

Вестник



МОСКОВСКОГО
ГОСУДАРСТВЕННОГО
ОБЛАСТНОГО
УНИВЕРСИТЕТА

Серия

ЕСТЕСТВЕННЫЕ
НАУКИ



№3 / 2011

СОДЕРЖАНИЕ

РАЗДЕЛ I. БИОЛОГИЯ

Абиев Г.А., Топчиева Ш.А., Мехрабова М.А., Бабаев Э.Т. Определение радионуклидов в составе змеиного яда и возможности создания детекторов на их основе.....	7
Алесина Н.В., Снисаренко Т.А. Влияние загрязнения почвы нефтепродуктами на актиномицеты, обитающие на корнях растений на примере овса посевного (<i>Avena sativa</i>).....	12
Ахмедова А.Ф., Гюльахмедов С.Г., Кулиев А.А. Влияние различных факторов на Протеолитическую активность штамма <i>Enterococcus faecalis</i> AN1.....	17
Гаврилова С.Е., Девятков А.Г. Анатомо-морфологическое строение плодов видов рода <i>Viola</i> L.....	21
Гоголицын В.А. Распределение хлорофиллов в устьевой части реки Северная Двина.....	29
Жуковская А.Ф., Бельчева Н.Н., Челомин В.П. Идентификация и частичная характеристика двух высокомолекулярных кадмий-связывающих белков приморского гребешка <i>Mizuhopecten yessoensis</i>	36
Занин А.М., Стовбун С.В. О калибровке ингалятора для продукции субмикроскопической фракции.....	43
Катунина Л.С., Тимченко Л.Д., Арешидзе Д.А., Пенькова Н.И., Таран Т.В., Старцева О.Л. Разработка новых питательных сред для культивирования легионелл на основе кислотного гидролизата моркови с использованием нетрадиционных стимулирующих добавок.....	45
Коничев А.С., Федоровский Н.Н., Марахова А.И., Баурин П.В., Якубович Л.М., Черникова М.А. Традиционные и современные методы экстракции биологически-активных веществ из растительного сырья: перспективы, достоинства, недостатки.....	49
Курчева С.А. Разработка биотехнологии производства иммунодиагностических препаратов для выявления возбудителя туляремии.....	55
Ларичев Т.С. К вопросу о гнездовой биологии орла-карлика (<i>Hieraaetus pennatus</i> Gm.) в Европейской России.....	58
Мартышов А.В. Влияние комплекса упражнений на развитие приспособительных реакций организма к физическим нагрузкам при подготовке единоборцев на учебно-тренировочных занятиях в обучающем режиме.....	60
Поликарпова Л.В. Сезонная динамика активности кислой фосфатазы и нуклеаз в печени и жабрах леща (<i>Abramis brama</i>).....	65
Расулзаде З.И., Гусейнова Л.А., Мурадов П.З., Ахмедова Ф.Р. Результаты апробации ремедиации загрязненных почв <i>In situ</i> путем интродукции выделенных штаммов <i>Rhodococcus erythropolis</i>	69
Расулова Г.Р., Аббасов В.М., Гахраманова Ф.Х., Агабекова Р.А. Антимикробное действие композиций фракций белого нафталанского масла с эфирным маслом <i>Staphylococcus aureus</i>	73
Рачков И.Г. Использование гормонального препарата оксипрогестерон капроат для предупреждения ранних эмбриональных потерь.....	79
Сафронов Д.Ю., Стовбун С.В., Кучеров В.А., Фарзалиев Т.Н., Чекамеева В.Л. Противовоспалительный эффект панавира в модельных экспериментах и клинической практике.....	82
Слободскова В.В., Солодова Е.Е., Челомин В.П. Использование моллюска <i>Corbicula japonica</i> (bivalvia) для оценки генотоксичности эстуарных вод.....	86
Стовбун С.В., Михайлов А.И., Занин А.М., Костяновский Р.Г. Хиральность при самоорганизации струн в жидкой фазе и принципы экономии в природе.....	92
Тимченко Л.Д., Арешидзе Д.А., Черников С.В., Блажнова Г.Н. Показатели физического развития куриного эмбриона.....	98
Филоненко А.В. Гистогенез перикарпия и структура плодов <i>Fontanesia</i> (oleaceae) в связи с систематическим положением рода.....	102

Филоненко А.В. Структура и развитие трихом на плодах представителей рода <i>Fraxinus (oleaceae)</i>	107
--	-----

РАЗДЕЛ II. ГЕОГРАФИЯ

Зверькова Ю.С. Современное состояние реки Днепр на территории Смоленской области в условиях антропогенного воздействия.....	112
Лукиянова Т.С, Матвеев Н.П., Ганина Т.Д., Сушкова И.В. Современные проблемы пожароопасных территорий Западной Мещеры.....	117
Никитина М.В., Попова Л.Ф. Трансформация подвижных форм металлов в почвах городских ландшафтов.....	122
Панков С.А. Моделирование эколого-экономических аспектов землепользования на месторождении общераспространенных полезных ископаемых.....	127

РАЗДЕЛ III. ХИМИЯ

Боголицын К.Г., Бойцова Т.А., Кузнецова И.А., Ларионов Н.С., Паламарчук И.А., Аксенов А.С., Бровко О.С. Особенности комплексобразующих и сорбционных свойств гуминовых кислот верхового торфа Архангельской области.....	132
Стовбун С.В., Михайлов А.И., Скоблин А.А. Определение понятия наноразмерности через энергетический спектр объектов.....	140
Наши авторы.....	144

CONTENTS

SECTION I. BIOLOGY

H. Abiyev, M. Mehrabova, Sh. Topchiyeva, E. Babayev Identifying radionuclids in snake venom and possibilities of creating detectors on their basis.....	7
N. Alesina, T. Snisarenko Influence of oil-contaminated soils on actinomyces by example of <i>Avena sativa</i>	12
A. Ahmedova, S. Gulahmedov, A. Kuliyeu Effect of different factors on proteolytic activity of strain <i>Enterococcus faecalis</i> AN1	17
S. Gavrilova, A. Deviatov Anatomic-morphological structure of fruit species <i>Viola</i> L.	21
V. Gogolitzyn The distribution of chlorophylls in the mouth of the Northern Dvina river	29
A. Zhukovskaya, N. Belcheva, V. Chelomin Involvement of high molecular weight Cd-binding proteins in Cd-accumulation in the scallop <i>Mizuhopecten yessoensis</i>	36
A. Zanin S., Stovbun Calibration of the inhaler for the production of submicroscopic fraction	43
L. Katunina, T. Taran, O. Startseva, L. Timchenko, N. Pen'cova, D. Areshidze Working out of new nutrient mediums for cultivating legionella on the basis of carrot acid hydrolization with the use of nonconventional stimulating additives	45
A. Konichev, P. Baurin, N. Fedorovskiy, A. Marakhova, M. Chernikova	49
S. Kurcheva Elaborating biotechnology for producing immunodiagnostic preparations for tularemia pathogene detection	55
T. Larichev On the issue of nesting biology of the booted eagle on the territory of European Russia	58
A. Martyshov Influence of the set of exercises on the development of adaptive body reactions of single combat wrestler to physical stress during training sessions in adaptive mode	60
L. Polikarpova Seasonal dynamics of acid phosphatase and nucleases activity in liver and branchiae of bream (<i>Abramis brama</i>)	65
Z. Rasulzade, L. Huseynova, F. Akhmedova, P. Muradov The results of oil polluted soils remediation <i>In situ</i> by introducing the <i>Rhodococcus erythropolis</i> culture	69
G. Rasulova, F. Gakhramanova, V. Abbasov, R. Agabekova Antibacterial influence of the composition of naphthalen oil fractions and essential oils of plants	73
I. Rachkov The use of oxiprogesterone capronat for early embryonic losses prophylaxis	79
S. Stovbun, D. Safronov, V. Kuchеров, T. Farzaliev, V. Chekameyeva Anti-inflammatory panavir effect in simulation experiments and clinical practice	82
V. Slobodskova, V. Chelomin, E. Solodova Use of the mollusc <i>Corbicula japonica</i> (<i>bivalvia</i>) to estimate genotoxicity of estuarine waters	86
S. Stovbun, A. Mikhailov, A. Zanin, R. Kostyanovsky Chirality by self-ordering of strings in liquid phase and le parsimoniae in nature	92
L. Timchenko, S. Chernikov, G. Blazhnova, D. Areshidze Indexes of the physical development of the chick embryo	98
A. Filonenko Pericarp histogenesis and fruit structure of <i>Fontanesia</i> (<i>oleaceae</i>) in relation with its systematic position	102
A. Filonenko Structure and development of trichomes on <i>Fruit</i> of genus <i>fraxinus</i> (<i>oleaceae</i>)	107

SECTION II. GEOGRAPHY

Yu. Zver'kova The contemporary state of the river dneperon the territiry of the Smolensk regionunder the condition of anthropogenic influence	112
T. Lukyanova, N. Matveyev, T. Ganina, I. Sushkova Current issues of fire risk territories of West Meschera	117
M. Nikitina, L. Popova Transformation of mobile forms of metals in the soilsof urban landscapes	122
S. Pankov Modeling ecological and economic aspectsof land-utilization at widespread minerals deposits ...	127

SECTION III. CHEMISTRY

K. Bogolitsyn, T. Boitsova, I. Kuznetsova, N. Larionov, I. Palamarchuk, A. Aksyonov, O. Brovko Complexation and sorption propertiesof humic acid extracted out of Arkhngelsk peat	132
S. Stovbun, A. Mikhailov, A. Skoblin Definition of nanoparticles through the energyspectrum of objects	140
Our autors.....	144

РАЗДЕЛ I БИОЛОГИЯ

УДК 573.4,577.3

Абиев Г.А., Мехрабова М.А.

Институт радиационных проблем НАНА (Баку)

Топчиева Ш.А., Бабаев Э.Т.

Институт зоологии НАНА (Баку)

ОПРЕДЕЛЕНИЕ РАДИОНУКЛИДОВ В СОСТАВЕ ЗМЕИНОГО ЯДА И ВОЗМОЖНОСТИ СОЗДАНИЯ ДЕТЕКТОРОВ НА ИХ ОСНОВЕ

H. Abiyev, M. Mehrabova

Institute of Radiation Problems of ANAS (Baku)

Sh. Topchiyeva, E. Babayev

Institute of Zoology of ANAS (Baku)

IDENTIFYING RADIONUCLIDS IN SNAKE VENOM AND POSSIBILITIES OF CREATING DETECTORS ON THEIR BASIS

Аннотация. Было определено наличие радионуклидов низкой активности в образцах змеиного яда. Выявлена активность урана и цезия в составе кристаллов змеиного яда. Впервые создан гетероконттакт моноселе-нид индия р-типа проводимости и кристаллов змеиного яда. Исследовано влияние технологических факторов на электрические характеристики гетероконттакта. Показано, что в этом контакте кристаллы змеиного яда ведут себя аналогично полупроводнику р-типа проводимости. Обнаружено, что исследуемый гетероконттакт обладает заметной фоточувствительностью в ближней области инфракрасного спектрального диапазона. Рассматривается вопрос о применении змеиного яда в приборостроении в качестве фотодетектора.

Ключевые слова: яд, гюрза, *Macrovipera lebetina obtusa*, гетероконттакт, цезий радионуклиды, детекторы.

Abstract. The presence of radionuclids of low activity has been stated in the samples of snake venom, namely uranium and caesium. For the first time heterocontact monocelenid, indium p-type of conductivity and crystals of snake venom has been created. The influence of technological factors on electric characteristics of heterocontact has been investigated. It is shown that in this contact the crystals of snake venom behave similarly to the semiconductor of r-type of conductivity. It has been revealed that the investigated heterocontact possesses appreciable photosensitivity in the area next to an infra-red spectral range. The question of snake venom application as photodetector in instrument making has been considered.

Key words: venom, vipera, *Macrovipera lebetina obtusa*, heterocontact, caesium, radionuclids, detectors.

Введение. Яды змей издавна привлекали внимание ученых как источники лекарственных средств, однако лишь в последние десятилетия в этом направлении достигнуты важные успехи. Змеиные яды представляют большую ценность для медицины и биологии [5, 791-799;

7, 138-143; 8, 268-269].

В результате активной деятельности человека все живые организмы на планете, в том числе и змеи, стали подвергаться дополнительному воздействию радиационного излучения. Два вида излучения – рентгеновские и гамма-лучи производят ионизирующее действие, α - и β -лучи имеют малую проникающую способность. Их влияние на облучаемые материалы незначительно.

Действие ионизирующей радиации на живой организм интересовало мировую науку с момента открытия и первых же шагов применения радиоактивного излучения, так как с самого начала исследователи столкнулись с его отрицательными эффектами. За последние годы радиационный фон окружающей среды, который на протяжении последних нескольких тысячелетий оставался стабильным, возрастает. С этой точки зрения изучение влияния радиации на окружающую среду представляет огромный интерес. Цель работы – выявление влияния радиации на яд кавказской гюрзы и возможности создания

детекторов на их основе.

Материалы и методы исследования. Материалом исследования являлся стандартный яд гюрзы. Определение тяжелых металлов в яде гюрзы проводили методом атомно-абсорбционной спектроскопии на атомно-абсорбционном спектрометре AAS-300 (Perkin Elmer, USA). Содержания радионуклидов в образцах змеиного яда, почв, растений и воды были проведены на гамма спектрометре «Canberra» с Ge HP-детектором (рис. 1).

Результаты исследования и их обсуждение. Методом атомно-абсорбционной спектроскопии на AAS-300 (Perkin Elmer, USA) в яде гюрзы определены содержание следующих металлов: Cd (0.012%), Ca(1.234%), Fe (0.487%), Cr(0.171%), Zn (0.78%). Часть змеиного яда была подвергнута анализу на содержание радионуклидов на установке «CANBERRA», γ -spectrometers with HP Ge detector (рис.1). Время эксперимента – 24 часа. Спектр, определяющий активность радионуклидов в змеином яде представлен на рис. 2.



Рис.1. «CANBERRA», γ -spectrometers with HP Ge detector.

Нами было определено наличие природных радионуклидов низкой активности в образцах змеиного яда. Выявленная активность элемента урана в спектре яда является результатом радиационного фона, который

образуется при воздействии этого элемента в окружающей среде. После Чернобыльских событий в некоторых регионах Азербайджана в настоящее время имеется радиационный фон от элемента цезия. Это в свою очередь влияет на флору и фауну Азербайджана.

Наличие малой активности радионуклидов в исследуемых образцах яда свидетельствует о наличии влияния окружающей среды на продукты жизнедеятельности змей.

Радиационный фон радионуклидов (радий, цезий), определенный в змеином яде представлен в табл. 1. В таблице представлены радиоактивные элементы, имеющиеся в составе змеиного яда.

Исследования свойств различных классов гетероконтактов непрерывно расширяются, что в конечном итоге приводит как к совершенствованию параметров полупро-

водниковых приборов традиционного назначения, так и к обнаружению новых функциональных зависимостей, инициирующих разработки новых приборов и систем [1, 13-18]. В ряде недавних работ приводятся результаты исследований физических свойств биологических объектов [2, 36-41], а также полупроводник/биологический объект. При определенном конструктивном решении основные фотоэлектрические параметры таких структур могут быть на уровне или даже значительно превышать аналогичные величины серийно выпускаемых традиционных уст-

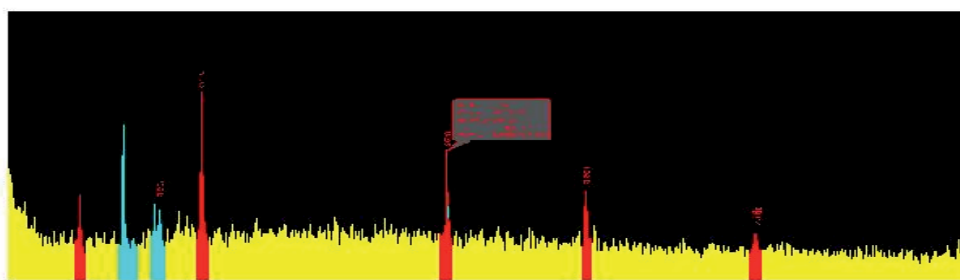


Рис.2. Спектр, определяющий активность радионуклидов в змеином яде.

Таблица 1

Радиационная активность элементов в змеином яде

Элементы	Радиационная активность, mBk/g
Ra ²²⁸	0.174 ± 0.090
Ra ²²⁶	2.48 ± 0.05
Cs ¹³⁷	MDA=0.315

ройств [3, 1201-1204; 4, 14; 6, 3541-3543].

В данной работе приводятся результаты первых исследований гетероконтакта полупроводник - кристаллы змеиного яда (на примере моноселенида индия InSe р-типа проводимости). Мы использовали змеиный яд в качестве материала для изготовления фоточувствительных устройств. Для изготовления гетероструктур использовались подложки из моноселенида индия InSe р-типа проводимости с концентрацией носителей заряда $p \approx 10^{14} \text{ см}^{-3}$ при $T = 300 \text{ K}$. Выбор данного полупроводника обусловлен целым рядом факторов, среди которых следует вы-

делять следующие:

- его слоистая структура, т. е. возможность получения путем скола моноселенида индия в воздушной атмосфере пластин с атомарно-зеркальной поверхностью и низким числом поверхностных состояний (меньше чем 10^{10} см^{-2});
- способностью создавать на его основе выпрямляющие барьеры в контакте с материалами как с меньшей, так и с большей работой выхода.

На свежесколотые полупроводниковые подложки с предварительно нанесенным с тыльной стороны омическим (серебря-

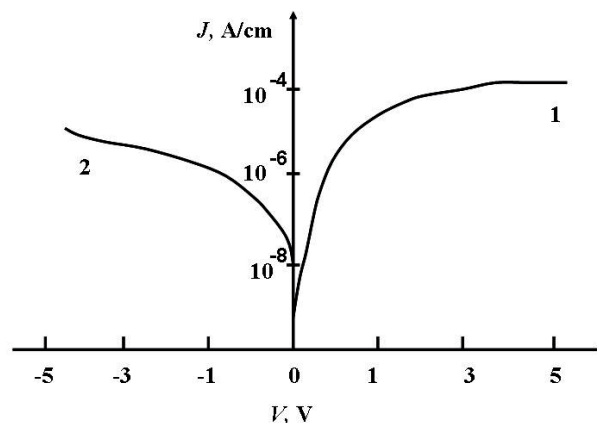


Рис. 3. Стационарные ВАХ гетероконтакта змеиный яд - p-InSe при температуре $T=300$ К. пропускное направление отвечает: 1- положительной, 2- отрицательной полярности внешнего смещения на змеиный яд.

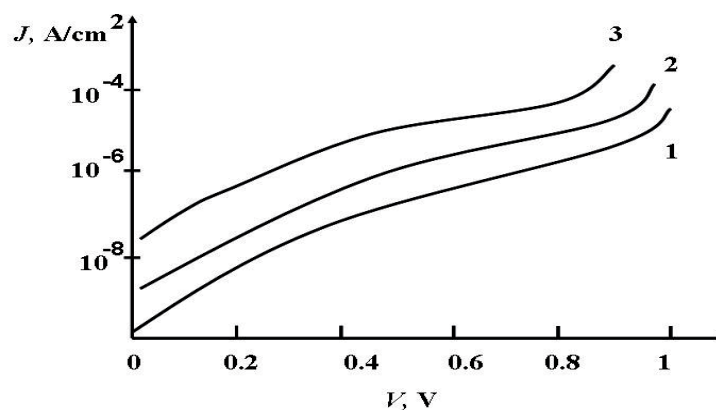


Рис. 4. Прямые ветви ВАХ гетероконтакта змеиный яд - p-InSe при различных температурах: 1- $T=220$ К; 2- $T=239$ К; 3- $T=300$ К.

ным) контактом наносилась капля спиртово-водного раствора змеиного яда. Для получения равномерной по толщине пленки полупроводниковая подложка помещалась на центрифугу. Для токо-вывода со стороны змеиного яда также использовалось серебро. Толщина полученных таким образом пленок змеиного яда была в пределах $10\text{--}30\text{ }\mu\text{m}$, а их удельная проводимость составляла $\approx 10^{-8}\text{--}10^{-10}\text{ }\Omega^{-1}\text{cm}^{-1}$.

Измеренные стационарные вольт-амперные характеристики (ВАХ) змеиный яд - p-InSe проявляют четкий эффект выпрямления (рис. 1, зависимости 1): при напряжениях смещения $|V| = 2\text{--}2.5\text{ V}$ прямой ток превышает обратный не менее чем в 10^2 . При этом пропускное направление ВАХ соответствует

подключению плюса внешнего источника тока к p-InSe к змеиному яду. Принимая во внимание увеличение удельного сопротивления змеиного яда, этот факт может свидетельствовать о том, что биологический объект в контакте с полупроводником ведет себя аналогично материалу р-типа проводимости. При освещении структур змеиный яд-p-InSe возникает фотоэдс, причем змеиный яд заряжается положительно, что коррелируется с направлением пропускания ВАХ, соответствующих гетероконтакту. Максимальные значения напряжения холостого хода U достигались при освещении структур со стороны змеиного яда и при мощности падающего светового потока 100 mW/cm^2 составляли $\sim 0.45\text{ V}$.

Когда большая часть напряжения падает на змеиный яд, прямые ветви ВАХ такого гетероконтакта с учетом последовательного дифференциального сопротивления при $T=300\text{ K}$ (рис. 3, зависимость) имеют три участка в области низких смещений (рис. 4):

$J \sim \exp\{eV/nkT\}$, где $n \approx 2$.

При $V \approx 4-9\text{ V}$ $J \sim \exp(\alpha V + \beta T)$, где α - и β -параметры, не зависящие от напряжения и температуры.

При $V > 8.7-9\text{ V}$ $J \sim \exp\{eV/nkT\}$, где $n \approx 1$.

Таким образом, несмотря на проведенные исследования и полученные результаты, механизм фоточувствительности змеиный яд - p-InSe пока что до конца не ясен.

Выводы. На основе полученных данных анализов можно констатировать, что исследуемый яд пригоден для приготовления лекарственных препаратов на основе змеиного яда. Наличие малой активности радионуклидов в стандартном яде, обеспечивает безвредность применения змеиного яда в фармацевтической промышленности при приготовления лекарственных препаратов.

Результаты первых исследований змеиный яд -p-InSe позволяют расширить диапазон материалов, используемых для изготовления фотодетекторов для ближней инфракрасной области спектрального диапазона. В гетероконтакте змеиный яд-p-InSe ведет себя как полупроводник p-типа проводимости. Оп-

ределение элемента, „отвечающего” за чувствительность змеиный яд -p-InSe в инфракрасной области спектрального диапазона и увеличение его концентрации в змеином яде, может привести к созданию фотоприемников с конкурентоспособными фотоэлектрическими характеристиками.

ЛИТЕРАТУРА:

1. Алфёров Ж.И. // II ФТП. 1998. Т. 32. В. 1.
2. Грищук В.П., Давиденко С.А., Жолнер Я.Д., Вербицкий А.В., Курик М.В., Пирятинский Ю.Л. // II Письма в ЖТФ. 2002. Т. 28. В. 21.
3. Рудь Ю.В., Рудь В.Ю., Боднарь И.Л., Шаталова В.В., Ильчук Г.А. // II ФТП. 1999. Т. 33. В. 10.
4. Рудь В.Ю., Рудь Ю.В., Шпунт В.Х. // II ФТП. 1997. Т. 31. В. 2.
5. Galán, J.A., Sánchez, E.E., Rodríguez-Acosta, A., Pérez, J. C., Neutralization of venoms from two Southern Pacific Rattlesnakes (*Crotalus helleri*) with commercial antivenoms and endothermic animal sera // *Toxicon* - 2004. V.43.
6. Rinaldi R., Branca E., Cingolani R., Masiero S., Spada G.P., Gollarelli G. // II Appl. Phys. Lett. 2001. V. 78. N 22.
7. Topchiyeva Sh.A., Abiyev H.A. Effect of γ -irradiation on Spectral Characteristics of Lebetiba Viper // Journal of "News" ANAS. Series of Biology. Baku, 2006. № 5-6.
8. Topchiyeva Sh.A., Mehrabova M.A., Abiyev H.A., Babayev E.T. Application of Ionizing Radiation of Sterilization on the Basis of Snake Venom // V Eurasian Conference on Nuclear Science and its Application. 2008, 14-17 October, Ankara-Turkey.

УДК 579.22

Алесина Н.В., Снисаренко Т.А.

Московский государственный областной университет

**ВЛИЯНИЕ ЗАГРЯЗНЕНИЯ ПОЧВЫ НЕФТЕПРОДУКТАМИ
НА АКТИНОМИЦЕТЫ, ОБИТАЮЩИЕ НА КОРНЯХ РАСТЕНИЙ
НА ПРИМЕРЕ ОВСА ПОСЕВНОГО (*AVENA SATIVA*)**

N. Alesina, T. Snisarenko

Moscow State Regional University

**INFLUENCE OF OIL-CONTAMINATED SOILS ON ACTINOMYCES
BY EXAMPLE OF *AVENA SATIVA***

Аннотация. Целью работы являлось изучение влияния загрязнения почвы нефтепродуктами на одну из групп микрофлоры ризосферы и ризопланы травянистых растений на протяжении всего периода вегетации, а именно на группу актиномицетов. В работе, в лабораторных условиях, моделировалось 1% (слабое) и 5% (среднее) загрязнение почвы нефтепродуктами. Микробиологический учёт в зоне ризопланы и ризосферы производили отдельно. Выявлена закономерность, между степенью нефтезагрязнения почвы и количеством обнаруженных микроорганизмов группы актиномицетов.

Ключевые слова. Микроорганизмы, ризосфера, ризоплана, влияние, нефтезагрязнение, актиномицеты.

Summary. The aim was to study the influence of oil-contaminated soils in one of the groups of rhizosphere microflora and rizoplany throughout the growing season, namely a group of actinomycetes. We modeled the 1% (weak) and 5% (average) of soil contamination with oil products. The microbiological account in a zone rizoplany and rhizosphere made separately. Pattern, between degree of oil-contaminated of soil and quantity of the found out microorganisms of group actinomycetes is taped.

Key words. Microorganisms, rhizosphere, rizoplana, the impact of pollution, actinomycetes.

Развивающаяся корневая система, проникая в глубь почвы, вступает во взаимодействие с почвенными микроорганизмами, животными и корнями других растений. Вокруг корня формируется так называемая ризосфера – окружающее корень пространство почвы, характеризующееся более высокой плотностью микроорганизмов. Размер ризосферы исчисляется примерно от 0 до 8 мм в диаметре, количество микробных клеток в ней может превышать их число в окружающей почве в сотни раз. Ризосфера является областью интенсивной микробной активности, управляемой корневыми экссудатами. Полезные свободно живущие, или «ассоциативные» бактерии могут быть обнаружены среди этих микроорганизмов точно так же, как и возбудители заболеваний растений или нейтральные для растения-хозяина.

Актиномицеты (*Actinomicetes*), стрептомицеты, лучистые грибки – группа микроорганизмов, соединяющая в себе черты бактерий и грибов. Для них характерно нитевидное или палочковидное и кокковидное строение и наличие боковых выростов.

К актиномицетам относятся: собственно актиномицеты (род *Actinomyces*), образующие споры на спороносцах, формирующиеся в виде длинных цепочек путём сегментации или фрагментации спороносцев; проактиномицеты (*Proactinomyces*) с хорошо развитым мицелием, распадающимся на палочки и кокки; микобактерии (*Mycobacterium*) с типичным ветвлением мицелия в виде палочковидных клеток, размножающихся делением (перешнуровыванием); микококки

(*Mucosoccus*) в виде округлых неправильно очерченных клеток (часто с боковыми выростами-почками), размножающихся перешнуровыванием и почкованием; микромоноспоров (*Micromonospora*) – группа, объединяющая 4 рода (*Micromonospora*, *Microbispora*, *Micropolyspora* и *Actinobifida*); формы со сложными органами плодonoшения – спорангиями со спорами внутри (*Streptosporangium*, *Actinosporangium* и др.); формы, образующие споры со жгутиками (*Actinoplanes*, *Dermatophilus* и др.).

Живут актиномицеты в самых разных условиях: в аэробных и анаэробных, при t 5-7 и 45-70°C. Актиномицеты участвуют в разнообразных почвенных процессах (аммонификация, разложение клетчатки, синтез и разложение перегноя). Многие актиномицеты продуцируют антибиотики, витамины, пигменты, аминокислоты и другие биологически активные вещества.

Актиномицеты широко распространены в природе и легко культивируются в лабораторных условиях. Они непривередливы к количеству и качеству питательных веществ и поселяются даже на скалистых обрывах, на которых почти нет органических веществ. Для усвоения различных белковых веществ животного и растительного происхождения эти микроорганизмы используют целый набор ферментов, которые наряду с азотом минеральных солей помогают грибам питаться азотом органических соединений. Углерод актиномицеты получают из спиртов и полисахаридов, крахмала и сахарозы. Некоторые из этих микробов приспособились к «углеводородному» питанию за счет керосина и бензина, каучука и поливинила, а также асфальта и битума. Наиболее распространены и обнаруживаются в почве представители почти всех родов актиномицетов. Актиномицеты обычно составляют четверть бактерий, вырастающих на традиционных средах при посевах их разведённых почвенных суспензий. Их экологическая роль заключается чаще всего в разложении сложных устойчивых субстратов; предположительно они участвуют в синтезе и разложении гумусовых веществ [4; 9].

В нашем исследовании мы производили

учёт актиномицетов, выделенных из зоны ризосферы травянистых растений (овса полевого) в условиях загрязнения почвы нефтепродуктами (использовалось дизельное топливо). Моделировали слабое (1%) и среднее (5%) нефтезагрязнение почвы.

Нефть и нефтепродукты являются одними из распространенных и опасных загрязнителей окружающей среды. Загрязнение нефтью почвы сопровождается сильным негативным воздействием на растения [2, 121-150] из-за изменения ее физико-химических свойств, главным образом за счет увеличения гидрофобности и заполнения нефтью почвенных капилляров и прямого токсического действия углеводородов нефти (фитотоксичности) [2, 121-150; 8, 59-64], обусловленного развитием в ней микромицетов, образующих токсины [8, 59-64; 10].

Цель нашего исследования - экспериментальная оценка воздействия 1% и 5% нефтяного загрязнения почвы на микроорганизмы группы актиномицетов, обнаруженных в зоне ризосферы и ризопланы травянистых растений.

В работе использован овёс посевной (*Avena sativa*). Почва для лабораторных экспериментов суглинистая дерново-подзолистая, содержание гумуса 5.2%, рН водной вытяжки 6,2. В лабораторных условиях растения для анализа численности микроорганизмов, обитающих в прикорневой зоне (ризосфере) и зоне непосредственного примыкания к корням (ризоплане), выращивали в сосудах, вмещающих 3 кг почвы, по 100 растений в каждом. Влажность почвы поддерживали на уровне 60% полной влагоемкости, а температуру – на уровне 18-20 °С.

Микробиологический анализ ризосферы (почвы, на которую воздействуют корни растений) и ризопланы (поверхности корней растений) проводили согласно руководству [3]. Для количественного учета бактерий использовали метод десятичных предельных разведений с применением для пересчета таблиц Мак-Креди [3; 7]. Количество выделенных актиномицетов подсчитывали на чашках со средой Чапека.

Исследования микробного ценоза ризосферы и ризопланы проводилось в разных фазах

развития растений (фазы кущения, колошения, цветения и созревания).

Контролем служили образцы растений, выросших в лабораторных условиях, но без антропогенной нагрузки на почву.

В результате опыта нами были получены следующие данные:

1. В контрольных образцах было обнаружено следующее количество микроорганизмов группы актиномицетов (см. табл. 1, 2).

Таблица 1

Количество актиномицетов, выделенных из ризосферы овса, на различных стадиях развития растения. Анализ растений, выросших в лабораторных условиях без антропогенного влияния на почву (число микроорганизмов в тыс. на 1 г почвы)

Фаза вегетации растения	Количество выделенных актиномицетов
Кущение	3,3*10 ¹
Колошение	1,2*10 ¹
Цветение	1,6*10 ¹
Созревание	3,4*10 ¹

Таблица 2

Количество актиномицетов, выделенных из ризопланы овса, на различных стадиях развития растения. Анализ растений, выросших в лабораторных условиях без антропогенного влияния на почву (число микроорганизмов в тыс. на 1 г почвы).

Фаза вегетации растения	Количество выделенных актиномицетов
Кущение	2*10
Колошение	7*10
Цветение	1,1*10 ¹
Созревание	3,2*10 ¹

2. При 1% загрязнении почвы нефтепродуктами было обнаружено следующее количество микроорганизмов группы актиномицетов (см. табл. 3, 4).

Таблица 3

Количество актиномицетов, выделенных из ризосферы овса, на различных стадиях развития растения. Анализ растений, выросших в условиях 1% загрязнения почвы нефтепродуктами (число микроорганизмов в тыс. на 1 г почвы).

Фаза вегетации растения	Количество выделенных актиномицетов
Кущение	6*10 ¹
Колошение	2*10 ¹
Цветение	2,5*10 ¹
Созревание	4,7*10 ¹

Таблица 4

Количество актиномицетов, выделенных из ризопланы овса, на различных стадиях развития растения. Анализ растений, выросших в условиях 1% загрязнения почвы нефтепродуктами (число микроорганизмов в тыс. на 1 г почвы).

Фаза вегетации растения	Количество выделенных актиномицетов
Кущение	$7 \cdot 10$
Колошение	$1 \cdot 10^1$
Цветение	$1,5 \cdot 10^1$
Созревание	$4 \cdot 10^1$

3. При 1% загрязнении почвы нефтепродуктами было обнаружено следующее количество микроорганизмов группы актиномицетов (см. табл. 5, 6).

Таблица 5

Количество актиномицетов, выделенных из ризосферы овса, на различных стадиях развития растения. Анализ растений, выросших в условиях 5% загрязнения почвы нефтепродуктами (число микроорганизмов в тыс. на 1 г почвы).

Фаза вегетации растения	Количество выделенных актиномицетов
Кущение	$9 \cdot 10^1$
Колошение	$5,5 \cdot 10^1$
Цветение	$8,1 \cdot 10^1$
Созревание	$9,4 \cdot 10^1$

Таблица 6

Количество актиномицетов, выделенных из ризопланы овса, на различных стадиях развития растения. Анализ растений, выросших в условиях 5% загрязнения почвы нефтепродуктами (число микроорганизмов в тыс. на 1 г почвы).

Фаза вегетации растения	Количество выделенных актиномицетов
Кущение	$1,2 \cdot 10^1$
Колошение	$1,8 \cdot 10^1$
Цветение	$2,6 \cdot 10^1$
Созревание	$5,2 \cdot 10^1$

Было отмечено, что в зоне ризосферы растений актиномицеты представлены многочисленней, чем в ризоплане. Наибольшее их количество было обнаружено в фазе созревания, т. е. «старения» растений. Разница между фазами кущения и созревания составила практически 10 раз в образцах ризосферы и от 4 до 16 (контроль) раз – в образцах ризопланы.

Также, как видно из предложенных таблиц, загрязнение почвы нефтепродуктами стимулирует развитие группы актиномицетов; причём чем выше степень загрязнения почвы, тем интенсивней актиномицеты размножаются как в ризосфере, так и в ризоплане. Более наглядно демонстрируют эту динамику предложенные диаграммы (рис.1, 2).

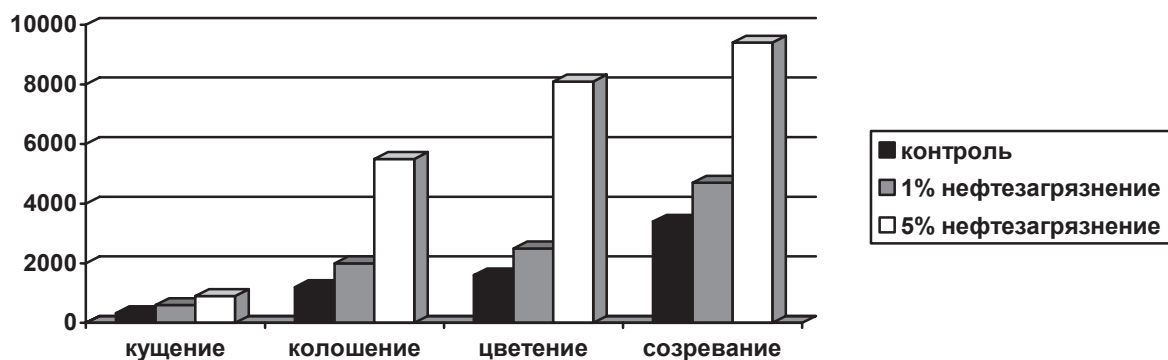


Рис 1. Динамика количества актиномицетов в образцах ризосферы при различной степени загрязненности почвы нефтепродуктами.

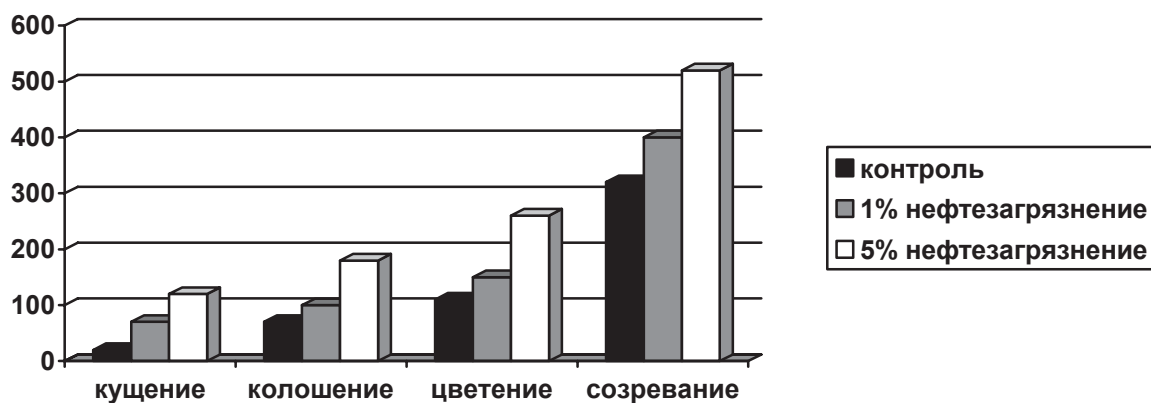


Рис 2. Динамика количества актиномицетов в образцах ризопланы при различной степени загрязненности почвы нефтепродуктами.

ЛИТЕРАТУРА:

1. Гельцер Ф.Ю. Симбиоз с микроорганизмами - основа жизни растений. М., 1990.
2. Гузев В.С., Левин С.В., Селецкий Г.И., и др. Роль почвенной микробиоты в рекультивации нефтезагрязненных почв. // Микроорганизмы и охрана почв. М.: Изд-во МГУ, 1989.
3. Егоров Н.С. Руководство к практическим занятиям по микробиологии. М.: изд-во МГУ, 1995.
4. Емцев В.Т., Мишустин Е.Н. Микробиология. М., 2006.
5. Заварзин Г.А. Лекции по природоведческой микробиологии. М., 2003.
6. Звягинцев Д.Г. Почва и микроорганизмы. М.: изд-во МГУ, 1987.
7. Методы почвенной микробиологии и биохимии. М.: изд-во МГУ, 1991.
8. Халимов Э.Н., Левин С.В., Гузев В.С. Экологические и микробиологические аспекты повреждающего действия нефти на свойства почвы // Вестн. МГУ. Сер.17. Почвоведение. 1996. № 2.
9. Экология микроорганизмов / под. ред. проф. А.И. Нетрусова. М., 2004.
10. McGrath D. Oil spillage on grassland effects on grass and soil // Farm Food Res. 1988. T.19. № 5.

УДК: 581.19:577.157

Ахмедова А.Ф., Гюльахмедов С.Г., Кулиев А.А.
Бакинский государственный университет

ВЛИЯНИЕ РАЗЛИЧНЫХ ФАКТОРОВ НА ПРОТЕОЛИТИЧЕСКУЮ АКТИВНОСТЬ ШТАММА *ENTEROCOCCUS FAECALIS* AN1

A. Ahmedova, S. Gulahmedov, A. Kuliyeu
Baku State University

EFFECT OF DIFFERENT FACTORS ON PROTEOLYTIC ACTIVITY OF STRAIN *ENTEROCOCCUS FAECALIS* AN1

Аннотация: Цель данной работы состояла в изучении влияния температуры и pH среды на протеолитическую активность штамма *Enterococcus faecalis* AN1. Исследуемый штамм был изолирован из традиционного сыра, произведенного в Азербайджане. Влияние pH и температуры на протеолитическую активность исследовали с помощью непродливающей системы клеток. Наличие гидролиза белков молока проверяли с помощью электрофореза в додецил-сульфат-натрий-полиакриламидном геле. Изучение влияния pH на протеолитическую активность исследуемого штамма показало, что pH оптимум для протеолитических ферментов штамма *Enterococcus faecalis* AN1 находится в нейтральных значениях. Изучение протеолитической активности штамма при различных температурах показало наличие гидролиза субстрата при всех исследуемых значениях температуры, от 150С до 550С. Однако, температурный оптимум для протеаз данного штамма находится в пределах 30-370С.

Ключевые слова: *Enterococcus faecalis*, сыр, протеолитическая активность, pH среды, температура.

Abstract. The aim of this work was to study pH and temperature effect on proteolytic activity of strain *Enterococcus faecalis* AN1. The strain was isolated from traditional homemade dairy cheese of Azerbaijan and was identified as producer of proteolytic enzymes. Protein hydrolysis and peptides profiles arising from enzymatic activities of the studied strain were analyzed by SDS-PAGE. PH and temperature effect on proteolytic activity of the strain was studied in non proliferative cells system. Maximal protein degradation was observed in the pH range 6.0 - 7.2. Further increase or decrease of pH led to decrease in the proteolysis level. It can be concluded that the optimal pH values for proteinases activity of the strain in assayed system are in the neutral pH range. Optimal temperature for hydrolysis of caseins was found to be 30-37°C for strains A121, A124, A1221, A1232 and 37 °C in case of strains A71 and AN1. However, hydrolysis of substrate was observed in all assayed temperatures.

Key words: *Enterococcus faecalis*, cheese, proteolytic activity, pH, temperature.

Гидролиз казеинов молока играет важную роль в созревании и формировании текстуры ферментированных молочных продуктов [2, 8]. Первичный гидролиз казеинов молока осуществляется протеазами молочнокислых бактерий (далее по тексту – МБК), присутствующих как в качестве стартерных, так и в качестве нестартерных культур в ферментированных молочных продуктах [6, 7]. Протеолитическая система МБК обеспечивает их аминокислотами, необходимыми для роста и жизнедеятельности, и включает 3 компонента: экзопроteaseы, которые связаны с клеточной стенкой и осуществляют первоначальный гидролиз казеинов молока до олигопептидов; транспортную систему, осуществляющую транспорт олигопептидов через клеточную стенку в цитоплазму; эндопептидазы – большого количества олиго- ди- и трипептидаз, которые осуществляют дальнейший гидролиз внутри клетки до аминокислот [1, 9].

Как известно, протеолитическая активность каждого штамма строго специфична и зависит от многих факторов, в том числе и от значений кислотности среды. В большинстве случаев МКБ продуцируют несколько различных экзопротеаз, которые обладают различными оптимумами pH [5]. Температура среды также имеет большое значение, поскольку температурный оптимум протеаз МКБ не всегда совпадает с оптимальной температурой для их роста [4].

Данные о протеолитической системе нестартерных МКБ, которые являются доминирующей микрофлорой традиционных сыров домашнего производства, крайне ограничены. Изолирование и изучение протеолитических штаммов МКБ из ферментированных молочнокислых продуктов открывает огромные перспективы в плане разработки новых стартерных культур. Более того, применение протеолитических штаммов МКБ в качестве стартерных культур позволит снизить аллергенность молочных белков и разработать гипоаллергенные молочные продукты, а также ферментированные продукты, содержащие биологически активные пептиды [3, 12]. Цель данной работы состояла в изучении влияния температуры и pH среды на протеолитическую активность штамма *Enterococcus faecalis* AN1.

Материалы и методы

Бактериальные штаммы и условия культивирования. Штамм *Enterococcus faecalis* AN1, исследуемый в данной работе, был изолирован из традиционного сыра, произведенного в Азербайджане. Штамм хранился при температуре -80°C в 30% (о/о) глицероле. Перед использованием штамм дважды культивировали в M17 среде.

