSSR*, 1962, vol. 144, pp. 788–791. (in Russ.).
35. Liu T., Wu H., Jiang H., Zhang L., Zhang Y., Mao L. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2019, vol. 67, pp. 6160–6168. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.9b01306>.
36. Desmedt W., Mangelinckx S., Kyndt T., Vanholme B. *Frontiers in Plant Science*, 2020, vol. 11, article 602079. <https://doi.org/10.3389/fpls.2020.602079>.
37. Petrikovszki R., Tóth F., Nagy P.I. *Journal of Nematology*, 2023, vol. 55, article 20230037. <https://doi.org/10.2478/jofnem-2023-0037>.

Received July 1, 2024

Revised February 20, 2025

Accepted March 22, 2025

Сведения об авторах

Калинникова Татьяна Борисовна – кандидат биологических наук, ведущий научный сотрудник лаборатории экспериментальной экологии, tbkalinnikova@gmail.com

Теренжев Дмитрий Александрович – кандидат химических наук, старший научный сотрудник лаборатории переработки растительного сырья для экологически чистого агрохозяйства, dmitriy.terenzhev@gmail.com

Белов Тимур Геннадьевич – научный сотрудник лаборатории переработки растительного сырья для экологически чистого агрохозяйства, belofftimur@mail.ru

Меньшова Ангелина Николаевна – младший научный сотрудник лаборатории переработки растительного сырья для экологически чистого агрохозяйства, angelina_menshova11@mail.ru

Гатиятуллина Алсу Фоатовна – младший научный сотрудник лаборатории экспериментальной экологии, gaf9212@gmail.com

Егорова Анастасия Васильевна – младший научный сотрудник лаборатории экспериментальной экологии, egorovanastassia@gmail.com

Никитин Евгений Николаевич – кандидат химических наук, заведующий лабораторией переработки растительного сырья для экологически чистого агрохозяйства, berkutru@mail.ru

Information about authors

Kalinnikova Tatyana Borisovna – Candidate of Biological Sciences, Leading Researcher, Laboratory of Experimental Ecology, tbkalinnikova@gmail.com

Terenzhev Dmitry Aleksandrovich – Candidate of Chemical Sciences, Senior Researcher, Laboratory of Processing Plant Raw Materials for Organic Agriculture, dmitriy.terenzhev@gmail.com

Belov Timur Gennadievich – Researcher, Laboratory of Processing Plant Raw Materials for Organic Agriculture, belofftimur@mail.ru

Menshova Angelina Nikolaevna – Junior Researcher, Laboratory of Processing Plant Raw Materials for Organic Agriculture, angelina_menshova11@mail.ru

Gatiyatullina Alsu Foatovna – Junior Researcher, Laboratory of Experimental Ecology, gaf9212@gmail.com

Egorova Anastasia Vasilievna – Junior Researcher, Laboratory of Experimental Ecology, egorovanastassia@gmail.com

Nikitin Evgeny Nikolaevich – Candidate of Chemical Sciences, Head of the Laboratory laboratory for processing plant materials for environmentally friendly agriculture, berkutru@mail.ru