Влияние pH и температуры на протеолитическую активность. Влияние pH и температуры на протеолитическую активность исследовали с помощью непродливающей системы клеток. При использовании этого метода протеолитическая активность измерялась в стационарной фазе роста и при контролируемых значениях pH и температуры

среды. Свежую культуру исследуемого штамма культивировали на поверхности молоко-цитратагаризованной среды (обезжиренное молоко 4.4%, Na-цитрат 0.8%, дрожжевой экстракт 0.1%, глюкоза 0.5%, агар 1.5% (м/о)) [5] в чашках Петри для индукции протеаз. Через 48 часов клетки собирали с поверхности молоко-цитратагаризованной среды и растворяли в 100 мМ фосфатном буфере для получения клеточной суспензии с ОП600nm 20, что приблизительно равно 2×10^{10} КФЕ/мл. Далее в этом же буфере растворяли субстрат (смесь казеинов в концентрации 12 мг/мл), смешивали в равном количестве с клеточной суспензией и инкубировали в течении 24 ч. При изучении влияния температуры на протеолитическую активность для приготовления клеточной суспензии и раствора казеинов использовали 100 мМ фосфатный буфер со значением pH 7.0, и затем смесь клеток с субстратом инкубировали при различных температурах (20, 30, 37, 45 и 55°C). При изучении влияния pH на протеолитическую активность для приготовления клеточной суспензии и раствора казеинов использовали 100 мМ фосфатный буфер с различными значениями pH (5.4, 5.7, 6.0, 6.5, 7.2 and 8.0), и затем смесь клеток с субстратом инкубировали при температуре 37°C . В качестве контроля использовали раствор субстрата без клеток. В определенные интервалы времени смесь клеток с субстратом центрифугировали (10000 об /мин в течение 15 мин.) для осаждения клеток. Наличие гидролиза казеинов проверяли с помощью электрофореза в 12% додецил-сульфат-натрий-полиакриламидном геле (ДС-Na-ПААГ), с концентрацией акриламида 12%. Надосадочную жидкость смешивали в равном количестве с раствором для введения образцов в гель (ДС-Na 4%; Трис HCl 50 мМ pH 6,8; глицерин 20%; бромфенол синий; β -меркаптоэтанол) и подвергали термической обработке для денатурации белков (100°C 3 мин). Электрофорез был проведен в аппарате Mini Protean II Gel Electrophoresis (Bio-Rad Hercules, Калифорния, США) по методу Laemmli [10]. Процент гидролиза казеинов рассчитывали при помощи денсито-

метрического анализа гелей, проведенного с использованием программного приложения Fuji Film Image Gauge V3.0 software (Fuji Photo Film Co. Ltd. Japan).

Результаты

Штамм *Enterococcus faecalis* AN1 является продуцентом протеолитических ферментов, которые гидролизуют α_{s1} - и β -казеины молока. В данной работе мы исследовали влияние различных факторов, таких, как pH и температура среды, на протеолитическую активность этого штамма.

Изучение влияния pH на протеолитическую активность исследуемого штамма показало, что значение кислотности среды имеет большое влияние на эффективность гидро-

лиза субстрата продуцируемыми им протеазами. Рис. 1 отображает гель с профилем гидролиза субстрата при инкубации клеток в условиях различных значений pH среды. Степень гидролиза определяли через 24 часа инкубации с субстратом. Как видно на геле, при pH 5.4 гидролиз казеинов не наблюдался. Мы можем заключить, что протеазы, продуцируемые исследуемым штаммом, не активны при кислых значениях среды. При pH 5.7 наблюдался частичный гидролиз субстрата. При значениях pH от 6.0 до 7.2 протеазы полностью расщепляли субстрат. Согласно полученным результатам мы можем заключить, что pH оптимум для протеаз штамма *Enterococcus faecalis* AN1 находится в нейтральных значениях. Полученные результаты не про-

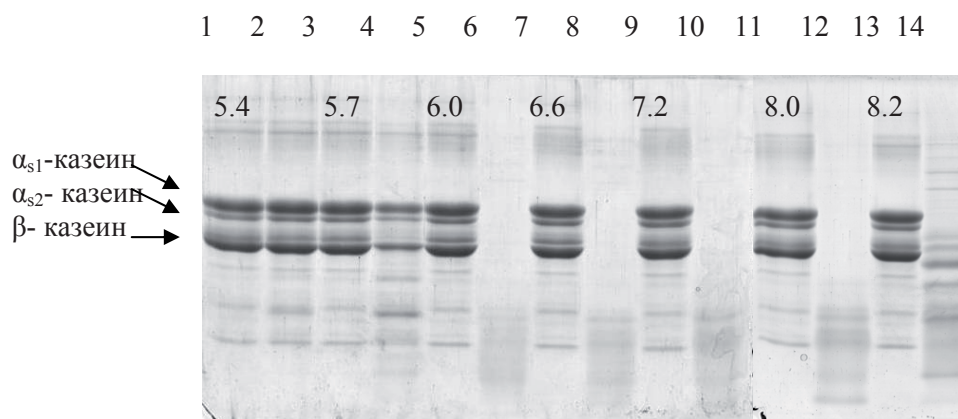


Рис. 1. Протеолитическая активность при различных значениях pH среды. Линии 1, 3, 5, 7, 9, 11, 13 – контроли (субстрат без клеток); линии 2, 4, 6, 8, 10, 12 – гидролизаты.

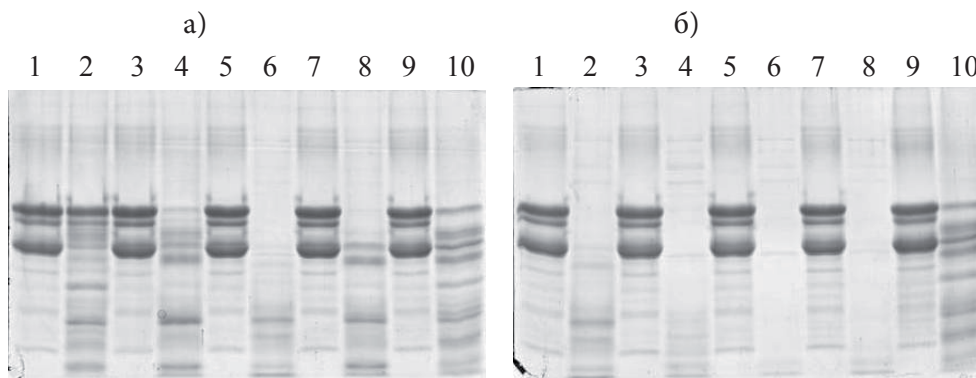


Рис. 2. Влияние температуры на протеолитическую активность штамма *Enterococcus faecalis* AN1. а – 6 ч. инкубации, б – 24 ч. инкубации. Линии 1, 3, 5, 7, 9 – контроли (субстрат без клеток); Линии 2, 4, 6, 8, 10, 12 – гидролизаты.

тиворечат ранее полученным результатам изучения протеаз МКБ. Оптимальный гидролиз казеинов при нейтральных значениях pH среды наблюдался и в других исследованиях протеолитической активности различных штаммов МКБ [3, 13, 14].

В другом эксперименте мы исследовали влияние температуры среды на активность протеолитических ферментов, продуцируемых исследуемым штаммом. Для этого мы инкубировали клетки с казеинами при различных температурах. Степень гидролиза субстрата проверяли с помощью электрофореза в полиакриламидном геле через 6 ч и 24 часа инкубации с субстратом. На рис.2 отображены результаты данного эксперимента. Как видно на геле (рис 2а), гидролиз субстрата наблюдался при всех исследуемых значениях температуры, от 15 °С до 55 °С. Однако протеолитические ферменты расщепляли субстрат с различной степенью эффективности в зависимости от температуры инкубации. Через 6 ч. инкубации с субстратом наиболее эффективный гидролиз наблюдался при 37 и 45 °С. Через 24 ч инкубации (рис 2б) полный гидролиз субстрата наблюдался при всех исследуемых температурах, кроме 55 °С.

Согласно полученным результатам мы можем заключить, что влияние температуры на протеолитическую активность исследуемого штамма незначительно, и степень гидролиза субстрата зависела больше от времени инкубации. Тем не менее, результаты, полученные после 6 ч. инкубации клеток с субстратом, позволяют заключить, что температурный оптимум для протеаз данного штамма находится в пределах 30-37 °С. Следует отметить, что согласно данным предыдущих исследований, оптимальная температура для протеолитической активности МКБ не всегда совпадает с оптимальной температурой роста [4, 5].

Полученные данные имеют ценность и актуальность, поскольку данные о протеолитической активности энтерококков очень ограничены, и большинство исследований в этой области проводились с лактобацил-

лами. Результаты данной работы указывают на наличие эффективной протеолитической системы у энтерококков, что делает их потенциальными кандидатами для пищевой промышленности.

ЛИТЕРАТУРА:

1. Bjurlin M.A., Bloomer S., Nelson C.J. 2002. Characterization of proteolytic activity of proteases. *Biotechnology Letters* 24: 191-195.
2. Centeno J.A., Menendez S., Hermida M., Rodriguez-Otero J.L. 1999. Effect of the addition of *Enterococcus faecalis* in Cebreiro cheese manufacture. *International Journal of Food Microbiology* 48: 97-111.
3. El-Ghaish S., Dalgarrondo M., Choiset Y., Sitohy M., Ivanova I., Haertli T., Chobert J.-M. 2010. Characterization of a new isolate of *Lactobacillus fermentum* IFO 3956 from Egyptian Ras cheese with proteolytic activity. *European Food Research and Technology* 230: 635-643.
4. Exterkate F., Alting A., Bruinenberg P. 1993. Diversity of cell envelope proteinase specificity among strains of *Lactococcus lactis* and its relationship to charge characteristics of the substrate-binding region. *Applied and Environmental Microbiology* 59, 3640-3647.
5. Fira D., Kojic M., Banina A., Spasojevic I., Strahinic I., Topisirovic L. 2001. Characterization of cell envelope-associated proteinases of thermophilic lactobacilli. *Journal of Applied Microbiology* 90: 123-130.
6. Foulquier-Moreno M.R., Sarantinopoulos P., Tsakalidou E., de Vuyst, L. 2006. The role and application of *Enterococci* in food and health. *International Journal of Food Microbiology* 106: 1-24.
7. Giraffa G. 2003. Functionality of *Enterococci* in dairy products. *International Journal of Food Microbiology* 88: 215-222.
8. Jensen J.P., Reinbold G.W., Washam C.J., Vedamuthu E.R. 1975. Role of *Enterococci* in Cheddar cheese: proteolytic activity and lactic acid development. *Journal of Milk and Food Technology* 38: 3-7.
9. Kunji E.R.S., Mierau I., Hagfing A., Poolman B.I., Konings W.N. 1996. The proteolytic systems of lactic acid bacteria. *Antonie van Leeuwenhoek* 70: 187-221.
10. Laemmli U.K. 1970. Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. *Nature* 227: 680-685.
11. Psoni L., Kotzamanides C., Andrighetto C., Lombardi A., Tzanetakis N., Litopoulou-Tzanetaki E. 2006. Genotypic and phenotypic heterogeneity in *Enterococcus* isolates from Batzos, a raw goat milk

- cheese. International Journal of Food Microbiology 109: 109-120.
12. Sarantinopoulos P., Kalantzopoulos G., Tsakalidou E. 2001. Citrate metabolism by *Enterococcus faecalis* FAIR-E 229. Applied and Environmental Microbiology 67: 5482-5487.
13. Suzzi G., Caruso M., Gardini F., Lombardi A., Vannini L., Guerzoni M.E., Andrighetto C., Lanorte, M.T. 2000. A survey of the *Enterococci* isolated from an artisanal Italian goat's cheese (*Semicotto caprino*). Journal of Applied Microbiology 89: 267-274.
14. Veljovic K., Fira D., Terzic-Vidojevic A., Abriouel H., Galvez A., Topisirovic L. 2009. Evaluation of antimicrobial and proteolytic activity of *Enterococci* isolated from fermented products. European Food Research and Technology 230: 63-70.

УДК 581.47-681.26

Гаврилова С.Е.

Московский государственный областной университет

Девятков А.Г.

Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова

АНАТОМО-МОРФОЛОГИЧЕСКОЕ СТРОЕНИЕ ПЛОДОВ ВИДОВ РОДА *VIOLA* L.

S. Gavrilova

Moscow State Regional University

A. Deviatov

Lomonosov Moscow State University

ANATOMIC-MORPHOLOGICAL STRUCTURE OF FRUIT SPECIES *VIOLA* L.

Аннотация. В статье приводятся результаты анатомо-морфологического исследования плодов видов рода *Viola* L. Изучена ультраскульптура поверхности коробочек, анатомическое строение стенки и основания плода, типы устьичного аппарата, особенности вскрывшихся коробочек. Показана зависимость анатомического строения и механизма вскрывания плодов. Выделены основные карпоэкологические типы плодов.

Ключевые слова: *Viola* L., коробочка, гигрохазическое вскрывание, ксерохазическое вскрывание, экзокарпий, мезокарпий, эндокарпий.

Abstract: The article presents the results of anatomical and morphological study of the fruits of the genus *Viola* L. Ultraskulptura surface capsules, anatomical wall and the base of the fruit as well as the types of stomatal apparatus, especially uncovered capsules have been studied. The dependence of the anatomical structure and mechanism dehiscence fruits has been revealed. The basic carpoeekologikus types of fruits have been distinguished.

Key words: *Viola* L., capsula, dehiscencia gigrochastica, dehiscencia xerochastica, exocarpium, mesocarpium, endocarpium.

Плоды фиалок – продолговато-эллипсоидальные, реже шарообразные паракарпные коробочки, вскрывающиеся по спинным жилкам плодолистиков тремя лодочкообразными створками.

Важными признаками строения плодов, применяемыми в систематике рода *Viola* L., являются форма коробочек и характер их расположения. Данные признаки традиционно используются для диагностики видов секции *Viola* [2, 4, 5, 6]. В последнее время также было показано, что в систематике рода могут быть использованы признаки скульптуры поверхности коробочек, которые позволяют различать группы достаточно высокого ранга – подроды и секции [3].

У видов рода *Viola* коробочки образуются из хазмогамных и клейстогамных цветков (подрод *Viola*), или только из хазмогамных цветков (подрод *Melanium* (Ging.) Peterm.). Плоды хазмогамных цветков фиалок отличаются от плодов клейстогамных цветков большей шириной, наличием столбика на верхушке и отогнутыми нижними чашелистиками, между которыми проходил шпорец хазмогамного цветка [1, 7].

Вскрывание коробочек у одних видов происходит гигрохазически, без разбрасывания семян (секция *Viola*), у других – ксерохазически, с разбрасыванием семян на некоторое расстояние. Способ вскрывания коробочек напрямую связан со способом распространения семян [2].

Комплексное исследование строения плодов фиалок до последнего времени не проводилось. Остаются не обобщенными разрозненные данные о морфологическом и анатомическом строении плодов, механизме их вскрывания, взаимосвязи строения коробочек с экологическими условиями обитания видов.

Нами проведено всестороннее сравнительное изучение плодов видов рода *Viola*, произрастающих на территории Московской области (МО): *V. mirabilis* L., *V. hirta* L., *V. collina* Bess., *V. odorata* L., *V. montana* L., *V. persicifolia* Schreb., *V. nemoralis* Ktze., *V. canina* L., *V. rupestris* F.W.Schmidt, *V. riviniana* Reichenb.,

V. selkirkii Pursh ex Goldie, *V. uliginosa* Bess., *V. palustris* L., *V. epipsila* Ledeb., *V. arvensis* Murr., *V. matutina* Klok., *V. tricolor* L.

С целью изучения морфологических особенностей раскрывшихся коробочек и определения характера их расположения проведены наблюдения в природе, а также просмотрены гербарные коллекции УРАН Главного ботанического сада им. Н.В. Цицина РАН (МНА), Московского государственного университета им. М.В. Ломоносова (МГУ), Московского государственного областного университета (МГОУ). Для изучения анатомического строения коробочек и особенностей ультраскульптуры поверхности использовали плоды фиалок, собранные на территории МО в 2008 - 2010 гг., зафиксированные в 70% спирте. Особенности строения поверхности коробочек были изучены с помощью сканирующего электронного микроскопа JSM-6380 (МГУ им. М.В.Ломоносова) после высушивания фиксированного материала в критической точке, а также с использованием метода отпечатков, сделанных с поверхности коробочек при помощи лака. Анатомию плодов изучали путем анализа сделанных от руки поперечных и продольных срезов разных частей плода, на которых была проведена флуоресцирующая реакция на одревеснение. Отпечатки и срезы рассматривали в проходящем свете под световым микроскопом Микромед Р-1 на малом (Ч100) и на большом увеличении (Ч400 и Ч1000). По результатам исследования сделаны фотографии.

В ходе исследования нами установлено, что форма плодов, образующихся из хазмогамных и клейстогамных цветков, более или менее различается у изученных видов. Так, у видов секции *Viola* коробочки из хазмогамных цветков имеют шаровидную форму; коробочки из клейстогамных цветков у *V. odorata* и *V. hirta* более удлиненные, а у *V. collina* Bess. обычно имеют округло обратно-яйцевидную форму. У *V. riviniana* коробочки из хазмогамных цветков продолговато-яйцевидные, из клейстогамных – продолговато-эллиптические. У *V. selkirkii* плоды из хазмогамных цвет-

ков эллиптические, из клейстогамных – более или менее яйцевидные. Наиболее явно различаются по форме коробочки у *V. rupestris*: плоды из хазмогамных цветков эллиптические, из клейстогамных – обратно-яйцевидные. У *V. mirabilis*, *V. nemoralis*, *V. canina*, *V. montana*, *V. palustris*, *V. epipsila* форма плодов различного происхождения практически не различается.

Нами также отмечены различия в окраске коробочек. У большинства видов они зеленые. У *V. selkirkii* поверхность коробочек (особенно образующихся из клейстогамных цветков) обычно покрыта фиолетовыми пятнами. У *V. hirta*, *V. collina* и *V. odorata* плоды, возникающие из хазмогамных цветков, зеленые, а из клейстогамных цветков – фиолетовые.

Эпидерма, покрывающая поверхность коробочек видов *Viola*, образована более или менее вытянутыми или почти изодиаметрическими клетками. У видов секции *Plagiostigma* радиальные стенки эпидермальных клеток извилистые, в отличие от остальных видов, у которых радиальные стенки эпидермальных клеток прямые. У таких видов, как *V. hirta*, *V. collina*, *V. odorata* и *V. rupestris* часть эпидермальных клеток имеет выросты в виде простых волосков.

У всех исследованных видов рода *Viola* на

поверхности коробочек обнаружены устьица. При этом характер их распределения различается у разных видов. Так, у розеточных видов *V. selkirkii*, *V. hirta*, *V. collina*, *V. odorata*, *V. uliginosa*, *V. palustris*, *V. epipsila*, а также у *V. mirabilis* устьица более или менее равномерно распределены по всей поверхности коробочки. У видов с хорошо развитым стеблем – *V. nemoralis*, *V. riviniana*, *V. rupestris*, *V. arvensis*, *V. matutina* устьица располагаются только на противоположных плаценте частях створок коробочки, а по краям створок устьица отсутствуют.

Ранее отмечалось, что устьица на поверхности коробочек видов рода *Viola* могут быть двух типов: анизоцитного и аномоцитного [3]. Однако помимо устьиц анизоцитного и аномоцитного на поверхности плодов подмосковных видов *Viola* нами обнаружены также тетрацитные, парацитные и диацитные устьица. Преобладающим типом устьичного аппарата у всех исследованных видов является анизоцитный. Кроме того, у всех видов всегда встречаются единичные устьица тетрацитного типа. У большинства видов, за исключением *V. palustris*, *V. uliginosa*, *V. odorata*, *V. arvensis* на поверхности коробочек также встречаются единичные устьица аномоцитного типа. Парацитный тип устьичного аппарата был обнаружен нами только

Таблица 1

Типы устьичного аппарата на поверхности плодов некоторых видов *Viola*

Вид	Тип устьичного аппарата				
	Анизоцитный	Аномоцитный	Тетрацитный	Диацитный	Парацитный
<i>V. mirabilis</i>	+	+	+		
<i>V. hirta</i>	+	+	+		
<i>V. odorata</i>	+		+		
<i>V. nemoralis</i>	+	+	+		
<i>V. rupestris</i>	+	+	+		
<i>V. riviniana</i>	+	+	+		
<i>V. selkirkii</i>	+	+	+		
<i>V. uliginosa</i>	+		+		
<i>V. palustris</i>	+		+		
<i>V. epipsila</i>	+	+	+	+	
<i>V. arvensis</i>	+		+		+
<i>V. matutina</i>	+	+	+		+

у видов подрода *Melanium* – *V. arvensis* и *V. matutina*. Диацитный тип является наиболее редким и был обнаружен нами только у *V. epipsila* (табл.1).

Плоды исследованных видов различаются по характеру опушения. У видов секции *Viola* (*V. hirta*, *V. collina*, *V. odorata*) коробочки всегда густо опушены довольно длинными волосками, часто заметными невооруженным глазом. Плоды *V. rupestris* опушены более короткими волосками, характер опушения у этого вида варьирует: коробочки могут быть густо опушенными, рассеянно опушенными, реже голыми. У остальных видов, произрастающих на территории МО, плоды всегда голые.

Исследование ультраскульптуры поверхности коробочек показало, что плоды всех исследованных видов рода *Viola* снаружи покрыты кутикулой, которая бывает двух типов: гладкая и струйчатая.

Гладкая кутикула обнаружена нами у представителей подрода *Melanium* – *V. arvensis* и *V. matutina*. Струйчатая кутикула покрывает коробочки видов подрода *Viola*. Наиболее мощная кутикула характерна для болотных видов *V. epipsila* и *V. palustris*. Наше исследование подтверждает данные В.В. Никитина о том, что для видов подрода *Viola* характерно наличие на поверхности коробочек «валикообразных, червеобразно извивающихся кутикулярных складок».

В анатомической структуре коробочки четко выделяются экзокарпий, мезокарпий и эндокарпий. Экзокарпий-1-слойный, образован клетками с целлюлозными оболочками. Мезокарпий имеет довольно сложное строение и состоит из двух слоев: наружного паренхимного и внутреннего склеренхимного. Паренхимный слой образован живыми клетками, в которых до созревания коробочки хорошо заметны хлоропласты. У *V. rivini-*

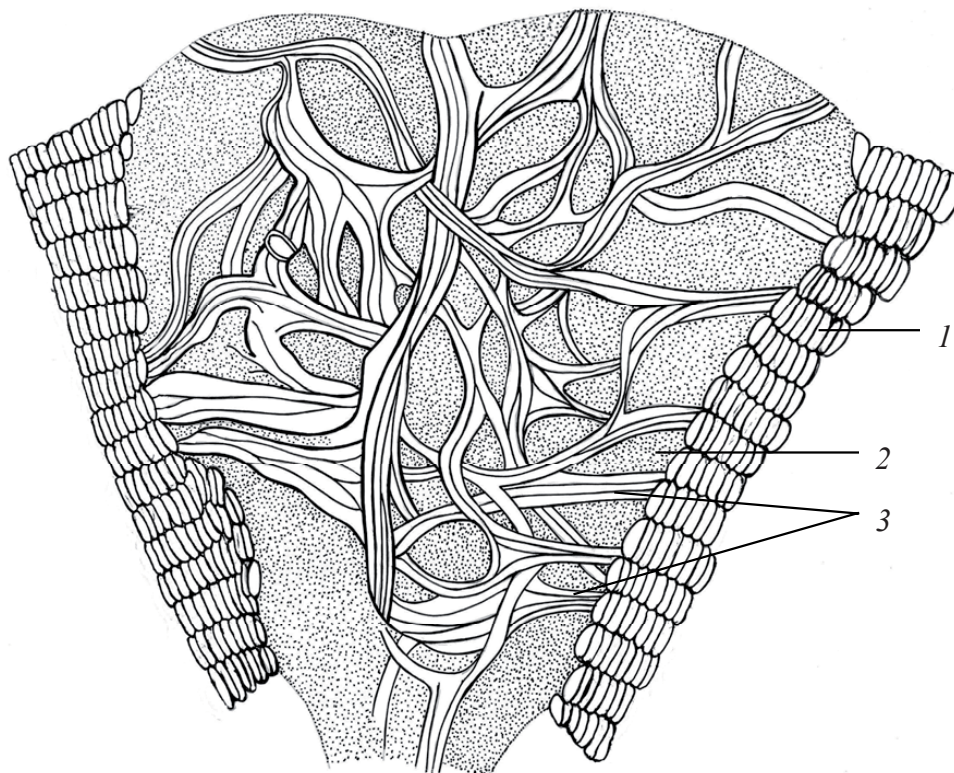


Рис.1. Схема анатомического строения разрастаний в основании коробочки (на примере *V. arvensis*):

1 – склеренхима створок, 2 – флоэма, 3 – ксилема.

ana и *V. mirabilis* в составе паренхимы мезокарпия нами были обнаружены идиобласты, у остальных видов структура этого слоя более или менее равномерная. Склеренхимный слой мезокарпия образован одревесневшими волокнами, которые вне плацент ориентированы в поперечном направлении. В области плацент во внутреннем слое мезокарпия имеются группы радиально вытянутых клеток с разной степенью лигнификации. У видов секции *Viola* одревеснение отсутствует. У *V. nemoralis*, *V. canina*, *V. montana* ткани плаценты сильно одревесневают. У *V. arvensis*, *V. mirabilis*, *V. palustris*, *V. epipsila* одревеснение менее мощное. В мезокарпии в области плацент проходят проводящие пучки, ведущие к семезачаткам. Эндокарпий однослойный, в области створок представлен поперечно ориентированными лигнифицированными волокнами.

Изучение анатомии основания коробочек показало, что большая часть его образована переплетающимися проводящими пучками, наибольшую часть массы которых составляют неодревесневшие флоэмные волокна (рис.1). Самый большой объем эти проводя-

щие пучки имеют у *V. mirabilis*, *V. nemoralis* и *V. riviniana*; наименьший объем – у видов секции *Viola*.

Основание коробочки, по-видимому, играет ведущую роль при ксерохазическом вскрывании плодов. По мере созревания коробочки оно деформируется, в результате чего коробочка начинает растрескиваться по швам. При дальнейшем усыхании основания створки коробочки отгибаются и располагаются более или менее под прямым углом к плодоножке. У видов секции *Viola*, коробочки которых вскрываются гиgroхазически, створки раздвигаются за счет разбухания ткани плацент.

Исследование морфологии вскрывшихся коробочек показало, что у всех видов, за исключением представителей секции *Viola*, створки коробочки после вскрывания сжимаются и выдавливают лежащие в них семена.

Створки могут сжиматься в различной степени: края створок при сжатии плотно смыкаются, створка сжимается не полностью или вообще не сжимается (рис.2).

У всех исследованных видов обнаружены коробочки с различной степенью сжатия

Таблица 2

Встречаемость коробочек с различной степенью сжатия створок

вид	кол-во исследованных гербарных листов (MW, МГОУ) (шт.)	кол-во исследованных растений с плодами (шт.)	Кол-во растений с коробочками, створки которых:		
			сомкнуты (шт.)	не сомкнуты (шт.)	сомкнуты и не сомкнуты (шт.)
<i>V. mirabilis</i>	110	124	62	50	12
<i>V. montana</i>	29	33	19	11	3
<i>V. persicifolia</i>	11	20	12	6	2
<i>V. nemoralis</i>	25	34	27	4	3
<i>V. canina</i>	96	148	100	34	14
<i>V. riviniana</i>	67	80	54	22	4
<i>V. rupestris</i>	98	208	46	108	54
<i>V. selkirkii</i>	54	99	86	4	9
<i>V. uliginosa</i>	14	23	14	9	0
<i>V. palustris</i>	28	61	55	6	0
<i>V. epipsila</i>	52	91	76	12	3
<i>V. arvensis</i>	50	103	32	41	30
<i>V. matutina</i>	20	25	6	10	8
<i>V. tricolor</i>	57	71	33	23	15

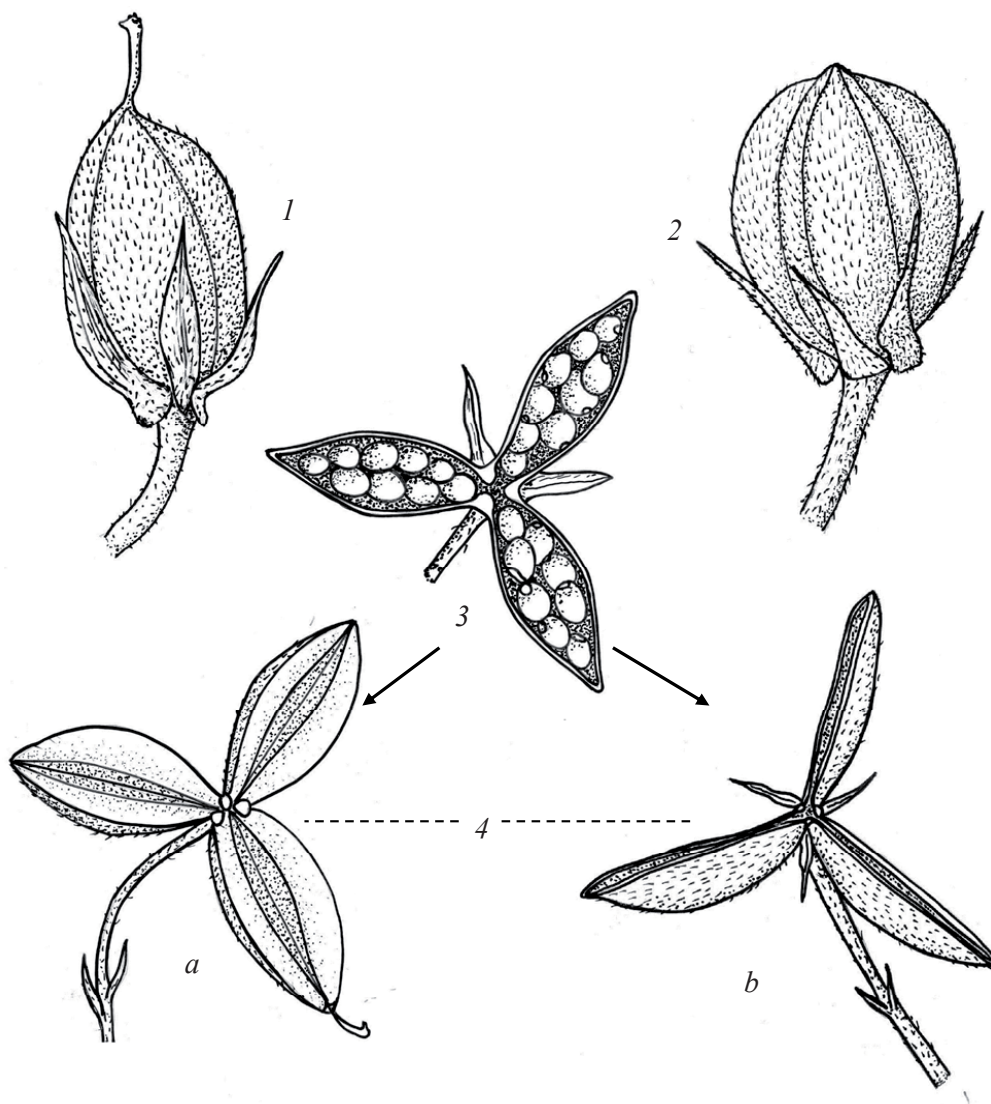


Рис. 2. Строение ксерогазических коробочек (на примере *V. rupestris*)

1 – коробочка из хазмогамного цветка, 2 – коробочка из клейстогамного цветка, 3 – вскрытая коробочка, 4 – коробочка после разбрасывания семян: а – створки сжаты, б – створки сохраняют свою форму.

створок (табл. 2).

Следует отметить, что по данному признаку различаются близкородственные виды *V. riviniana* и *V. rupestris*: у *V. riviniana* явно преобладают коробочки со сжатыми створками, а у *V. rupestris* гораздо чаще встречаются коробочки, створки которых после вскрытия сохраняют свою форму (рис.3).

Коробочки со сжатыми створками преобладают также у *V. mirabilis*, *V. canina*, *V. nemoralis*, *V. montana*, *V. persicifolia*, *V. selkirkii*, *V. epipsila*, *V. palustris*, *V. uliginosa*. У видов подрода *Melanium* – *V. arvensis* и *V. matutina*

– наиболее часто встречаются коробочки, створки которых после вскрытия не сжимаются, а у *V. tricolor* преобладают плоды со сжатыми створками. У всех исследованных видов, за исключением *V. palustris* и *V. epipsila*, на одном растении могут встречаться коробочки с различной степенью сжатия створок. Степень сжатия створок коробочки, по-видимому, определяется степенью одревеснения радиально ориентированных клеток склеренхимы в области плаценты. Чем больше одревеснение, тем сильнее сжимаются края створок.

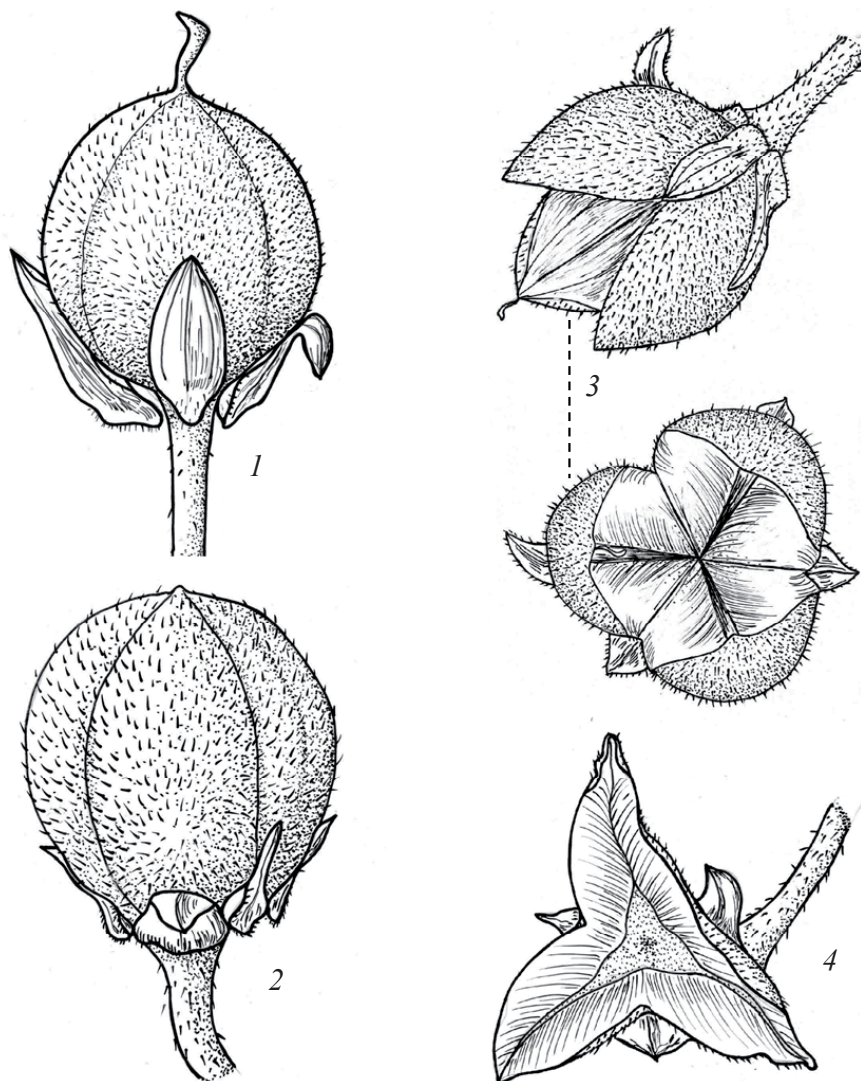


Рис.3. Строение гиgroхазических коробочек (на примере *V. hirta*)

1 – коробочка из хазмогамного цветка, 2 – коробочка из клейстогамного цветка, 3 – вскрывшаяся коробочка, 4 – коробочка после высыпания семян.

У видов секции *Viola* створки раскрывшейся коробочки постепенно засыхают, но не сжимаются (рис.3).

В целом, среди фиалок МО мы можем выделить два карпоэкологических типа.

I тип. Гигрохазические коробочки. Зрелые плоды шаровидной формы, с характерным опушением, лежат на земле или погружены в лесную подстилку, вскрываются при намокании. Кутикула струйчатая. Механические ткани в области плаценты не одревесневают, проводящие пучки в основании коробочки развиты слабо. Плоды раскрываются примерно на 2/3 длины за счет разбухания ткани

плацент. Створки раскрывшейся коробочки постепенно засыхают, но не сжимаются. – *V. hirta*, *V. collina*, *V. odorata* (секция *Viola*)

II тип. Ксерохазические коробочки. Зрелые плоды расположены на прямостоячих плодоножках в пазухах розеточных или стеблевых листьев. Вскрываются при подсыхании. Механические ткани в области плаценты в различной степени одревесневают, проводящие пучки в основании коробочки хорошо развиты. Вскрытие плода происходит в результате деформации его основания по мере созревания, в результате чего коробочка начинает растрескиваться по швам. Створки

раскрывшейся коробочки сжимаются в различной степени или вообще не сжимаются.

1 подтип. Кутикула струйчатая:

1 вариант. Коробочки голые: *V. mirabilis* (секция *Mirabiles* (Nym. ex Borb.) Vi.Nikit.); *V. montana*, *V. persicifolia*, *V. nemoralis*, *V. canina* (секция *Triginocarpea* Godr., подсекция *Arosulatae* (Borb.) Juz.), *V. riviniana* (секция *Triginocarpea*, подсекция *Rosulantes* (Borb.) Juz.); *V. selkirkii* (секция *Adnatae* (W.Beck.) Vl.Nikit.), *V. uliginosa* (секция *Ictasion* Juz. ex Tzvel.); *V. palustris*, *V. epipsila* (секция *Plagiostigma* Godr.).

2 вариант. Коробочки опушенные: *V. rup-estris* (секция *Triginocarpea*, подсекция *Rosulantes* (Borb.) Juz.);

2 подтип. Кутикула гладкая: *V. arvensis*, *V. matutina*, *V. tricolor* (подрод *Melanium*, секция *Novercula* Kupff.)

ЛИТЕРАТУРА:

1. Елисафенко Т.В. Экология цветения интродуцированных редких сибирских видов рода *Viola* L. // Сиб. экол. журн. 2001. Т. 6. № 6. С. 711-716.
2. Немирова Е.С., Гаврилова С.Е. Род *Viola* L. флоры Московской области. Изд. 2-е, перераб. и доп. Ставрополь: АГРУС, 2010. 304 с.
3. Никитин В.В. Род *Viola* L. флоры Восточной Европы и Кавказа: дис...к.б.н.: 03.00.05. СПб., 1996а. 446 с.+ прил. (240 с.: ил.).
4. Никитин В.В. *Violaceae* Batsch - Фиалковые // Флора Восточной Европы / Под ред. Н.Н. Цвелева. СПб: Изд-во «Мир и семья – 95», 1996. Т. IX. С. 180-206.
5. Никитин В.В. Система рода *Viola* L. (*Violaceae*) флоры Восточной Европы и Кавказа // Бот. журн. 1998. Т. 83. № 3. С. 123-137.
6. Юзепчук С.В. Фиалковые - *Violaceae* Juss. // Флора СССР. М.Л.: Изд-во Академии наук СССР, 1949. Т. 15. С. 350-452.
7. Uphof J. Cleistogamie flowers // Bot. Rev., 1938. V.4. №1. P. 21-49.

УДК 574.583

Гоголицын В.А.

*Институт океанологии им. Ширшова РАН
(северо-западное отделение, г. Архангельск)*

РАСПРЕДЕЛЕНИЕ ХЛОРОФИЛЛОВ В УСТЬЕВОЙ ЧАСТИ РЕКИ СЕВЕРНАЯ ДВИНА

V. Gogolitzyn

*P.P. Shirshov Institute of Oceanology of RAS
(The North-Western Branch, Arkhangelsk)*

THE DISTRIBUTION OF CHLOROPHYLLS IN THE MOUTH OF THE NORTHERN DVINA RIVER

Аннотация. На обширном мониторинговом материале показана структурная стабильность пигментного комплекса (хлорофиллов) фитопланктона. Она не зависит от абиотических, биотических и антропогенных факторов. Выявлена характерная закономерность в соотношении основного хлорофилла а и дополнительных b, с к их сумме, как показатель А:В:С, где $A=a/(a+b+c)$, $B=b/(a+b+c)$, $C=c/(a+b+c)$ в процентах. Показатель отражает общую структуру и функциональность фитопланктона (видовой состав, варианты метаболизма, «зрелость» фитоценоза. Применим к любому водному фитоценозу.

Ключевые слова: фитопланктон, фитоценоз, пигментный комплекс (хлорофиллы), абиотические, биотические, антропогенные факторы.

Abstract. Structural stability of a pigmentary complex (chlorophylls) of the phytoplankton is shown on extensive material. It does not depend on abiotic, biotic and anthropic factors. Characteristic law has been revealed in the ratio of the basic chlorophyll a and additional b and c to their sum as parameter A:B:C, where $A=a/(a+b+c)$, $B=b/(a+b+c)$, $C=c/(a+b+c)$ in percentage. The parameter reflects the general structure and functionality of phytoplankton (specific structure, versions of metabolism, "maturity" of phytocenosis) and can be applied to any water phytocenosis.

Key words: phytoplankton, phytocenosis, chlorophyll, abiotic, biotic, and anthropic factors.

Актуальность темы. В экологической практике разрабатываются различные подходы к оценке состояния биоты (от локального уровня до биосферы в целом) под воздействием антропогенного фактора. Объектом оценки становятся самые разнообразные характеристики различных уровней. Чаще всего берутся, в зависимости от профессионализма и экологического мышления автора, отдельные составляющие произвольно взятых сообществ, по которым выводят различные показатели, индексы и т. п. качества воды или состояния биоты в целом. Таковы система сапробности Колквитца-Марсона, «виды-индикаторы» Пантле-Букка или Сладечека, пигментный индекс E480/E664 и т. п. Все это частные показатели, при которых отсутствует экосистемный подход.

В работе рассмотрен пигментный комплекс (хлорофиллы), отвечающий за поступление в экосистему «бесплатной» энергии кванта. Содержание хлорофиллов пигментного комплекса в биогеоценозе (хотя носителем его является только «живой» фитоценоз) и степень его функциональности (выходная «мощность» через АТФ, НАДФ+, молекулярный кислород в световой реакции) могут быть показателями состояния биогеоценоза в целом. В данной статье представлена новая интерпретация отношений основного и дополнительных пигментов к их

сумме как показатель структурного и функционального состояния фитопланктоценоза в целом.

Материал и методы. В основу данной работы положены материалы автора по устьевой части реки Северной Двины (г. Архангельск) за 1975-2000 гг. Рассматриваются уникальные данные по пигментному комплексу на створе водного поста «Соломбала» в 1994-2000 гг. за весь вегетационный период: апрель (май) – ноябрь (декабрь), с периодичностью отбора раз в 3-4 дня за все семь лет и ежемесячные наблюдения за весь вегетационный период по створу «железнодорожный мост» с точками отбора проб «левый» и «правый» берег за 1975-1993 гг., 488 проб [1, 300-304; 2; 3, 33-37; 4; 6].

Для сбора и оценки численности фитопланктона, для определения видового состава использовались планктонные сети (газ № 75), отстойный метод, прямая и обратная фильтрация, счётный метод в камере Фукса – Розенталя. Для разделения фитопланктона «живой»-«мёртвый» пробы обрабатывались методом флуоресцентной микроскопии. Пробы на пигменты фильтровались через ультрафильтры «Сынпор» № 6, осадок на фильтре покрывался тонким слоем углекислого магния и обрабатывался непосредственно, экстракция – 90 % ацетоном. Обработка – спектрофотометрия при длинах волн 480,

630, 647, 664, 750 нм. Расчёт хлорофиллов *a*, *b*, *c* и каротиноидов проводился по общепринятым в мировой практике методикам [7; 8; 9].

Результаты и их обсуждение. Фитопланктон всех крупных водотоков Северной Двины как носитель пигментного комплекса имеет одну и ту же структуру: доминирует всегда диатомовый комплекс с преобладанием родов *Asterionella*, *Melosira*, *Cyclotella* с включением *Diatoma*, *Tabellaria*, *Fragilaria*, *Synedra*, *Nitzschia*, т. е. представителями хромофитной линии. Среди зелёных доминанты *Scenedesmus*, *Pediastrum*, *Hyaloraphidium*, *Actinastrum*, *Dictyosphaerium*, *Coelastrum*, из сине-зелёных – *Microcystis*, *Anabaena*, *Aphanizomenon*, *Gomphosphaeria*, *Merismopedia*, *Glaeocapsa*, из золотистых – *Dinobryon*, из эвгленовых – *Trachelomonas*, *Euglena*, *Facus*, *Monomorphyna*. Указанные роды являются планктонными и в сумме составляют более 80-90% общей численности. Виды, встречающиеся редко, очень разнообразны. Как правило, это формы, вымываемые из бентоса и перифитона, а также вынесенные из мелких водоёмов, почв и т. п. Количественно этот аллохтонный материал фактически не играет функциональной роли. Но с его учётом общий флористический список для водотоков Сев. Двины превышает 300 видов и форм. Сезонные изменения по

Таблица 1

Хлорофилл *a*. Река Северная Двина, г. Архангельск, створ «ж/д-мост», точки «левый», «правый» берег, 1979-93 гг. и в/пост «Соломбала», 1994-2000 гг.

годы	пункт	кол-во проб	выше 10 мкг/л	%	выше 15 мкг/л	%
1979-1993	ждм, л	62	9	14	2	3
	ждм, п	62	7	11	2	1,6
1994-2000	в/п С.	364	23	6,3	1	0,2
примечание: из 23 проб с величинами выше 10 мкг/л, 13 приходятся на 1997 год.						
максимальные величины по <i>a</i> из 124 проб по створу ждм			левый	18,9 мкг/л	сентябрь	1982
			правый	18,0 мкг/л	сентябрь	1982
максимальные величины из 364 проб по <i>a</i> , <i>b</i> , <i>c</i> , каротиноиды:			<i>a</i>	17,2 мкг/л	20августа	1999
			<i>b</i>	5,2мкг/л	11октября	1999
			<i>c</i>	7,3мкг/л	11октября	1999
			каротиноиды	9,6мкг/л	30августа	1999

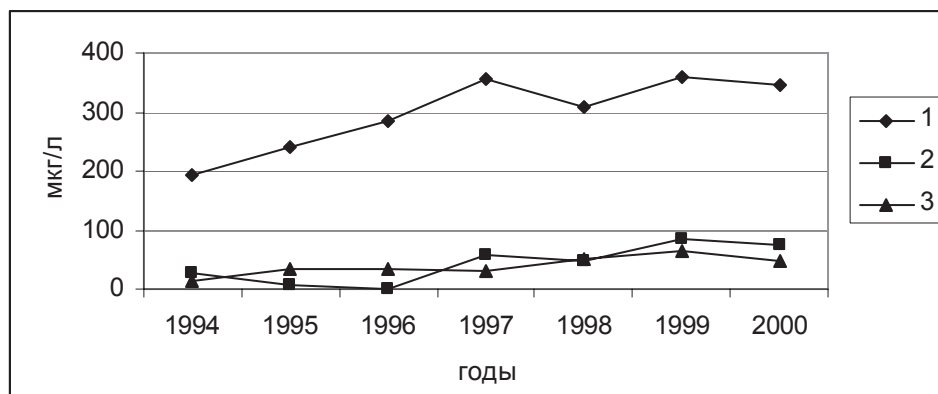


Рис. 1. 1 – хлорофилл а, 2 – хлорофилл б, 3 – хлорофилл с, суммарно по вегетационному сезону за каждый год. Река Северная Двина, г. Архангельск, в/пост Соломбала, 1994-2000

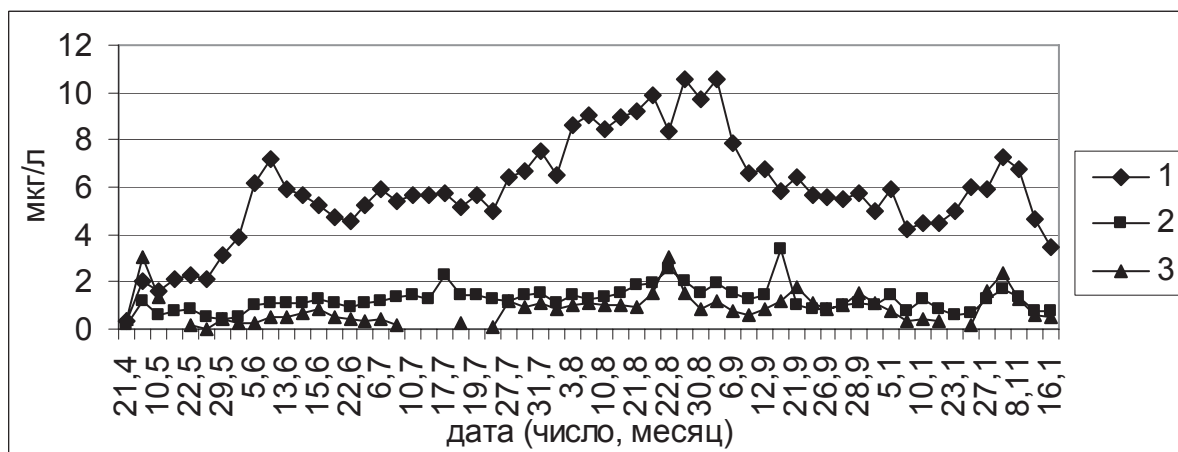


Рис. 2. 1 – хлорофилл а, 2 – хлорофилл б, 3 – хлорофилл с. Река Северная Двина, г. Архангельск, в/пост Соломбала, вегетационный период 2000

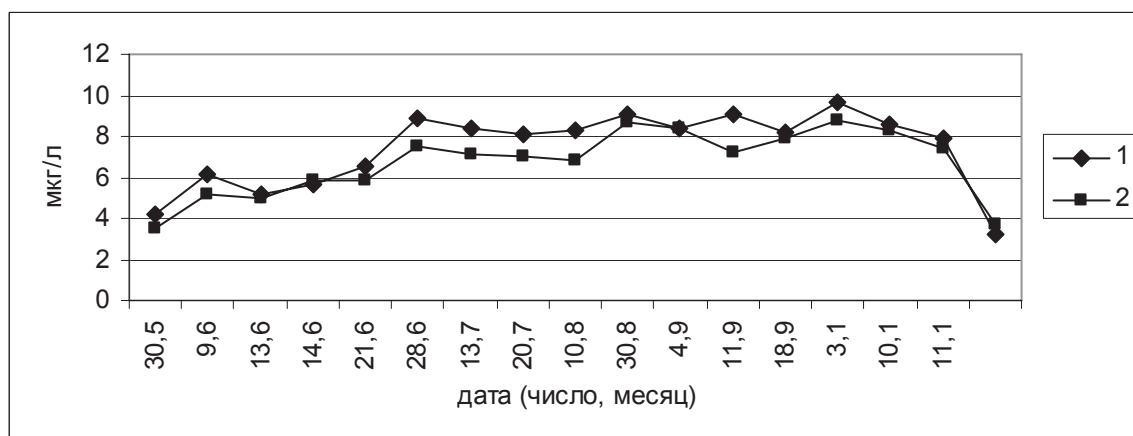


Рис. 3. Хлорофилл а: 1 – отлив, 2 – прилив. Река Северная Двина, г. Архангельск, в/пост Соломбала, весь вегетационный период 1995 г.

видам внутри отделов незначительны. При сильном прогреве воды могут доминировать сине-зелёные (как правило, виды рода *Anabaena*).

Фактический материал по пигментам (основной хлорофилл) представлен в табл. 1. Анализ материала выявляет очень стабильную общую структуру: содержание хлорофилла *a* – 4-10 мкг/л, хлорофилла *b* 0,2-2 мкг/л, хлорофилла *c* – 0,1-1,6 мкг/л и каротиноидов 1-7 мкг/л. Число проб с содержанием хлорофилла *a* (из общего числа проб 364) выше 10 мкг/л составляет 5 %, а выше 15 мкг/л – всего лишь 0,2 % (одна проба). Причём все максимальные величины пришлись на 1999 г.: по хлорофиллу *a* и каротиноидам – на август (17,2 и 9,6 мкг/л соответственно), по хлорофиллам *b* и *c* – на октябрь (5,2 и 7,3 мкг/л соответственно).

Аналогичная картина по распределению основного и дополнительных хлорофиллов и по створу «ж/д мост» («левый» берег и «правый» берег) за период 1979-1993 гг.: из 124 проб (по 62 на каждую точку «левый» и «правый» берег с синхронным отбором проб), пробы с содержанием хлорофилла *a* свыше 10 мкг/л составляют 14 и 11 %, свыше 15 – 2 и 2 % соответственно, причём максимальная величина по хлорофиллу *a* за 15 (!) лет составила 18,9 и 18,0 мкг/л соответственно только раз – в сентябре 1982 г. Распределение по хлорофиллам хорошо прослеживается и на их суммарных величинах за каждый год, учитывая, в первую очередь, климатические условия года: «растянутость» или «сжатость» вегетационного периода (рис. 1). По этой же причине динамика величин основного и дополнительных хлорофиллов демонстрирует межгодовую и сезонную изменчивость, но с сохранением пределов варьирования величин и их соотношений. Для примера представлена расшивка всей съёмки за 2000 г. (рис. 2).

Содержание хлорофилла *a* в начале июня достигает 4 мкг/л и, заметно варьируя вплоть до 10 мкг/л, остаётся в этих пределах (4-10-4 мкг/л) практически до ледостава (середина ноября). Величины хлорофил-

лов *b* и *c* за единичными исключениями не превышают 2 мкг/л. В 1997 г. ход кривых содержания хлорофиллов в ледостав (10-23 октября) «обрывается» на высоких значениях: 10-12 мкг/л – хлорофилла *a*, 1,5-1,7 мкг/л – хлорофилла *b* и 0,7-1,2 мкг/л хлорофилла *c*. Из анализа рассматриваемых материалов, учитывая гидрологию, выявляется ряд обобщений. Так, в любых случаях содержание основного хлорофилла не зависит от температуры воды (хотя видовой состав, численность, биомасса фитопланктона зависят несомненно).

Учитывая особенности рассматриваемого водного биотопа (устьевая часть с сильно выраженной приливо-отливной динамикой), были проведены наблюдения за содержанием пигментов в течение всего вегетационного периода строго по фазам «прилив-отлив» (рис. 3). Кривые содержания хлорофилла *a* (и дополнительных тоже) практически совпадают. Незначительные изменения могут быть вызваны постоянным перемешиванием водной толщи и привнесом аллохтонного материала из многочисленных локальных микробиотопов.

Литературные источники дают противоречивые сведения по некоторым индексам оценки состояния водных объектов, к примеру, «пигментному индексу» E480/E664 (отношение оптических плотностей на 480 и 664 нм, безразмерная величина), но, как правило, на единичных или немногочисленных наблюдениях, иногда с противоположными выводами у одного и того же автора [5, 162-167]. На всём протяжении вегетационных периодов в наших наблюдениях индекс практически равен 1,0 и только в начале вегетационного сезона (особенно) и в конце он повышается до 2 и чуть выше (рис. 4). Очевидно, что величина больше 1,0 характеризует будущие зрелые фитоценозы в стадии формирования, а также нестабильные фитоценозы в зонах смешения, к примеру, в зоне смешения двинских вод и вод вершины Двинского залива Белого моря (острова Лебедин и Мудьюг), где E480/664 составлял 1,9-2,3 в съёмке 25-26 мая 2004 [10]. Здесь же заметим, что

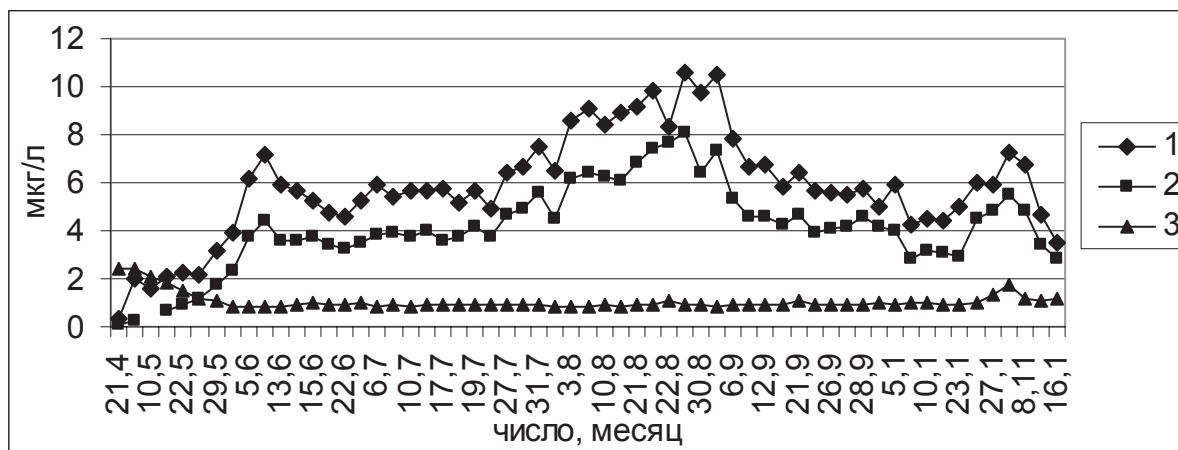


Рис. 4. Хлорофилл а, каротиноиды и «пигментный индекс». 1 – хлорофилл а, 2 – каротиноиды, 3 – E480/664. Река Северная Двина, г. Архангельск, в/пост Соломбала, весь вегетационный период, 2000 г.

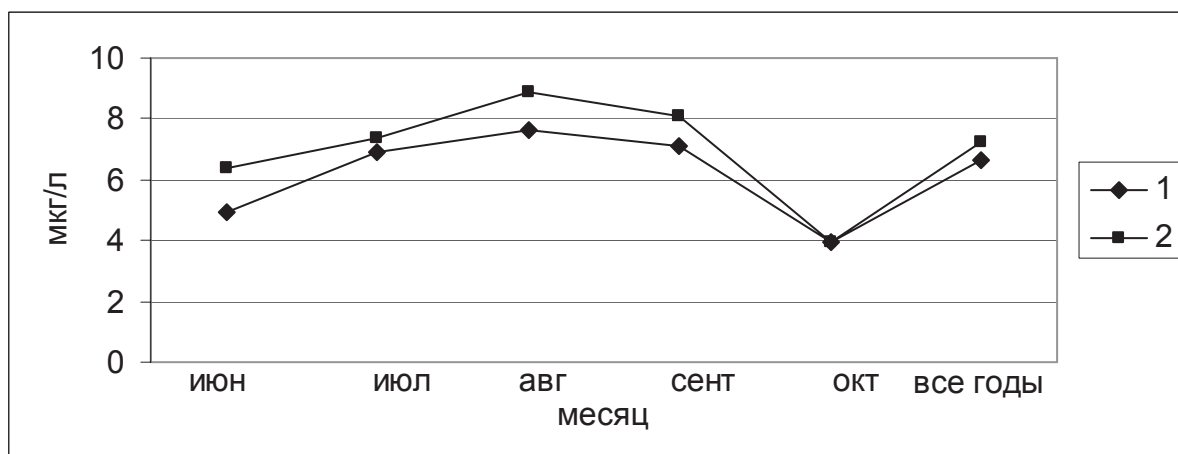


Рис. 5. Хлорофилл а: средний по месяцам вегетационного периода за 15 лет и суммарно по всем данным («все годы»), р. Северная Двина, г. Архангельск, створ «ж/д мост»: 1 – точка «правый берег», 2 – точка «левый берег», 1979-1993 гг.

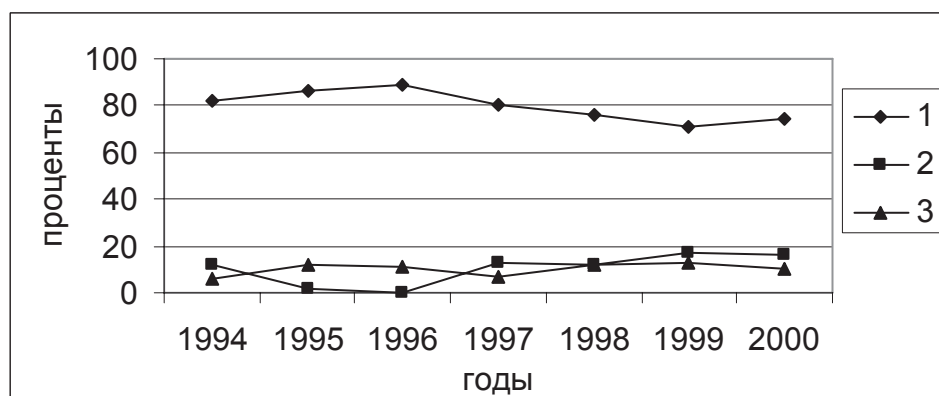


Рис. 6. Хлорофиллы. Отношения: 1 – $A=a/(a+b+c)$, 2 – $B=b/(a+b+c)$, 3 – $C=c/(a+b+c)$; суммарно по каждому году. Река Северная Двина, в/пост Соломбала, 1994-2000 гг.

при всех наблюдениях за хорошо выраженными фитоценозами кривые содержания основного хлорофилла и каротиноидов идут практически параллельно (но каротиноидов всегда меньше).

Устьевая часть особенно подвергалась и подвергается сильнейшему антропогенному воздействию на все компоненты водной биоты (Архангельский и Соломбальский целлюлозно-бумажные комбинаты). Но пигментный комплекс, защищённый и эволюционно и генетически, теоретически должен менее всего испытывать подобные влияния. Данные по пигментам в точках отбора «левый» и «правый» берег створа «ж/д мост» за 15-летний период наблюдений в течение всего вегетационного периода подтверждают это (рис. 5). Хорошо просматривается параллельность кривых за весь вегетационный период, при этом величины хлорофилла *a* несколько выше по левому берегу. По абсолютным величинам расхождение также весьма незначительно: 99,73 мкг/л (правый) и 108,42 мкг/л (левый) – для суммарных данных по месяцам и 6,65 мкг/л (правый) и 7,23 мкг/л (левый) – для средних данных по месяцам. При такой относительной стабильности пигментного комплекса на обеих точках, по остальным синхронным гидробиологическим и гидрохимическим данным (микробиология, биогены, «загрязнители»), отличие по этим точкам очень велико: именно водоток левого берега подвержен постоянному влиянию сбросов Архангельского ЦБК [4].

Рассматривая и сопоставляя любые отдельные годы, не отмечаем никаких корреляций по точечным величинам хлорофиллов. Это вполне объяснимо климатическими особенностями вегетационного периода (отсюда вариабельность видового состава, численности, биомассы фитопланктона, водной массы, биогенов) каждого года. В нашем случае величина **A** за все годы составляет от 71 до 89%, **B** – от 0 до 17% и **C** – от 6 до 13%; показатель же по абсолютным величинам (суммарно за все 7 лет) **A:B:C = 78:11:10**.

Характерно, что кривые **A** (по основному хлорофиллу) и **B**, **C** (по дополнительным)

идут зеркально (в противофазе, особенно между **A** и **B**) и с большим разрывом. Этот вариант показателя уже *a priori* может показывать, что данный фитоценоз структурно и функционально хорошо развит (а это подтверждено синхронными наблюдениями за структурой фитоценоза и скоростью фотосинтеза): основной хлорофилл максимально превалирует в пигментном комплексе (фотоавтоаккумулируемая энергия фотосинтеза). Водоросли хлорофитной линии, т. е. зелёные и эвгленовые, могут «выпадать» из фитопланктона (1996 г.) или переходить на другие пути метаболизма (как и гетеротрофы хромофитной линии). Хорошо просматривается общая структура и функциональность фитоценоза по годам: «благоприятный» (с точки зрения ввода в экосистему аккумуляированной энергии кванта) 1996 г. и, наоборот, – 1999 г. Фактически, по таким отношениям в многолетних (временных) или сезонных рядах мы можем определять динамику функционирования биоты в целом: обеспеченность её фотоавтоаккумулируемой энергией, направленностью метаболизма, влиянием внешних («стрессовых») факторов и т. п. Что касается функциональности пигментного комплекса, укажем только (по нашим синхронным опытам), что при одинаковой структуре пигментного комплекса, валовая продукция, чистая продукция, общая деструкция и АЧ значительно варьируют по створам и месяцам: от практического отсутствия до величин 1,72, 1,61, 1,18 мг кислорода/л/сутки и 3,35 мг углерода/хлорофилл *a* / час соответственно. Это значит, что функциональный выход пигментного комплекса не связан линейно с видовым составом, численностью или биомассой его носителя – фитоценоза и что объём хлорофилла *a* вероятно всегда достаточен для выполнения своей функции по «запросу» биоты.

Заключение. Характеристики фитоценоза (видовой состав, численность, биомасса) устьевой части Северной Двины в вегетационный период изменяются. Содержание хлорофилла *a* – 3-9 мкг/л, хлорофилла *b* – 0,2-1,8, хлорофилла *c* – 0,1-1,6 и каротиноидов – 1-7.

Относительное соотношение хлорофиллов (по показателю **A:B:C**) показывает стабильную структуру пигментного комплекса, в среднем составляя **78:11:10**.

ЛИТЕРАТУРА:

1. Гоголицын В.А. Стабилизирующая (регуляторная) роль фитопланктона (пигментный комплекс) в системе реопланктона // Проблемы изучения, рационального использования и охраны природных ресурсов Белого моря. Материалы X Международной конференции. 18-20 сентября 2007.. Архангельск.
2. Гоголицын В.А. Регуляторная роль фитопланктона (хлорофилла «а») в системе реопланктона водотоков бассейна р. Северная Двина 1979 – 2000 гг. Доклад на международной Конференции «Лоир». М., 2005.
3. Гоголицын В.А. Фитопланктон (фикопланктоценоз). Экологический подход. Материалы Всероссийской конференции с международным участием «Водные экосистемы: трофические уровни и проблемы поддержания биоразнообразия». 24-28 ноября 2008. Вологда.
4. Ежегодники качества поверхностных вод по гидробиологическим показателям (раздел «Северо-запад» под ред. Гоголицына В.А.). Москва. Гидрометеиздат. 1979-2000.
5. Сиделев С.И., Бабаназарова О.В.. Анализ связей пигментных и структурных характеристик фитопланктона высокоэвтрофного озера Неро // Journal of Siberian Federal University. Biology. 2 (2008 1).
6. Gogolitzyn V. A. Planktonic biocenose of the mouth parts of the river Northern Dvina. 1975-2001. // Seventh Workshop on Land Ocean Interactions in the Russian Arctic, LOIRA projet. November 15-18. 2004. IASC. Moscow
7. Jeffrey S.W., Humphrey G.F. (1975). New spectrophotometric equations for determining chlorophylls a, b, c1 and c2 in higher plants algae and natural phytoplankton. Biochem. Phys. Pflanz. 2: 191-194
8. Lorenzen G.J. (1967) Determination of chlorophyll and pheopigments: spectrophotometric equations. Limnology and Oceanography. 2: 343-346
9. Parsons T.R., Strickland J.D.H. (1963) Discussion on spectrophotometric determination of marine plant pigments with revised equations for ascertaining chlorophylls and carotenoids. J. Marine Res. 3: 155-163
10. Shevchenko P. Gogolitzyn V.A. System approach in biogeochemical studies in the Northern Dvina delta during the flood period. May 2004// Seventh Workshop on Land Ocean Interactions in the Russian Arctic. LOIRA projet. November 15-18. 2004. IASC. Moscow

УДК 577.2

Жуковская А.Ф., Бельчева Н.Н., Челомин В.П.

Тихоокеанский Океанологический Институт им. В. И. Ильичева
Дальневосточного отделения РАН (Владивосток)

ИДЕНТИФИКАЦИЯ И ЧАСТИЧНАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ДВУХ ВЫСОКОМОЛЕКУЛЯРНЫХ КАДМИЙ-СВЯЗЫВАЮЩИХ БЕЛКОВ ПРИМОРСКОГО ГРЕБЕШКА *MIZUHOPECTEN YESSOENSIS*

A. Zhukovskaya, N. Belcheva, V. Chelomin

V.I.Il'ichev Pacific Oceanological Institute of the Far Eastern Branch of RAS (Vladivostok)

INVOLVMENT OF HIGH MOLECULAR WEIGHT Cd -BINDING PROTEINS IN Cd-ACCUMULATION IN THE SCALLOP *MIZUHOPECTEN YESSOENSIS*

Аннотация. Много уже известно о кадмий-связывающих лигандах в других видах семейства Pectinidae, однако ничего не известно о дальневосточном представителе этого семейства – приморском грёбешке *Mizuhopecten yessoensis*. В работе были исследованы кадмий-связывающие лиганды в пищеварительной железе *M. yessoensis*. В данной работе впервые обнаружены в клетках пищеварительной железы *Mizuhopecten yessoensis* термостабильные, устойчивые к органическим растворителям высокомолекулярные кадмий-связывающие лиганды. Уникальными особенностями Cd-связывающих белков данного вида является не только вес (72 кДа и 43 кДа), но также и спектроскопические характеристики ($\lambda_{254}/\lambda_{280} \text{ нм} > 2$); 10 SH - групп на два белка. Результаты исследований накопления кадмия в пищеварительной железе приморского грёбешка и исследование распределения кадмия среди цитоплазматических белков в особях из мест с разной степенью антропогенного вмешательства свидетельствуют о хорошо развитых механизмах адаптации у *Mizuhopecten yessoensis* к кадмию.

Ключевые слова: кадмий-связывающие белки, MT-подобные белки, тяжелые металлы, приморский грёбешок, адаптация.

Abstract. Mollusks have long been known to naturally accumulate metals to high concentrations, particularly in the digestive gland. Among them scallops have able to accumulate toxic Cd to concentrations far exceeding those in the surrounding seawater. We have studied the cadmium-binding ligands in the digestive gland of *M. yessoensis*. The results have revealed two high molecular weight proteins with a 72 and 43 kDa in *M. yessoensis* with specific spectroscopic relation ($\lambda_{254}/\lambda_{280} \text{ nm} > 2$) and 10 SH-groups for both proteins. The results of the study of cadmium accumulation in the digestive gland of the scallop and the distribution of cadmium among cytoplasmic proteins in the *M. yessoensis* from locations with varying degrees of anthropogenic impact showed a well-developed mechanism of adaptation in *M. yessoensis* to highly toxic cadmium.

Key words: Cd-binding proteins, MT-like proteins, heavy metals, scallop, Bivalvia, biochemical adaptation.

Проблема загрязнения морей тяжелыми металлами (Cd, Hg, Cu и др) существует всего несколько десятилетий, и на сегодняшний день много еще не известно о механизмах детоксикации и функционирования системы адаптации морских беспозвоночных к тяжелым металлам. В настоящее время распространена точка зрения, что центральным звеном в биохимической системе детоксикации потенциально токсичных металлов являются металлсвязывающие белки металлотioneины (MT). Эти представления базируются на уникальных свойствах и

повсеместном распространении этих белков, которые обнаружены в представителях практически всех основных филогенетических групп от простейших до позвоночных [8, 913; 11, 25; 16, 153; 19, 81].

Среди морских беспозвоночных двустворчатые моллюски являются наиболее интересными представителями, так как являются гетерогенной группой по содержанию разного типа металлсвязывающих белков и чувствительной группой организмов к повышенным содержаниям тяжелых металлов в окружающей среде. Среди *Bivalvia* именно у представителей сем. *Pectinidae* были обнаружены чрезвычайно высокие концентрации кадмия в почках и пищеварительной железе даже в видах, обитающих в акваториях с низким содержанием кадмия в морской воде [21, 216: 4, 1355]. Этот факт говорит о том, что представители сем. *Pectinidae* хорошо развили биохимические механизмы адаптации к повышенным содержаниям токсичного кадмия в среде. Среди дальневосточных представителей сем. *Pectinidae* наиболее интересным видом является приморский гребешок (*Mizuhopecten yessoensis*), который способен накапливать высокие концентрации высокотоксичного кадмия в мягких тканях. Однако на сегодняшний день ничего не известно о кадмий-связывающих белках в тканях этого вида двустворчатого моллюска. Поэтому целью данного исследования являлось идентификация и частично характеристика биохимических механизмов адаптации приморского гребешка *Mizuhopecten yessoensis* к высокотоксичному кадмию.

Материал и методы. Приморский гребешок *Mizuhopecten yessoensis* (возраст 3 и 5 лет) был отобран из акваторий с разной степенью нагрузки кадмием: из загрязненной акватории Амурского залива (Японское море) г. Владивостока вблизи нефтебазы (район 1-я речка) и из экологически чистой акватории залива Посыета Японского моря. Пищеварительную железу приморского гребешка извлекали для дальнейшего проведения биохимических исследований. Водорастворимые цитоплазматические белки разделяли с

помощью гель-хроматографии на Superosa 12 с соблюдением условий и рекомендаций, разработанных для морских организмов [18, 263]. Выход фракций регистрировали при λ 254 нм и λ 280 нм. В процессе хроматографии элюат отбирали для определения металлов (Cd, Zn и Cu). Содержание металлов определяли так же на всех стадиях фракционирования и очистки белков методом [10, 9; 1]. Для определения концентрации белка использовали метод Лоури [13, 265]. SDS-PAAGE электрофорез проводили согласно методу Лэммли [12, 680]. Концентрация акриламида в разделяющем геле в зависимости от эксперимента варьировала от 9 до 12%. Визуализацию белков проводили методом окрашивания красителями Кумасси G-250 и хлористым серебром.

Результаты. Получено, что 70 % всего аккумулярованного пищеварительной железой кадмия содержится в цитоплазматической фракции (фракция А), при этом на долю этой же фракции приходится более 90 % всего белка. Результаты анализа содержания кадмия среди цитоплазматических белков показали, что основная часть этого металла находится в белках с молекулярной массой в области 70 кДа, и только малая часть кадмия – в области низкомолекулярных белков (рис. 1). Интересно, что после многоэтапного фракционирования (температурное осаждение, осаждение органическим растворителем), доля кадмия во фракции D (фракция, полученная после 80 % ацетонного осаждения) составляет более 50 %, а доля белка составляет от 15 до 20 % от всего белка, находящегося в цитоплазме клетки. Получено также, что на 1 мг белка приходится от 7 до 10 мкг кадмия.

На долю фракции В (15 мин при t 70 °C), содержащей термостабильные белки приходится от 70 до 80 % всего цитоплазматического кадмия, что свидетельствует о том, что основной кадмий-связывающий белок является термостабильным. Осаждение органическим растворителем (50% и 80% содержание ацетона – фракция С и фракция D) показало, что кадмий находится в белках,

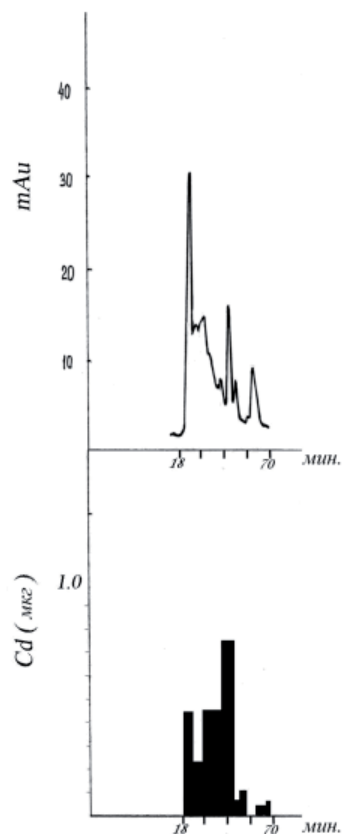


Рис. 1. Распределение кадмия в цитоплазматических белках пищеварительной железы *M. yessoensis* (FPLC, Superosa 12).

осаждаемых в присутствии ацетона с концентрацией от 50 до 80 %. Фракцию D, ресуспендированную в 0,02 М Tris-HCl буфере pH 8,5, разделили методом высоко скоростной проточной жидкостной хроматографии FPLC на колонке Superosa 12. Получено два кадмий-содержащих пика (рис.2), соответствующих высокомолекулярным белкам. При этом, основная часть кадмия локализуется в первом и втором элюированном пике (пик 1 и пик 2) у гребешков из экологически чистой акватории, тогда как у животных из импактного района кадмий локализуется в пике 1 (табл. 1). Согласно полученным результатам, белок, соответствующий пику 1, является основным кадмий-связывающим белком.

Анализ содержания микроэлементов показал, что кроме токсичного кадмия в полу-

ченных белках содержатся и такие физиологически важные металлы, как Cu и Zn. Соотношение Cd:Zn:Cu в пике 1 и пике 2, а следовательно, можно предполагать, и в кадмий-связывающих белках, составляет 2:3,5:1 и 2,7:3,2:1, соответственно, для гребешков из зал. Посьет. Для гребешков из района нефтебазы это же соотношение в пике 1 составляет 34:2:1, а в пике 2 соотношение Cd:Zn:Cu составляет 5:3,5:1. Соотношение адсорбции в кадмий-содержащих белках при λ 254 и λ 280 нм составляет около 2, что существенно ниже, чем это же соотношение для МТ. При разделении Cd- связывающего белка методом SDS-электрофореза в ПААГЕ было получено две полосы, которые соответствуют полипептидам с массой 72 и 43 кДа (рис. 3).

Таблица 1

Сравнение распределения кадмия (мкг) в фракциях 80% ацетонного осадка элюированных FPLC между приморском гребешке из экологически чистой и импактной акваторий

НАЗВАНИЕ ПРОБЫ	Cd, мкг		Zn, мкг		Cu, мкг	
	Посьет	1-я речка	Посьет	1-я речка	Посьет	1-я речка
Пик 1	0,11	3,4	0,18	0,2	0,05	0,1
Пик 2	0,11	0,32	0,13	0,03	0,04	0,03
Пик 3	0,01	0,1	-	0,07	-	0,02

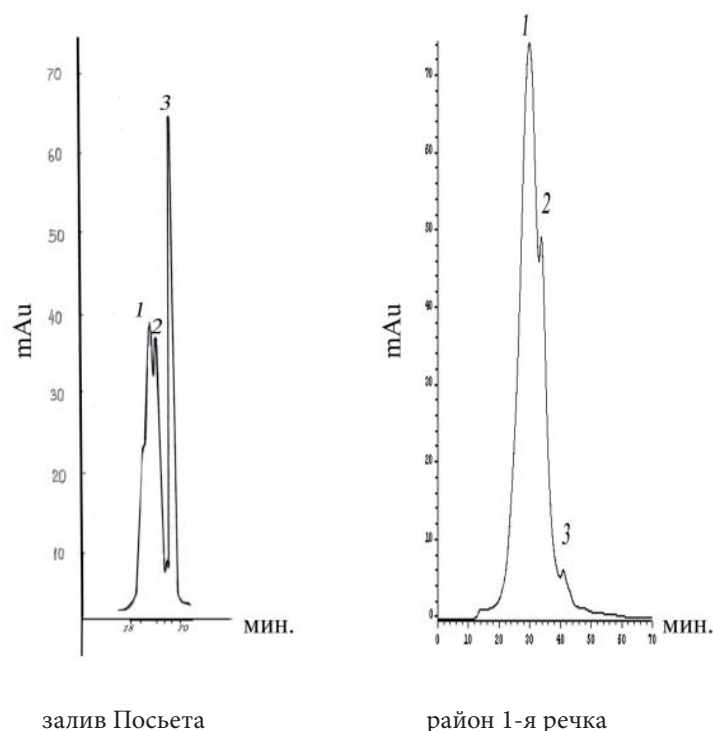


Рис. 2. Хроматографический профиль (FPLC, Superosa 12, λ 280 нм) ресуспендированного ацетонного осадка пищеварительной железы приморского гребешка из акваторий с различным содержанием кадмия в среде (экологически чистый район и импактная акватория).

Обсуждение. В данной работе впервые проведено исследование по изучению кадмий-связывающих лигандов в приморском гребешке *M. yessoensis*. Представленные результаты демонстрируют, что *M. yessoensis* способен концентрировать в некоторых тканях токсичный кадмий до уровней, превышающих концентрации этого металла в окружающей среде. Такая уникальная способность приморского гребешка, как и других видов *Pectinidae*, свидетельствует о хорошо развитых механизмах адаптации представителей этого семейства к высокотоксичному кадмию.

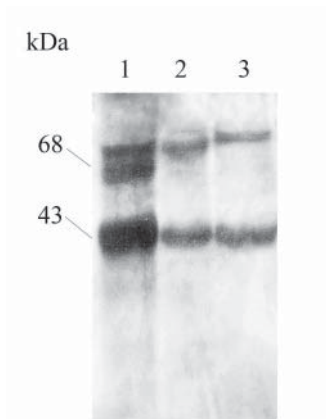


Рис. 3. Молекулярная масса Cd-связывающих белков *Mizuhopecten yessoensis*. 1-стандарты, 2- проба 10 мкл (пик № 1 и пик № 2), 3- проба 20 мкл (пик № 1 и пик № 2). Окраска Кумасси.

В многочисленных исследованиях на представителях разных семейств двустворчатых моллюсков получено, что помимо пищеварительной железы в аккумуляции тяжелых металлов могут участвовать такие органы, как жабры, мантия и др. [3, 726; 15, 153]. У представителей сем. Pectinidae кадмий накапливается главным образом в пищеварительной железе, вне зависимости от источника поступления кадмия (морская вода, грунт или еда). Так, в эксперименте по изучению путей поступления кадмия на двух видах гребешков [14, 58]: королевского гребешка *Chlamys varia* и королевского гребешка *Pecten maximus*, получено, что пищеварительная железа является основным органом, аккумулирующим кадмий. В приморском гребешке *Mizuhopecten yessoensis* жабры и мантия принимают минимальное участие в накоплении кадмия по сравнению с пищеварительной железой и почками [2].

Наши исследования показали, что кадмий в пищеварительной железе приморского гребешка *M. yessoensis* аккумулируется в цитоплазматической фракции (около 80 % кадмия) и связан с белками: проявляющими устойчивость к температуре (70 °C 15 мин.) и способными растворяться в органическом растворителе с 50 % концентрацией. У гребешка *P. maximus* также около 80 % кадмия приходится на водорастворимую фракцию

клеток пищеварительной железы, тогда как в этой же работе авторами [14, 58] обнаружено, что у королевского гребешка *C. varia* только 40 % кадмия приходится на цитоплазматическую фракцию.

Свойства термостабильности и устойчивости к органическим растворителям характерны для белков, которым принадлежит ведущая роль в связывании высокотоксичных металлов, в том числе и кадмия – металлотионеинов (МТ) и МТ-подобным белкам, найденным во многих представителях морских беспозвоночных [5, 185; 7, 739; 9, 425].

Распределение кадмия среди термостабильных цитоплазматических белков в приморском гребешке *M. yessoensis* показывает, что кадмий связывается с высокомолекулярными белками (72 и 43 кДа). В импактной группе *M. yessoensis* кадмий связывается с белком с молекулярной массой 72 кДа.

Что касается распределения цинка и меди в пищеварительной железе приморского гребешка, то из полученных нами результатов можно утверждать, что, по крайней мере, на распределение Cd, Zn и Cu в белке с молекулярной массой 43 кДа повышенное содержание кадмия в окружающей среде значительно не влияют. Основная роль в связывании кадмия принадлежит белку с молекулярной массой 72 кДа.

В ходе исследования получено, что осо-

бенностями Cd-связывающих белков данного вида приморского гребешка (*Mizuhopecten yessoensis*) являются: молекулярная масса (72 кДа и 43 кДа); спектроскопические характеристики, такие, как разница в два раза при λ 254 нм и λ 280 нм; и только 10 SH - групп на два белка обнаруженных кадмий-связывающих белка.

Похожие исследования на североатлантическом представителе семейства Pectinidae *Adamussium colbecki* [17, 147] обнаружили в пищеварительной железе данного вида кадмий-связывающий низкомолекулярный белок (10 кДа).

Стоун с соавторами [20, 189] идентифицировали и исследовали некоторые физико-химические свойства кадмий-связывающих компонентов в пищеварительной железе гребешка *Pecten maximus*. Авторам удалось обнаружить, что кадмий в пищеварительной железе *P. maximus* распределяется между тремя цитоплазматическими компонентами - 150 кДа, 55 кДа и 10 кДа. Фракция с молекулярным весом более чем 150 кДа содержит, по крайней мере, три компонента и связывает менее чем 5 % от всего кадмия. Компонент с молекулярным весом 10 кДа также является белком, связывающим кадмий, и охарактеризован Стоуном с коллегами как МТ-подобный белок.

В современных представлениях о стратегии адаптации организма к тяжелым металлам общепринято считать, что ведущая роль в детоксикации, например, кадмия принадлежит МТ. Далингер [6, 331], однако, считает, что такое представление о роли МТ верно только для беспозвоночных, тогда как у позвоночных основная роль МТ – связывание жизненно важных элементов, таких, как цинк и медь. Стратегии детоксикации среди огромного видового разнообразия типа Mollusca в целом схожи как на тканевом, так и на молекулярном уровне организации. Зачастую в морских моллюсках, обитающих в сублиторальной зоне, и вне зависимости от того, являются ли они концентраторами тяжелых металлов или нет, экзогенные металлы аккумулируются в одном или нескольких

органах, которые, как правило, являются органами пищеварительной системы: или же это почки, или жабры. На молекулярном уровне стратегии адаптации к тяжелым металлам у двустворчатых моллюсков представлены синтезом металлсвязывающих белков – металлотионеинов. За счет некоторых особенностей в аминокислотном составе эти белки называют металлотионеинами моллюсков. Однако, несмотря на то, что в нашем исследовании в пищеварительной железе приморского гребешка не найдено металлотионеинов, это не означает, что в исследуемом моллюске отсутствуют механизмы устойчивости к повышенному содержанию токсичного кадмия в среде. Более того, получено, что именно за счет обнаруженных новых МТ-подобных Cd-связывающих белков пищеварительной железы *M. yessoensis* способен аккумулировать кадмий в значительных количествах. Однако для того, чтобы понять функцию кадмий-связывающих белков, необходимо понять механизм связывания не только кадмия, но и цинка, и меди, и их взаимосвязь в кинетике связывания, и приоритетность в сорбции белков к этим металлам, и ответить на многие другие вопросы, касающиеся биологической и физиологической роли обнаруженных белков. Кроме того, мы полагаем, что исследования механизмов аккумуляции и детоксикации кадмия в приморском гребешке *M. yessoensis* позволит ответить не только на такие фундаментальные вопросы, как, каким же путем шла эволюция биохимической системы адаптации к тяжелым металлам у двустворчатых моллюсков и всего типа Mollusca, в целом, но также использовать полученные результаты об особенностях аккумуляции и детоксикации тяжелых металлов в приморском гребешке *M. yessoensis* в экотоксикологических исследованиях. Это позволит выполнять не только мониторинг состояния морской среды, но и сделать комплексные эколого-биохимические оценки состояния биоты в ответ на изменяющиеся условия среды.

ЛИТЕРАТУРА:

1. Никаноров А.М., Жулидов А.В., Покаржевский А.Д. Биомониторинг тяжелых металлов в пресных экосистемах. Л.: Гидрометеиздат, 1985.
2. Челомин В.П. Экоотоксикологические аспекты биоаккумуляции кадмия (на примере морских двусторчатых моллюсков). Автореф. дис. ... док. биол. наук. Владивосток: ТОЙ ДВО РАН. 1998.
3. Bebiano M., Serafim M. and Rita M. Involvement of metallothionein in cadmium accumulation and elimination in the clam *Ruditapes decussata* // Bull. Environ. Contam. Toxicol. 1994. V. 53.
4. Bustamante P., Miramand P. Interspecific and geographical variations of trace element concentrations in Pectinidae from European waters // Chemosphere. 2004. V. 57.
5. Dallinger R., Berger B., Gruber C., Störzenbaum S. Metallothioneins in Terrestrial Invertebrates: Structural Aspects, Biological Significance, and Implications for their Use as Biomarkers // Cell. Mol. Biology. 2000. V. 46(2).
6. Dallinger R., Berger B., Hunziker P.E., Birchler N., Hauer C.R. and Jeremias H.R. Kagi. Purification and primary structure of snail metallothionein. Similarity of the N-terminal sequence with histones H4 and H2A // Eur. J. Biochem. 1993. V. 216.
7. Giguere A., Coulliard Y., Campbell P. G.C., et al. Steady-state distribution of metals among metallothionein and other cytosolic ligands and links to cytotoxicity in bivalves living along a polymetallic gradient // Aquatic Toxicology. 2003. V. 64.
8. Hamer D.H. Metallothionein // Ann. Rev. Biochem. 1986. V. 55.
9. Jin-Sung Park, Soohee Chung, Il-Seon Park, Yangsun Kim, Chul -Hwan Koh, In-Sook Lee. Purification and characterization of metallothionein-like cadmium-binding protein from Asian periwinkle *Littorina brevicula* // Comparative Biochemistry and Physiology Part C. 2002. V. 131.
10. Julshamn K., Andersen K.-J. Subcellular distribution of major and minor elements in unexposed mollusks in western Norway-I. The distribution and binding of cadmium, zinc and copper in the liver and the digestive system of the oyster *Ostrea edulis* // Comp. Biochem. Physiol. 1983. V. 75A.
11. Kagi J.H.R., Kojima Y. Chemistry and biochemistry of metallothionein. Metallothionein II. Eds. by Kagi J.H.R., Kojima Y., Basel: Birkhauser Verlag. 1987.
12. Laemly U. K. Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. // Nature. 1970. № 5259.
13. Lowry O. H., Rosebrough N. J., Farr, A. L., Randall R. J. Protein measurement with the Folin phenol reagent // Journal of Biological Chemistry. 1951. V. 193.
14. Metian Marc, Warnau Michel, Bustamante Paco, et. al. Interspecific comparisons of Cd bioaccumulation in European Pectinidae (*Chlamys varia* and *Pecten maximus*) // Journal of Experimental Marine Biology and Ecology. 2007. V. 353.
15. Nolan C.V., Duke E.J. Cadmium accumulation and toxicity in *Mytilus edulis*: involvement of metallothioneins and heavy-molecular weight protein // Aquat. Toxicol. 1983. V. 4.
16. Petering D.H., Fowler B.A. Discussion summary. Role of metallothionein and related proteins in metal metabolism and toxicity: problems and perspectives // Environ. Health Perspect. 1986. V. 65.
17. Ponzano E., Dondero E., Bouquegneau J.-M., Sack R., Hunziker P., Viarengo A. Purification and biochemical characterization of cadmium metallothionein from the digestive gland of the Antarctic scallop *Adamussium colbecki* (Smith, 1902) // Polar Biology. 2001. V. 24.
18. Roesijadi G. Metallothioneins in metal regulation and toxicity in aquatic animals (Review) // Aquat. Toxicol. 1992. V. 22.
19. Roesijadi G., Fowler B. A. Purification of invertebrate metallothioneins // Methods in Enzymology. - 1991. V. 205.
20. Stone H.C., Wilson S.B., Overnell J. Cd-binding proteins in the scallop *Pecten maximus* // Environ. Health Perspect. 1986. V. 65.
21. Viarengo A., Canesi L., Massu-Cotelli A., Ponzano E., Orunesu M. Cu, Zn, Cd content in different tissues of the Antarctic scallop *Adamussium colbecki* (Smith 1902): role of metallothionein in the homeostasis and in the detoxification of heavy metals // Mar. Env. Res. - 1993. - V. 35. - P. 216-217.

УДК 616.24

Занин А.М., Стовбун С.В.

Институт химической физики им. Н.Н. Семенова РАН (г. Москва)

О КАЛИБРОВКЕ ИНГАЛЯТОРА ДЛЯ ПРОДУКЦИИ СУБМИКРОСКОПИЧЕСКОЙ ФРАКЦИИ

A. Zanin, S. Stovbun

N.N. Semenov Institute of Chemical Physics of RAS (Moscow)

CALIBRATION OF THE INHALER FOR THE PRODUCTION OF SUBMICROSCOPIC FRACTION

Аннотация. Разработан способ увеличения диспергирования частиц аэрозоля с целью усиления терапевтического эффекта лекарственных средств при ингаляции их. Показано, что применение рассекателя капель в стандартном ингаляторе позволило увеличить долю субмикроскопических частиц ($d \leq 1 \mu\text{м}$) с 7 до ~50%, что может существенно увеличить эффективность лечения, повысить безопасность его, существенно снизить эффективные дозы лекарственных средств.

Ключевые слова: альвеолы, лекарственные средства, ингалятор, рассекатель, субмикроскопические частицы, терапевтический эффект.

Abstract. The method for increasing the dispersion of aerosol particles was developed to enhance the therapeutic effect of drugs by inhalation them. It is shown that the use of the sparger in a standard inhaler has increased the proportion of submicroscopic particles ($d \leq 1 \mu\text{m}$) from 7 to about 50%, which can substantially increase the treatment efficiency, improve its safety and significantly reduce the effective doses of drugs.

Key words: alveoli, medicines, inhalers, sparger, submicroscopic particles, therapeutic effect.

Важнейшим показателем эффективности ингалятора является легочная депозиция лекарственного препарата. Известно, что в альвеолы проникают и, следовательно, обладают наибольшим терапевтическим эффектом частицы размером $d \leq 1 \mu\text{м}$, что связано со срывом более крупных и тяжелых микрочастиц (микрокапель) с аэродинамических линий тока воздуха в местах разветвления трахеол [1]. В существующих системах доставки эта величина составляет 4-7%. В данной работе предпринята попытка увеличить долю субмикроскопических или нереспираторных частиц ($d \leq 1 \mu\text{м}$). В качестве каплеобразователя выбран стандартный компрессорный ингалятор поршневого типа ДЕЛЬФИН F1000. Частицы регистрировались на выходе из трубки (длина 18-20 см) переменного диаметра (до 1 см), моделирующей легочную трахею.

Как известно, чем выше коэффициент поверхностного натяжения и вязкость лекарственного раствора, тем больше размер частиц и ниже производительность [2, 320-321]. Поэтому применение веществ с высокой поверхностной активностью уменьшает ширину спектра, делает аэрозоль более высокодисперсным и улучшает его терапевтические свойства. Поэтому выбран модельный 0,1% -ный раствор этилового спирта и глицерина в воде. Предметное стекло покрывалось полимерной пленкой толщиной $H = \lambda / 4 = 0,1 \mu\text{м}$, что привело к увеличению контрастности путем сложения волн, находящихся в противофазе (в максимуме спектра излучения источника, $\lambda \approx 400 \text{ нм}$). Это позволило, с одной стороны, существенно улучшить визуализацию частиц вплоть до 0,1 мкм, а с другой – приблизить наблюдаемый диаметр к истинному.

© Стовбун С.В., Занин А.М.

Статья выполнена в рамках работы по Государственному контракту № 14.740.11.90629 от «05» октября 2010 г.

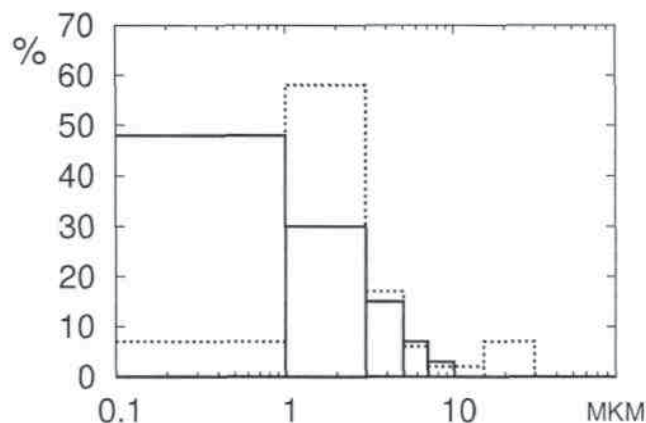


Рис. 1. Дифференциальное распределение частиц. Пунктирная линия – без рассекателя, сплошная линия – с рассекателем.

Частицы фиксировались при максимальном увеличении $\times 1000$. Рассматривалось по 20 полей (каждое площадью 7670 кв. мкм), с которых и получены статистические данные. На гистограммах (см. рис. 1) по горизонтальной оси отложен в логарифмическом масштабе размер частиц (в мкм). По вертикальной оси – суммарная масса частиц аэрозоля (в %) размером, не превышающим определенную величину, указанную на горизонтальной оси. Из графика дифференциального распределения (рис.1, сплошная линия) видно, что частицы размером ≤ 1 мкм составляют до 50% от общей массы. Это удалось зафиксировать при внесении наипростейшего конструктивного изменения в ингалятор. А именно, применен т. н. рассекатель капель, обеспечивающий эффективный срыв с линий тока и последующий сбор крупных частиц. Рассекатель выполнен из фольги (ширина 5 мм, толщина 0,05 мм) и расположен непосредственно над

соплом ингалятора. В отсутствии вышеуказанного рассекателя доля капель размером ≤ 1 мкм не превышает 7% (рис.1, пунктирная линия)

Таким образом, использование плоского рассекателя позволяет снизить дозу препарата, попадающего в организм, по отношению к фракции ≤ 1 мкм, обладающей высокой терапевтической эффективностью более чем в 7 раз. Это повышает безопасность и эффективность лечения, т. к. позволяет использовать более длительные процедуры ингалирования при значительно меньшем общем попадании лекарственного средства в организм.

ЛИТЕРАТУРА:

1. Лайтфут Э. Явления переноса в живых системах. М.: Мир, 1977. 516 с.
2. Общая химия Изд. 22-ое / под ред. В.А. Рабиновича. Л.: Химия, 1982. 720 с.

УДК 57. 083. 134: 616. 98

Катунина Л.С., Таран Т.В., Старцева О.А.

Ставропольский научно-исследовательский противочумный институт

Тимченко Л.Д., Пенькова Н.И.

Ставропольский государственный университет

Арешидзе Д.А.

Московский государственный областной университет

**РАЗРАБОТКА НОВЫХ ПИТАТЕЛЬНЫХ СРЕД ДЛЯ
КУЛЬТИВИРОВАНИЯ ЛЕГИОНЕЛЛ НА ОСНОВЕ КИСЛОТНОГО
ГИДРОЛИЗАТА МОРКОВИ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ
НЕТРАДИЦИОННЫХ СТИМУЛИРУЮЩИХ ДОБАВОК**

L. Katunina, T. Taran, O. Startseva

Stavropol Research Anti-Plague Institute

L. Timchenko, N. Pen'cova

Stavropol State University

D. Areshidze

Moscow State Regional University

**WORKING OUT OF NEW NUTRIENT MEDIUMS FOR CULTIVATING
LEGIONELLA ON THE BASIS OF CARROT ACID HYDROLIZATION
WITH THE USE OF NONCONVENTIONAL STIMULATING ADDITIVES**

Аннотация. Предложена рецептура новой питательной среды для культивирования легионелл на основе кислотного гидролизата моркови со стимулирующими компонентами из миндаля, арахиса и креветок. Проведен аналитический обзор литературы по химическому составу используемого сырья для стимуляторов роста и обнаружены факторы роста легионелл. Подробно описана технология приготовления среды. Полученные результаты свидетельствуют о том, что питательные среды со стимулирующими компонентами из миндаля и арахиса способствуют высокому выходу бактериальной массы, незначительно уступают контролю, не изменяют классических характеристик микроорганизмов и могут явиться экономически выгодной моделью в диагностических и производственных целях.

Ключевые слова: питательная среда, легионеллы, стимулирующая добавка, ферментативный гидролизат из миндаля, ферментативный гидролизат арахиса, ферментативный гидролизат креветок.

Abstract. A new nutrient medium for cultivating Legionella has been suggested on the basis of carrot acid hydrolization with stimulating components from almonds, peanut and shrimps. A review of the sources on chemical compounds of the used raw materials for growth factors has been made and growth factors for Legionella have been found out. The technology of preparing the environment has been described in detail. The received results testify that nutrient mediums with stimulating components from almonds and peanuts promote a high output of bacterial weight, slightly concede to the control, do not change classical characteristics of microorganisms and can be an economical model for diagnostic and industrial purposes.

Key words: a nutrient medium, Legionella, the stimulating additive, fermentum hydrolization from almonds, fermentum hydrolization from peanuts, fermentum hydrolization from shrimps.

Легионеллез (болезнь легионеров) – острое системное инфекционное заболевание, инициированное микроорганизмами рода *Legionella*, преимущественно видом *L. pneumophila*, классически проявляющее себя пневмонией, а также более легкой респираторной инфекцией (лихорадка *Pontiac*). Уровень заболеваемости легионеллезом в мире неуклонно растет. Его клиническая диагностика практически невозможна из-за полиморфизма проявлений, что характерно для всех атипичных пневмоний. Это предопределяет актуальность совершенствования лабораторной диагностики указанной инфекции.

Легионеллез является типичным примером техногенных инфекций, обусловленных активным использованием в промышленности и быту циркулирующих замкнутых водных систем, источников бактериального аэрозоля [1, 428-430]. Это обстоятельство предопределяет актуальность контроля легионелл в этих системах.

Поскольку клиническая диагностика легионеллеза сложна, решающим при постановке диагноза являются данные микробиологических и серологических исследований. Применяют гематодиагностику (ПЦР), а также выявление возбудителя в мокроте, слизи, биоптатах. Для посева материала обычно используют среду Мюллера-Хинтона с добавлением солей железа и L-цистеина [2, 392-401].

К настоящему времени разработано значительное количество питательных сред для легионелл: угольно-дрожжевой агар, GVPC, GVPN, BMFA, BCYEa. Все указанные среды производятся зарубежными фирмами: Oxoid (Великобритания), Becton Dickinson (США), BioMerieux (Франция), Himedia (Индия) [6].

В РФ выпускают питательные среды для культивирования легионелл – легионелбакагар (Оболенск, ФГУН ГНЦПМиБ); среду СЭЛ (Ростов, ОАО «Медис»).

Бактериологический метод, включающий выделение чистой культуры и ее идентификацию, остается «золотым» стандартом диагностики легионеллезом. Существующие микробиологические методы диагностики легионеллезом длительны в исполнении (7-

10 суток) и обладают высокой стоимостью [8, 144-145]. Легионеллы не растут на простых питательных средах (агаре Хоттингера, кровяном агаре, агаре MacConkey и др.), что связано с потребностью возбудителя в L-цистеине и в растворимом пирофосфате железа (Fe^{2+}). Для выделения возбудителя используют модификации буферного угольно-дрожжевого агара, содержащего L-цистеин, растворимый пирофосфат железа и α -кетоглутаровую кислоту (среда BCYEa, СЭЛ, легионелбакагар и другие). Однако чувствительность бактериологического метода остается недостаточно высокой, что предопределяет актуальность разработки новых дешевых питательных сред для культивирования легионелл и улучшение качества имеющихся питательных сред.

Целью настоящего исследования явилось конструирование плотных недорогих питательных сред для культивирования легионелл, отвечающих требованиям современной нормативной документации по контролю качества питательных сред [3].

Нами была предложена рецептура питательной среды на основе кислотного гидролизата моркови (КГМорк.). В связи с тем, что легионеллы растут при определенном наборе аминокислот, ростовых факторов, pH среды и температуре 37°C на искусственных питательных средах (угольно-дрожжевом агаре) [1, 428-430], для усиления ростовых качеств среды применили стимулирующие добавки, выбору которых уделили особое внимание.

По сообщениям ряда авторов в качестве стимулирующих компонентов целесообразно использовать гидролизаты из различных сырьевых субстанций, которые являются богатыми источниками питательных веществ в доступной для микроорганизмов форме [5, 117-118; 7, 74-77].

С учетом пищевых потребностей выращиваемого микроба провели аналитический обзор доступной литературы по химическому составу используемого сырья для гидролиза [4]. Установлено, что арахис, миндаль и креветки являются богатыми субстанциями, в составе которых обнаружены комплексы

Таблица 1

Ростовые качества питательных сред для культивирования легионелл

Название питательной среды	<i>Legionella pneumophilla</i> ATCC 33152	<i>Legionella pneumophilla</i> ATCC 33155	Подвижность	Цвет колоний
КГМорк.	25±0,1	18±0,2	сохранена	голубые с розоватым оттенком
КГМорк. + ФГМ	51±0,1	55±0,3	выражена	голубые с сероватым оттенком
КГМорк. + ФГК	нет роста	нет роста	-	-
КГМорк. + ФГА	65±0,2	67±0,1	выражена	голубые
СЭЛ	80±0,2	85±0,2	сохранена	голубые
Агар Хоттингера	нет роста	нет роста	-	-

витаминов (А, Е, С, В₆, В₁₂, биотин, ниацин, пантотеновая кислота, рибофлавин, тиамин, фолацин), аминокислот и минеральных элементов. Это свидетельствует об уникальном составе используемого сырья и позволяет рассчитывать на конечные продукты гидролиза с уникальными свойствами, а также высокими показателями качества.

В связи с вышеизложенным, в качестве стимулирующих добавок использовали ферментативные гидролизаты из миндаля (ФМ), арахиса (ФА) и креветок (ФК) в концентрации 10,0 мл/л. В состав плотной питательной среды, помимо основы и стимулирующего компонента, входили: L-цистеин, калий-фосфатный буфер на дистиллированной воде (КН₂РO₄ – 0,9 г/л, КН₂РO₄·CH₂O – 2,2 г/л), активированный уголь – 2,0 г/л и микробиологический агар – 10,0 г/л.

В работе использовались типичные по культурально-морфологическим свойствам тест-штаммы *Legionella pneumophilla* ATCC 33155 Bloomington 2, *Legionella pneumophilla* ATCC 33152 Philadelphia 1, полученные из ГИСК им. Л.А. Тарасевича.

Эффективность различных вариантов новой питательной среды (рН 6,9) с указанными стимулирующими добавками оценивали в сравнении с контрольной средой СЭЛ (рН 7,1) и агаром Хоттингера (рН 6,8). Показатель аминного азота всех питательных сред соответствовал 120 мг/%. Среды, разлитые во

флаконы, стерилизовали при 121°C в течение 20 мин. На свежие разлитые и просушенные пластинки исследуемых питательных сред засеивали взвесь легионелл в дозе 100 м.к. в 0,1 мл. Результаты учитывали на третьи, четвертые и пятые сутки путем подсчета выросших колоний, определения их цвета, а также подвижности микробных клеток в раздавленной капле (табл. 1).

По результатам исследований, приведенным в табл. 1, можно сделать вывод, что питательная среда на основе кислотного гидролизата из моркови с добавлением гидролизата из миндаля обеспечивает выход *Legionella pneumophilla* ATCC 33152 – 64%, а *Legionella pneumophilla* ATCC 33155 – 65%, с ферментативным гидролизатом из арахиса – 81% и 79%, при сравнении с количеством колоний, выросших на контрольной среде – СЭЛ (100%).

Питательная среда, приготовленная на основе кислотного гидролизата моркови без стимулирующих компонентов, способствует выходу бактериальной массы *Legionella pneumophilla* ATCC 33152 – 31%, а *Legionella pneumophilla* ATCC 33155 – 21%.

Новая питательная среда с ферментативным гидролизатом из креветок при культивировании легионелл не показала ростостимулирующего эффекта.

Агар Хоттингера использовали в качестве отрицательного контроля.

При изучении морфологических свойств микроорганизмов *Legionella pneumophila* ATCC 33152 и *Legionella pneumophila* ATCC 33155, выросших на всех вариантах рецептур питательной среды на основе кислотного гидролизата моркови, а также на питательной среде - СЭЛ установлено, что они идентичны на всех средах и соответствуют классическим характеристикам микроба. Так, *Legionella pneumophila* является грамотрицательной палочковидной подвижной бактерией, размерами 3Ч0,5Ч0,7 мкм.

Таким образом, предложенные питательные среды со стимулирующими компонентами из миндаля и арахиса по количеству выросших колоний незначительно уступают контрольной среде СЭЛ, а также соответствуют требованиям контроля питательных сред для культивирования возбудителя легионеллеза по биологическим показателям [3].

Проявление культуральных, сохранность морфологических свойств, а также выраженная подвижность микробных клеток свидетельствует о полноценности двух новых питательных сред для культивирования легионелл из растительного сырья – моркови со стимулирующими компонентами – ферментативными гидролизатами из арахиса и миндаля. С учетом вышеизложенного, а также с учетом низкой стоимости основных компонентов разработанных сред, открывается перспектива их широкого использования в диагностических и производственных целях.

ЛИТЕРАТУРА:

1. Борисов, Л.В. Медицинская микробиология, вирусология, иммунология. Изд. 4-е, доп. и перераб. М.: ООО «Медицинское информационное агентство», 2005.
2. Воробьев, А.А. Медицинская микробиология, вирусология и иммунология // А.А. Воробьев // Учебник для студентов мед. 2-е изд., испр. и доп. М.: ООО «Медицинское информационное агентство», 2008.
3. Методические рекомендации / Контроль диагностических питательных сред по биологическим показателям для возбудителей чумы, холеры, сибирской язвы, туляремии, бруцеллеза, легионеллеза. М.: Федеральный центр гигиены и эпидемиологии Роспотребнадзора, 2007.
4. Нестерин, М.Ф. Химический состав пищевых продуктов / М.Ф. Нестерин, И.М. Скурихина. М.: «Пищевая промышленность», 1979.
5. Пенькова, Н.И. Оценка качества ферментативных гидролизатов на основе нетрадиционного сырья / Н.И. Пенькова // Университетская наука – региону: Матер. 54-й научно-практ. конф. / Сб. труд. молодых ученых. Ставрополь: Изд-во СГУ, 2009.
6. Темежникова, Н.Д. Легионеллезная инфекция / Н.Д. Темежникова, И.С. Тартаковский. М.: ОАО «Медицина», 2007.
7. Тимченко, Л.Д. Эффективность добавления гидролизата из каллизии душистой в питательной среде – агаре Хоттингера при культивировании лактобактерий / Л.Д. Тимченко, Н.И. Пенькова // Проблемы развития биологии и экологии на Северном Кавказе: Матер. научн. конф. «Университетская наука – региону». Ставрополь: СГУ, 2009.
8. Ярков, С.П., Третьяков С.И., Башарова Л.А. и др. Проблемы особо опасных инфекций. Саратов, 2009. Вып. 2 (100).

УДК 53.09

Коничев А.С., Баурин П.В.

Московский государственный областной университет

Федоровский Н.Н.

*Московский государственный университет технологий и управления
им. К.Г. Разумовского*

Марахова А.И., Якубович Л.М., Черникова М.А.

Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова

ТРАДИЦИОННЫЕ И СОВРЕМЕННЫЕ МЕТОДЫ ЭКСТРАКЦИИ БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ ВЕЩЕСТВ ИЗ РАСТИТЕЛЬНОГО СЫРЬЯ: ПЕРСПЕКТИВЫ, ДОСТОИНСТВА, НЕДОСТАТКИ

A. Konichev, P. Baurin

Moscow State Regional University

N. Fedorovskiy

Moscow State University of Technologies and Management named after K.G. Razumovsky

A. Marakhova, L. Yakubovich, M. Chernikova

I.M. Sechenov First Moscow State Medical University

TRADITIONAL AND MODERN METHODS OF EXTRACTION OF BIOLOGY ACTIVE SUBSTANCES FROM PLANT MATERIALS: PERSPECTIVE, DIGNITIES, LIMITATIONS

Аннотация. В настоящее время заметно возрос интерес к фитотерапии. Лекарственные растения являются уникальными источниками целебных соединений – биологически активных веществ (БАВ), применяющихся как для профилактики, так и для лечения различных заболеваний организма человека. На современном фармацевтическом рынке широко представлен ассортимент лекарственных средств на растительной основе. В связи с вышесказанным актуальными остаются вопросы выделения (экстракции) БАВ из лекарственного растительного сырья. Методы экстракции можно разделить на традиционные – прессование (горячее и холодное), водно-паровая экстракция, экстракция различными растворителями – и современные – сверхкритическая (экстракция сжиженными газами), ультразвуковая и другие виды экстракции. Несмотря на разнообразие методов выделения экстракции, каждый из них обладает своими достоинствами и недостатками, которые необходимо учитывать в зависимости от поставленной задачи. Публикаций, посвященных экстракции БАВ из сырья в воду, крайне мало, несмотря на то, что водные извлечения наиболее физиологичны.

Ключевые слова: мацерация, перколяция, ультразвуковая экстракция, экстракция сжиженными газами, ремасцерация, электроосмос, электроплазмолиз.

Abstract. Modern science shows a big interest in phytotherapy. Medicinal plants save many biologically active substances, which cure different diseases. The extraction of biologically active substances is an acute question. All ways of extraction could be subdivided into traditional: pressing (hot and cold), percolation, maceration extraction and modern: supercritical ultrasound extraction, extraction by liquefied gas, electro osmosis, etc. All of them have dignities and specificities, which should be taken into consideration depending on the set task. Unfortunately the investigations of the most physiological of all extractions, namely extraction of biologically active substances into water, are quite rare.

Key words: percolation, maceration, ultrasound extraction, extraction by liquefied gases, electro osmosis.

© Коничев А.С., Федоровский Н.Н., Марахова А.И., Баурин П.В., Якубович Л.М., Черникова М.А.

Традиционные методы экстракции представляют собой большую группу методов выделения биологически активных веществ из растительного или животного сырья, известную с давних времен и приведшую впоследствии к созданию новых, передовых методов, использующих принципиально иные подходы. К традиционным методам экстракции относятся прессование (горячее и холодное), водно-паровая экстракция, экстракция различными растворителями. Среди современных можно отметить сверхкритическую, ультразвуковую и другие виды экстракции.

Несмотря на разнообразие, все способы экстрагирования можно разделить на статические и динамические. В статических способах сырье периодически заливают экстрагентом и настаивают определенное время. Динамические методы предполагают постоянную смену либо экстрагента, либо экстрагента и сырья.

Известными и широко применяемыми статическими способами являются мацерация и ремацерация. Эти способы используются для приготовления экстрактов и настоек. На производстве густых и сухих экстрактов чаще применяются ремацерационные методы.

В настоящее время мацерация не отвечает требованиям интенсификации производства и используется только в редких случаях [9; 18, 42-45]. Достоинством способа является простота метода и оборудования. К недостаткам можно отнести неполноту экстракции действующих веществ, большую продолжительность процесса, завышенное содержание балластных веществ в извлечениях (ВМС, пектины, слизи, белки и др.), трудоемкость (двойное прессование, промывка шрота).

В настоящее время прослеживается тенденция к изысканию и внедрению новых форм мацерации с максимальной динамизацией всех видов диффузии. Примерами таких модификаций мацерации являются: вихревая экстракция (турбоэкстракция), акустическая экстракция, электроимпульсный и другие методы импульсной обработки сырья; центробежная экстракция, дроб-

ная мацерация и др.

Турбо-экстракция часто осуществляется с использованием роторно-пульсационной аппаратуры [1], где колебания (вибрация) частицы сырья наиболее выражены.

Метод вихревой экстракции (турбоэкстракции) позволил сократить до 5-10 мин. стадии экстрагирования действующих веществ корней горечавки, аира болотного, листьев красавки, коры хинного дерева [12; 13; 16]. Методом экстракции растительного сырья в турбулентном потоке экстрагента с одновременным измельчением сырья можно получить извлечения из свежих растений.

К кинематическим способам – колебания частицы в движущейся жидкости – относится способ интенсификации процесса экстракции путем размолва сырья в среде экстрагента с помощью шаровых мельниц. При применении этого способа время выделения основных биологически активных веществ из такого сырья, как трава мяты, пустырника, ландыша, корневища с корнями валерианы и др., сокращается до 1-3 ч. по сравнению с 8-48 ч. при существующих методах. Одним из недостатков способа получения извлечений с помощью шаровой мельницы является то, что при достаточно продолжительном ведении процесса (в 2-3 раза превышающем оптимальное) происходит адсорбция основных действующих веществ большой поверхностью измельченностью сырья.

Для интенсификации процессов гомогенизации и перемешивания, растворения труднорастворимых веществ, ускорения стадии экстрагирования биологически активных соединений успешно применяются пульсационные методы обработки растительного сырья [19, 468-478]. Частота пульсаций в современных пульсационных пневматических установках лежит в пределах 20-300 колебаний в минуту.

Интенсификация процесса при пульсации потока жидкости, протекающей через слой сырья, объясняется турбулизацией пограничного слоя, уменьшением его толщины, разрушением застойных зон в точке соприкосновения частиц.

Весьма перспективным в технологическом отношении оказался метод ускорения стадии экстрагирования биологически активных веществ из лекарственного сырья с помощью электроимпульсных разрядов [10, 35-38; 15]. Можно успешно интенсифицировать процесс экстрагирования, не нарушая целостности молекулы. Жидкости, обработанные электроимпульсным ударом, продолжительное время не поддаются микробиологической порче.

Другими современными методами повышения эффективности экстракции биологически активных веществ из растительного сырья являются высокочастотная и сверхвысокочастотная обработка [9]. Такая обработка сырья позволяет комплексно интенсифицировать технологические процессы путем улучшения качества готовой продукции, увеличения ее выхода, значительного сокращения производственных площадей, соблюдения необходимых санитарно-гигиенических условий обработки лекарственного сырья. Однако ВЧ- и СВЧ-нагрев должны быть включены в технологический процесс именно там, где возможен наибольший эффект: на стадии экстрагирования или упаривания жидкостей, получения густых и сухих экстрактов при сушке различного фармацевтического сырья (порошков, гранулятов, сыпучего растительного материала, различных полуфабрикатов, готовой продукции и т. д.), когда процессы в сравнении с традиционными могут быть ускорены в несколько раз. При электромагнитной обработке происходит одновременный нагрев всей массы обрабатываемого материала как в макро-, так и микрообъемах. Как правило, готовность ВЧ- и СВЧ-аппаратуры к работе достигается в течение 30-50 с, что в условиях производства экономически выгодно благодаря сокращению энергозатрат.

Другим важным преимуществом высокочастотной обработки является то, что в отличие от традиционного тепломассообмена здесь нет необходимости создавать, например, при сушке лекарственного сырья, большие градиенты температур, влажности,

давления.

Кроме того, этот способ повышения экстракции способствует стерилизации получаемых извлечений. Следует отметить некоторые недостатки, присущие электромагнитному полю. Эффективная глубина проникновения электромагнитных волн в обрабатываемый материал составляет 45-50 мм [4, 30-32]. При дальнейшем повышении толщины высушиваемого образца эффективность обработки снижается, что проявляется в увеличении длительности сушки.

К электрическим способам обработки растительного сырья относят электроплазмолиз и электродиализ. Электроплазмолиз чаще всего используется для получения соков из растительного сырья при прессовом способе извлечения [17]. Растительные ткани, особенно живые, ввиду наличия в них ионов, коллоидно-белковых веществ, способных электрически заряжаться, весьма быстро реагируют на внешнее воздействие, в том числе и на электрический ток. При обработке сырья электрическим током процесс разрушения протоплазмы происходит практически мгновенно. Ток в отличие от температурного плазмолиза не вызывает разрушения клеточных стенок, в результате чего в полученных извлечениях весьма мало пектина.

Электродиализ основан на диффузии электролитов через полупроницаемую пористую перегородку под действием электрического тока. В процессе электродиализа достигается изменение солевого состава основных частей жидкостей, содержащих биологически активные вещества.

При электродиализе не происходит изменения агрегатного состояния и фазового превращения системы, а вещества, входящие в обрабатываемые жидкости, остаются в нативном состоянии [2]. Недостатком является длительность процесса.

Широкое применение в фармации нашел ультразвук, используемый при растворении, получении эмульсий, суспензий, изготовлении микрогранул, стерилизации и фонофорезе, производстве ампул [15], т. е. там, где

ультразвук непосредственно контактирует через жидкую фазу с молекулой вещества.

Однако, при УЗ-воздействии которые способны не только изменить конформационную структуру озвучиваемой молекулы, ее пространственную ориентацию и свойства, но и деформировать, рвать молекулярную цепочку на отдельные фрагменты. В этом отношении звукохимические эффекты, связанные с превращением энергии упругих колебаний ультразвука, являются одним из видов механохимических реакций.

Любой технологический процесс находит широкое применение в фармации, если он не нарушает химической устойчивости лекарственных веществ. С этой точки зрения ультразвуковые волны весьма специфичны. Одни препараты под их действием теряют свои свойства, другие остаются нейтральными, третьи, наоборот, становятся терапевтически более активными. Таким образом, в растворе могут наблюдаться явления химической деполимеризации, образование новых макрорадикалов, гомогенизация обрывков и т. д.

С увеличением времени озвучивания и интенсивности степень деструкции веществ увеличивается. Процесс разложения может быть приостановлен или замедлен в случае добавления стабилизаторов, антиоксидантов, консервантов.

В литературе часто встречаются публикации, посвященные экстракции сжиженными газами [15].

Обработка лекарственного и эфиромасличного растительного сырья сжиженными газами с целью извлечения отдельных компонентов в неизменном (нативном) виде относится к высокоэффективным технологическим процессам, обеспечивающим снижение трудовых затрат, улучшающим качество продукции и способствующим комплексному использованию сырьевых ресурсов и материалов. В фармации этот способ используют при получении высококачественных ароматизаторов, отдушек, биологически активных веществ, оригинальных лекарственных препаратов, различных продуктов

и полуфабрикатов, предназначенных для дальнейшей переработки [8, 18-25].

Экстракционный процесс сжиженными газами проводится под большим статическим давлением, что в технологическом отношении весьма важно, так как при снятии давления уже в условиях нормальной температуры экстрагент быстро улетучивается из извлеченного и отработанного сырья. В результате остается сумма экстрагированных веществ, не нуждающихся в какой-либо дополнительной обработке.

Каждый из сжиженных газов характеризуется индивидуальными физико-термодинамическими свойствами, в том числе гидрофильными и олеофильными. Это создает возможность подобрать ряд сжиженных газов и вести экстракцию отдельных химических соединений из сырья растворителями, обладающими различной полярностью. Такое свойство сжиженных газов позволяет вводить в технологический процесс фазу селективной экстракции растворителем, способным формировать заданное количество экстракта, извлекать по мере надобности индивидуальные химические вещества, комплексы, классы соединений, не затрагивая оставшуюся в шроте сумму экстрактивных веществ.

Для извлечения биологически активных и других веществ наиболее часто применяют сжиженный углекислый газ [15; 16]. В химическом отношении сжиженный углекислый газ – прочное и инертное вещество, проявляющее химическую индифферентность по отношению к перерабатываемому сырью, извлекаемым веществам и конструкционным материалам аппаратуры. Кроме того, он пожаро- и взрывобезопасен. К сожалению, не все сжиженные газы обладают этими свойствами.

Количественный выход действующих веществ при извлечении сжиженными газами может достигать 88-98 %, что, как правило, выше, чем у других способов экстрагирования – мацерации, перколяции, отгонки паром и т. д. Сравнивая экстракты, полученные с помощью CO_2 , с экстрактами, по-

лученными паровой отгонкой, можно отметить следующее. Как правило, экстракты, полученные экстрагированием CO_2 , имеют окраску более темных тонов с тенденцией к коричневому, меньшие плотность и показатель преломления, большее кислотное число, особенно экстракты из листьев, стеблей, корней и корневищ растений, что, по-видимому, связано с энзиматическими процессами, протекающими в сырье при нарушении процесса сушки или длительном хранении. В жиросодержащих фракциях экстрактов, полученных экстрагированием CO_2 , преобладают сложные эфиры и эфиры неглицеридного характера, поэтому отмечаются высокие значения эфирного числа экстрактов [14].

Процесс извлечения различных веществ из лекарственного сырья (в случае использования сжиженных газов) на основных технологических стадиях (экстракции и дистилляции) ведется при относительно низкой температуре. Это исключает окислительные процессы во время извлечения биологически активных веществ. Тем не менее, полученные экстракты за редким исключением все же не могут заменить уже существующие экстракты (густые или жидкие), широко используемые в практике химико-фармацевтического и аптечного производства для изготовления стандартных лекарственных форм.

В извлечениях, полученных сжиженным газом, отсутствуют отдельные экстрактивные вещества и компоненты, придающие определенные вкусовые, органолептические, фармакологические свойства – качества, отличающие один лекарственный препарат от другого. Будучи разведенными спиртом или водно-спиртовыми растворами, такие экстракты нередко приобретают специфический запах и вкус. Это объясняется тем, что каждый из сжиженных газов в отдельности обладает характерной особенностью.

Как известно, после экстрагирования, например углекислотой, в шроте сохраняются почти все водорастворимые вещества. Основная масса экстрактов из лекарственного сырья, полученных с помощью сжиженных

газов, оказывает губительное влияние на жизнедеятельность микроорганизмов. Выявленные антибактериальные свойства экстрактов, полученных экстракцией сжиженным CO_2 , открывают новые возможности их использования как природных консервантов, особенно для жидких лекарственных форм, предназначенных для длительного хранения. Подбирая композиции экстрактов, можно на длительное время блокировать развитие микрофлоры в жидкостях. Получение экстрактов с помощью сжиженных газов выгодно экономически, так как этот способ дает возможность производить достаточно концентрированные препараты с относительно небольшой стоимостью.

Несмотря на разнообразие способов повышения эффективности экстракции, а также бурное развитие современных технологий, направленных на оптимизацию процессов извлечения биологически активных веществ из растительного сырья, многие вопросы остаются открытыми. Так, например, большое количество лекарственного растительного сырья применяется в виде водных извлечений, а публикаций, посвященных проблеме увеличения перехода БАВ в воду довольно мало. Однако, водные настои и отвары являются наиболее физиологичными лекарственными формами для организма человека.

ЛИТЕРАТУРА:

1. Балабудкин М.А. Роторно-пульсационные аппараты в химико-фармацевтической промышленности. М.: Медицина. изд.фирма,1983. 160 с
2. Брок Т. Мембранная фильтрация. М.: Мир. изд. фирма, 1987. 464 с.
3. Георгиевский В.П., Комиссаренко Н.Ф., Дмитрук С.Е. Биологически активные вещества лекарственных растений. Новосибирск: Наука, 1990. 330 с.
4. Гончаренко Г.К., Орлова Е.И. Кинетика экстрагирования растительного материала// Мед. пром-ть СССР. 1992. № 3.
5. Государственная Фармакопея СССР. МЗ СССР. 10-е изд. М.: Медицина, 1968. 150 с.
6. Государственная Фармакопея СССР. МЗ СССР. 11-е изд. М.: Медицина, Вып. 1, 1987; Вып. 2, 1990. 336 с.

7. Государственный реестр ЛС РФ. М.: МЗ РФ, 2001. 12 с.
8. Дорофеев В.И., Косенко Н.В., Северцев В.А. Формирование рынка лекарственного растительного сырья в России // Материалы 4 Международного съезда «Актуальные проблемы создания лекарственных препаратов природного происхождения». СПб., 2000.
9. Захаров В.П., Либизов И.И., Асланов Х.А. Лекарственные вещества из растений и способы их производства. Ташкент: изд-во ФАН. изд.фирма, 1980. 187 с.
10. Медицинская пром-сть СССР. 1961. № 10.
11. Минина С.А., Шимолина Л.Л. Сапонины. Методы выделения, разделения, очистки и анализа. СПб.: ХФИ. изд.фирма, 1992. 16 с
12. Минина С.А., Шимолина Л.Л. Антрахиноновые гликозиды. Химическая структура, методы выделения, очистки и анализа. СПб.: ХФИ. изд. фирма, 1993. 272 с
13. Минина С.А. Характеристика алкалоидов. Общие методы их выделения и разделения. Л., 1978. 488 с.
14. Минина С.А., Каухова И.Е. Химия и технология фитопрепаратов. М.: Гэотар-Медиа. изд.фирма, 2009. 560 с.
15. Молчанов Г.И. Интенсивная обработка лекарственного сырья. М.: Медицина. изд.фирма, 1981. 241 с.
16. Пономарев В.Д. Экстрагирование лекарственного растительного сырья. М.: Медицина. изд. фирма, 1976. 210 с.
17. Романков П.Г., Курочкина М.А. Экстрагирование из твёрдых материалов. Л.: Химия. изд. фирма, 1983. 367 с.
18. Химико – фармацевтический журнал. 1998. № 7.
19. Хим. пром-сть. 1998. № 8.

УДК 579.841.95:576.8.071.3

Курчева С.А.

*Ставропольский научно-исследовательский
противочумный институт*

РАЗРАБОТКА БИОТЕХНОЛОГИИ ПРОИЗВОДСТВА ИММУНОДИАГНОСТИЧЕСКИХ ПРЕПАРАТОВ ДЛЯ ВЫЯВЛЕНИЯ ВОЗБУДИТЕЛЯ ТУЛЯРЕМИИ

S. Kurcheva

Stavropol Research Anti-Plague Institute

ELABORATING BIOTECHNOLOGY FOR PRODUCING IMMUNODIAGNOSTIC PREPARATIONS FOR TULAREMIA PATHOGENE DETECTION

Аннотация. К настоящему времени для диагностики туляремии отечественными и зарубежными учеными предложено множество эффективных иммунодиагностических тестов. Большая их часть – экспериментальные разработки. В статье приводятся результаты по конструированию иммунобиологических препаратов для диагностики туляремии и индикации ее возбудителя: диагностикумов эритроцитарных, тест-систем иммуноферментных, иммуноглобулинов флуоресцирующих, тест-системы диагностической магнимоносorbентной. Разработана производственная биотехнология изготовления названных диагностикумов, оформлена нормативная документация (регламенты производства, технические условия, инструкции по применению), утвержденная на учрежденческом и федеральном уровнях, что позволяет осуществлять коммерческий выпуск сертифицированных диагностических препаратов.

Ключевые слова: туляремия, диагностика, чувствительность, специфичность, иммунобиологические препараты.

Abstract. So far Russian and foreign scientists have suggested a lot of efficient immunodiagnostic tests, but most of them are only experimental elaborations. The article provides the results of constructing immunobiological preparation data for tularemia pathogen laboratory diagnosis and identification: erythrocytes diagnostic, immunoferment test-systems, fluorescent immunoglobulins, magnoimmunosorbent diagnostic test-systems. Biotechnology of producing the above mentioned preparations has been elaborated and official standard documents (production regulations, technical conditions, usage instructions) have been approved at local and federal levels documents, which permits commercial certificated diagnostic preparations production.

Key words: tularemia, diagnostics, sensitivity, specificity, immunobiological preparations.

Туляремия – природно-очаговая инфекция, относящаяся к особо опасным возвращающимся инфекционным болезням, крупные вспышки и спорадические случаи которой периодически регистрируются во многих странах мира, в том числе в России. Особенностью эпидемиологии туляремии является большое разнообразие источников носителей, переносчиков, факторов передачи возбудителей, механизмов заражения, входных ворот инфекции [2; 1, 67-76; 4, 249-261].

К настоящему времени для диагностики туляремии отечественными и зарубежными учеными предложено множество эффективных иммунодиагностических тестов. Однако боль-

шая их часть – экспериментальные разработки [3, 12-15]. Цель исследования – разработка биотехнологии производства иммунобиологических препаратов для идентификации *Francisella (F.) tularensis* и диагностики туляремии.

При производстве диагностических препаратов необходимым условием является получение высококачественного антигенного и антительного материала. Для извлечения наиболее полного антигенного комплекса из микробов с сохранением нативности биополимеров мы избрали щадящий режим дезинтеграции микробных клеток с помощью ультразвуковой установки в сочетании с водно-солевой экстракцией и последующим осаждением белка. Из штаммов *F. tularensis*, относящихся к разным подвидам (*F. tularensis* 543/6 (*mediaasiatica*), *F. tularensis* Schu (*nearctica*) и *F. tularensis* 503/840 (*holarctica*)), этим методом изолирован полигрупповой водорастворимый антиген.

Иммунные туляремиальные сыворотки получили по разработанным нами схемам иммунизации кроликов-продуцентов, используя иммунокорректоры феракрил, тималин, циклофосфан, тимоген, обладающие различным механизмом действия, иммуногеном при этом служил полигрупповой туляремиальный водорастворимый антиген.

До сих пор остаются актуальными и широко используются простые, достаточно чувствительные, не требующие применения специальной аппаратуры и поэтому общедоступные серологические тесты, в частности РНГА, РПГА, РНАт. Нами налажен производственный выпуск диагностикумов эритроцитарных туляремиальных – антигенного и иммуноглобулинового, при этом оптимальная биотехнология их изготовления заключается в следующем: концентрация формализированных эритроцитов – 20 %, температура связывания эритроцитов с сенситином (при его нагрузке в 200 мкг/мл) – полигрупповым водорастворимым белковым туляремиальным антигеном либо иммуноглобулинами класса G (IgG), фракционированными октановой кислотой – 45 °C, pH

раствора – 6,0 в течение 18 ч.

Для получения иммуноглобулинов диагностических туляремиальных флуоресцирующих использовали IgG с концентрацией 10 мг/мл, выделяемые из иммунных сывороток октановой кислотой. Наилучшие серии конъюгатов получены при значении pH реакционной смеси – 9,5, нагрузке ФИТЦ – 20 мг на 1 г белка, температуре 20 °C и четырехчасовом контакте белка с красителем. При использовании высокоактивных IgG, выделенных из туляремиальных гипериммунных сывороток с помощью ПЭГ-6000, получены иммунопероксидазные конъюгаты, рабочий титр которых составил 1:200 – 1:400, чувствительность по водорастворимому антигену – 50-100 нг/мл, по корпускулярному антигену – 5×10^4 – 1×10^5 м.к./мл. Названные конъюгаты входят в «Набор реагентов тест-системы диагностической для выявления возбудителя туляремии в иммуноферментном анализе (ИФА)», который зарегистрирован в Росздравнадзоре (№ ФСР 2010 /06744).

Важным условием повышения чувствительности и специфичности методов диагностики является селективное концентрирование возбудителя инфекции с последующей постановкой экспресс-анализов, так как чаще всего в исследуемом материале концентрация возбудителя ниже порога чувствительности метода диагностики. С этой целью нами разработаны композиционные магнитные иммуносорбенты на основе поликлональных туляремиальных IgG. В качестве структурных единиц, формирующих остов кремнезема, использовали алюмосиликат, модифицирование поверхности которого осуществляли в присутствии полигликина и вторичного алкилсульфата натрия. Полученный иммуносорбент применен для проведения иммуномагнитной сепарации возбудителя туляремии и детекции его в иммуноферментном анализе, при этом в качестве твердой фазы вместо полистироловых микропланшетов, традиционно используемых при постановке ИФА, применяли разработанный нами магнитоуправляемый иммунный сорбент при постановке «сэндвич»-варианта этого мето-

да. Чувствительность модифицированного ИФА составила $1,0 \times 10^2$ – $1,0 \times 10^3$ м.к./мл., то есть повышалась на два-три порядка по сравнению с общепринятым ИФА.

Применение МИС позволяет на этапе подготовки пробы путем многократных промываний сорбента с фиксированным на нем инфекционным агентом освобождаться от всевозможных примесей, тем самым исключая их отрицательное влияние на реакцию, максимально концентрируя искомый патоген, что повышает специфичность и чувствительность методов экспресс-анализа, а также достоверность как положительных, так и отрицательных результатов.

Таким образом, проведенные исследования позволили унифицировать биотехнологию производства иммунобиологических препаратов для идентификации *F. tularensis* и диагностики туляремии, что позволяет наладить их коммерческий выпуск. Полученные

результаты являются основанием для рассмотрения вопроса о внедрении разработанных МИБП в практику работы учреждений санэпиднадзора в условиях повседневной деятельности чрезвычайных ситуаций.

ЛИТЕРАТУРА:

1. Никифоров, В.В. Туляремия: от открытия до наших дней / В.В. Никифоров, Г.Н. Кареткина // Инф. болезни. 2007. Т. 5, № 1.
2. Олсуфьев, Н.Г. Таксономия, микробиология и лабораторная диагностика возбудителя туляремии / Н.Г. Олсуфьев. М. : Медицина, 1975. 416 с.
3. Сырова, Н.А. Современное состояние иммунодиагностики туляремии / Н.А. Сырова, З.Л. Терешкина, З.Л. Девдариани // Проблемы особо опасных инфекций. Саратов, 2008. Вып. 97.
4. Diagnostic procedures in tularemia with special focus on molecular and immunological techniques / W.D. Splettstoesser [et al.] // J. Vet. Med. Infect. Dis. Vet. Public. Health. 2005. Vol. 52, № 6.

УДК 598.279.23

Ларичев Т.С.

Московский городской педагогический университет

К ВОПРОСУ О ГНЕЗДОВОЙ БИОЛОГИИ ОРЛА-КАРЛИКА (*HIERAAETUS PENNATUS* GM.) В ЕВРОПЕЙСКОЙ РОССИИ

T. Larichev

Moscow City Pedagogical University

ON THE ISSUE OF NESTING BIOLOGY OF THE BOOTED EAGLE ON THE TERRITORY OF EUROPEAN RUSSIA

Аннотация. Данная работа посвящена изучению гнездовой биологии орла-карлика (*Hieraaetus pennatus* Gm.) на территории Европейской России. Рассматривались сроки прилёта к местам гнездования, расположение гнёзд в пределах лесного массива, виды гнездовых деревьев, гнездовые биотопы, высота гнёзд над поверхностью земли. Полученные данные указывают на значительный адаптивный потенциал и экологическую пластичность вида.

Ключевые слова: орёл-карлик, *Hieraaetus pennatus* Gm., гнездовая биология, гнездовые деревья, гнездовой биотоп

Abstract. This paper is devoted to the study of nesting biology of the Booted Eagle (*Hieraaetus pennatus* Gm.) on the territory of European Russia. The following records have been put to scrutiny: the time of the arrival at nesting places, the location of nests within the forest, types of nesting trees, nesting biotopes, the height of nests above the ground. The results indicate considerable adaptive potential and ecological plasticity of this species.

Key words: Booted Eagle, *Hieraaetus pennatus* Gm., nesting biology, nesting trees, nesting biotope.

Орёл-карлик (*Hieraaetus pennatus* Gm.) – один из самых интересных представителей соколообразных нашей фауны. Сведения о гнездовой биологии этого хищника отрывочны, так как монографических работ по нему не было. Между тем биология этого вида, в том числе такая важная её часть, как гнездовая биология, весьма интересна и сама по себе, и с точки зрения охраны биоразнообразия, поскольку орёл-карлик – вид редкий.

Цели и задачи работы. В процессе нашей работы были изучены особенности гнездовой биологии европейского подвида орла-карлика. Полевые данные были собраны в течение 9 полевых сезонов (1997–2005 гг.) на территории 9 областей Европейской России. Проведено 5 суточных наблюдений у гнезда в течение 3 полевых сезонов (2003–2005 гг.) [1, 32–33]. Рассматривались такие компоненты гнездовой биологии вида, как сроки появления в районах гнездования, особенности гнездостроения, гнездовые биотопы, гнездовые деревья, высота гнезда над уровнем земли, тип развилки, где располагалось гнездо, количество птенцов в гнезде.

Результаты работы. В процессе наших исследований в весенний период (как правило, последние числа апреля – начало мая) орлы-карлики уже держались на своих гнездовых участках (данные по Курской, Липецкой, Саратовской и Тульской областям). Только в начале мая 2003 г. в «Тульских Засаках» ввиду низких температур и осадков орлов-карликов ещё не было, а в летний период они были обнаружены на своих участках.

Судя по нашим наблюдениям в заповеднике «Галичья гора» в Липецкой области, Воронежском, Центрально-Чернозёмном заповедниках, в «Тульских Засаках», орлы-карлики могут

располагать свои гнёзда как в центре лесного массива, так и недалеко от опушки и даже в лесных микрофрагментах (ЦЧЗ, Баркаловка, урочище «Заказник», общая площадь которого составляет не более 4 га). Следовательно, с одной стороны, нет боязни человека, а с другой, лётные качества позволяют орлам легко долетать с добычей до гнезда в центре лесных массивов.

Орлы-карлики гнездились на деревьях лиственных пород. В 5 случаях из 10 это был дуб (*Quercus robur*), в 3 случаях — осина (*Populus tremula*), в 1 случае — клён (*Acer platanoides*) и в 1 случае — липа (*Tilia cordata*). Гнездовым биотопом орлов-карликов служили лиственные леса, обычно дубравы, с примесью других пород (липы, ясеня, клёна). Подлесок (если он имелся) составляли лещина, черёмуха, рябина, черноклён либо молодые деревья 1-го яруса, не достигшие полной высоты. Травянистый ярус составляли обычные растения лиственных лесов — сныть, пролесник, черемша, иногда папоротник, крапива, подмаренник цепляющийся.

Высота расположения гнёзд варьировала от 5 м (Центрально-Чернозёмный запо-

ведник) до 21 м (Воронежский заповедник). Средняя высота гнездования составила 12,9 м, в том числе на высоте до 10 м включительно — 4 гнезда, на высоте от 11 до 20 м — 5 гнёзд и на высоте свыше 20 м — 1 гнездо. Необходимо заметить, что, поскольку во всех случаях гнездование орлов-карликов происходило в достаточно старых лиственных лесах, то можно говорить о том, что эти биотопы на исследованной территории [2, 311-331] чрезвычайно важны для сохранения вида.

ЛИТЕРАТУРА:

1. Ларичев Т.С. Суточные наблюдения у гнезда *Hieraaetus pennatus* // Русский орнитологический журнал (экспресс-выпуск). № 249. Санкт-Петербург, 2004.
2. Лихачёв Г.Н. Очерк гнездования крупных дневных хищных птиц в широколиственном лесу // Тр. 2 Прибалтийской орнитол. конф. М., 1957.
3. Cramp S., Simmons K. Handbook of the Birds of Europe the Middle East and North Afrika. The birds of the Western Palearctic. Oxford, London, New York, 1980, Vol. II.

УДК 371.4

Мартышов А.В.

Московский городской педагогический университет

**ВЛИЯНИЕ КОМПЛЕКСА УПРАЖНЕНИЙ НА РАЗВИТИЕ
ПРИСПОСОБИТЕЛЬНЫХ РЕАКЦИЙ ОРГАНИЗМА К ФИЗИЧЕСКИМ
НАГРУЗКАМ ПРИ ПОДГОТОВКЕ ЕДИНОБОРЦЕВ
НА УЧЕБНО-ТРЕНИРОВОЧНЫХ ЗАНЯТИЯХ В ОБУЧАЮЩЕМ РЕЖИМЕ**

A. Martyshov

Moscow City Pedagogical University

**INFLUENCE OF THE SET OF EXERCISES ON THE DEVELOPMENT
OF ADAPTIVE BODY REACTIONS OF SINGLE COMBAT WRESTLERS
TO PHYSICAL STRESS DURING TRAINING SESSIONS
IN ADAPTIVE MODE**

Аннотация. Рассматривается влияние комплекса упражнений, направленного на развитие выносливости, который применялся автором на учебно-тренировочных занятиях по боевым единоборствам. Мониторинг функционального состояния организма проводился в течение всего периода исследования. В качестве определения ответной реакции организма на предлагаемые физические нагрузки, нами были выбраны объективные показатели состояния сердечно-сосудистой и центральной нервной систем. Происходящие изменения в сердечно-сосудистой системе во время занятий фиксировались с помощью диагностирующего прибора «Варипульс» с выделенными индексами вариационной пульсометрии: частота сердечных сокращений и индекс симпато-адреналового тонуса. Учебно-тренировочные занятия проводились в обучающем режиме, ориентированном на развитие аэробных возможностей у единоборцев.

Ключевые слова: выносливость, мониторинг, индексы вариационной пульсометрии, комплекс упражнений, вариативность, индекс симпато-адреналового тонуса, физические качества, спортивная результативность.

Abstract. The article explores the influence of a set of stamina-developing exercises, which was used by the author during martial arts training sessions. The monitoring of the functional state was conducted during the research period. Objective indicators of the cardiovascular and central nervous systems have been selected to define the reaction of the body to the proposed physical stress. Changes in the cardiovascular system during the sessions were recorded with the help of the screening device "Varipuls" containing variational pulsometry indices: the heart rate and the index of the sympathoadrenal tone. The training sessions were conducted in a training mode, aimed at developing the aerobic qualities of martial arts fighters.

Key words: stamina, monitoring, indices of variation pulsometry, a set of exercises, variability, index of the sympathoadrenal tone, physical features, sports performance.

По данным Минздравсоцразвития России, только 14 процентов обучающихся в старших классах считаются практически здоровыми. Свыше 40 процентов допризывной молодежи не соответствует требованиям, предъявляемым армейской службой, в том числе в части выполнения минимальных нормативов физической подготовки.

Увеличение объема спортивной работы в общеобразовательных учреждениях во внеурочное время, предусмотренное Федеральным государственным образовательным стандартом,

позволяет расширить содержание блока дополнительного образования программами спортивно-оздоровительных групп и групп начальной подготовки спортивных школ. Благодаря увеличению времени занятий возможно применение специальных комплексов упражнений направленного воздействия, в результате которых, при систематических занятиях, возможна положительная тенденция в общей двигательной активности, физической подготовленности и физического развития всего населения [3].

Многообразие изменений, происходящих в различных системах организма, обусловлено характером специализированных физических нагрузок, свойственных тому или иному виду спорта или направлению физической подготовки.

Все возрастающая популярность единоборств среди учащихся делает актуальным вопрос создания методик использования средств этого вида спорта в качестве прикладной спортивной физической подготовки современных школьников допризывного возраста.

При подготовке учащихся к физическим нагрузкам важно развивать выносливость. Выносливость – способность организма противостоять утомлению.

Выносливость необходима в той или иной мере при выполнении любой физической деятельности. В одних видах физических упражнений она непосредственно определяет спортивный результат (ходьба, бег на средние и длинные дистанции, велогонки, лыжные гонки), в других – позволяет лучшим образом выполнить определенные тактические действия (бокс, борьба, единоборства, спортивные игры и т. п.). Выносливость помогает также переносить многократные кратковременные высокие нагрузки и обеспечивает быстрое восстановление после работы (метания, прыжки, тяжелая атлетика и т. д.) [5].

По мнению отечественных и зарубежных специалистов, уже в детском и подростковом возрасте имеются благоприятные предпосылки для развития выносливости.

Современные исследования, проведенные

А.Н. Макаровым, и практика детского спорта убеждают, что уже в среднем школьном возрасте следует направленно воздействовать на развитие выносливости разного типа, в первую очередь выносливости в работе умеренной и переменной интенсивности. Основными же средствами для развития выносливости в условиях умеренных нагрузок являются продолжительные циклические упражнения (например, длительная ходьба, кроссовый бег) [2].

О степени развития выносливости можно судить на основе двух групп показателей: внешних (поведенческих), которые характеризуют результативность двигательной деятельности человека во время утомления, и внутренних (функциональных), которые отражают определенные изменения в функционировании различных органов и систем организма, обеспечивающих выполнение данной деятельности (изменения в центральной нервной системе, сердечно-сосудистой, дыхательной, эндокринной и других системах и органах человека в условиях утомления).

При анализе и планировании учебно-тренировочных занятий с различным циклом подготовки и направленности (аэробная, анаэробная) важно проводить мониторинг ответной реакции сердечно-сосудистой системы на предлагаемые на занятиях физические нагрузки. Реакция сердечно-сосудистой системы может проявляться в динамике роста, стабилизации или снижении индексов вариационной пульсометрии. Считается, что только аэробная физическая работа выполняется на отрезке 130-150 уд./мин. [5].

Широкое распространение в диагностике состояний нервно-психического напряжения здорового человека получили индексы вариационной пульсометрии (ВП). В многочисленных исследованиях было показано, что при увеличении нервно-психических нагрузок индексы вариационной пульсометрии у человека изменяются раньше многих других физиологических характеристик, включая такие показатели, как частота сердечных сокращений или дыхания, артериальное дав-

ление. Только за последние 10 лет изучению диагностической ценности показателей вариабельности ритма сердца было посвящено несколько тысяч статей [1, 345-350].

Как справедливо считает Терешкин А.Ф., повысить эффективность учебно-тренировочного процесса возможно при построении учебно-тренировочного занятия на основе оценки срочных тренировочных эффектов, получаемых посредством регламентации специальных упражнений направленного воздействия (развитие выносливости) на организм единоборцев в различных циклах спортивной подготовки [4, 20-26].

В экспериментальной работе мы использовали комплекс упражнений, развивающий выносливость. Данный комплекс обобщает опыт и знания, полученные в результате многолетних занятий каратэ, борьбой, а также в ходе изучения различных видов самозащиты и рукопашного боя.

Комплекс представляет собой универсальную систему, сочетающую в себе целый ряд самостоятельных упражнений. Он включает набор базовых движений, основанных на генетически заложенной в каждом человеке механике двигательных навыков. Комплекс формирует у человека дыхательные и двигательные навыки, позволяющие на рефлекторном уровне избирать наиболее экономичный способ расходования своей энергии

при необходимости переносить значительные нагрузки. Двигательные навыки приобретаются на базе изучения подводящих упражнений из боевых единоборств.

В опытно-экспериментальной работе изучалось влияние комплекса упражнений, подобранных автором, на уровень выносливости и спортивную результативность юношей, занимающихся в кружке рукопашного боя.

В исследовании приняло участие 20 учащихся старшей возрастной группы, занимающихся в кружке рукопашного боя ГОУ ЦО №1432 ЗАО г. Москвы. В контрольную и экспериментальную группы входило по 10 человек. В течение учебного года на занятиях по рукопашному бою экспериментальная группа занималась в соответствии с комплексом упражнений, направленных на развитие физических качеств с превалированием упражнений на развитие специальной выносливости. А контрольная группа занималась по стандартной программе рукопашного боя, где использовался комплекс упражнений на развитие общей выносливости. Обучение комплексам в обеих группах проходило в обучающем режиме (табл. 1). Режим выполнения комплекса имел свою вариативность в зависимости от половозрастных особенностей учащихся и уровня их подготовки.

В начале учебного года юноши обеих групп показали относительно равные ис-

Таблица 1

Вариативность режимов выполнения комплекса в зависимости от половозрастных особенностей учащихся, а также в зависимости от уровня подготовки [4]

Характеристика методики применения	Режим выполнения комплекса	
	Обучающий (до 1 года обучения)	Развивающий (после 2 года обучения)
Характеристика режима	Аэробно-тренирующий	Аэробно-анаэробный
Направленность комплекса	Обучающая	Развивающая
Скорость	Низкая	Максимальная
Повторения	10-15	Максимальная
Подходы	3-4	1-3
Время выполнения упражнения (сек.)	15	15
Время отдыха между подходами (сек.)	25	25
Время отдыха между упражнениями(сек.)	60	60
Время отдыха между комплексами (мин.)	3	5

Таблица 2

Тенденция изменения пульса и индекса САТ у учащихся обеих возрастных групп в зависимости от этапа учебно-тренировочных занятий

Группа	Этапы занятий	В начале учебного года		Р при переходе из ЭГ в КГ	В конце учебного года		Р при переходе из ЭГ в КГ
		ЧСС уд. мин.	САТ у. е.		ЧСС уд. мин.	САТ у. е.	
ЭГ	1	89±1	315.2±0,5	>0,05	88±1	310.15±0,3	<0,05
	2	133±1	693±0,5		129±1	680±0,3	
	3	103±4	410±0,5		99±1	401±0,3	
КГ	1	90±1	311.3±0,5		89±1	309.04±0,5	
	2	132±1	743±0,5		130±1	740±0,5	
	3	102±1	440±0,5		106±1	443±0,5	

Этапы учебно-тренировочных занятий:

1-до занятий

2-после физической нагрузки

3-после времени восстановления (5 минут)

ЭГ – экспериментальная группа

КГ- контрольная группа

ЧСС – среднее значение частоты сердечных сокращений (уд./ мин.)

САТ- симпато-адреналовый тонус (индекс вариационной пульсометрии (у. е.)

p- индекс статистической значимости

ходные показатели уровня физической подготовленности и развития (были проведены тесты на проверку уровня развития физических качеств).

На всех этапах учебно-тренировочных занятий проводился мониторинг функционального состояния единоборцев, который осуществлялся как по регистрации частоты сердечных сокращений, так и с помощью прибора «Варипульс», применяемого для оперативной регистрации и вычисления индексов вариационной пульсометрии.

В настоящее время существует множество индексов вариационной пульсометрии, отражающих состояние сердечно-сосудистой системы спортсмена. В данной работе применялся достаточно новый для подобных исследований индекс для оценивания вариативности ритма сердца (происходило оценивание только быстрого компонента вариативности межсистолических интервалов в отличие от индекса напряжения Баевского) – индекс симпато-адреналового тонуса (САТ). Вычисления индекса САТ проводились автоматически и выводились на экран

монитора компьютера в «готовом» виде [4, 20-26].

Диапазон частоты сердечных сокращений при выполнении комплекса, направленного на развитие выносливости в обучающем режиме, составил 129 -133уд/мин. Результаты исследования представлены в табл. 2.

На основании проведенного эксперимента можно сделать заключение, что приспособительные реакции ярче выражены у учащихся экспериментальной группы, поскольку к концу учебного года у них наблюдалось достоверное снижение пульса на всех трех этапах занятий (по сравнению с юношами из контрольной группы). Отмечено также быстрое восстановление сердечной деятельности после физической нагрузки: измерения, проведенные после восстановления в течение 5 мин., показали величину ЧСС, равную 129±1 уд/мин, в конце занятия 99±1 уд/мин. Таким образом, разница составила, в среднем, 30 уд/мин., тогда как у юношей контрольной группы этот показатель равен в среднем около 24 уд/мин.

По итогам тестирования наиболее чувс-

твительной характеристикой вариационной пульсометрии оказался индекс САТ. Поскольку этот индекс в наибольшей степени отражает быстрые компоненты вариативности межсистолических интервалов, его увеличение свидетельствует о стабилизации ритма сердца именно в ряду последовательных межсистолических интервалов. Анализируя значения САТ, полученные в итоге контрольного тестирования в отдельном срезе занятий (при переходе из 1 ко 2 этапу занятий), можно заметить пропорциональное увеличение его значения, что свидетельствует о стабилизации пульса на конкретном отрезке (этапе) занятия. А также мы замечаем достоверное снижение индекса САТ к концу учебного года в экспериментальной группе (к примеру: на пике физической нагрузки индекс $САТ_{ЭГ} = 680 \pm 0,3$; а индекс $САТ_{КГ} = 740 \pm 0,5$). Это является еще одним подтверждением развивающихся приспособительных реакций в обеих группах. В конце учебного года учащиеся обеих групп демонстрируют снижение по всем показателям вариационной пульсометрии, однако наиболее заметен эффект у юношей экспериментальной группы.

Контроль уровня развития выносливости проводился по специальным тестам, представленным в комплексе в разделе общей выносливости. В результате систематических наблюдений и определения уровня функциональной подготовки учащихся в период занятий установлен достоверный положительный прирост уровня физической подготовленности к концу учебного года (особен-

но в части развития общей и специальной выносливости) у учащихся экспериментальной группы по сравнению с контрольной.

Прирост физических качеств, продемонстрированный в ходе применения специально разработанного комплекса упражнений, существенно повлиял на уровень общей подготовленности единоборцев: 70% юношей из экспериментальной группы заняли призовые места в первенствах города Москвы по рукопашному бою, ушу а также контактно-му каратэ (в контрольной группе результаты выступлений на соревнованиях гораздо скромнее – 30% юношей оказались в числе призеров). В итоге обладателями следующих спортивных разрядов в большей мере оказались юноши экспериментальной группы.

ЛИТЕРАТУРА:

1. Каплан А.Я. 1999, Журнал высшей нервной деятельности. Т. 48. (6).
2. Кузнецов В.С., Колодницкий Г.А. Оздоровительная физическая культура для учащихся. Методическое пособие. М.: МИОО, 2010.
3. Никитин Б.П., Никитина Л.А. Резервы здоровья наших детей. М.: Физкультура и спорт, 1990.
4. Терешкин А.Ф. Динамика функционального состояния организма детей и подростков при систематическом использовании статических упражнений на занятиях по физической культуре // Развитие двигательной и функциональной подготовленности школьников. Свердловск, 1990.
5. Янсен Петер. ЧСС, лактат и тренировки на выносливость: Пер. с англ. Мурманск: Издательство «Тулома», 2006.

УДК 577.15.

Поликарпова Л.В.

Московский государственный областной университет

СЕЗОННАЯ ДИНАМИКА АКТИВНОСТИ КИСЛОЙ ФОСФАТАЗЫ И НУКЛЕАЗ В ПЕЧЕНИ И ЖАБРАХ ЛЕЩА (*ABRAMIS BRAMA*)

L. Polikarpova

Moscow State Regional University

SEASONAL DYNAMICS OF ACID PHOSPHATASE AND NUCLEASES ACTIVITY IN LIVER AND BRANCHIAE OF BREAM (*ABRAMIS BRAMA*)

Аннотация. Исследована сезонная динамика активности кислой фосфатазы, кислой ДНКазы и кислой РНКазы в печени и жабрах лещей, выловленных в Рыбинском водохранилище. Динамика активности всех изученных ферментов имеет сходный характер и отражает интенсивность обмена веществ в различные периоды жизнедеятельности рыб. Установлена взаимосвязь между уровнем удельной активности исследованных ферментов и периодами размножения (нереста) и интенсивного питания (нагула) рыб. Обсуждаются возможности использования полученных данных для мониторинга физиологического состояния рыб.

Ключевые слова: лещ, ферменты, динамика активности, сезоны, физиологическое состояние, мониторинг.

Abstract. The paper is concerned with seasonal dynamics of acid phosphatase, acid DNase and acid RNase activity in liver and gills of the bream inhabiting the Rybinsk reservoir. The seasonal activity dynamics appears to be similar for all studied enzymes and shows the intensity of fish metabolism in different time of their life. We have revealed a distinct correlation between the level specific activity of the enzymes and reproductive periods (spawning) and intensive periods of fish feeding. We have discussed a possible use of the collected data to monitor physiological conditions of fish.

Key words: bream, proteins, activity dynamics, seasons, physiological condition, monitoring.

Актуальной задачей современной экологической биохимии гидробионтов является анализ биохимических процессов, обеспечивающих нормальное существование и адаптационные возможности различных организмов в изменяющихся условиях среды [9]. Одновременно такие исследования существенны для создания комплексной системы мониторинга пригодности различных сред обитания, включая водные экосистемы. Отсюда, в частности, возникает необходимость оценки состояния популяций рыб и особенно их хозяйственно ценных видов, что обуславливает поиск биохимических показателей, служащих индикаторами физиологического состояния в различные периоды годового цикла при изменяющихся условиях обитания [10; 11]. В связи с этим несомненный интерес представляет изучение сезонных изменений активности ферментов в тканях и органах рыб. Перспективность использования ферментов для оценки влияния среды обитания на обменные процессы у различных видов пресноводных гидробионтов была ранее продемонстрирована в целом ряде исследований [4; 5, 518-523]. В тоже время, эти работы были связаны, преимущественно, с анализом изменения активности тех или иных ферментов в условиях токсического воздействия и не учитывали нормальных сезонных изменений их активности.

© Поликарпова Л.В.

Автор выражает глубокую признательность зав. лабораторией физиологии и токсикологии водных животных ИБВВ РАН (Борок), д.б.н. Г.М.Чуйко за предоставленный биологический материал, а также к.б.н. Попову А.П. и д.б.н. Коничеву А.С. за помощь в обсуждении полученных данных.

Следует отметить, что выбор конкретных ферментов-индикаторов имеет большое значение для интегрированной оценки интенсивности метаболических процессов, детерминирующих физиологическое состояние организма. Одновременно, учитывая задачи мониторинга, предпочтение, очевидно, должно быть отдано ферментам, способным сохранять активность в условиях неизбежного периода хранения образцов тканей и органов, собранных в природных условиях, а также доступных с точки зрения простого, точного и быстрого определения их активности.

Учитывая вышеизложенное, целью нашей работы стало выявление сезонных изменений активности кислых гидролаз (кислой фосфатазы КФ, кислой ДНКазы и кислой РНКазы) в печени и жабрах леща, которые могут служить индикаторами физиологического состояния этого широко распространенного и имеющего важное промысловое значение вида рыб. Известно, что нуклеазы с максимальной активностью при кислых значениях pH локализованы, преимущественно, в лизосомах, где наряду с другими кислыми гидролазами осуществляют катаболические реакции, лежащие в основе важнейших физиологических и биохимических процессов [7; 8, 85-95]. КФ относится к числу ферментов широко представленных в разных субклеточных формах, обладающих широкой субстратной специфичностью, и расщепляет разнообразные фосфомоноэфиры различных органических соединений биологической природы, участвуя в обмене углеводов, липидов и энергетическом обмене. Поэтому уровень активности избранных для исследования ферментов может, в определенной мере, служить показателем интенсивности метаболизма в целом. Как показали наши предварительные эксперименты, активность этих ферментов хорошо сохраняется в замороженных образцах ткани рыб в течение нескольких месяцев.

Материалом для исследования служили экстракты водорастворимых белков печени и жабр лещей, выловленных траловым методом в районе Шумаровых островов Рыбинского водохранилища в течение девяти месяцев нормального с точки зрения климатических

факторов сезона 2009 г. Ткани извлекали из половозрелых особей рыб, и белки из замороженных индивидуальных образцов тканей экстрагировали пятикратным по отношению к навеске (W/V) количеством 0,15 М раствора NaCl при 0-2 °С в течение 20 мин. Экстракты центрифугировали при 6000 g в течение 30 мин. при 4 °С и полученные супернатанты использовали для определения активности ферментов.

Активность КФ определяли спектрофотометрическим методом по скорости гидролиза модельного субстрата – p-нитрофенилфосфата [6, 1161-1167]. За единицу активности (Е) фермента принимали такое его количество, которое вызывает увеличение оптической плотности при 415 нм на 1 единицу (при инкубации 20 мин. при 37 °С в 0,05М ацетатном буфере с pH 4,8). Активность ДНКазы и РНКазы определяли спектрофотометрическим методом по простоте продуктов деградации ДНК и РНК соответственно [5, 518-523], в качестве субстратов использовали препараты высокополимерной ДНК из тимуса телят («Sigma», США) и РНК из пекарских дрожжей («Sigma», США). Активность нуклеаз определяли при предварительно установленных нами оптимальных значениях pH инкубационной среды (0,05М ацетатный буфер): для ДНКазы – pH 5,2, для РНКазы – pH 5,6. За единицу активности (Е) принимали такое количество фермента, которое вызывало увеличение оптической плотности при 260 нм на 1 единицу после 1ч. инкубации при 37 °С. Удельную активность ферментов рассчитывали в единицах активности на 1мг белка (Е/мг белка), определенного по методу Лоури. Статистическую достоверность результатов рассчитывали по методу Стьюдента для вероятности $p \geq 0,95$.

Судя по полученным результатам, активность КФ в печени выше, чем в жабрах леща, тогда как активность кислой РНКазы, напротив, выше в жабрах рыб. Полученные данные свидетельствуют о ярко выраженных достоверных изменениях активности исследованных ферментов в жабрах и печени лещей в течение проанализированного сезона. Эти изменения носят сходный характер в тканях и отчетливо приурочены к определенным

физиологическим периодам существования рыб (см. рис.).

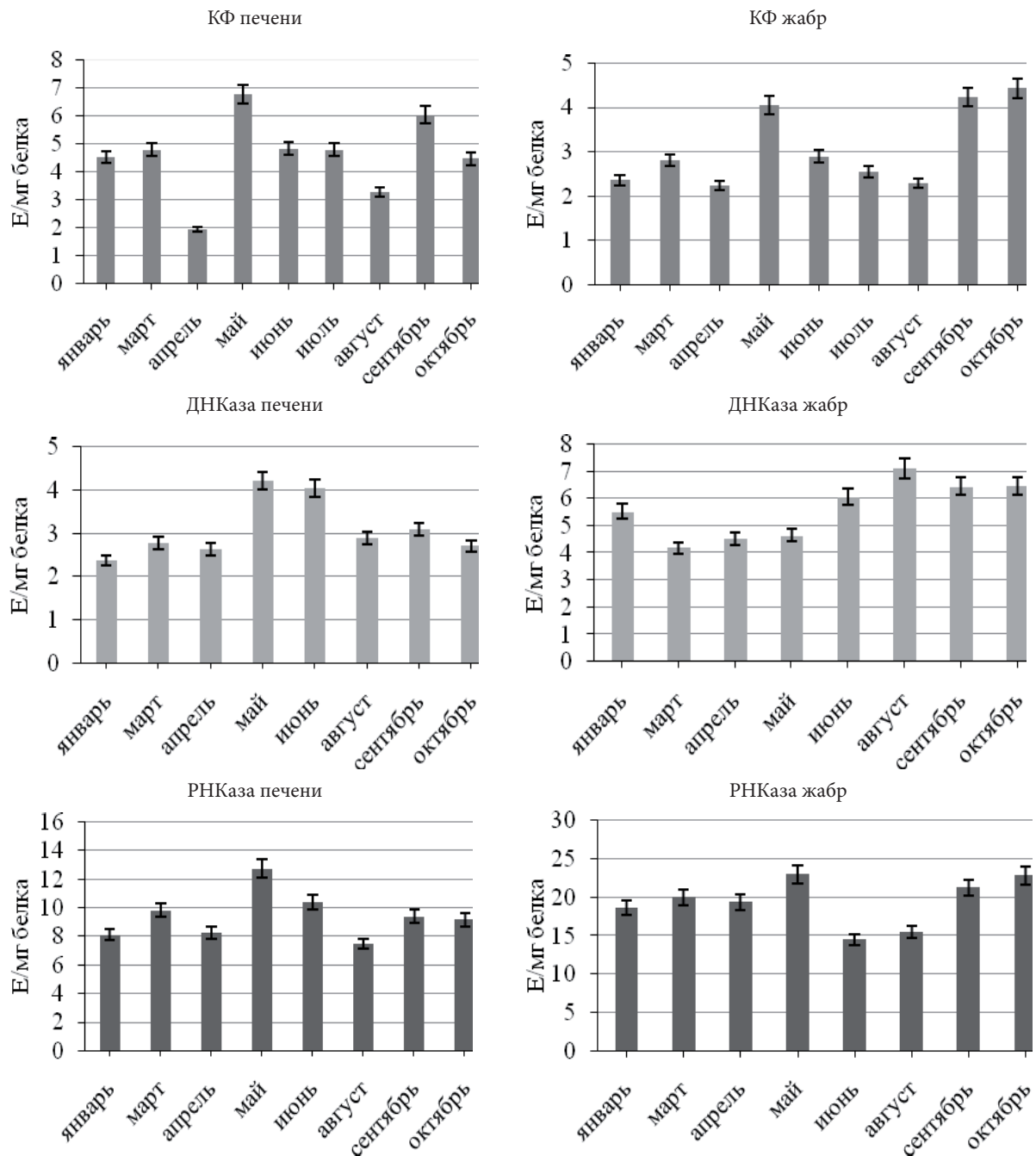


Рис. Активность гидролитических ферментов печени и жабр леща, выловленного в районе Шумаровых островов Рыбинского водохранилища в разные месяцы 2009 г.

После периода относительной стабильности в зимний и предвесенний периоды (январь – апрель) в мае наблюдается всплеск активности всех ферментов (кроме РНКазы в жабрах) и в печени, и в жабрах, что совпадает с началом нереста леща в Рыбинском водохранилище. Очевидно, что резкое увеличение активности ферментов связано с общим повышением уровня физиолого-биохимических процессов в организме рыб: активизацией деятельности

желез внутренней секреции, использованием энергетических резервов, интенсификацией питания и двигательной активности. К концу лета (август) активность всех трех ферментов в печени и активность КФ в жабрах снижается, что, вероятно, связано с прекращением генеративных процессов и наступлением периода нагула, когда обменные процессы связаны, преимущественно, с накоплением питательных веществ. В сентябре и октябре (в период предзимнего особенно активного питания) активность ферментов вновь повышается, что может указывать на интенсификацию процессов внутриклеточного пищеварения с участием лизосомальных ферментов.

Следует отметить, что среди изученных нами ферментов наиболее ярко выраженное изменение в активности в зависимости от отмеченных периодов физиологического состояния свойственно кислой фосфатазе и в меньшей мере нуклеазам. Однако во всех случаях отчетливо прослеживается достаточно синхронная динамика изменений активности всех трех ферментов. Нам представляется логичным предположить, что возможные отклонения от этой динамики могут служить показателями негативных сдвигов в обменных процессах рыб, связанных, в частности, с возможным загрязнением водной среды обитания.

ЛИТЕРАТУРА:

1. Высоцкая Р.У., Немова Н.Н. Лизосомы и лизосомальные ферменты рыб. М.: Наука, 2008. 284 с.
2. Зиньковский О.Г., Потрохов А.С., Евтушенко Н.Ю. Влияние меди и марганца на нуклеазную активность органов и тканей производителей карпа в репродуктивный период // Гидробиол. журн. 1995. 31, № 4.
3. Морозов А.А., Чуйко Г.М., Подгорная В.А. Функциональное состояние антиоксидантной системы печени леща (*Abramis brama* L.) из районов Рыбинского водохранилища с различной степенью антропогенной нагрузки // III Всерос. конф. по водной токсикологии, конф. по гидроэкологии и школа-семинар: Объединенные материалы. Борок, 11–16 ноября 2008 г. Т. 2.
4. Немова Н.Н., Высоцкая Р.У. Биохимическая индикация состояния рыб. М.: Наука, 2004. 216 с.
5. Попов А.П., Коницев А.С., Цветков И.Л. Влияние токсичных соединений техногенного происхождения на активность и множественные формы кислой ДНКазы живородки речной (*Viviparus viviparus* L.) // Прикл. биохимия и микробиол. 2003. 39, № 5.
6. Попов А.П., Цветков И.Л., Коницев А.С. Разделение и характеристика дезоксирибонуклеаз гепатопанкреаса живородки речной в норме и при модельной интоксикации *in vivo* // Биохимия. 2008. 73, Вып. 8.
7. Покровский А.А., Тутельян В.А. Лизосомы. М.: Наука, 1976. 382 с.
8. Руоколайнен Т.Р., Высоцкая Р.У. Активность лизосомальных ферментов в печени окуня из разных зон Онежского озера // В кн.: Сравнительная биохимия водных животных. Петрозаводск: Изд-во Карел. науч. центра РАН, 1983.
9. Хочака П., Сомеро Дж. Биохимическая адаптация. М.: Мир, 1988. 568 с.
10. Шатуновский М.И. Экологические закономерности обмена веществ морских рыб. М., 1980. 283 с.
11. Шульман Г.Е. Физиолого-биохимические особенности годовых циклов рыб. М., 1972. 367 с.

УДК 579.2/6

Расулзаде З.И.

Республиканская противочумная станция им. С. Имамалиева (Баку)

Гусейнова Л.А., Ахмедова Ф.Р.

Бакинский государственный университет

Мурадов П.З.

Институт микробиологии НАНА (Баку)

РЕЗУЛЬТАТЫ АПРОБАЦИИ РЕМЕДИАЦИИ ЗАГРЯЗНЕННЫХ ПОЧВ IN SITU ПУТЕМ ИНТРОДУКЦИИ ВЫДЕЛЕННЫХ ШТАММОВ *RHODOCOCCLUS ERYTHROPOLIS*

Z. Rasulzade

Imamaliyev Republican Anti-Plague Station (Baku)

L. Huseynova, F. Akhmedova

Baku State University

P. Muradov,

Institute of Microbiology of ANAS (Baku)

THE RESULTS OF OIL POLLUTED SOILS REMEDIATION IN SITU BY INTRODUCING THE *RHODOCOCCLUS ERYTHROPOLIS* CULTURE

Аннотация. В статье приведены результаты эколого-гигиенических исследований прибрежных зон Апшеронского полуострова, используемых для рекреационных целей. Полученные результаты показали необходимость разработки эффективных мероприятий для сохранности прибрежных полос полуострова и перспективности использования для этого *Rhodococcus erythropolis* выделенных из прибрежных нефтезагрязненных почв.

Ключевые слова: Апшеронский полуостров, прибрежные почвы, *Rhodococcus erythropolis*, санитарно-гигиенические.

Abstract. The article presents the results of the study of ecological and hygienic investigation of the coastal areas of the Absheron peninsula used for recreation purposes. The received results have proved the necessity of effective actions to protect the coastal soils of the peninsula and perspectives of using *Rhodococcus erythropolis* got from the coastal petropolluted ground for this purpose.

Key words: the Absheron peninsula, coastal soils, *Rhodococcus erythropolis*, sanitary hygienic.

Известно, что влияние нефти и нефтепродуктов (НП) на объекты окружающей среды несопоставимо с действием других техногенных факторов, приводящих к губительным последствиям для биосферы [2, 89-91; 7, 904]. Проведенными нами исследованиями установлено [3, 28-30; 4, 9, 19-22], какое разрушительное действие могут оказывать нефтепродукты на биодинамические свойства прибрежных почв, их микробиологические и физико-химические характеристики, что ведёт за собой понижение рекреационной привлекательности прибрежной полосы. В сложившихся условиях применение аборигенных микроорганизмов,

разлагающих нефть и НП, может привести к благоприятным изменениям свойств почв, используемых населением в рекреационных целях.

В прибрежной полосе полуострова, особенно в части ее рекреационного использования, были проведены комплексные эколого-гигиенические исследования. Их цель – эколого-гигиеническая референция загрязненности прибрежной полосы (почва-морская вода) Апшеронского полуострова нефтью и нефтепродуктами, с выявлением особенностей и закономерностей их взаимодействия с почвой. Полученные результаты эксперимента по изучению роста выделенных штаммов микроорганизмов на углеводородах нефти позволили нам предположить эффективность использования выделенной культуры микроорганизмов и в целях рекультивации почв на загрязненном участке – юго-восточной части побережья Апшеронского полуострова провести полевой эксперимент.

Материалы и методы исследований

В ходе экспериментальных исследований осуществлён подбор концентрации нефтепродуктов в жидких и плотных питательных средах для культивирования выделенных бактериальных штаммов в лабораторных условиях. Объектом исследований служили выделенные из нефтезагрязненных почв штаммы микроорганизма *Rhodococcus erythropolis*. Интродукция штаммов проводилась на опытные площадки в наиболее загрязненных нефтепродуктами участках прибрежной

полосы, используемой в рекреационных целях.

Анализ физико-химических, биохимических и микробиологических показателей проводился по общепринятым методам [4; 6].

Результаты исследований

Численность основных физиологических групп микроорганизмов, а также активность ферментов были зафиксированы до начала эксперимента и через 3 месяца (табл. 1). Для сравнения приводятся данные с северо-западного направления Апшеронского полуострова.

Так, общее микробное число (ОМЧ) исследованных почв до начала эксперимента составила $(1,47 \pm 0,05) \cdot 10^5$ КОЕ/г почвы, численность спорообразующих микроорганизмов $(4,9 \pm 0,05) \cdot 10^4$ КОЕ/г почвы, мицелиальных грибов – $(9,8 \pm 0,08) \cdot 10^3$ КОЕ/г почвы, УОМ – $4,5 \cdot 10^3$ НВЧ кл/г. Активность уреазы составила $28,82 \pm 0,06$ мг CO_2 /г, дегидрогеназы – $0,02 \pm 0,00$ ед. опт. плотности, инвертазы – $0,15 \pm 0,00$ мг. глюкозы/г почвы.

После проведенных рекультивационных мероприятий было отмечено увеличение численности почти всех физиологических групп микроорганизмов в исследуемых почвах. Так, к примеру, наблюдалось значительное повышение общего микробного числа углеводородоразлагающих микроорганизмов (УОМ), спорообразующих, целлюлозолитических, аммонифицирующих, азотфиксирующих микроорганизмов. Численность остальных групп микроорганизмов существенно не по-

Таблица 1

Численность микроорганизмов почвы, отобранных с опытного участка в юго-восточной части Апшеронского полуострова до и после полевого эксперимента

Вариант	ОМЧ, КОЕ/г		УОМ, НВЧ кл/г	
	до внесения	через 3 месяца	до внесения	через 3 месяца
10 м	$3,24 \cdot 10^6$	$2,89 \cdot 10^6$	$9,5 \cdot 10^1$	$2,5 \cdot 10^4$
50 м	$1,39 \cdot 10^6$	$2,61 \cdot 10^6$	$4,5 \cdot 10^1$	$1,5 \cdot 10^4$
100 м	$1,09 \cdot 10^6$	$5,80 \cdot 10^6$	$1,10 \cdot 10^3$	$2,5 \cdot 10^3$
СЗ	$2,56 \cdot 10^6 \pm 0,64$		$4,9 \cdot 10^3 \pm 0,91$	

Таблица 2

Ферментативная активность нефтезагрязненных почв почвы, отобранных с опытного участка в юго-восточной части Апшеронского полуострова до и после полевого эксперимента

Вариант	Уреаза, мг CO ₂ /г		Дегидрогеназа, ед. опт. плотности	
	до внесения	через 3 месяца	до внесения	через 3 месяца
10 м	26,95±0,61	36,59±0,9	0,54±0,2	1,11±0,4
50 м	29,15±1,27	38,5±0,8	0,28±0,2	0,58±0,2
100 м	27,65±0,2	33,3±0,3	0,21±0,01	0,26±0,1
СЗ	34,63±0,02		0,92±0,1	

вышалась либо вовсе не изменялась.

Анализ ферментативной активности почв показал, что внесение в нефтезагрязненную почву *Rhodococcus erythropolis* способствовало повышению ферментативной активности почв. Через три месяца после проведенных рекультивационных мероприятий наблюдалось увеличение активности ферментов на всех расстояниях. Хотя в опыте их значения были значительно выше, чем в почвах в относительно чистых почвах северо-восточной части побережья Каспийского моря (табл. 2).

Наибольшее значение активности ферментов наблюдалось в вариантах с интродукцией *Rhodococcus erythropolis* на участки на расстоянии 100 м от уреза воды. Это объясняется, по-видимому, меньшей инсоляцией и отсутствием влияния морской воды. Отмечено значительное увеличение значений всех почвенных ферментов.

Внесение нефтеокисляющих микроорганизмов способствовало стабилизации окислительно-восстановительных процессов, физико-химических свойств почв, увеличению микрофлоры почвы, деструкции углеводородов нефти.

Данные таблицы показывают, что внесение *Rhodococcus erythropolis* в нефтезагрязненную почву оказывает благоприятный эффект на ее состояние. Так, в вариантах на расстоянии 50 и 100 метров от уреза воды наблюдалась максимальная деструкция нефти, процент разрушения составил 68,85% и 62,66% соответственно. Тогда как в остальных вариантах этот показатель варьировал в

диапазоне от 8,33-35,74%. Процент деструкции в контрольном варианте почв составил 5,27%. Полученные данные позволяют говорить об эффективности применения *Rhodococcus erythropolis* при очистке почвы от нефтяного загрязнения.

Изучение динамики роста и развития различных групп микроорганизмов на контрольные площадки биоремедиации позволило установить зависимость структуры микробиоценоза нефтезагрязненных почв в процессе очистки от НП и времени биодеструкции. Зависимость показывает, что на первой фазе деструкции происходит увеличение численности основных групп микроорганизмов, как ответная реакция на поступление новых питательных субстратов. На следующей фазе происходит снижение численности одних групп микроорганизмов (сапрофитов, анаэробов, споровых, актиномицетов), исчезновение (микроскопические грибы) и рост (УОМ) других групп. В процессе снижения НП в почве начинают развиваться все основные группы микроорганизмов, что свидетельствует о снижении токсичности субстрата.

Результаты эксперимента показали, что внесение *Rhodococcus erythropolis* значительно повышают биологическую активность почв, ускоряют процессы биоразложения нефтяных углеводородов, нормализуют ферментативную активность и в более короткие сроки ведут к восстановлению почв до исходного состояния.

Проведенные исследования показали, что эффективность внесения *Rhodococcus eryth-*

ropolis на опытных площадках биоремедиации составила 82-87%. Эти экспериментальные данные согласуются с литературными данными об эффективном использовании аборигенных штаммов микроорганизмов разных родов [1, 140-141; 2, 89-91; 5, 121-129; 7, 904; 8, 335-343].

Таким образом, применение местного выделенного штамма *Rhodococcus erythropolis* можно рекомендовать при ремедиации нефтезагрязненных почв, используемых населением в рекреационных целях.

ЛИТЕРАТУРА:

1. Логинов О.Н., Биккинина А.Г., Силищев Н.Н., Назаров А.М. Новые биопрепараты для рекультивации почв, загрязненных нефтью и нефтепродуктами // Материалы IV съезда Общества биотехнологов России им. Ю.А. Овчинникова: Пуццино, М.: МАКС Пресс, 2006.
2. Назарько М.Д., Щербаков В.Г., Александрова А.В. Перспективы использования микроорганизмов для биodeградации нефтяных загрязнений // Изв. вузов. Пищевая технология, 2004. № 4.
3. Расулзаде З.И., Агаева З.И., Фараджова А.А. Изучение бактерии рода выделенных из нефтезагрязненных почв Апшерона // Мат. Международной конф. по экологии, охране труда и технике безопасности. Баку, 2003.
4. Расулзаде З.И. Меры по улучшению экосистемы "почва-морская вода" в прибрежной полосе Апшеронского полуострова, используемой населением в рекреационных целях (Методические рекомендации). Баку, 2003.
5. Салманов М.А., Велиев М.Г., Бекташи Н.Р., Алиева С.Р. Дegrадация сырой бакинской нефти и нефтепродуктов микроскопическими грибами // Труды Института микробиологии НАНА. Баку, 2006. Т.3.
6. Яковлев А.С., Шептухов В.Н. и др. Методические рекомендации по выявлению деградированных нефтезагрязненных земель. М., 1995.
7. Breton F., Clapes T., Marques A., Priestley G. The recreational use of beaches and consequences for the development new trends in management: the case of the beaches of the Metropolitan Region of Barcelona (Catalonia, Spain) // Oceanographic Literature Review, 2007. V.44. N 8.
8. Luz A.P., Ciapina E.M.P., Gamba R.C. et al. Potential for bioremediation of hydrocarbon polluted soils in the Maritime Antarctic // Antarctic Science Cambridge University Press, 2006. N 18. Vol.3.
9. Rasulzade Z.I., Gurbanov S.M., Tchounwou P.B. Assessment of oil pollution in soil and sea water ecosystem of Caspian coastal zone in the Apsheron peninsula // First International Symposium on Recent Advances in Environmental Health Research, Marriott Hotel, Jackson, Mississippi, 2004.

УДК 579.01

Расулова Г.Р., Гахраманова Ф.Х.
Институт микробиологии НАНА (Баку)

Аббасов В.М.
Институт нефтехимических процессов им.Ю. Мамедалиева НАНА (Баку)

Агабекова Р.А
Бакинский государственный университет

**АНТИМИКРОБНОЕ ДЕЙСТВИЕ КОМПОЗИЦИЙ ФРАКЦИЙ
БЕЛОГО НАФТАЛАНСКОГО МАСЛА С ЭФИРНЫМ МАСЛОМ
STAPHYLOCOCCUS AUREUS**

G. Rasulova, F. Gakhramanova
Institute of Microbiology of ANAS (Baku)

V. Abbasov
Institute of Petrochemical Processes named after Yu. Mamedaliyev of ANAS (Baku)

R. Agabekova
Baku State University

**ANTIBACTERIAL INFLUENCE OF THE COMPOSITION OF NAPHTALAN
OIL FRACTIONS AND ESSENTIAL OILS OF PLANTS**

Аннотация. Целью исследования было изучение антибактериальной способности отдельных фракций белого нафталанового масла, полученных в результате перегонки этого масла в диапазоне 220-4200С, с эфирным маслом растения фенхеля и чабреца на *Staphylococcus aureus*. Результаты показали, что композиции фракций белого нафталанового масла с эфирными маслами чабреца, фенхеля по сравнению с чистыми фракциями демонстрируют более активное антимикробное действие. 100% антимикробное действие для чабреца составляет 1:0,04-0,1 мл, а для фенхеля – 1:0,08-0 мл.

Ключевые слова: белое нафталановое масло, эфирное масло, чабрец, фенхель, композиция, *Staphylococcus aureus*, антибактериальная способность.

Abstract. The aim of the study was to investigate the antibacterial feature of individual fractions of white Naftalan oil, obtained by distillation of this oil in the range of 220-4200C, with essential oils of plants of fennel and thyme in *Staphylococcus aureus*. The results showed that the composition of fractions of white Naphthalan oil with essential oils of thyme, fennel, show more active antimicrobial effect than pure fractions. 100% antimicrobial effect of thyme for 1:0,04-0,1 ml, and fennel for 1:0,08-0 ml.

Key words: White Naftalan oil, essential oil, thyme, fennel, composition, *Staphylococcus aureus*, antibacterial feature.

Уникальная Нафталанская нефть издавна используется как средство лечения различных заболеваний. Нафталанская нефть – это особая форма бальнеотерапии, обладающая общепризнанными лечебными свойствами при целом ряде заболеваний: кожных, нервных, опор-

но-двигательного аппарата, в гинекологии, при различных ранениях, ожогах, отморожениях [1, 178; 6-7; 10, 112; 11; 12]. Однако, Нафталанская нефть так же, как и другие нефти, содержит в качестве токсичного компонента сконденсированные ароматические углеводороды, смолы, асфальтены, что делает невозможным применение Нафталанской нефти при лечении ряда тяжелых заболеваний.

В настоящее время она используется методом примитивной ванны, в результате чего происходит перерасход нефти. Одновременно использованная нефть выбрасывается в окружающую среду, что в свою очередь создает экологические и экономические проблемы [2, 119].

В начале 40-х гг. XX вв. выдающийся азербайджанский ученый Ю.Г. Мамедалиев доказал, что лечебные свойства этой нефти объясняются наличием в ней нефталановых углеводородов [9, 560-562]. Он, последовательно очищая Нафталанскую нефть от асфальтенов, смол, ароматических углеводоро-

дов, обнаружил, что после каждой очистки лечебные свойства увеличиваются и уменьшаются побочные явления, в том числе токсические действия. Великий ученый установил, что лечебное свойство Нафталанской нефти связано с содержанием в его составе полициклических нафтенных углеводородов с короткими боковыми радикалами.

Изучены бактерицидное и фунгицидное воздействие, а особенно антимикробная активность Нафталанской нефти [4, 30-35; 5]. Однако, антимикробное и фунгицидное воздействие лечебных нафталановых углеводородов, являющихся составной частью этой нефти, не были изучены. Принимая во внимание научную значимость этой работы, мы поставили перед собой цель её проведения.

Материалы и методы

Эфирные масла чабрец (плотности D_4^{20} - 0,9380 г/см³; рефракция n_d^{20} - 1,5068) и фенхеля (плотности D_4^{20} - 0,9305 г/см³; рефракция n_d^{20} - 1,5125) получены группой Института

Таблица 1

Физико-химические свойства 20°C фракций белого нафталанового масла

№	Температура	d_4^{20} плотность	Рефракция
I	220-240	0,8680	1,4475
II	240-260	0,8403	1,4550
III	260-280	0,8467	1,4600
IV	280-300	0,8612	1,4680
V	300-320	0,8689	1,4720
VI	320-340	0,8830	1,4750
VII	340-360	0,8832	1,4770
VIII	360-380	0,8850	1,4790
IX	380-400	0,8883	1,4830
X	400-420	0,8895	1,4860
XI	220-420	--- 0,8895	1,4775 – 1,4860

Таблица 2

Биологическая активность фракций белого нафталанового и вазелинового масел при воздействии на стафилококк

Фракция №	Время экспозиции									
	30 мин.	1 час	2 часа	3 часа	4 часа	5 часа	6 часа	1 сутки	2 суток	3 суток
I	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-
II	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-
III	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-
IV	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-
V	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-
VI	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-
VII	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-
VIII	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-
IX	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
X	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
XI	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Вазел. масло	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+

Примечание: «+» присутствие роста «-» отсутствие роста

Таблица 3

Бактерицидная активность композиций белого нафталанового масла с эфирным маслом в соотношении = 1:0.02 мл

Фракция №	Время экспозиции									
	30 мин.	1 час	2 часа	3 часа	4 часа	5 часа	6 часа	1 сутки	2 суток	3 суток
I	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
II	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
III	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-
IV	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-
V	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-
VI	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-
VII	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-
VIII	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-
IX	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-
X	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-
XI	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-
Вазел. масло	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+

Примечание: «+» присутствие роста «-» отсутствие роста

нефтехимических процессов НАНА.

Для выяснения воздействия композиций белого нафталанового масла с эфирными маслами фенхеля и чабреца на *Staphylococcus aureus* был использован метод тест-объекта [12].

Определена антимикробная активность этих фракций с методом тест-объекта, полученных в результате перегонки Нафталано-

вой нефти при разных температурах (табл.1) на *Staphylococcus aureus*, как при единичном воздействии, так и в композиции с эфирными маслами фенхеля (*Foeniculum*) и чабреца (*Thymus lamiaceae*).

С этой целью батистовую материю моют, высушивают и разрезают на куски в размерах 10x10 мм, кладут в чашки Петри и стерилизуют при температуре 160°C -170°C в

течение 45-60 мин. Далее батистовые тесты в количестве необходимом для проведения опыта стерильным пинцетом кладутся в чаши Петри и на них добавляются суточные эмульсии *Staphylococcus aureus*, имеющие 1 миллиард микробных частиц в 1 мл.

Через 25-30 минут эмульсия стерильной пипеткой высасывается из чаши, а чаша в открытом виде высушивается в термостате (в течение 30-40 мин.). Полностью высушенные частицы материи кладутся в герметически закрывающуюся стерильную стеклянную посуду, и на них добавляется 5 мл изучаемой фракции (с условием 1 мл вещества на 2 теста). Воздействие вещества на микроорганизмы проводится в течение 3 суток, то есть посуда в течение 3 суток содержится в закрытом виде и из посуды стерильным пинцетом берется 1 тест в разных экспозициях (30 мин., 1 час, 2 часа, 3 часа, 4 часа, 5 часов, 6 часов, 1 сутки, 2 суток, 3 суток), кладется на поверхность пептонового агара и несколько передвигается, чтобы получилась более широкая поверхность роста. Посеянные чаши хранятся в термостате 1-2 суток при температуре 37°C. Далее отмечается результат. Если существует рост, выявляется отсутствие воздействия вещества. В каком часу у взято-

го теста обнаруживается отсутствие роста, то выясняется бактерицидное воздействие изучаемого материала в экспозиции на такое количество времени. В качестве контроля используется вазелиновое масло. При изучении воздействия фракций вместе с эфирными маслами во фракции добавляются эфирные масла 0,02; 0,04; 0,06; 0,08; 0,1 мл.

Результаты и обсуждения

Из проведенных опытов стало ясно, что I, II, III фракции по сравнению с другими фракциями обладают более высокими бактерицидными воздействиями. То есть I фракция в течение 6 часов, II и III фракция в течение 1 суток оказали на *Staphylococcus aureus* бактерицидное воздействие. IV-VIII фракции уничтожили золотистый стафилококк за 2 часа, а IX-XI фракции даже за 3 суток не оказали какого-либо антимикробного воздействия. Результаты указаны в табл. 2.

Эфирные масла активизируют бактерицидное воздействие фракций, в результате чего композиции во фракциях проявляют более высокую антимикробную активность. Так, при изучении антимикробной активности композиций белого нафталянового масла с маслами чабреца, состоящими в со-

Таблица 4

Бактерицидная активность композиций белого нафталянового масла с эфирным маслом в соотношении = 1:0,04-0,1 мл

Фракция №	Время экспозиции									
	30 мин.	1 час	2 часа	3 часа	4 часа	5 часа	6 часа	1 сутки	2 суток	3 суток
I	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
II	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
III	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
IV	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
V	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
VI	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
VII	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
VIII	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
IX	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
X	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
XI	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Вазел. масло	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+

Примечание: «+» присутствие роста «-» отсутствие роста

Таблица 5

Бактерицидная активность композиций белого нафталанового масла с эфирным маслом в соотношении = 1:0,06 мл

Фракция №	Время экспозиции									
	30 мин.	1 час	2 часа	3 часа	4 часа	5 часа	6 часа	1 сутки	2 суток	3 суток
I	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-
II	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-
III	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-
IV	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-
V	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-
VI	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-
VII	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-
VIII	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-
IX	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-
X	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-
XI	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-
Вазел. масло	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+

Примечание: «+» присутствие роста «-» отсутствие роста

Таблица 6

Бактерицидная активность композиций белого нафталанового масла с эфирным маслом в соотношении = 1:0,08-0,1 мл

Фракция №	Время экспозиции									
	30 мин.	1 час	2 часа	3 часа	4 часа	5 часа	6 часа	1 сутки	2 суток	3 суток
I	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
II	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
III	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
IV	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
V	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
VI	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
VII	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
VIII	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
IX	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
X	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
XI	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Вазел. масло	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+

Примечание: «+» присутствие роста «-» отсутствие роста

отношении 1:0,02 мл, были получены нижеприведенные результаты.

Композиции I и II фракций с эфирными маслами чабреца оказали бактерицидное воздействие на *Staphylococcus aureus* в течение 1 часа, III-IV фракции 2 часов, V-VI фракции 3 часов, VII-IX фракции в течение 5 часов, рост не был отмечен. А в контролях,

совсем наоборот, наблюдался рост (табл. 3).

При соотношении в композициях эфирных масел 1:0,04-0,1 мл бактерицидное воздействие достигает еще более высокого уровня. Спустя 30 мин. начинается уничтожающее воздействие на золотистый стафилококк (табл. 4).

В исследованиях проведенных по анти-

микробному воздействию эфирных масел фенхеля с фракциями Нафталановой нефти перед нами раскрывается совершенно другая картина.

Так, композиции фенхеля с I, II, III фракциями нафталанового масла в соотношении 1:0,06 мл уничтожают *Staphylococcus aureus* в течение 2 часов, IV-VII фракции 3 часов, VIII-IX фракции в течение 4 часов. Результаты опытов указаны в табл. 5.

Композиции фракций белой Нафталановой нефти с эфирными маслами фенхеля в соотношении 1:0,08-0,1 мл имеют более сильную антимикробную активность.

То есть эта смесь начинает свое бактерицидное воздействие спустя 1 час на *Staphylococcus aureus*, какой-либо рост не наблюдается. А в контролях, наоборот, наблюдается рост. Результаты опытов указаны в табл. 6.

Выводы

Белое нафталановое масло обладает антимикробным воздействием и бактерицидное воздействие фракций, полученных в результате перегонки этого масла в интервале 220-420, уменьшается с увеличением температуры кипения фракций.

Композиции фракций белого нафталанового масла с эфирными маслами чабреца, фенхеля по сравнению с чистыми фракциями демонстрируют более активное антимикробное воздействие. 100% антимикробное воздействие для чабреца составляет 1:0,04-0,1 мл, а для фенхеля – 1:0,08-0,1 мл.

ЛИТЕРАТУРА:

1. Аббасов В.М., Исаева Г.А., Аббасов З.В. и др. / Тезисы докладов III Бакинской Международной Мамадалиевской конференции по нефтехимии. Баку, 1998. 5-8 октября.

2. Аббасов В.М., Мусаев А.В., Исаева Г.А. Нафталановая нефть и его нафтенные карбогидрогены. Баку: Наука, 1999.

3. Аббасов В.М., Зейналова С.К., Расулова Г.Р. и др. Фунгицидное влияние композиций белого нафталанового масла семейства губоцветных на грибы рода *Candida albicans* // Процессы нефтехимии и нефтепереработки. 2007. № 4 (31).

4. Алиев Н.Д., Зейналова С.К. Фунгицидное действие нафталана и его препаратов // Азмеджурнал, 1975. № 8.

5. Алиев Н.Д. Новые экспериментальные данные о механизме действия нафталана. Автореф. дисс... д-ра мед. наук. Баку, 1969.

6. Гулиева С.А. Уникальная лечебная нафталановая нефть. Баку: Азернешр, 1981.

7. Гусейнова С.Г. Физические факторы (импульсные токи и нафталанотерапия) в восстановительном лечении больных с огнестрельными травмами периферической нервной системы: Автореферат дисс... докт. мед. наук. Баку, 2004.

8. Зейналова С.К. Фунгицидная активность нафталана и его компонентов. Автореферат дисс... канд. мед. наук. Баку, 1981.

9. Мамадалиев Ю.Г. К теории механизма действия Нафталанской нефти. Известия Академии наук СССР. 1946. № 5.

10. Мамедов З.М. Применение нафталана при различных хирургических заболеваниях. Баку: Азернешр, 1952.

11. Методические рекомендации по комплексному применению курортных факторов Азербайджанской ССР при лечении различных заболеваний. Баку: Азернешр, 1984.

12. Пашаева Т.Г. Нафталанская нефть и ее лечебное действие. Москва, 1959.

УДК 636.4.082.453.5

Рачков И.Г.

Ставропольский научно-исследовательский институт животноводства и кормопроизводства

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ГОРМОНАЛЬНОГО ПРЕПАРАТА ОКСИПРОГЕСТЕРОН КАПРОНАТ ДЛЯ ПРЕДУПРЕЖДЕНИЯ РАННИХ ЭМБРИОНАЛЬНЫХ ПОТЕРЬ

I. Rachkov

Stavropol Research Institute of Livestock Breeding and Feed Production

THE USE OF OXIPROGESTERONE CAPRONAT FOR EARLY EMBRYONIC LOSSES PROPHYLAXIS

Аннотация. Приведены данные о положительном влиянии повышенного содержания прогестерона в период имплантации эмбрионов на продуктивность свиноматок. Установлено, что инъекции прогестерона способствовали повышению многоплодия на 0,3-0,6 поросят на опорос.

Ключевые слова: свиньи, прогестерон, многоплодие, эмбрион.

Abstract. The article provides data on positive influence of the increased quantity of progesterone on sows' productivity during implantation of embryos. It has been established that progesterone injections contributed to polycarpia effect by 0.3 – 0.6 piglets in a farrow.

Key words: sows, progesterone, polycarpia effect, embryo.

Многоплодие – один из основных показателей воспроизводительной функции свиноматок. Величина его в значительной мере обуславливается выживаемостью зародышей в течение их развития. Фундаментальными исследованиями А.В. Квасницкого, А.П. Студенцова, Е.П. Ладана, Н.А. Мартыненко, В.Ф. Коваленко установлены основные причины гибели зародышей у свиней. Наиболее распространенные из них – биологическая неполноценность яйцеклеток и сперматозоидов, нарушение взаимосвязи между эмбрионами и материнским организмом (период имплантации), недоброкачественное и неполноценное кормление животных, неблагоприятные условия их содержания, недостаточная организация и техника осеменения. При этом размеры эмбриональной смертности у свиней достигают 30-40%, а в отдельных случаях даже больше [2; 4].

Успешное применение экзогенных гормонов для сохранения беременности у овариоэктомированных животных привело исследователей к мысли о возможном предупреждении аналогичным путем эмбриональной смертности. Однако применение гонадотропных и половых гормонов, оказывающих в конечном итоге влияние на весь комплекс функционально взаимосвязанных желез внутренней секреции, вызывает изменение гормонального баланса в организме самки, при этом далеко не всегда в лучшую сторону [1]. Решить этот вопрос помогают исследования на овариоэктомированных после наступления беременности животных при определении концентрации того или иного гормона в крови самки в течение беременности, особенно при условии учета количества развивающихся плодов и желтых тел. В частности, для нормального дробления зиготы и миграции ее к участку имплантации, а также подготовки эндометрия к приему бластоцисты необходим прогестерон. Однако исследо-

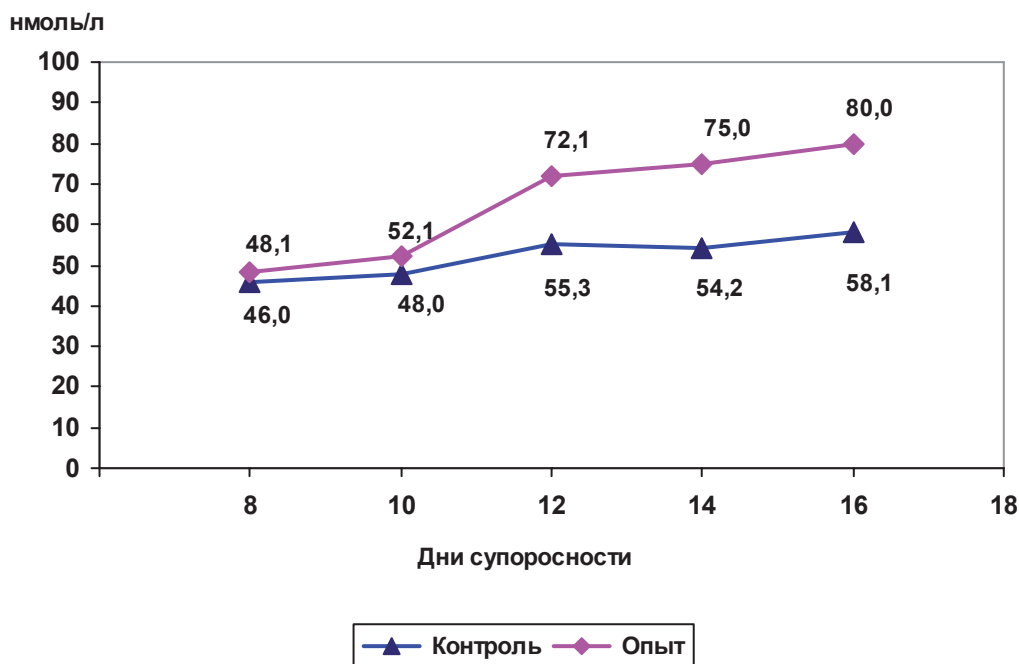


Рис. 1. Уровень содержания прогестерона у свиноматок, обработанных оксипрогестерон капрономатом.

ваниями В.Ф. Коваленко и др. установлено, что в начале супоросности (15 сутки) происходит уменьшение размеров и массы желтых тел и, как следствие, содержание прогестерона в крови свиноматок становится наименьшим. Таким образом, этот период в развитии эмбрионов свиньи можно считать критическим, связанным с ранней их гибелью [3].

Целью работы являлось изучение влияния концентрации прогестерона в период имплантации эмбрионов при нормальном (контроль) и повышенном (инъекция 125 мкг масляного раствора оксипрогестерон капрономата) гормональном фоне на многоплодие свиноматок. Экспериментальная часть работы выполнена на репродукторных фермах Ставропольского края на свиноматках крупной белой (КБ), скороспелой мясной (СМ-1) и дюрок (Д) породах с 2-3 опоросами. Животных подбирали в опытные и контрольную группы по принципу аналогов с учетом живой массы и срока отъема поросят. Животных, пришедших в охоту, осеменяли двукратно: утром и через 24 часа после первого осеменения. Содержание свиноматок в период супоросности групповое, за исключением критического периода (1-30 дней),

когда осемененных животных размещали в индивидуальных станках технологического фильтра. Инъекцию 125 мкг масляного раствора оксипрогестерон капрономата опытным животным проводили на 10 день условно-супоросного периода. Уровень прогестерона в крови животных определяли на 8, 10, 12, 14 и 16 дни условно-супоросного периода методом иммуно-ферментного анализа.

В результате проведенных исследований установлено, что содержание прогестерона в крови как у опытных, так и у контрольных животных плавно повышается с 8 по 10 день супоросности в среднем с 47,0 до 50,0 нмоль/л. Однако после инъекции опытным свиноматкам 125 мкг масляного раствора оксипрогестерон капрономата на 10 день супоросности содержание прогестерона у последних резко возрастает до $72,1 \pm 1,3$ нмоль/л (12 день) и незначительно повышается ($80,0 \pm 1,32$) к 16 дню супоросности (рис.1).

У контрольных животных к 14 дню супоросности наблюдается даже незначительное понижение содержания прогестерона в крови ($54,2 \pm 2,1$), которое повышается к 16 дню до $58,1 \pm 1,1$ нмоль/л. Снижение содержания прогестерона в ранний период супоросности

Таблица 1

Эффективность применения 125 мкг оксипрогестерон капроната при осеменении свиноматок КБ, СМ-1 и Д

Показатели	КБ	СМ-1	Д	КБ	СМ-1	Д
	опытные			контрольные		
Число свиноматок в группе, гол.	16	18	15	17	14	19
Из них опоросилось: гол. %	14 87,5	16 88,8	13 86,6	15 88,2	12 85,7	17 89,4
Многоплодие, гол.	11,0±0,1	10,8±0,14	8,3±0,12	10,4±0,13	10,3±0,1	8,0±0,14
Крупноплодность, кг	1,3±0,12	1,38±0,2	1,43±0,14	1,32±0,1	1,4±0,13	1,42±0,23
Получено поросят в пересчете на 100 осемененных свиноматок, гол.	963	959	719	917	883	715

свиноматок можно объяснить следующим: у свиней ответственным за поддержание желтых тел в течение беременности является лютеотропный гормон эстрадиол, который, в свою очередь, синтезируется трофобластом эмбрионов в течение 10-12 дней и прекращается с началом имплантации (13-й день). Учитывая то, что прогестерон у свиней может вырабатываться и в плаценте, то, возможно, недостаток в этом гормоне эмбрионы могут испытывать именно в период формирования плаценты.

Использование 125 мкг оксипрогестерон капроната положительно сказалось и на многоплодии свиноматок. Так, в опытных группах у свиноматок КБ, СМ-1 и Д многоплодие было выше на 0,6; 0,5 и 0,3 поросенка на опорос соответственно (табл. 1).

Таким образом, однократная инъекция 125 мкг оксипрогестерон капроната позволила повысить содержание прогестерона в организме животных с 12 по 16 день супо-

росности (период имплантации эмбрионов) в среднем на 34,4% и, как следствие, повысить многоплодие на 0,3-0,6 поросенка на опорос, что позволяет дополнительно получить на 100 первично осемененных свиноматок от 26 до 52 поросят.

ЛИТЕРАТУРА:

1. Гордон А. Контроль воспроизводства сельскохозяйственных животных / М.: Агропромиздат, 1988. 415 с
2. Квасницкий А.В. Искусственное осеменение свиней / К.: Урожай, 1983. 185 с.
3. Коваленко В.Ф., Усенко С.А., Пелипенко С.В., Шостя А.М. Взаимосвязь между уровнем содержания прогестерона в крови и динамикой развития желтых тел у свиноматок // Материалы международной научно-практической конференции «Прошлое, настоящее и будущее зоотехнической науки». Дубровицы, 2004. 71с.
4. Мартыненко, Н.А. Эмбриональная смертность сельскохозяйственных животных и ее предупреждение / К.: Урожай, 1971. 157с.

УДК 57.016.6

Сафронов Д.Ю., Стовбун С.В.

Институт химической физики им. Н.Н. Семенова РАН (г. Москва)

Кучеров В.А., Фарзалиев Т.Н., Чекамеева В.Л.

ООО «Био Фарма» (г. Москва)

ПРОТИВОВОСПАЛИТЕЛЬНЫЙ ЭФФЕКТ ПАНАВИРА В МОДЕЛЬНЫХ ЭКСПЕРИМЕНТАХ И КЛИНИЧЕСКОЙ ПРАКТИКЕ

S. Stovbun, D. Safronov

N.N. Semenov Institute of Chemical Physics of RAS (Moscow)

V. Kucheroov, T. Farzalieov, V. Chekameyeva

LLC "Bio Pharma" (Moscow)

ANTI-INFLAMMATORY PANA VIR EFFECT IN SIMULATION EXPERIMENTS AND CLINICAL PRACTICE

Аннотация. Показана необходимость проведения исследований вновь выявляемых свойств лекарственных препаратов. Описаны проведённые в рамках исследования противовоспалительного действия лекарственного препарата Панавир эксперименты на моделях острого и хронического воспаления. Экспериментально доказано наличие у противовирусного препарата Панавир собственного противовоспалительного действия, сравнимого с аналогичным действием диклофенака натрия. Рекомендовано проведение полномасштабных клинических исследований противовоспалительного действия Панавира с целью расширения показаний к применению в клинической практике.

Ключевые слова: панавир, воспаление, эксперимент, крыса, каррагинан, конканавалин, диклофенак, циклооксигеназа.

Abstract. The necessity of studying newly discovered properties of medical products has been shown. As a part of the exploration of anti-inflammatory effect of Panavir medication we have described the experiments on models of acute and chronic inflammation. It has been proved by experiment that Panavir viricide displays anti-inflammatory action which may be compared with the similar one of diclofenac sodium. It is recommended that full-scale clinical studies of anti-inflammatory Panavir effect should be carried out to extend the indications for clinical application.

Key words: Panavir, inflammation, experiment, rat, carrageenan, concanavalin, diclofenac, cyclooxygenase.

Постмаркетинговые исследования, проводимые после внедрения лекарственных препаратов в клиническую практику, обычно выявляют новые фармакологические свойства, демонстрируемые изучаемыми препаратами при лечении сочетанных заболеваний.

За 10 лет применения Панавира как противовирусного препарата были выявлены противовоспалительный, жаропонижающий, анальгетический, антиульцерогенный, гепатопротекторный, десенсибилизирующий, инсулин-потенцирующий, противоопухолевый, антипаркинсонический и ноотропный эффекты препарата.

В связи с отсутствием у Панавира ulcerогенного действия, а также системной и репродуктивной токсичности, особое внимание привлекло наличие у препарата выраженного

самостоятельного противовоспалительного эффекта.

Для верификации наличия у Панавира противовоспалительного действия, на базе НИИ физико-химической медицины Федерального агентства по здравоохранению и социальному развитию РФ были проведены эксперименты на трёх моделях острого и хронического воспалительного процесса.

В качестве эталонного препарата с выраженной противовоспалительной активностью для всех трёх моделей был выбран диклофенак натрия. Использовался лекарственный препарат Диклофенак в форме раствора для инъекций.

Противовоспалительное действие диклофенака натрия основано на неизбирательном угнетении циклооксигеназы 1 и 2, в результате которого блокируются реакции арахидонового каскада и нарушается синтез простагландинов E_2 и $F_{2\alpha}$, тромбксана A_2 , простациклина, лейкотриенов и выброс лизосомальных ферментов в очаге воспаления.

Проверка возможного влияния Панавира на активность циклооксигеназы исследовалась на модели экссудативного отёка стопы крыс на каррагинан. В данной модели отёк развивается в результате последовательного выделения ряда провоспалительных медиаторов – гистамина, 5-окситриптамина, кинина и простагландинов.

В эксперименте на модели экссудативного отёка на каррагинан исследовались четыре опытные группы и одна контрольная. За 60 минут до введения каррагинана животным вводили внутривентрально: 1 группе – панавир в дозе 0,02 мг/кг; 2 группе – панавир в дозе 0,5 мг/кг; 3 группе – панавир в дозе 2,5 мг/кг; 4 группе – диклофенак натрия в дозе 6,75 мг/кг, что в пересчёте на крыс по E.J.Freireich et al. соответствует суточной дозе для человека – 75 мг. Контрольной группе аналогично вводили физиологический раствор. Через час всем животным в подушечку правой задней стопы вводили 0,1 мл 1% раствора каррагинана, а в подушечку левой задней стопы (контроль) 0,1 мл физиологического раствора. Далее, в течение 5 часов у всех животных

каждый час измеряли микрометром отёк стоп задних конечностей. Через 5 часов опыта, сразу после забоя животных, стопы обеих задних лап отрезали по линии голеностопного сустава и оценивали выраженность острого экссудативного воспаления по разнице масс опытной и контрольной лап.

Выраженность воспалительной реакции в контрольной группе достигала максимума на 2-3 час эксперимента и затем незначительно снижалась. В 4 группе (диклофенак) максимум реакции приходился на 1-2 час и затем выраженность отёка резко снижалась. В 1 группе (панавир 0,02 мг/кг) максимум реакции достигался к 1 часу эксперимента и по выраженности совпадал с контролем, а затем медленно снижался. В третьей (панавир 0,5 мг/кг) и четвёртой (панавир 2,5 мг/кг) группах максимум также достигался к 1 часу, но был достоверно менее выражен, чем в 4 группе (диклофенак), а затем выраженность реакции плавно снижалась, достигая к окончанию эксперимента тех же значений, что и в 4 группе.

Дополнительно воспалительная реакция оценивалась по индексу реакции острого экссудативного воспаления через 5 часов после введения каррагинана. Индекс рассчитывался делением разности средних масс правых (опытных) и левых (контрольных) лап на среднюю массу контрольных лап и выражался в процентах.

Для контроля и 1 группы (панавир 0,02 мг/кг) индексы были сопоставимы (40,0% и 40,9% соответственно), так же как сопоставимы были вдвое меньшие индексы третьей (панавир 2,5 мг/кг) и четвёртой (диклофенак) групп (19,1% и 19,6% соответственно). Индекс 2 группы (панавир 0,5 мг/кг) занимал промежуточное положение (23,8%).

Эксперимент показал выраженный дозозависимый противовоспалительный эффект панавира, сопоставимый с действием диклофенака. Сроки максимальной выраженности и динамика воспалительной реакции свидетельствуют о влиянии панавира на этапы воспалительной реакции, предшествующие синтезу простагландинов.

Также для исследования противовоспалительного действия Панавира было изучено его влияние на модель конканавалин А – индуцированного воспаления у мышей. Реакция воспаления на конканавалин А (псевдоаллергическая реакция) основана на способности конканавалина А неспецифически, т. е. без участия реагинов с аллергенами на мембранах клеток-мишеней, в результате прямого действия на рецепторы мембран тучных клеток и базофильных лейкоцитов высвобождать медиаторы воспаления (гистамин, серотонин, лейкотриены и др.).

Здесь также исследовались четыре опытные группы и одна контрольная. За 60 мин. до введения конканавалина А животным первых трёх опытных групп вводили панавир внутривенно: 1 группе – в дозе 0,02 мг/кг; 2 группе – в дозе 0,5 мг/кг; 3 группе – в дозе 2,5 мг/кг. А 4 группе вводили диклофенак натрия внутримышечно в дозе 6,75 мг/кг, что в пересчёте на крыс по E.J.Freireich et al. соответствует суточной дозе для человека – 75 мг. Контрольной группе внутривенно вводили физиологический раствор. Через час всем животным в подушечку правой задней стопы вводили 0,02 мл 5мг/мл раствора конканавалина А, а в подушечку левой задней стопы (контроль) 0,02 мл физиологического раствора. Через 1 час после введения конканавалина А животных забивали, стопы обеих задних лап отрезали по линии голеностопного сустава и оценивали выраженность острого экссудативного воспаления по индексу реакции острого экссудативного воспаления. Индекс рассчитывался делением разности средних масс правых (опытных) и левых (контрольных) лап на среднюю массу контрольных лап и выражался в процентах.

Внутривенное введение панавира в дозах 0,02 мг/кг, 0,5 мг/кг и 2,5 мг/кг приводило к подавлению конканавалин А – индуцированной воспалительной реакции на 41,6%, 47,5% и 52,5% соответственно. Для четвёртой опытной группы (диклофенак) индекс составил 38,4%

Эксперимент показал выраженный дозозависимый противовоспалительный эффект

панавира, сопоставимый и превышающий соответствующее действие диклофенака. Полученный результат свидетельствует о влиянии панавира на этапы воспалительного процесса, предшествующие синтезу простагландинов.

Для определения влияния панавира на экссудативную и пролиферативную фазы воспалительного процесса эксперимент проводился на модели хронического пролиферативного воспаления. Также исследовались четыре опытные группы и одна контрольная.

Хроническое пролиферативное воспаление вызывали подкожным вживлением двух ватных шариков массой 10 мг в межлопаточную область спины. Операция проводилась в асептических условиях под лёгким эфирным наркозом.

Животным первой опытной группы в день операции однократно внутривенно вводили панавир в дозе 0,5 мг/кг. Животным второй и третьей опытных групп ежедневно в течение 7 дней, начиная со дня операции, вводили панавир внутримышечно: 2 группе – в дозе 0,02 мг/кг; 3 группе – в дозе 0,5 мг/кг. Четвёртой опытной группе ежедневно в течение 7 дней, начиная со дня операции, внутримышечно вводили диклофенак натрия в дозе 6,75 мг/кг, что в пересчёте на крыс по E.J.Freireich et al. соответствует суточной дозе для человека – 75 мг. Контрольной группе внутримышечно вводили физиологический раствор. На 8 день после операции ватные шарики с образовавшейся вокруг них грануляционной тканью извлекали, взвешивали на электронных весах и высушивали при температуре 70°C в течение суток, после чего вновь взвешивали.

Пролиферативную реакцию оценивали по разнице между массой высушенной гранулёмы и исходной массой ватного шарика. Экссудативную реакцию оценивали по разнице между массой сырой и высушенной гранулёмы.

Зарегистрировано подавление экссудативной реакции по сравнению с контролем: в 1 группе – на 34,5%, во 2 группе – на 39,2%, в 3 группе – на 34,7%. В группе препарата срав-

нения (группа 4, диклофенак) экссудативная реакция подавлялась на 41%.

Пролиферативная реакция подавлялась (по сравнению с контролем) на 43% в первой группе, на 51% – во второй и на 43,8% – в третьей. В группе препарата сравнения (группа 4, диклофенак) пролиферативная реакция подавлялась на 53%.

В исследовании установлен выраженный противовоспалительный эффект панавира на модели хронического пролиферативного воспаления, сравнимый с аналогичным действием диклофенака. Максимальный противовоспалительный эффект панавира в отношении экссудативного и пролиферативного компонентов хронического воспаления достигнут при ежедневном внутримышечном введении панавира в дозе 0,02 мг/кг.

Выводы

Проведённые эксперименты убедительно доказали наличие у Панавира ярко выраженного собственного противовоспалительного действия, обусловленного, вероятно, не

подавлением активности циклооксигеназы, а общим регуляторным оптимизирующим влиянием на воспалительный процесс.

Полученные результаты, с учётом известной безопасности препарата Панавир, позволяют рекомендовать его к проведению клинических исследований как противовоспалительного препарата.

Практическому же врачу полученные данные позволят более осмысленно и целенаправленно назначать Панавир в комбинации с другими лекарственными средствами.

ЛИТЕРАТУРА:

1. Регистр лекарственных средств России, РЛС Энциклопедия лекарств. Вып. 17 Вып./гл.ред. Вышковский Г.Л. Москва, 2009.
2. Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ/под ред. Р.Ю. Хабриева. Москва. 2005.
3. Freireich E.J., Gehan E.A., Rall D.P., et al. Quantitative comparison of toxicity of anticancer agents in mouse, rat, guinea pig, rabbit, cat, dog, monkey and man. CancerChemother. Res., 1966. Vol. 50. No. 4.

УДК 577.1:577.41

Слободскова В.В., Солодова Е.Е., Челомин В.П.
Тихоокеанский океанологический институт им. В.И. Ильичева
Дальневосточного отделения РАН (г. Владивосток)

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ МОЛЛЮСКА *CORBICULA JAPONICA* (BIVALVIA) ДЛЯ ОЦЕНКИ ГЕНОТОКСИЧНОСТИ ЭСТУАРНЫХ ВОД

V. Slobodskova, E. Solodova, V. Chelomin
V.I.Ilichev Pacific Oceanological Institute of the Far Eastern Branch of RAS (Vladivostok)

USE OF THE MOLLUSC *CORBICULA JAPONICA* (BIVALVIA) TO ESTIMATE GENOTOXICITY OF ESTUARINE WATERS

Аннотация. В работе представлены результаты исследования по выявлению генотоксичности среды обитания *Corbicula japonica* населяющей разные районы залива Петра Великого. Для выявления генотоксических эффектов был использован метод ДНК - комет. Выяснено, что моллюски, обитающие в акватории р. Раздольная, находятся под влиянием антропогенного загрязнения, так как 1/3 молекулы ДНК жаберных клеток *C. japonica* имеет ярко выраженные деструктивные изменения. Отмечена положительная зависимость между степенью повреждения молекулы ДНК и уровнем накопления продуктов перекисного окисления липидов. Это свидетельствует о том, что моллюски, обитающие в местах с антропогенной нагрузкой, находятся в состоянии окислительного стресса, который является ключевым механизмом при деградации молекулы ДНК.

Ключевые слова: окислительный стресс, малоновый диальдегид, двустворчатые моллюски, *Corbicula japonica*, метод ДНК-комет, повреждение ДНК.

Abstract: The paper presents the results of the study to identify genotoxicity of the environment of *Corbicula japonica* inhabiting different sites of Peter the Great Bay. To reveal the genotoxic effects we have used the comet assay. It has been found out that the molluscs inhabiting the Razdolnaya river are under the influence of anthropogenic pollution, as 1/3 of the genome of *C. japonica* gill cells has a pronounced destructive changes. The positive correlation between the degree of DNA damage and the level of accumulation of lipid peroxidation products has been detected. This indicates that the molluscs that live in areas with anthropogenic influence are in a state of oxidative stress, which is a key mechanism for the degradation of DNA molecule.

Key words: oxidative stress, malondialdehyde, Bivalves, *Corbicula japonica*, genotoxicity, Comet Assay, DNA damage.

Растущие масштабы производства и использования широкого спектра химических соединений в различных областях народного хозяйства приводят к хроническому загрязнению прибрежных морских акваторий.

Наиболее ощутимые последствия антропогенной деятельности выявляются в экосистемах морских лагун и эстуариев крупных рек. В последние годы с речным стоком в эти области поступают воды, сильно загрязненные различными химическими соединениями, включая тяжелые металлы, пестициды и нефтеуглеводороды. Часть этих загрязнений накапливается в донных отложениях и усваивается различными гидробионтами. Кроме того, для водных масс этих районов характерны резкие изменения многих гидрохимических факторов – температуры, солености, концентрации кислорода, мутности и других, которые

непосредственно оказывают существенное влияние на жизнедеятельность обитающих в этом месте живых организмов. В свою очередь, вариабельность физико-химических факторов может изменять биодоступность и, соответственно, токсичность загрязнителей. Поэтому в таких зонах с нестабильной экологической обстановкой возникает множество комбинаций синергических, антагонистических и маскирующих эффектов антропогенных факторов, что в значительной степени затрудняет использование традиционных гидробиологических методов оценки негативных изменений в экосистемах. Более того, они не позволяют оперативно оценить экотоксикологическую ситуацию в акваториях, и нередко информация, собранная с их помощью, может быть проанализирована тогда, когда результаты воздействия проявятся на экосистемном уровне и приобретут необратимый характер.

В этой связи представляется целесообразным применение подходов, основанных на анализе отдельных ключевых биохимических параметров (молекулярных маркеров), отражающих общее изменение физиологического состояния организма в ответ на воздействие неблагоприятных факторов среды. Основное преимущество использования неспецифических молекулярных маркеров заключается не только в высокой чувствительности, точности и экспрессности определения, но и в установлении причинно-следственных связей при взаимодействии организма и среды, что открывает возможность предсказывать изменения в популяциях и сообществах в загрязненных районах. Оценка опасности развития отдаленных эффектов может быть более эффективной, если основывается на данных изучения генотоксичности [5, 109]. Подобного рода исследования в экотоксикологии только начинаются [8, 348; 17, 303]. Но именно в этом направлении следует ожидать появления интересных научных публикаций, учитывая широкое распространение в медико-биологических исследованиях метода-ДНК-комет, позволяющего оценивать состояние генома индивидуальной клетки [7,

207].

Наиболее доступными и удобными объектами биомаркерных исследований в экосистемах побережья Японского моря являются двустворчатые моллюски-фильтраторы *Corbicula japonica* – доминанты эстуарных донных сообществ [20]. Они характеризуются относительно крупными размерами и высокой численностью, легко доступны для отбора, что позволяет использовать их как для химического анализа загрязнений, так и для изучения биологических реакций на них.

Основная задача настоящей работы заключалась в том, чтобы с помощью метода ДНК-комет показать (выявить) уровень повреждения ДНК в клетках жабр моллюсков *Corbicula japonica*, испытывающих воздействие комплексного загрязнения водной среды. Для исследований были выбраны эстуарии рек Раздольная (Амурский залив) и Артемовка (Уссурийский залив), а также лагуна Лебяжья залива Петра Великого, характеризующихся различной степенью загрязнения [15, 595].

Материал и методы

В работе использовали половозрелых особей (размер 30 – 34 мм) эстуарного двустворчатого моллюска *Corbicula japonica*.

Отбор моллюсков проводился в весеннее время, при температуре воды примерно 15 – 16 °С, в устье реки Артемовка (Уссурийский залив), в устье реки Раздольная (Амурский залив) и в лагуне Лебяжья (Славянский залив) водолазным способом. Выловленных моллюсков доставляли в лабораторию в течение 2-х часов.

После 2-дневной адаптации при температуре 16 – 18 °С проводили исследование уровня накопления МДА и степени повреждения молекулы ДНК жаберных клеток *C. japonica*, обитающей в разных районах залива Петра Великого.

В работе использовали щелочной вариант кометного анализа, адаптированного к морским организмам [17, 303].

Содержание малонового диальдегида (МДА) определяли непосредственно в жа-

берной ткани [1, 302] по цветной реакции с 2-тиобарбитуровой кислотой (ТБК).

Результаты и обсуждение

При визуальном анализе было видно, что после электрофореза молекула ДНК клеток жабр *C. jaronica*, собранной в устье реки Артемовка и лагуны Лебяжья, образует симметричное яркое ядро (полость в агарозе, заполненную ДНК) и окружающее его «гало», представленное вышедшими в агарозу петлями высокополимерной ДНК. В то же время в клетках жабр моллюсков, отобранных в устье реки Раздольная, молекула ДНК образует хорошо выраженные кометы, что, очевидно, обусловлено деградацией генома и миграцией низкополимерных фрагментов ДНК. Исходя из классификации, предложенной Коллинзом с коллегами [3, 69], клетки жабр моллюсков, обитающих в устье реки Артемовка и лагуны Лебяжья, образуют кометы, которые можно отнести к двум классам C0 и C1. Нередко бывает трудно визуально обнаружить разницу между кометами этих двух классов, поэтому они объединяются в одну группу (C0/C1)-комет, характерных для неповрежденных и жизнеспособных клеток [19, 115]. При этом было отмечено, что в группе клеток у моллюсков из лагуны Лебяжьей преобладали кометы, принадлежащие к классу C1, а также наблюдались клетки класса C2, но в малом количестве. Кометы, формируемые клетками жабр корбикулы, населяющей устье реки Раздольная, можно

отнести преимущественно к классу C3, что свидетельствует о высоком уровне фрагментации молекулы ДНК.

В таблице приведены рассчитанные параметры полученных комет (доля ДНК в хвосте кометы - % DNAt, длина хвоста кометы - Lt), отражающие степень повреждения ДНК клеток жабр моллюска, а также содержание МДА, указывающее на активность перекисного окисления липидов, протекающего в жабрах (см. табл.). Анализ этих данных показывает, что в клетках жабр корбикулы, отобранных в устье реки Раздольной, значения указанных параметров существенно выше, чем в других группах моллюсков.

Для наглядности полученные экспериментальные данные, из которых были рассчитаны усредненные значения полученных ДНК-комет (табл.), были представлены на рис. 1 в виде зависимости % ДНК в хвосте и длиной «хвоста» кометы. Этот вид бивариантного распределения обычно используется для характеристики популяций и наглядно демонстрирует пределы значений параметров, характеризующих кометы и их взаимосвязь. Из представленных результатов (рис. 1) особенно отчетливо видна высокая гетерогенность структуры ДНК клеток жабр моллюсков, подвергшихся неблагоприятному воздействию факторов среды (р. Раздольная). При этом доля ДНК, мигрирующей из ядра кометы, в клетках моллюсков, обитающих в устье реки Артемовка и лагуны Лебяжья, не превышает 10 и 12% соответственно, тогда как

Таблица

Основные параметры ДНК-комет клеток жабр и концентрация МДА жаберной ткани моллюсков *C. jaronica*, собранных в разных районах залива Петра Великого

Показатель Места сбора моллюсков	МДА (нмоль/г сырой ткани)	Повреждение ДНК	
		Lt	% DNAt
р. Артемовка	3,46±0,89	7,56±3,4	4,33±2,1
р. Раздольная	15,32±1,13	91,18±38,1	40,90±12,05
лагуна Лебяжья	8,51±0,77	36,25±14,92	20,79±8,40

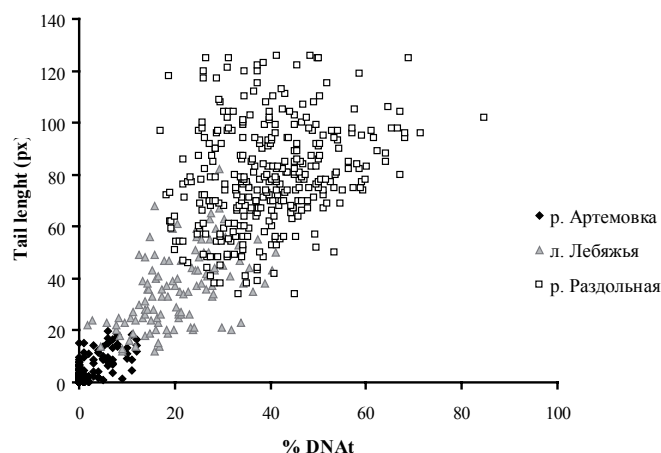


Рис. 1. Корреляция между процентом мигрированной ДНК (%DNAt) и длиной хвоста (Lt) комет, формируемых клетками жабр *C. japonica*, собранной в разных районах залива Петра Великого.

в клетках моллюсков, полученных из устья реки Раздольной, этот показатель для основной массы комет составляет 40–45%.

Подобная вариабельность данных параметров (рис. 1) была отмечена авторами в экспериментальных условиях, при исследовании генотоксичности кадмия в клетках жабр *C. japonica* и *Mizuhopecten yessoensis* [17, 303; 13, 63].

Наши результаты подтверждают тот факт, что эффект стрессового воздействия, вызванного загрязнением среды обитания, инициирует в первую очередь ответную реакцию клеточных систем. Увеличение количества повреждений молекулы ДНК, вызванных неблагоприятной средой обитания, отмечено разными авторами у моллюсков [4, 246; 12, 133; 6, 471; 11, 167; 18, 272], ракообразных [9, 553], рыб [10, 345], амфибий [2, 227]. Повышение уровня ПОЛ (МДА) в тканях гидробионтов также свидетельствует о негативном воздействии факторов среды [14, 358].

Нами было отмечено, что в жабрах моллюсков из трех исследованных районов показатели уровня накопления продуктов ПОЛ (МДА) и повреждений молекулы ДНК значительно отличались друг от друга. Так, например, содержание малонового диальдегида в жабрах моллюсков, обитающих в устье р. Раздольной, выше, чем у моллюсков, отобранных в лагуне Лебяжьей и устье р.

Артемовка, в 2 и 4 раза соответственно. По уровню повреждения ДНК жаберных клеток корбикулы наблюдается схожая картина, где максимальная деградация ДНК обнаружена у животных, собранных в эстуарии р. Раздольная.

На рис. 2 представлена зависимость таких показателей, как повреждение ДНК клеток жабр (%DNAt) и уровень МДА жаберной ткани *C. Japonica*, обитающей на разных акваториях залива Петра Великого. Проследивается четкая зависимость между этими двумя характеристиками. Показано, что чем выше уровень МДА, тем больше процент поврежденности клеточной ДНК. Полученные данные наглядно демонстрируют, что у моллюсков, обитающих в устье р. Раздольная, уровень МДА жаберной ткани и % поврежденной ДНК жаберных клеток значительно выше, чем у корбикул, отобранных в устье реки Артемовки и лагуне Лебяжьей.

Положительная корреляция между этими двумя маркерами (повреждение ДНК и количество продуктов ПОЛ (МДА)) подтверждает тот факт, что именно окислительный стресс является ключевым механизмом деградации генома.

Анализ литературы и результаты нашего исследования позволяют сделать вывод об уровне антропогенной нагрузки исследованных акваторий. Так, например, река Раздоль-

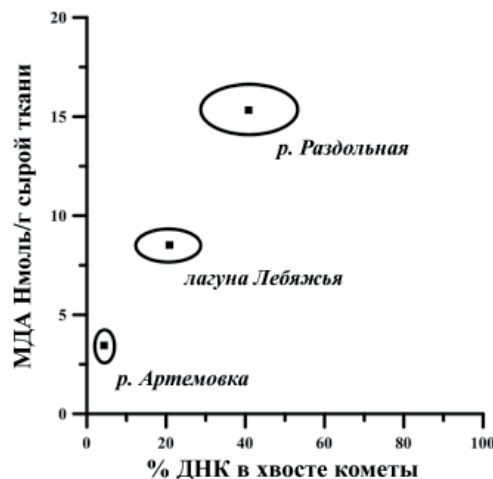


Рис. 2. Корреляция между процентом мигрированной ДНК (%DNA) жаберных клеток и содержанием малонового диальдегида (МДА) в жабрах *C. japonica*, собранной в разных районах залива Петра Великого.

ная на сегодняшний день является одной из самых загрязненных рек в Приморском крае [18, 272]. Среднее течение реки находится в зоне достаточно интенсивного сельскохозяйственного возделывания земель, а нижнее подвергается мощному антропогенному прессингу: именно здесь расположены стоки коллекторов г. Уссурийска, железнодорожных предприятий, мясокомбината, сахарного завода, картонной фабрики и кожевенного комбината. Оказывает негативное влияние на состав вод реки Раздольной и интенсивно развивающееся хозяйство северных провинций Китая, расположенных в ее верховье. Такое комплексное антропогенное воздействие отражается на состоянии гидробионтов, что наглядно демонстрируют наши результаты. На рис. 2 видно, что моллюски, населяющие реку Раздольную, имеют максимальное количество повреждений ДНК и самый высокий уровень содержания МДА в жабрах.

Лагуна Лебяжья находится в отдаленном районе залива Петра Великого, данный регион характеризуется отсутствием промышленности и считается одним из самых незагрязненных районов залива Петра Великого. Но отрицательную роль в водных экосистемах играет не только загрязнение водной среды, но и строительство дамб, мостов, карьеров, водохранилищ и т. д. Так, строительство дамбы и моста через лагуну Лебяжью привели к

нарушению гидрологического режима в этом водоеме. Прежде всего, нарушился водообмен и солевой режим, изменился тепловой баланс. Все это приводит к эвтрофикации, накоплению на дне илистых отложений, что в свою очередь сильно отражается на состоянии гидробионтов [16, 276]. Наши результаты свидетельствуют о том, что *C. japonica*, населяющая данную акваторию, действительно подвергается негативному влиянию (рис. 2).

На прилегающей территории р. Артемовка в последние годы наблюдается спад производства, в связи с чем уровень загрязнения в реке снизился. И, по нашим результатам, можно сделать вывод, что состояние вод р. Артемовки улучшилось, т. к., по данным кометного анализа, генотоксических эффектов не наблюдается (рис. 1), а также отмечается минимальная концентрация МДА в жаберной ткани моллюсков (табл.).

В заключение можно отметить, что в ходе проведенного эксперимента нами выявлена четкая взаимосвязь между количеством повреждений молекулы ДНК и уровнем продуктов перекисного окисления (МДА) в жабрах двусторчатого моллюска *C. japonica*, собранного из мест с различной степенью антропогенной нагрузки. В результате этого можно с уверенностью говорить о том, что моллюски, обитающие в загрязненной акватории, находятся в состоянии хронического окислитель-

ного стресса, который является основной причиной деградации генома клетки.

ЛИТЕРАТУРА:

1. Buege J.A., Aust S.D. Microsomal lipid peroxidation // In: Methods in Enzymology. Academic Press. N.Y., 1978. V. 52.
2. Clements C., Ralph S., Petras M. Genotoxicity of select herbicides in *Rana catesbeiana* tadpoles using the alkaline single-cell gel DNA electrophoresis (comet) assay // Environ. Mol. Mutagen. 1997. V. 29.
3. Collins A.R., Ma A.G., Duthie S.J. The kinetics of repair of oxidative DNA damage (strand breaks and oxidized pyrimidine) in human cells // Mutat. Res. 1995. V. 336.
4. Cotellet S., Ferand J.F. Comet assay in genetic ecotoxicology: a review // Environ. Mol. Mutagen. 1999. V. 34.
5. Depledge M.H. The ecotoxicological significance of genotoxicity in marine invertebrates // Mutat. Res. 1998. V. 399.
6. Hamoutene D., Payne J.F., Rahimtula A., Lee K. Use of the comet assay to assess DNA damage in hemocytes and digestive gland cells of mussels and clams exposed to water contaminated with petroleum hydrocarbons // Mar. Environ. Res. 2002. V. 54.
7. Jha A.N. Ecotoxicological applications and significance of the comet assay // Mutagen. 2008. V. 23. № 3.
8. Lam P. Use of biomarkers in environmental monitoring // Ocean & Coastal Management 2009. V. 52.
9. Lee R., Kim G.B., Maruya K.A., Steinert S.A., Oshima Y. DNA strand breaks (comet assay) and embryo development effects in grass shrimp (*Palaemonetes pugio*) embryos after exposure to genotoxins // Mar. Environ. Res. 2000. V. 50.
10. Pandrangi R., Petras M., Ralph S., Vizoc M. Alkaline single cell gel (comet) assay and genotoxicity monitoring using bullheads and carp // Environ. Mol. Mutagen. 1995. V. 26.
11. Regoli F., Frenzili G., Bocchetti R., Annarumma F., Scarcelli V., Fattorini D., Nigro M. Time-course variations of oxyradical metabolism, DNA integrity and lysosomal stability in mussels, *Mytilus galloprovincialis*, during a field translocation experiment // Aquat. Toxicol. 2004. V. 68.
12. Sasaki U.F., Izumiyama F., Nishidate E., Ishibashi S., Tsuda N., Matsusaka N., Asano N., Saotome K., Sofumi T., Hayashi M. Detection of genotoxicity of polluted sea water using shellfish and the alkaline single cell gel electrophoresis (SCE) assay: a preliminary study // Mutat. Res. 1997. V. 393.
13. Slobodskova V.V., Solodova E.E., Chelomin V.P. DNA damage (Comet assay) as biomarker of Cd exposure in marine seed scallops *Mizuhopecten yessoensis* age 1 year // Journal of Environmental Science And Engineering. 2010. V. 4. № 10.
14. Довженко Н.В., Куриленко А.В., Бельчева Н.Н., Челомин В.П. Окислительный стресс, индуцируемый кадмием, в тканях двустворчатого моллюска *Modiolus modiolus* // Биология моря. 2005. Т. 31. № 5.
15. Нигматулина Л.В. Сравнительная оценка поступления загрязняющих веществ со сточными водами на акваторию Амурского и Уссурийского заливов (Японское море) // Современное состояние водных биоресурсов: материалы научной конференции, посвященной 70-летию С.М. Коновалова. Владивосток 25-27 марта 2008 г. В.: ТИНРО-центр, 2008.
16. Раков В.А. Современное состояние, перспективы использования и сохранения экосистем морских лагун и эстуариев юга Дальнего Востока // Природа без границ: Материалы I Международного экологического форума. Ч. 1. Вл-к., 2006.
17. Слободская В.В., Солодова Е.Е., Слинько Е.Н., Челомин В.П. Оценка генотоксичности кадмия в клетках жабр двустворчатого моллюска *Corbicula japonica* с помощью метода ДНК-комет // Биология моря, 2010. Т. 36. № 4.
18. Слободская В.В., Солодова Е.Е., Челомин В.П. Применение генотоксического анализа для мониторинга прибрежной зоны залива Петра Великого // Современные проблемы физиологии и биохимии водных организмов. Т. 1. Экологическая физиология и биохимия водных организмов. Сборник научных статей – Петрозаводск: Карельский научный центр РАН, 2010.
19. Тронов В.А., Терещенко Д.Г., Конопляников М.А. Механизм радиационной гибели лимфоцитов периферической крови человека, оцениваемая методом ДНК-комет // Биофизика. 1998. Т. 43, № 1.
20. Явнов С.В., Раков В.А. Корбикула. В.: ТИНРО-центр, 2002.

УДК 539.6

Стовбун С.В., Михайлов А.И., Занин А.М., Костяновский Р.Г.
Институт химической физики им. Н.Н. Семенова РАН (г. Москва)

ХИРАЛЬНОСТЬ ПРИ САМООРГАНИЗАЦИИ СТРУН В ЖИДКОЙ ФАЗЕ И ПРИНЦИПЫ ЭКОНОМИИ В ПРИРОДЕ

S. Stovbun, A. Mikhailov, A. Zanin, R. Kostyanovsky
N.N. Semenov Institute of Chemical Physics of RAS (Moscow)

CHIRALITY BY SELFORDERING OF STRINGS IN LIQUID PHASE AND LEXPARSIMONIAE IN NATURE

Аннотация. Рассмотрены физико-химические механизмы формирования струн в «модельных» предбиологических системах, в том числе и водном растворе фенилаланина. Обсуждается биологическое значение струн как элементов межклеточной коммутации, цитоскелета и других анизометрических конструкций. Оцененная энергия активации струн из условия кинетического равновесия при наблюдаемых порогах образования составляет ~ 0.5 эв.

Показана существенная роль хиральности молекул гелатора при образовании струн, а также конкурирование межмолекулярных «слабых» взаимодействий в процессах формирования супрамолекулярной структуры, что позволяет рассматривать струны как элементы управления в биологических системах.

Ключевые слова: струны, анизометрические структуры, предбиологические системы, межклеточная коммутация, цитоскелет.

Abstract. We have studied the physical and chemical mechanisms of strings formation in the “model” prebiotic systems including aqueous solutions of phenylalanine. We discuss the biological significance of the strings, as elements of intercellular commutation, cytoskeleton and other anisometric structures.

The estimated energy of the strings activation from kinetic balance condition under the observed formation thresholds made ~ 0.5 ev.

We have shown the considerable importance of chirality of gelator molecules when strings are formed as well as competitiveness of “weak” intermolecular interactions in production of the supramolecular structure which allows of considering strings, as control elements in the biological systems.

Key words: strings, anisometric structures, prebiotic systems, intercellular commutation, cytoskeleton.

Зачем нужна хиральность многим биомолекулам? Это одна из старых нерешенных загадок молекулярной биологии 20-го века. [1, 1-50; 4, 5-86; 5, 59-111]. В настоящей работе для более яркого проявления эффекта было исследовано действие хиральности при гелеобразовании сильно полярных, «небиологических» фтор производных аминокислот в органических растворителях (циклогексан, бензол и др.). Ранее авторами [3] были обнаружены эффекты обратимого гелеобразования ($T=320-330$ К) при концентрациях гелаторов $c=10^{-3}-10^{-2}$ моль. литр⁻¹ в ряду N-трифторацетатных производных хиральных β -аминокислот (Табл.1, рис.1), с молекулярными массами 170-260 Дальтон (т. е. самыми малыми из описанных в литературе).

Как известно, порог гелеобразования или формирования непрерывного кластера «3d-связей» в системах, содержащих низкомолекулярные и потому изометрические компоненты с хорошей точностью дает теория протекания, учитывающая топологию узлов решеток и геометрию их связей [2]. В объемных долях это $n=(0,1-0,2)$ при самых раз-

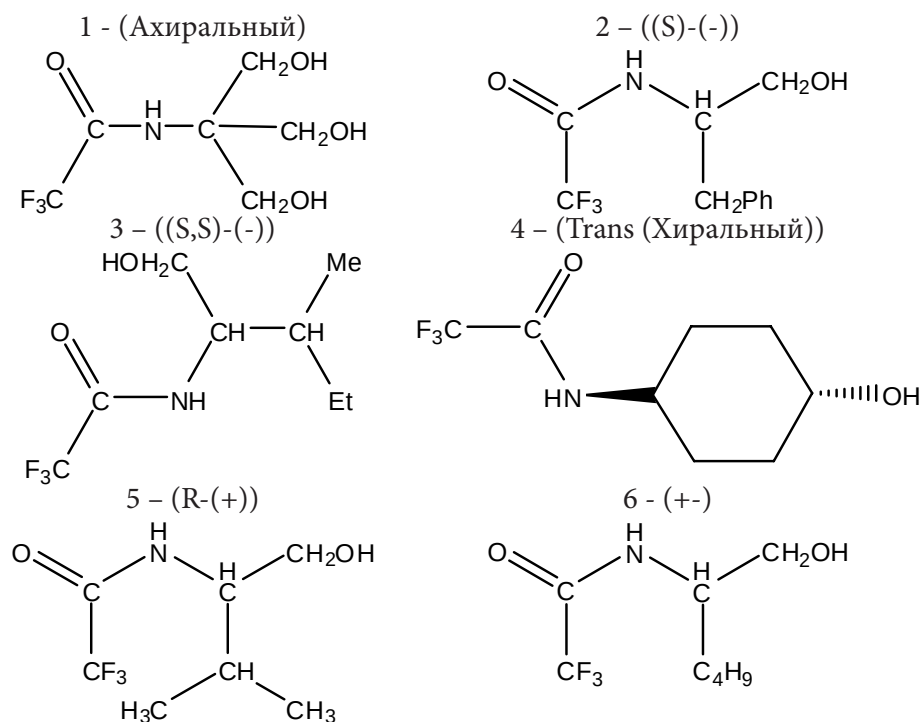


Рис.1. Органогелаторы (1-5) и гидрогелатор (6)

Таблица 1

Пороги отверждения растворов и воды для гелаторов 1-6 при T=305K

Гелатор	Растворитель	Порог гелеобразования ммоль/дм ³
1-5	бензол, толуол, хлорбензол, хлороформ бензол, толуол гексан, гептан, высококипящие фракции нефти	≈1-100
6	вода	≈ 0.05-0.10

личных параметрах дизайна молекулярной изометрии, а в эксперименте их соотношение составляет 10^{-3} - 10^{-2} , что означает невозможность появления классического изотропного (на масштабах, больших чем 10E) геля в этих сильно разбавленных растворах, и указывает на образование масштабных (по сравнению с размерами молекулы гелатора) анизометрических структур, таких как иглы, волокна, скелеты, струны и др. Действительно, данные оптической микроскопии подтверждают образование

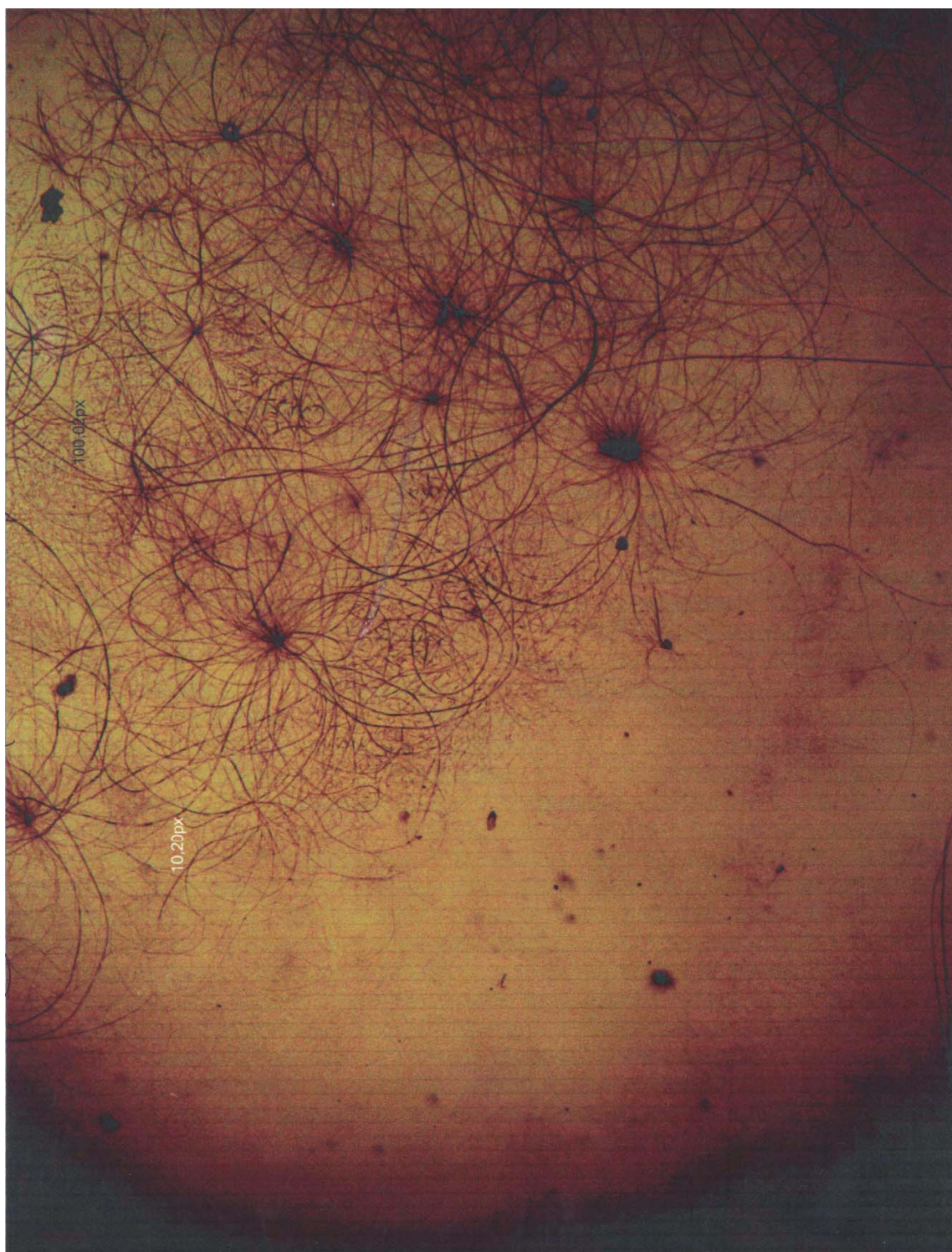
в этих системах струн с постоянным на длине до 0,5 см диаметром D около 1 мкм, имеющих прямолинейные участки $L \sim 0,1$ -0,3 см. Таким образом, наблюдаемое ранее отверждение жидких низкомолекулярных хиральных систем при концентрации гелатора 10^{-3} - 10^{-2} моль.литр⁻¹ принципиально связано с образованием супрамолекулярных анизометрических 1d-фазово обособленных структур.

Типичная для различных растворителей и гелаторов картина проявляющихся при

высыхании растворителя струн приведена на рис. 2. Радиус корреляции даже для жесткоцепных полимеров не более 100. А это означает, что механизм межмолекулярного связывания в «бесконечно» длинных струнах характеризуется значительно меньшей «шарнирностью» (например, упаковки в стопки с поворотом для компенсации отталкивания полярных групп), нежели связывание мономерных звеньев в полимерах, а величина отношения L к D свидетельствует о значительно более высокой скорости диффузионно-контролируемого аксиального роста струны (более чем в $\sim 10^3 \times 10^4$ раз) по сравнению со скоростью ее диффузионно-контролируемого радиального роста.

Оба этих обстоятельства определяются стереоспецифичностью молекул и многоцентровостью их слабых межмолекулярных взаимодействий и, понятно, могут усиливаться за счет хиральности. При этом специфические межмолекулярные контакты асимметричных хиральных молекул обеспечивают устойчивость низкоразмерных структур по принципу «стопочной модели тарелок», объединенных в своеобразно свитые жгуты-струны, о чем свидетельствуют данные атомно-силовой микроскопии и КД-спектроскопии. Топологические особенности таких анизометрических структур (струн, скелетов, дендритов и др.),

наблюдаемых (рис.3) для систем (табл.1) позволяют предположить при их образовании существенную роль конкуренции растворителя за образование водородных, полярных и других «слабых» связей. Наблюдаемые эффекты «растворения» струн в H_2O и других сильно полярных растворителях могут быть использованы для регулирования геометрии и динамических характеристик струнных конструкций. При этом полученное из порога отверждения значение энергии активации $E \sim 0,3 \times 10^5$ эв характерно для обратимых процессов с Н-связями. Как видно из рис.3, для полярного хлороформа и бензола эффективного Н-акцептора наблюдаемые анизометрические структуры представляют собой дендриты и скелеты или их смесь с короткими (оборванными) струнами (рис.3). Представляется важным, что молекулярная хиральность в образовании струн имеет, по-видимому, ключевую роль, так как для ахирального гелатера (табл.1), даже в не конкурирующих растворителях, циклогексане и четыреххлористом углероде, наблюдаются только дендритные структуры. Здесь явления коллективных межмолекулярных взаимодействий и направляющей роли «слабых» водородных связей проявились наиболее ярко.



100 мкм

Рис.2. Рост струн из изометрической фазы (микрокристаллов) в растворе
N-3фторфцетил-(R) - (+)-валинол в циклогексане.
Концентрация $\sim 1,8 \cdot 10^{-2}$ моль, масштаб в 1 см – 100мкм



40 мкм

Рис.3. Кристаллиты, дендриты в хлороформе.
Масштаб в 1 см 40 мкм Концентрация $3 \cdot 10^{-3}$ моль. Соединение 5. Микрофотография ксерогеля.

Следует отметить, что обнаруженное нами образование струн в хиральных низкомолекулярных жидких системах может иметь общие молекулярно-динамические механизмы с образованием анизометрических структур в клетке, таких, как цитоскелет, элементы межклеточной коммутации и др., и, вообще говоря, может объяснить требование хиральности биологических молекул обязательным в природе принципом экономии, позволяющим в сильно разбавленных растворах формировать самоорганизующиеся микро- и даже макроскопические структуры. По-видимому, на этом направлении может быть решен обсуждавшийся выше вопрос о роли хиральности молекул при формировании и эволюции биологических молекулярных систем. Действительно, в самое последнее время нами обнаружено формирование струн и других высоко анизометрических структур в водных растворах канонической аминокислоты – фенилаланина.

Таким образом, в работе из низкомолекулярных хиральных гелаторов при низких концентрациях (10^{-3} - 10^{-2} моль.литр $^{-1}$) в неполярных растворителях получены анизометрические струнные структуры одинакового диаметра (около 1 мкм) по всей длине, до-

стигающей до 0,1 см и более. Показана определяющая роль хиральности молекул гелатора при формировании низкоразмерных 1-d анизометрических структур. На примере фенилаланина впервые обнаружено существование анизометрических структур типа струн в водных растворах аминокислот. Это, возможно, указывает на природу и необходимость хиральности при функционировании и эволюции биомолекул.

ЛИТЕРАТУРА:

1. Гольданский В.И., Кузьмин В.В. Спонтанное нарушение зеркальной симметрии в природе и происхождение жизни // Усп. физич. наук. 1989. Т. 157. № 1.
2. Де Жен П. Идеи скейлинга в физике полимеров / Пер. с англ. под ред. И.М. Лифшица. М.: Мир. 1982.
3. Стовбун С.В., Крутиус О.Н., Занин А.М., Ско-робогатко Д.С., Костяновский Р.Г. Экспериментальное наблюдение анизометрических структур в растворах с низким содержанием гелатора. М., Химическая физика, в печати
4. Шредингер Э. Что такое жизнь? С точки зрения физика. М., 1972.
5. Bonner William A., Origin and amplification of biomolecular chirality, Origins of Life and Evolution of Biospheres. V. 21. N. 2.

УДК 611.013.16

Тимченко Л.Д., Черников С.В., Блажнова Г.Н.
Ставропольский государственный университет

Арешидзе Д.А.
Московский государственный областной университет

ПОКАЗАТЕЛИ ФИЗИЧЕСКОГО РАЗВИТИЯ КУРИНОГО ЭМБРИОНА

L. Timchenko, S. Chernikov, G. Blazhnova
Stavropol Stste University

D. Areshidze
Moscow State Regional University

INDEXES OF THE PHYSICAL DEVELOPMENT OF THE CHICK EMBRYO

Аннотация. Установлены показатели физического развития куриного эмбриона на каждые сутки развития и в динамике на протяжении всего эмбриогенеза. Полученные данные могут быть использованы в качестве нормативных в процессе исследований на куриных эмбрионах, в том числе при изучении влияния на них различных факторов.

Ключевые слова: куриный эмбрион, эмбриогенез, индексы физического развития.

Abstract. The study has made a list of daily and all-embryogenetic development indexes of the chick embryo. The obtained data can be used as standard ones in other researches of chick embryos, including the study of various factors influencing them.

Key words: a chick embryo, embryogenesis, indexes of physical development.

В настоящее время интерес биологов и медиков всё больше повышается к углубленному изучению эмбриональной ткани, отличающейся высоким энергетическим потенциалом и выраженной биологической активностью [4]. Это обусловлено не только биологическими особенностями эмбриона, связанными с наличием в нём эксклюзивных биологически активных веществ и клеточных структур, но и его морфофункциональной полноценностью на всех этапах развития.

Благодаря существенному прогрессу методов исследований в биологии, в том числе молекулярной биологии, генетике и морфологии, получены новые сведения о стволовых клетках и их потенциях, роли апоптоза в эмбриональном развитии, раскрыты биологические особенности АФП, гормонов и низкомолекулярных веществ, являющихся регуляторами многочисленных взаимодействий и процессов, обуславливающих рост и развитие [17; 11, 15-23].

Однако наряду с тонкими регуляторными механизмами эмбриогенеза остается актуальным познание закономерностей физического развития эмбриона, которое является наиболее объективным критерием, отражающими полноценность и взаимообусловленность всех структурно-функциональных взаимодействий на любых уровнях организации, обуславливающих гомеостаз в процессе развития эмбриона.

Классической моделью для изучения эмбриогенеза живой системы является куриный

эмбрион [3; 12]. Это обусловлено не только фундаментальным интересом в рамках биологии развития и эмбриологии, но и все нарастающим прикладным, поскольку именно куриный зародыш может рассматриваться как достаточно дешевая, доступная, легко управляемая в процессе развития и экологически чистая сырьевая субстанция [10; 13, 100]. Так, например, в гомогенате и нервной ткани куриного эмбриона обнаружен АФП [14; 15, 165-167], что, по-нашему мнению, обуславливает перспективы его использования в технологии получения эффективных АФП-содержащих препаратов для борьбы с онкологическими, инфекционными, дистрофическими и другими заболеваниями.

В свете вышеизложенного важнейшим направлением исследований является попытка целенаправленного повышения содержания необходимых БАВ в развивающемся эмбрионе путем факторной регуляции соматического эмбриогенеза, что невозможно без знания многочисленных показателей физического развития, представляющих собой диалектическое единство и сопровождающихся постоянным переходом количественных изменений в качественные.

Большинством исследователей для оценки физического развития куриного эмбриона в основном используются такие параметры, как масса и длина тела, суточный прирост [5; 16], которые, к сожалению, не объективно отражают физическое развитие эмбриона.

Вместе с тем существует большое количество показателей, по которым производят оценку развития организма, и чем их больше применено к одному объекту, тем полноценнее исследователь может дать его характеристику. В настоящее время для оценки физического развития млекопитающих используют широко распространённый метод индексов [6, 191-205], который даёт основание судить о пропорциональности развития организма. Тем не менее из всего предложенного многообразия индексов только некоторые используются для оценки морфологической полноценности новорожден-

ных и для оценки эмбрионального развития [8]. Существуют разноречивые мнения об адекватности использования тех или иных индексов или их совокупности в различные возрастные периоды [9]. Мы посчитали возможным провести такую оценку с помощью формул, предложенных для новорожденных и подросткового возраста, так как эти периоды развития, так же как и эмбриональный, характеризуются выраженным десинхронизмом на фоне масштабного роста.

Так, индексы Кетле I и Кетле II характеризуют аллометрический рост, который описывает зависимость массы от линейных размеров тела, что позволяет судить об образовании видоспецифичных форм и пропорций тела. Индекс Рорера характеризует физическую организацию тела. Индекс Борнгардта позволяет судить о крепости телосложения организма. Индекс Эрисмана позволяет судить о пропорциональности развития грудной клетки, а индекс Вервека характеризует рост. Индекс гармоничного морфологического развития (ИГМР) является надёжным и удобным инструментом для оценки структурной полноценности организма, так как в нём используется коэффициент, рассчитанный для исследуемой группы, который делает связь между антропометрическими признаками, соответствующую действительности [18; 2; 9; 7].

Измерения проводили у 300 эмбрионов с пятых по девятнадцатые сутки развития (по 20 – на каждые сутки). Для вычисления индексов физического развития использовали общепринятые формулы для млекопитающих [7]. В связи с особенностями объекта исследования предложенные методики адаптированы. Длину тела (L) и окружность грудной клетки (Т) измеряли в сантиметрах, причём за критерий длины тела принимали линейный краниокаудальный размер, измеряемый от верхушки черепа до конца хвоста. Массу тела эмбриона (Р) в граммах определяли с помощью электронных весов «ВЛТЭ-150» с точностью до 0,01 мг (Россия).

Для индексов, при расчете которых ис-

Таблица

**Средние показатели индексов физического развития
куриного эмбриона**

Сутки развития	Кетле I	Кетле II	Ливи	Рорера	Борнгардта	ИГМР	Эрисмана	Вервека
5	0,1795	0,0897	-	18,47	17,95	-	-	-
6	0,1995	0,0998	-	9,587	19,96	-	-	-
7	0,2651	0,1325	0,0418	8,611	26,51	100,84	1,213	0,5807
8	0,3165	0,1583	0,0467	5,775	31,65	100,52	1,064	0,6298
9	0,4483	0,2241	0,0506	6,578	44,83	99,846	1,616	0,4962
10	0,6222	0,3111	0,0673	7,042	62,22	99,867	1,563	0,4404
11	0,7966	0,3983	0,0811	5,970	79,66	99,953	1,413	0,4032
12	1,0489	0,5245	0,0874	5,551	104,9	100,14	1,791	0,3323
13	1,3350	0,6675	0,1098	5,132	133,5	97,470	1,459	0,2893
14	1,5918	0,7951	0,1246	4,621	159,1	100,07	1,276	0,2565
15	1,8364	0,9182	0,1436	4,283	183,6	100,07	0,942	0,2316
16	2,1070	1,0535	0,1371	4,149	210,7	100,13	1,507	0,2030
17	2,4681	1,2344	0,1314	4,469	246,9	100,13	2,483	0,1732
18	2,8939	1,4469	0,1471	4,892	289,3	100,09	2,644	0,1508
19	3,3536	1,6768	0,1649	5,383	335,4	100,08	2,764	0,1323

пользовались показатели окружности грудной клетки, измерения проводили начиная с седьмых суток. Вследствие низкой степени дифференцировки элементов тканей в этот период развития нами условно установлены границы измерения окружности грудной клетки, проходящие под тканевыми зачатками крыльев эмбриона, которые, по мнению Б.Ф. Бессарабова, в это время достаточно чётко сформированы [1].

Результаты физического развития куриного зародыша представлены ниже (см. табл.)

Представленные в таблице данные отражают уровень физического развития куриного эмбриона на каждые сутки, а также динамику всех его показателей на протяжении всего эмбриогенеза. По нашему мнению, полученные данные могут быть использованы в качестве нормативных при широком перечне исследований куриных эмбрионов, в том числе при изучении влияния на них различных факторов.

ЛИТЕРАТУРА:

1. Бессарабов, Б.Ф. Инкубация яиц с основами эмбриологии сельскохозяйственной птицы / Б.Ф. Бессарабов. М.: КолосС, 2006. 240 с.

2. Борисенко, Е.Я. Практикум по разведению сельскохозяйственных животных / Е.Я. Борисенко, К.В. Баранова, А.П. Лисицын. М.: Колос, 1984. 124 с.
3. Бэр, К.М. История развития животных / К.М. Бэр. М.: Изд-во АН СССР, 1953. Ч. 1. 466 с.
4. Владимирская, Е.Б. Биологические основы и перспективы терапии стволовыми клетками / Е.Б. Владимирская, О.А. Майорова, С.А. Румянцев [и др]. М.: Изд-во Мед. Пр. М, 2005. 392 с.
5. Задарновская, Г.Ф. Сравнительные материалы по эмбриогенезу домашних птиц: дис. ... д-ра биол. наук / Г.Ф. Задарновская. Ставрополь, 1966. 425 с.
6. Изаак, С.И. Проявление типа конституции в физическом и моторном развитии детей дошкольного возраста / С.И. Изаак, В.Д. Сонькин // Методы исследования физического развития детей и подростков в популяционном мониторинге. М., 1999.
7. Изаак, С.И. Физическое развитие и биоэнергетика мышечной деятельности школьников / С.И. Изаак, Т.В. Панасюк, Р.В. Тамбовцева. Москва - Орел: ОРАГС, 2005. 224 с.
8. Каузова, А.С. Морфофункциональные особенности эмбрионов крыс, получавших в период беременности новый биологически активный препарат на основе эмбрионально-яичной массы и растительного сырья: дис. ... к-та биол. наук: 03.00.30 / А.С. Каузова. Ставрополь, 2009. 186 с.

9. Красота, В.Ф. Разведение сельскохозяйственных животных / В.Ф. Красота, В.Т. Лобанов, Т.Г. Джапаридзе. М.: Колос, 1983. 414 с.
10. Ржепаковский, И.В. Разработка биостимулятора эмбрионального и оценка его эффективности при иммунодефицитных состояниях у животных раннего возраста: дис. ... к-та биол. наук: 03.00.23;16.00.02 / И.В. Ржепаковский. Ставрополь, 2003. 157 с.
11. Светлаков, А.В. Апоптоз в преимплантационном эмбриогенезе (обзор литературы) / А.В. Светлаков, М.В. Яманов, А.Б. Салмина // Проблемы репродукции. № 5. 2002.
12. Третьяков, Н.П. Инкубация с основами эмбриологии / Н.П. Третьяков, Г.С. Крок. М.: Изд-во КОЛОС, 1968. 248 с.
13. Трунова, А.П. Куриный эмбрион как экспериментальный и сырьевой объект для биологии, медицины и биотехнологии / А.П. Трунова // Естествознание и гуманизм: Сб. научн. работ. Томск, 2005. Т. 2. № 4. 116 с.
14. Черешнев В.А. Альфа фетопротеин / В.А. Черешнев, С.Ю. Родионов, В.А. Черкасов [и др]. Екатеринбург: УрО РАН, 2004. 376 с.
15. Черников, С.В. Содержание АФП в гомогенате куриного эмбриона в процессе развития / С.В. Черников // Сборник трудов молодых учёных Мат-лы 54 науч.-метод. конф. «Университетская наука – региону» Ставрополь: Изд-во СГУ, 2009.
16. Хохлов, Р.Ю. Функциональная морфология органов размножения кур в онтогенезе: автореф. дис. ... д. биол. наук / Р.Ю. Хохлов. Уфа, 2009. 36 с.
17. Шмагель, К.В. Иммуитет беременной женщины / К.В. Шмагель, В.А. Черешнев. М.: Медицинская книга, 2003. 226 с.
18. Шмальгаузен, И.И. Рост и дифференцировка / И.И. Шмальгаузен. Киев: Наукова думка, 1984. Т. 1. 176 с.

УДК 582. 931

Филоненко А.В.

Московский педагогический государственный университет

ГИСТОГЕНЕЗ ПЕРИКАРПИЯ И СТРУКТУРА ПЛОДОВ *FONTANESIA* (*OLEACEAE*) В СВЯЗИ С СИТЕМАТИЧЕСКИМ ПОЛОЖЕНИЕМ РОДА

A. Filonenko

Moscow State Pedagogical University

PERICARP HYSTOGENESIS AND FRUIT STRUCTURE OF *FONTANESIA* (*OLEACEAE*) IN RELATION WITH ITS SYSTEMATIC POSITION

Аннотация. В рамках карпологического исследования представителей семейства *Oleaceae* нами изучены плоды представителей рода *Fontanesia*. Впервые описан гистогенез перикарпия *F. phillyraeoides*. Установлено, что склеренхима мезокарпия развивается из самого внутреннего слоя мезофилла карпеллы, что характерно и для других представителей семейства. В структуре перикарпия *Fontanesia*, *Abeliophyllum* и *Fraxinus* выявлены признаки, характерные для всех представителей *Oleaceae* (например, немногослойный паренхимный эндокарпий). На основании полученных нами данных определен морфогенетический тип плода *Fontanesia* – пиренарий *Olea*-типа. Протестированы возможные филогенетические связи *Fontanesia*, *Abeliophyllum* и *Fraxinus* с привлечением карпологических данных.

Ключевые слова: перикарпий, морфогенез плодов, систематика, филогения, *Fontanesia*, *Oleaceae*.

Abstract: Within our carpological study of the family *Oleaceae*, we have examined the fruits of the genus *Fontanesia*. For the first time we have described the pericarp hystogenesis of *F. phillyraeoides*. We have found that sclerenchyma of the mesocarp develops from the internal layer of the ovary wall's mesophyll, which is typical for other members of the family. The pericarp structure of *Fontanesia* and *Abeliophyllum* shows characteristic features of all members of the *Oleaceae* (e.g. the parenchymatous endocarp). The obtained results allow us to define a morphogenetic type of fruit *Fontanesia* as *Olea*—type pyrenarium. We have also checked possible phylogenetic relationships of *Fontanesia* with *Abeliophyllum* and *Fraxinus* based on carpological data.

Key words: pericarp, fruit morphogenesis, systematics, phylogeny, *Fontanesia*, *Oleaceae*.

Род *Fontanesia* включает два вида: *F. phillyraeoides* Labill. (распространенный в Западной Азии) и *F. fortunei* Carrière (произрастающий в Китае); последний рассматривают иногда в ранге подвида *F. phillyraeoides* subsp. *fortunei* (Carrière) Hegi. На протяжении всей истории изучения *Oleaceae* род *Fontanesia* занимает довольно обособленное положение в системе семейства. Так, G. Benth [7, 672-670] поместил *Fontanesia* совместно с родом *Fraxinus* в трибу *Fraxineae*, основываясь на том, что плоды у представителей этих родов снабжены крылом. E. Knoblauch [11] принял предложенное Benth деление *Oleaceae* на трибы, отнеся *Fraxineae* к подсемейству *Oleoideae*, ссылаясь на тот факт, что плоды *Fontanesia* цельные, в то время как у родов, относимых к подсемейству *Jasminoideae*, плоды явственно двулопастные. Напротив, H. Taylor [14, 337-367], основываясь на результатах изучения хромосомных чисел представителей семейства *Oleaceae*, поместил *Fontanesia* ($n = 13$) и *Abeliophyllum* ($n = 14$) в трибу *Fontaneseae* подсемейства *Jasminoideae*, которое характеризуется хромосомными числами $n = 11, 13, 14$, в то время как подсемейство *Oleoideae* характеризуется $n = 23$. Позднее L. Johnson [10, 396-418] вывел род *Abeliophyllum* из состава трибы *Fontaneseae*, таким образом сделав ее

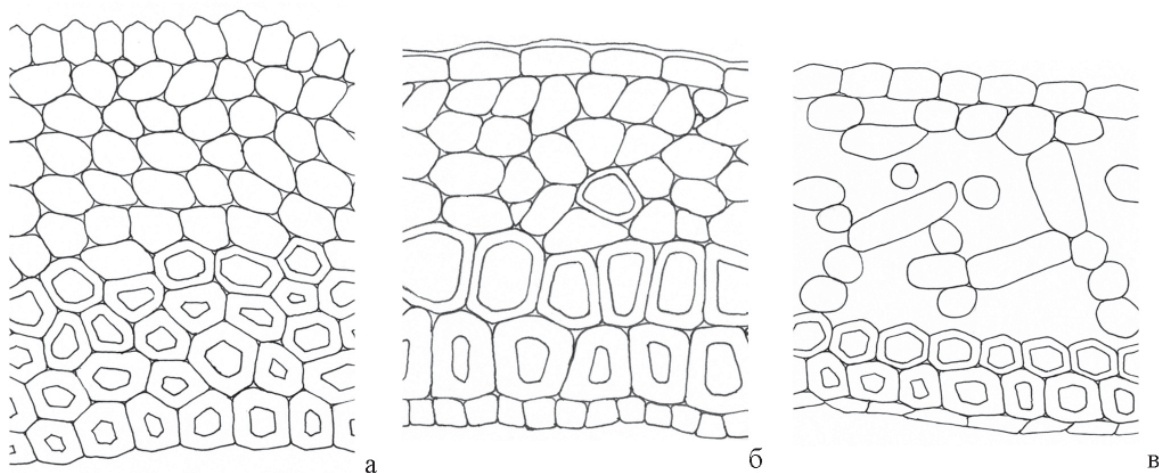


Рис. 1. Анатомия перикарпия представителей родов *Fontanesia*, *Abeliophyllum* и *Fraxinus*: а – *Fontanesia phillyraeoides*; б – *Abeliophyllum distichum*; в – *Fraxinus excelsior*.

монотипной. Впоследствии эту точку зрения принимали и другие исследователи, основываясь на данных секвенс нуклеотидных последовательностей [8, 296-306; 15, 1827-1841].

Морфологические признаки плодов *Fontanesia* неоднократно привлекали внимание в качестве источника систематически значимой информации и использовались для решения систематических задач. Структура перикарпия *Fontanesia* ранее уже становилась предметом исследований [13], однако нами, в рамках изучения плодов представителей семейства *Oleaceae*, исследована структура плодов обоих видов *Fontanesia* на различных стадиях развития. Мы убеждены, что только изучение плодов в онтогенезе позволяет достоверно определить гистогенетические зоны перикарпия зрелого плода, выявить закономерности его развития и установить филогенетически значимые признаки [1].

Материал для исследования был собран в Субтропическом ботаническом саду Кубани, кроме того, ряд образцов был любезно предоставлен сотрудниками Карпологии коллекции Ботанического музея БИН РАН и Гербария БИН РАН (LE). Перед проведением анатомического исследования сухие плоды выдерживали в смеси Страсбургера (90 % этиловый спирт – глицерин – дистиллированная вода = 1:1:1) в течение 10-20 суток (в зависимости от размеров). Свежий материал

фиксируют в 70 % этиловом спирте. Затем плоды заключали в парафин без проводки. С помощью салазочного микротомы получали поперечные срезы плодов толщиной 7–15 мкм. Для определения степени одревеснения клеточных стенок в различных гистогенетических зонах перикарпия проводили реакцию на одревеснение с флороглюцином и соляной кислотой; гистохимические реакции проводили по стандартным методикам [12].

Плоды *Fontanesia* развиваются из верхнего димерного синкарпного гинецея, типичного для представителей семейства *Oleaceae* [2, 131-134; 3, 82-84; 5, 263-264; 3]. Завязь двугнездная, с одним анатропным семязачатком в каждом гнезде; зрелые плоды содержат два (реже одно) развитых семени (рис. 2 б, в, г). Зрелые плоды сухие, уплощенные с латеральных сторон, округлые в очертаниях (рис. 2 а).

Перикарпий *Fontanesia* дифференцирован на три гистогенетические зоны; под гистогенетическими зонами (экзо-, мезо- и эндокарпий) мы понимаем те зоны перикарпия, которые развиваются из наружной эпидермы, мезофилла и внутренней эпидермы карпеллы соответственно [1]. Под топографическими зонами перикарпия мы понимаем гистологически разнородные зоны перикарпия, фактически – различные ткани, например, паренхима и склеренхима мезокарпия [1]. В

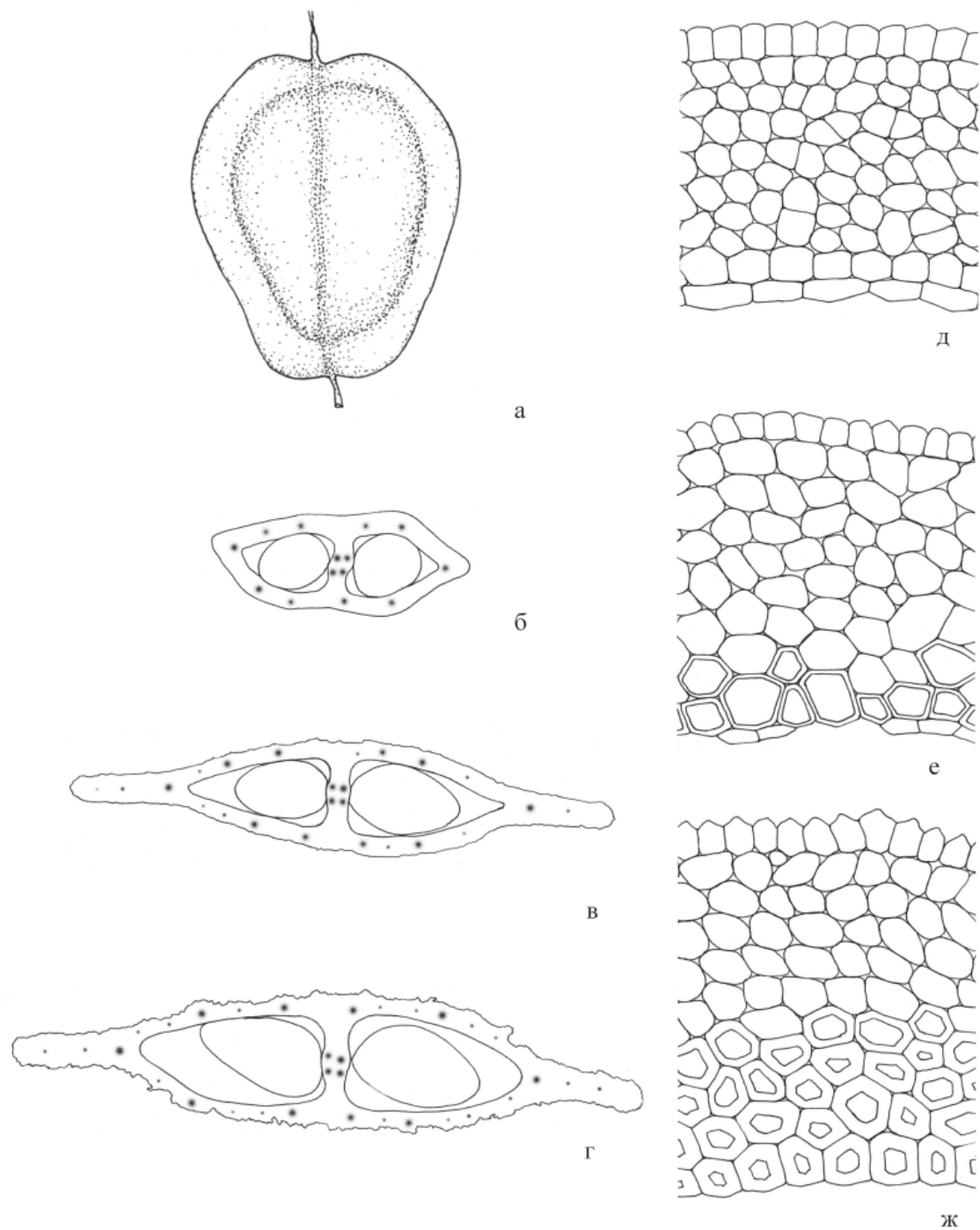


Рис. 2. Морфология плодов и анатомия перикарпия *Fontanesia phillyraeoides* на разных стадиях развития: а – зрелый плод (вид сбоку); б, в, г – схемы поперечных срезов плодов на разных стадиях развития; д, е, ж – схемы анатомического строения перикарпия на последовательных стадиях созревания.

целом перикарпий *Fontanesia* немногослойный, насчитывает не более 15 слоев клеток, что характерно для анемохорных диаспор разных таксонов [4; 6; 9].

Экзокарпий *Fontanesia* представлен однослойной эпидермой, сложенной из тонкостенных кубических клеток, внешняя стенка которых иногда выпячивается наружу в не-

значительной мере (рис. 2 д, е, ж). У *F. fortunei*, по сравнению с *F. phillyraeoides*, клетки экзокарпия более мелкие, кроме того, у *F. fortunei* на поверхности экзокарпия обнаруживаются более многочисленные устьица. На поверхности незрелых плодов присутствует довольно мощная кутикула, которая почти полностью утрачивается к моменту созревания и высыхания плодов.

Мезокарпий обоих видов *Fontanesia* дифференцирован на две топографические зоны. Внешняя зона мезокарпия образована довольно крупными паренхимными клетками (рис. 2 д, е, ж). В клетках паренхимы зрелых плодов *F. phillyraeoides* изредка обнаруживаются игольчатые кристаллы. Внутренняя зона мезокарпия сложена склеренхимными клетками (рис. 2 е, ж), вытянутыми в тангентальном направлении (на поперечном срезе имеющими округлые очертания). Склеренхима мезокарпия развивается из самого внутреннего слоя мезофилла карпеллы (рис. 2 д) несколько позднее паренхимы мезокарпия. Лигнификация клеток внутренней зоны мезокарпия начинается во внутренних слоях, внешние слои клеток лигнифицируются позднее (рис. 2 е). На границе внешней и внутренней зон мезокарпия проходят многочисленные мелкие проводящие пучки, придающие прочность крыловидным выростам. Мощность как внешней, так и внутренней зон мезокарпия варьирует от 3 до 10 слоев клеток; наиболее многослойный мезокарпий обнаруживается в центральной части плода, в районе септы, наименее мощный мезокарпий наблюдается в дистальных частях – крыловидных выростах (рис. 2 в, г).

Эндокарпий *Fontanesia* представлен одним слоем сильно уплощенных клеток (рис. 2 д, е). На поздних стадиях созревания, после того, как сформирована склеренхима мезокарпия, эндокарпий дегенерирует и перестает выявляться (рис. 2 ж).

На основании полученных нами результатов, в соответствии с принятой нами классификацией морфогенетических типов плодов [1], плоды *Fontanesia* нами определены как сухие пиренарии *Olea*-типа. Пиренарий

Olea-типа – наиболее многообразный и часто встречающийся тип плодов в семействе *Oleaceae*. Так, например, у *Olea*, *Chionanthus*, *Noronia* и ряда других родов формируются крупные зоохорные плоды, с паренхимной (сочной) наружной зоной мезокарпия и склеренхимной внутренней зоной (образующей очень мощную косточку). Также сочные плоды развиваются у представителей рода *Ligustrum*, однако они содержат не одну косточку, а две; перикарпий *Ligustrum*, тем не менее, также имеет внешнюю паренхимную (сочную) зону и склеренхимную внутреннюю (образующую две мощные косточки). Анемохорные плоды *Fraxinus*, занимающего обособленное положение в семействе, также характеризуются паренхимной (хотя и сухой) наружной зоной мезокарпия и склеренхимной внутренней [2, 131-134; 5, 263-264]. Таким образом, видно, что пиренарий *Olea*-типа характеризуется наличием склеренхимы во внутренней зоне мезокарпия и полным отсутствием склеренхимных элементов в эндокарпии. Присутствие в склеренхимной зоне мезокарпия паренхимных тяжей (проходящих по дорзальным сторонам карпелл) у всех указанных выше родов, а также наличие переходных типов плодов в пределах рода *Ligustrum* позволяет предположить, что пиренарии *Olea*-типа являются производным типом от коробочек *Forsythia*-типа, которые характерны для наименее специализированных таксонов, возможно, являющихся анцестральными в данной группе [1].

По структуре плодов *Fontanesia* довольно сильно отличается от *Abeliophyllum* и *Fraxinus*, с которыми некоторые авторы сближали этот род. У *Abeliophyllum*, так же как и у *Fontanesia*, закладывается по одному семезачатку в каждом гнезде завязи, плоды сплюснуты и снабжены крылом, однако внешняя зона мезокарпия представлена очень рыхлой аэренхимой, образованной трабекулярными клетками (рис. 2 а, б, в). В завязи *Fraxinus* закладывается по два семезачатка в каждом гнезде, но, как правило, развитие получает только один [3, 82-84]. Выявленные различия подтверждают правомерность выделе-

ния *Fontanesia* в самостоятельную трибу [15, 1827-1841]. Вместе с тем такой признак, как наличие паренхимного эндокарпия, хотя и эфемерного, свидетельствует о правомерности включения рода *Fontanesia* в семейство *Oleaceae*, так как все изученные представители семейства характеризуются паренхимным эндокарпием [2, 131-134; 5, 263-264].

Реконструкция морфогенеза плодов представителей семейства *Oleaceae* представляет большой интерес для выявления филогенетических связей между различными таксонами семейства.

ЛИТЕРАТУРА:

1. Бобров А.В., Меликян А.П., Романов М.С. Морфогенез плодов Magnoliophyta. М., 2009.
2. Меликян А.П., Филоненко А.В. Морфология и анатомия плодов представителей рода *Olea* L. (*Oleaceae*) // Матер. Межд. науч. конф. "Актуальные проблемы ботаники в Армении". Ереван, 2008.
3. Филоненко А.В. Морфология и анатомия плодов представителей рода *Fraxinus* L. (*Oleaceae*) // Матер. Межд. науч. конф. "Биоразнообразие: проблемы и перспективы сохранения". Пенза, 2008.
4. Филоненко А.В., Бобров А.В. Анатомия и морфология анемохорных диаспор представителей семейства *Malpighiaceae* // Матер. Межд. науч. конф. "Современные проблемы морфологии и репродуктивной биологии семенных растений". Ульяновск, 2008.
5. Филоненко А.В., Меликян А.П. Морфология плодов и анатомия перикарпия *Jasminum azoricum* L. (*Oleaceae*) // Материалы Международной научной конференции "Актуальные проблемы ботаники и экологии". Каменец-Подольский, 2008.
6. Филоненко А.В., Меликян А.П., Пескова И.М. К вопросу об изменчивости анатомической структуры плодов (на примере *Hiptage benghalensis* (L.) Kurz., *Malpighiaceae*) // Матер. IV Межд. науч. конф. "Биологическое разнообразие. Интродукция растений". СПб., 2007.
7. Bentham G. *Oleaceae* // *Genera plantarum* 2 / Eds. G. Bentham, J.D. Hooker. London, 1876.
8. Green P.S. *Oleaceae* // *The families and genera of vascular plants* / Eds. K. Kubitzki. Vol. VII. Heidelberg, 2004.
9. Filonenko A.V., Bobrov A.V., F. Ch., Romanov M. S. Comparative carpology in the genus *Tetrapteryx* (*Malpighiaceae*) // Proc. IV Intern. Conf. "Plants in Monsoon Climate". Vladivostok. 2007.
10. Johnson L.A.S. A review of the family *Oleaceae* // Contr. New South Wales Natl. Herb. 1957. Vol. 2.
11. Knoblauch E. *Oleaceae* // *Die natürlichen Pflanzenfamilien* / Eds. A. Engler, K. Prantl. Leipzig, 1895. IV, 2. P.
12. O'Brien T.P., McCully M.E. The study of plant structure: principles and selected methods. Melbourne, 1981.
13. Rohwer J.G. Die frucht- und samenstrukturen der *Oleaceae*. Stuttgart, 1996.
14. Taylor H. Cyto-taxonomy and phylogeny of the *Oleaceae* // *Brittonia*. 1945. № 5.
15. Wallander E., Albert V.A. phylogeny and classification of *Oleaceae* based on rps16 and trnL-F sequence data // *Am. J. Bot.* 2000. Vol. 87. № 12.

УДК 582. 931

Филоненко А.В.

Московский педагогический государственный университет

СТРУКТУРА И РАЗВИТИЕ ТРИХОМ НА ПЛОДАХ ПРЕДСТАВИТЕЛЕЙ РОДА *FRAXINUS* (*OLEACEAE*)

A. Filonenko

Moscow State Pedagogical University

STRUCTURE AND DEVELOPMENT OF TRICHOMES ON FRUITS OF GENUS *FRAXINUS* (*OLEACEAE*)

Аннотация. В рамках карпологического исследования представителей семейства *Oleaceae* нами впервые детально изучено развитие пельтатных трихом у ряда видов рода *Fraxinus*. Выявлены скопления инициальных клеток в основании гинецея еще на стадии несформированного цветка. Прослежены последовательные периклинальные и антиклинальные деления инициальных клеток и их производных, приводящие к формированию пельтатных трихом. На основании полученных данных подтверждено представление о *Fraxinus*, как о весьма сильно специализированном и изолированном таксоне в рамках семейства *Oleaceae*.

Ключевые слова: перикарпий, морфогенез плодов, пельтатные трихомы, *Fraxinus*, *Oleaceae*.

Abstract. Within our carpological study of the family *Oleaceae* for the first time we have conducted a detailed study of the development of trichomes for genus *Fraxinus*. We have found the clusters of initial cells in the basement of gynoecium even for undeveloped flowers. We have traced consecutive periclinal and anticlinal divisions of initial cells leading to formation of trichomes. Basing on the results obtained we have confirmed genus *Fraxinus* to be a highly specialized and isolated genus within *Oleaceae* family.

Key words: pericarp, fruit morphogenesis, trichomes, *Fraxinus*, *Oleaceae*.

Род *Fraxinus* по праву можно считать наиболее всесторонне изученным в семействе *Oleaceae*, что вполне объяснимо, учитывая широкое распространение видов данного рода в умеренных, субтропических и тропических областях Северного полушария (только *F. griffithii* G. B. Clarke выходит за пределы Северного полушария, достигая о. Ява). Кроме того, интенсивному изучению рода способствовала практическая значимость большинства видов *Fraxinus*, которые широко культивируются в качестве источника древесины (преимущественно для изготовления музыкальных инструментов) и как декоративные растения [8, 296-306; 14, 25-49]. Название рода *Fraxinus* происходит от греческого слова “*phrasso*” – частокол, острая палка, отражая, с одной стороны, тот факт, что из древесины *F. angustifolia* Vahl. часто изготавливали копья, а с другой – габитуальное сходство плодов *Fraxinus* и наконечников копий.

Однако, несмотря на достаточную изученность *Fraxinus*, вопрос о числе видов принимаемых в рамках данного рода остается открытым. Так, A. Lingelsheim в своей обработке рода приводит 59 видов [11, 185-223], Е. В. Николаев указывает 65 видов [3, 419-431], а Е. Wallander принимает в составе *Fraxinus* 43 вида [14, 25-49]. Кроме того, ряд видов неоднократно предлагалось рассматривать в составе самостоятельных родов; так, например, *F. laciniata* Raf. и *F. macrophylla* Raf. – в составе рода *Aplilia* Raf., а виды, относимые к sect. *Ornus* – в качестве самостоятельного рода *Ornus* Boehm. Вне зависимости от числа видов, принимаемых в рамках

рода *Fraxinus*, система внутриродовых таксонов за минувшее столетие принципиальных изменений не претерпевала. Первая наиболее проработанная система была предложена A. Lingelsheim, согласно которой род *Fraxinus* объединяет две секции и пять подсекций: sect. *Ornus* включает более примитивные виды с хорошо развитым околоцветником (subsect. *Ornus*, subsect. *Ornaster*), а sect. *Fraxinaster* объединяет эволюционно более подвинутые виды с редуцированным в различной мере околоцветником (subsect. *Dipetalae*, subsect. *Sciadhanthus*, subsect. *Bumelioides*) [4, 82-84; 12, 1-125]. В более дробной системе, предложенной E. Wallander, также основанной на таких признаках цветка, как наличие или отсутствие чашечки и венчика, род *Fraxinus* подразделяется на семь секций: sect. *Ornus* – виды Старого Света с хорошо выраженной чашечкой, sect. *Dipetalae* – виды, распространенные в Новом Свете и имеющие только одну пару лепестков (*F. anomala* Torr. ex S. Wats., *F. dipetala* Hook. et Arn., *F. quadrangulata* Michx.), sect. *Pauciflorae*, включающая виды Нового Света, полностью лишенные лепестков (*F. dubia* (Willd. ex Schult et Schult f.) P. S. Green et M. Nee, *F. gooddingii* Little, *F. greggii* A. Gray, *F. purpusii* Brandege, *F. rufescens* Lingelsh.), sect. *Sciadhanthus*, объединяющая виды, лишенные лепестков, из Старого Света (*F. hubeiensis* S. Z. Qu, C. B. Shang et P. L. Su, *F. xanthoxyloides* (G. Don) DC.), sect. *Fraxinus*, объединяющая двудомные виды Старого и Нового Света, sect. *Melioides* – виды Нового Света с хорошо развитой чашечкой [14, 25-49].

По совокупности признаков, таких, как древесная жизненная форма, частичная или полная редукция околоцветника, односемянные сухие крылатые плоды, *Fraxinus* можно рассматривать как весьма специализированный и эволюционно подвинутый род в семействе *Oleaceae*. Наличие такого примитивного признака, как непарно перистосложные листья (характерного также для представителей родов *Jasminum*, *Syringa* и *Schrebera*), Н. Н. Цвелев объясняет мозаичной эволюцией, с чем вполне можно согласиться [6, 138-150].

У представителей рода *Fraxinus* плоды, как

уже было отмечено выше, весьма своеобразны и достаточно сильно специализированы в рамках семейства *Oleaceae* [4, 82-84]. Плоды *Fraxinus* развиваются из верхнего димерного синкарпного гинецея. В каждом гнезде завязи закладывается по два семязачатка; развитие получает обычно один семязачаток. При созревании плодов формируется терминальное симметричное крыло, часто низбегающее по дорзальным сторонам завязи. На поперечном срезе плоды большинства видов эллиптические или округлые. Экзокарпий у всех исследованных видов *Fraxinus* представлен однослойной эпидермой, сложенной обычно из незначительно уплощенных, как правило, тонкостенных клеток. Кроме того, на поверхности плодов довольно часто встречаются многоклеточные пельтатные трихомы. Мезокарпий у представителей рода *Fraxinus* дифференцирован на две топографические зоны. Внешняя зона мезокарпия образована паренхимными клетками, часто уплощенными в радиальном направлении. Внутренняя зона мезокарпия представлена крупными склереидами, расположенными упорядоченными рядами. Клетки внутренней зоны мезокарпия – изодиаметрические или незначительно вытянутые в радиальном направлении, как правило, с утолщенными одревесневшими стенками. Число слоев клеток внутренней зоны мезокарпия в большинстве случаев константно для каждого вида (наименее константен данный признак у представителей sect. *Dipetalae* и sect. *Pauciflorae*). Эндокарпий представлен одним (часто прерывистым) слоем тонкостенных кубических клеток [4, 82-84].

Кроме рода *Fraxinus*, сухие крылатые плоды в пределах данного семейства отмечены у представителей родов *Abeliophyllum* и *Fontanisia*, однако по морфо-анатомическим признакам плоды данных родов весьма сильно отличаются от таковых у *Fraxinus* [5, 298-300]. Так, плоды весьма примитивного монотипного рода *Abeliophyllum*, распространенного в Корее, заключают обычно два семени, и имеют слабо выраженное крыло, обладающее весьма сомнительными аэродинамичес-

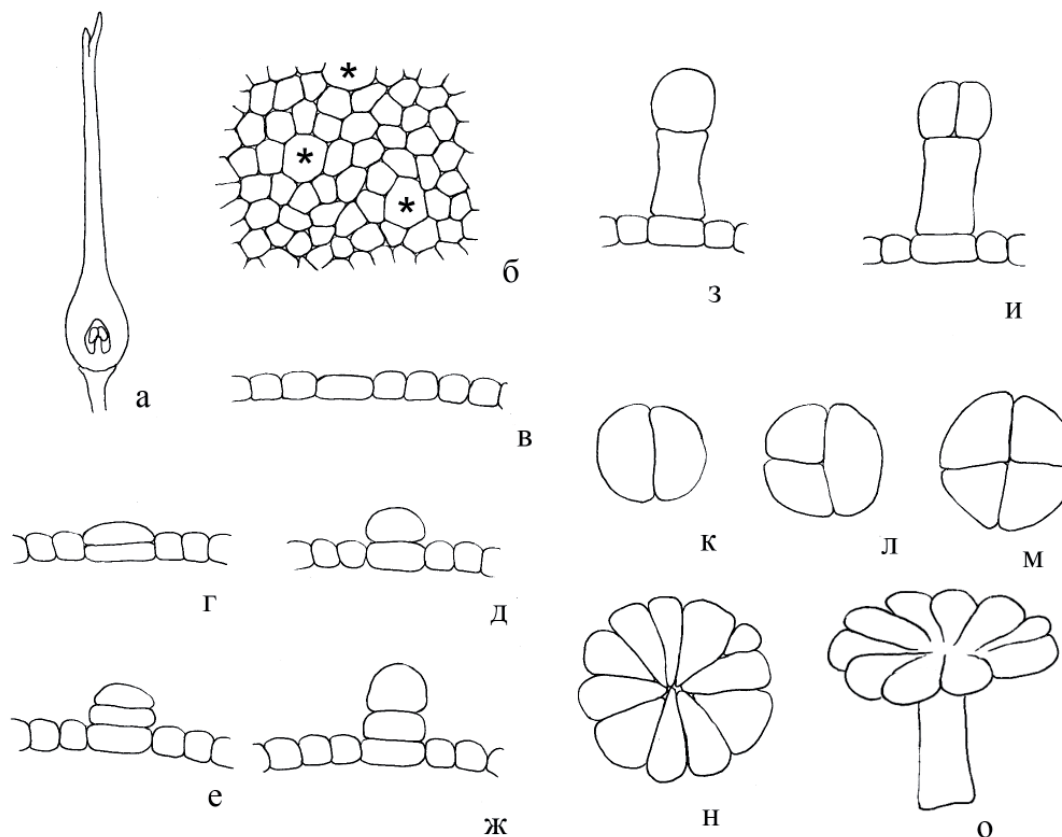


Рис. 1. Структура трихом на *Fraxinus*: а – продольный разрез гинцея; б – эпидерма базальной части гинцея (звездочкой отмечены инициальные клетки трихом); в-и – последовательные стадии развития трихом (вид сбоку); к-н – последовательные стадии развития трихом (вид сверху); о – сформированная трихома.

кими качествами; кроме того, в структуре перикарпия не обнаруживается регулярности расположения слоев склеренхимы, как у *Fraxinus*. Плоды средиземноморского рода *Fontanesia*, включающего всего два вида, также несут обычно по два семени и имеют еще менее выраженное крыло; структура перикарпия *Fontanesia* также, как и у *Abeliophyllum*, весьма хаотична [5, 298-300]. В соответствии с принятой нами классификацией [1] плоды *Fraxinus* мы рассматриваем как верхние синкарпные сухие крылатые односемянные пиренарии.

Представители семейства *Oleaceae* характеризуются различными типами трихом на поверхности вегетативных и репродуктивных органов, однако многоклеточные пельтатные трихомы характерны только для пред-

ставителей рода *Fraxinus*. У некоторых видов *Olea* и *Chionanthus* на плодах выявляются единичные трихомы, сходные с таковыми у *Fraxinus* [2, 134-134], однако, в подавляющем большинстве случаев они нерегулярную структуру и, вероятно, представляют собой аномально развитые простые или железистые волоски.

Наиболее многочисленные и характерные трихомы у *Fraxinus* обнаруживаются на поверхности гинцея и развивающихся плодов; на зрелых плодах такие трихомы практически не выявляются. На наличие данных структур у представителей рода *Fraxinus* обращали внимание многие исследователи [7, 161-172; 8, 296-306; 11, 185-223; 12, 1-125; 13; 14, 25-49], однако детальному изучению трихомы ранее не подвергались. Нами изучены в

развитии плоды *F. angustifolia* Vahl, *F. excelsior* L. и *F. pennsylvanica* Marshall. и прослежены основные этапы формирования многоклеточных трихом. Материал для исследования был собран в дендрарии ГБС РАН. Фиксация материала и последующее анатомическое изучение выполнялись по стандартным анатомическим методикам.

У всех изученных видов *Fraxinus* онтогенез трихом проходит сходным образом. Впервые клетки, дающие начало многоклеточным трихомам, обнаруживаются на поверхности гинецея еще не сформированного цветка. Как правило, инициальные клетки трихом закладываются группами в базальной части гинецея, однако нередко обнаруживаются единичные инициальные клетки на уровне столбика. Инициальные клетки несколько крупнее соседних клеток эпидермы гинецея и обычно несколько заглублены по отношению к соседним клеткам (рис. 1 а, б, в). Еще до окончания формирования цветка инициальные клетки претерпевают периклиналиное деление, в результате которого на поверхности эпидермы карпелл появляются одноклеточные сферические трихомы (рис. 1 г, д), которые впоследствии также подвергаются периклиналильному делению (рис. 1 е, ж). Результатом данного деления является формирование клетки-ножки, которая в ряде случаев со временем удлиняется, и клетки-головки, которая со временем претерпевает многочисленные деления (рис. 1 з). У незначительной части трихом к моменту цветения (начало-середина мая) клетка-головка подвергается нескольким последовательным антиклиналильным делениям (рис. 1 и, к, л, м), которые продолжаются во время цветения и после начала формирования плода. У большинства же трихом антиклиналильные деления клетки-головки начинаются во время цветения или вскоре после него и продолжают до конца мая – начала июня (когда плоды достигают примерно 1 см в длину). Результатом последовательных антиклиналильных делений клетки-головки является формирование компактного щитка (часто с вогнутым центром), насчитывающего до 26 радиально

ориентированных клеток (рис. 1 н, о). В дальнейшем появление новых трихом и развитие старых останавливается. По мере созревания плодов трихомы разрушаются, в первую очередь из-за механического воздействия плодов друг на друга. На зрелых плодах выявляются единичные трихомы, сохраняющиеся, как правило, под защитой чашечки.

У других представителей семейства *Oleaceae* (*Chionanthus*, *Jasminum*, *Olea*) многоклеточные пельтатные трихомы развиваются аналогичным образом, однако структура их менее регулярна, и нередко клетка-ножка претерпевает несколько дополнительных периклиналильных делений перед началом формирования щитка [9, 164-177; 10, 157-164]. Кроме того, у *Jasminum* пельтатные трихомы, как правило, являются железистыми; J.A. Inamdar рассматривает пельтатные трихомы *Jasminum* как производные булавовидных железистых трихом, характерных для многих представителей семейства *Oleaceae* [9, 164-177]. Трихомы *Fraxinus*, вероятно, выполняют защитную функцию на ранних этапах развития плода, однако, рассматривать их как секреторные структуры у нас нет оснований.

Наличие пельтатных трихом на плодах у представителей рода *Fraxinus* является признаком ранга рода и свидетельствует в пользу той точки зрения, что данный род представляет собой весьма обособленный и специализированный таксон. Это также подтверждается наличием у *Fraxinus* таких подвинутых признаков, как древесная жизненная форма, частичная или полная редукция околоцветника и односемянные сухие крылатые плоды, на что указывалось ранее [8, 296-306; 6, 138-150].

ЛИТЕРАТУРА:

1. Бобров А.В., Меликян А.П., Романов М.С. Морфогенез плодов Magnoliophyta. М., 2009.
2. Меликян А.П., Филоненко А.В. Морфология и анатомия плодов представителей рода *Olea* L. (*Oleaceae*) // Мат. междунар. конф. "Актуальные проблемы ботаники в Армении". Ереван, 2008.
3. Николаев Е.В. Морфогенез и эволюция рода *Fraxinus* (*Oleaceae*) // Бот. журн. 1982. Т. 67, № 4.

4. Филоненко А.В. Морфология и анатомия плодов представителей рода *Fraxinus* L. (Oleaceae) // Мат. междунар. конф. "Биоразнообразие: проблемы и перспективы сохранения". Пенза, 2008.
5. Филоненко А.В., Бобров А.В. Морфология и анатомия крылатых плодов представителей семейства Oleaceae // Мат. междунар. конф. "Растения в муссонном климате". Владивосток, 2009.
6. Цвелев Н.Н. К систематике семейства Oleaceae в Восточной Европе // Нов. сист. высш. раст. 2002. Т. 34.
7. Copeland H.F. The reproductive structures of *Fraxinus velutina* (Oleaceae) // Madrono. 1960. Vol. 15.
8. Green P.S. Oleaceae // The families and genera of vascular plants / Ed. Kubitzki K. Vol. VII. Heidelberg, 2004.
9. Inamdar J. A. Studies on the trichomes of some Oleaceae, structure and ontogeny // Proc. Ind. Acad. Sci. 1967. Vol. 66. P. 164–177.
10. Inamdar J.A. Ontogeny of stomata in some Oleaceae // Proc. Ind. Acad. Sci. 1968. Vol. 67.
11. Lingelsheim A. Vorarbeiten zu einer monographie der gattung *Fraxinus* // Bot. Jahrb. Syst. 1907. Vol. 40.
12. Lingelsheim A. Oleaceae-Oleoideae-Fraxineae // Das pflanzenreich / Ed. Engler A. Vol. IV. Leipzig, 1920.
13. Rohwer J.G. Die frucht- und samenstrukturen der Oleaceae. Stuttgart, 1996.
14. Wallander E. Systematics of *Fraxinus* (Oleaceae) and evolution of dioecy // Plant Syst. Evol. 2008. Vol. 273.

РАЗДЕЛ II ГЕОГРАФИЯ

УДК 502.51(470.332)

Зверькова Ю.С.

*Военная академия войсковой противовоздушной обороны ВС РФ
им. Маршала Советского Союза А.М. Василевского (г. Смоленск)*

СОВРЕМЕННОЕ СОСТОЯНИЕ РЕКИ ДНЕПР НА ТЕРРИТОРИИ СМОЛЕНСКОЙ ОБЛАСТИ В УСЛОВИЯХ АНТРОПОГЕННОГО ВОЗДЕЙСТВИЯ

Yu. Zver'kova

*The Military Academy of Air Defense AM RF named after Marshall
of the Soviet Union A.M. Vassilevsky (Smolensk)*

THE CONTEMPORARY STATE OF THE RIVER DNIEPER ON THE TERRITORY OF THE SMOLENSK REGION UNDER THE CONDITION OF ANTHROPOGENIC INFLUENCE

Аннотация. В данной статье приводятся результаты гидрохимических и гидробиологических исследований воды, донных отложений и макрозообентоса на разных участках р. Днепр на территории Смоленской области. Установлено, что химический состав воды и донных отложений р. Днепр отражает всю сложность геоморфолого-гидрологических условий ее бассейна и результата воздействия хозяйственной деятельности, роль которой достаточно велика, что привело к возникновению зон чрезвычайной экологической ситуации и экологического бедствия на отдельных участках реки.

Ключевые слова: экологическое состояние, антропогенное воздействие, вода, донные отложения, макрозообентос, тяжелые металлы.

Abstract. The article gives information about the results of hydro chemical and hydro biological analyses of water, bottom-dwelling sediments and macrozoobenthos in different parts of the river Dnieper on the territory of the Smolensk region. It is stated that the chemical composition of the Dnieper's water and bottom-dwelling sediments reveals all the complexity of the geomorphological-hydrological state of its basin and the result of the economic activity influence, which is great enough and has caused the formation of zones of extreme ecological state and ecological disaster in some of the river stretches.

Key words: ecological state, anthropogenic influence, water, bottom-dwelling sediments, macrozoobenthos, heavy metals.

Анализ качества поверхностных вод на территории России показывает, что они загрязнены различными химическими веществами, поступающими со сточными водами промышленных предприятий, сельского и коммунального хозяйства, а также с поверхностным стоком с водосборов и с городской дорожной сети [1; 8; 12]. Загрязнение водных экосистем может приводить к снижению их самоочищающей способности, понижению уровня разнообразия сообществ водных организмов и упрощению их структуры с преобладанием видов с широким экологическим спектром. Таким образом, на сегодняшний день в России существует угроза сохранению биоресурсов и биоразнообразия под воздействием антропогенных факторов, важнейшим из которых является загрязнение. Большинство водных объектов в настоящее

время в той или иной степени трансформированы, что обусловлено в значительной степени их эвтрофированием и загрязнением [11].

Одна из крупнейших европейских рек – Днепр, является трансграничным водным объектом, находящимся в совместном международном пользовании Российской Федерацией, Республикой Беларусь и Украиной, что накладывает особую ответственность за загрязнение ее вод [7; 13, 25-33]. Значимость реки не ограничивается тремя прибрежными странами, поскольку она впадает в ограниченный международный водоем Черное море и влияет на экологическую обстановку в Болгарии, Грузии, Румынии, Турции [12].

Длина р. Днепр от истока до устья составляет около 2,145 тыс. км. Бассейн простирается с севера на юг почти на 1000 км, с запада на восток – на 600 км. Российская часть р. Днепр находится на территории Смоленской области, составляет 1/5 часть из 509 тыс. км² общей площади бассейна Днепра и имеет протяженность от истока до границы с Республикой Беларусь 503 км. Площадь водосбора основного русла р. Днепр в Смоленской области – 16,8 тыс. км² (16,5 % территории бассейна Верхнего Днепра).

Воды Верхнего Днепра характеризуются как гидрокарбонатно-кальциевые с повышенным природным содержанием железа, марганца, меди.

Антропогенная нагрузка на водную экосистему р. Днепр в пределах Смоленской области формируется под воздействием предприятий машиностроения (г. Смоленск, г. Вязьма, г. Ярцево, п. Верхнеднепровский), химической промышленности (г. Сафоново, п. Верхнеднепровский), легкой и пищевой промышленности, топливно-энергетической (г. Дорогобуж, г. Сафоново, г. Смоленск), а также объектов ЖКХ.

В условиях кризиса в административных районах бассейна Верхнего Днепра прогрессирует экологическая деградация хозяйственной структуры. В промышленном комплексе исследуемого района заметно увеличилась роль энергоемких и материалоемких отраслей (топливной промышленности,

электроэнергетики) и уменьшилась доля легкой промышленности, машиностроения [4, 18]. Однако за последние 10 лет спад производства во всех отраслях хозяйства бассейна Верхнего Днепра, так же как и в России в целом, не привел к заметному улучшению качества окружающей среды [3].

Цель работы – комплексная оценка экологического состояния р. Днепр на территории Смоленской области в условиях антропогенного воздействия.

Гидрохимические и гидробиологические исследования воды, донных отложений (ДО) и макрозообентоса проводились в период с 2005 по 2008 гг. на 12 станциях (ст. 1-12) р. Днепр, испытывающих различную антропогенную нагрузку на участке от с. Болшево (ст. 1) до границы с Республикой Беларусь (ст. 12), включая станции: ниже впадения р. Вязьма (ст. 2), п. Верхнеднепровский (ст. 3, 4), г. Дорогобуж (ст. 5, 6), с. Соловьево (ст. 7), база отдыха Соколя гора (ст. 8), очистные сооружения г. Смоленска (ст. 9, 10) и п. Гнездово (ст. 11).

Пробы воды отбирали в летний период согласно ГОСТ 17.1.3.07-82 в прибрежной зоне на глубине 0,5 – 1 м в стеклянные емкости объемом 1 л (трехкратная повторность). Донные отложения верхнего 5-см слоя отбирали согласно ГОСТ 17.1.5.01-80 (трехкратная повторность). Отобранные пробы обрабатывали по общепринятым методикам [10]. Отбор образцов макрозообентоса осуществляли на этих же станциях р. Днепр на мелководных участках гидробиологическим скребком с длиной ножа 20 см и с помощью рамки Герда площадью 0,25 м². Промывку образцов грунта производили через капроновый газ № 23. Всего было отобрано 720 количественных и 80 качественных проб.

Нами установлено, что по основному ионообразующему составу, водородному показателю среды pH, жесткости и содержанию растворенного кислорода воды р. Днепр на территории Смоленской области соответствуют рыбохозяйственным нормативам. Биохимическое потребление кислорода БПК₅ превышает предельно допустимое значение (ПДК) на всех станциях, достигая мак-

симальных значений (от 2,5 до 8 ПДК) ниже очистных сооружений г. Смоленска (ст.10), что свидетельствует о значительной загрязненности вод р. Днепр легко окисляемыми органическими веществами.

Гидрохимические исследования позволили нам выявить устойчивое, обусловленное как геохимическими особенностями, так и техногенным воздействием, загрязнение вод тяжелыми металлами (ТМ): Fe, Mn, Cu, Zn, Pb, Cd, Ni и Co. Содержание Cu, Zn, Fe и Mn превышает ПДК на всем протяжении водотока. Максимальные концентрации Cu (до 60 ПДК) отмечены на ст. 4 ниже сброса сточных вод Законом азотных удобрений, а также на ст. 6 ниже г. Дорогобуж (до 18 ПДК) и на ст. 10 ниже очистных сооружений г. Смоленска (до 2,4 ПДК). Содержание в воде Zn достигает максимальных значений (до 87 ПДК) в районе Дорогобужского промузла (ст. 5, 6). Нами зафиксировано техногенное поступление в воды р. Днепр Pb, содержание которого в разные годы со 100 % повторяемостью превышает ПДК в районе Дорогобужского промузла, очистных сооружений г. Смоленска и п. Гнездово. Содержание в воде Cd и Ni не превышает рыбохозяйственных нормативов, однако устойчиво превышает фоновые показатели на антропогенно нагруженных участках.

Анализ ДО на содержание ТМ показал, что наибольшие концентрации Zn, Pb, Cd, Cu, Ni и Co характерны для станций 1, 3, 5, 6, 8, 9, 10, 12 с высокой концентрацией Fe, оксидные формы которого, с примесью оксидов и гидроксидов Mn, способны активно накапливать другие ТМ. Максимальные концентрации всех ТМ зафиксированы на ст. 10 (ниже очистных сооружений г. Смоленска), что объясняется сосредоточенным сбросом в р. Днепр сточных вод, среди которых отсутствует категория «нормативно чистых», а также илистым характером дна с достаточно высоким содержанием оксидных форм Fe и Mn.

Для адекватного сравнения уровня загрязненности ТМ различных участков водотока мы провели нормирование содержания ТМ в

ДО по железу, нивелирующее разницу между сорбцией их различными фракциями ДО [9]. Сравнение нормированных по железу значений ТМ с величинами отношений кларков металлов для глин показало загрязнение ДО с превышением критерия по Zn, Pb, Mn и Cd по всему водотоку; по Cu – на ст. 6, 9, 10, 12; по Ni – на ст. 2, 4, 6, 10 (в отдельные годы); по Co – на ст. 2, 4, 6 (в отдельные годы). Наибольшую нагрузку ТМ испытывают участки ниже п. Верхнеднепровский (ст. 4), ниже г. Дорогобуж (ст. 6) и в районе очистных сооружений г. Смоленска (ст. 9, 10), что хорошо согласуется с антропогенным воздействием на эти участки.

В составе макрозообентоса за период исследований установлено 97 видов и таксономических групп гидробионтов. Ведущей по видовому составу группой организмов являются хирономиды – 34 вида, представлены моллюски – 21, олигохеты – 11, личинки стрекоз – 7, ракообразные – 5, по 4 вида клопов и личинок ручейников, по 3 вида пиявок и личинок поденок, единичными были личинки жуков, вислоккрылок и прочих двукрылых.

Частоту встречаемости более 50 % имеют следующие таксоны: олигохеты *Limnodrilus* sp., *L. hoffmeisteri* Claparede, 1862, *L. udekemianus* Claparede, 1862, *Tubifex tubifex* (O.F. Møller, 1773), *Potamothenis hammoniensis* (Michaelsen, 1901), личинки хирономид *Procladius ferrugineus* Kieffer, 1919, *Cricotopus* gr. *syvestris*, *Chironomus plumosus* (Linnaeus, 1758), *Dicortendipes nervosus* (Staeger, 1839), *Microchironomus tener* (Kieffer, 1918), *Polypedilum nubeculosum* (Meigen, 1804), моллюски *Viviparus viviparus* (Linnaeus, 1758), *Tumidiana muelleri* (Rossmassler, 1836), *Pseudanodonta nordenskioldi* Bourguignat, 1881, *Pisidium amnicum* (O.F. Møller, 1774), *Sphaeriastrum rivicola* (Lamarck, 1818), *Rivicoliana morini* (Servain, 1882).

Численность донных организмов в среднем за период исследований составила 438 экз./м² при общей биомассе 410,67 г/м². По количеству организмов в бентосе преобладали моллюски (34,1 %-53,9 %) и олигохеты (12,4 %-33,2 %), а из всех видов насекомых

Таблица 1

Значения индекса ИИЭС для исследуемых участков р. Днепр на территории Смоленской области

Номер станции	Значение индекса ИИЭС	Зона экологического состояния
1	3,16	Относительного экологического благополучия
2	2,81	Напряженной экологической ситуации
3	2,83	Напряженной экологической ситуации
4	2,74	Напряженной экологической ситуации
5	2,93	Напряженной экологической ситуации
6	2,72	Напряженной экологической ситуации
7	3,05	Относительного экологического благополучия
8	2,76	Напряженной экологической ситуации
9	2,15	Экологического кризиса
10	1,63	Экологического бедствия
11	2,41	Напряженной экологической ситуации
12	2,54	Напряженной экологической ситуации

доминировали хирономиды (13,8 %-36,0 %). Основу биомассы составляли моллюски (до 99,8 %), без крупных моллюсков в формировании биомассы бентоса значительна роль олигохет (до 26,2 %) и личинок хирономид (до 47,4 %). В условиях загрязнения реки сточными водами промышленных предприятий г. Смоленска численность и биомасса организмов макрозообентоса снижаются в 3 раза в сравнении с участком верхнего течения реки. Влияние загрязнения наиболее ощутимо сказывается на ст. 10 ниже очистных сооружений г. Смоленска, которая характеризуется полным отсутствием организмов, что является признаком повышенного токсического загрязнения реки стоками промышленных предприятий города.

Значения индекса видового разнообразия Шеннона колебались в интервале 1,55-3,16. Относительно высокое значение индекса Шеннона (3,16) характерно для участка верхнего течения реки, антропогенное воздействие на который минимальное (поверхностный сток с водосборной территории). Наиболее низкие показатели были определены в районах Дорогобужского промузла (1,75) и г. Смоленска (1,55), что свидетельствует о процессах деградации биоценозов под влиянием токсического загрязнения.

Для оценки экологического состояния водной экосистемы р. Днепр на территории Смоленской области нами рассчитан интегральный индекс экологического состояния ИИЭС [5, 233-243; 6]:

$$ИИЭС = \frac{\sum_{k=1}^K (a_{ijk} B_k + a_{ijk} H_k)}{\sum_{k=1}^K a_{ijk}},$$

где $k = 1 \div K$ – число гидробиологических и гидрохимических показателей; B_i и H_i – балльные классы гидробиологических и гидрохимических показателей, соответственно; a_{ij} – эмпирический весовой коэффициент.

Значения ИИЭС для каждого участка (станции) водотока приведены в табл. 1.

Согласно полученным данным, к зоне относительного экологического благополучия можно отнести участки реки в районах с. Болшево (ст. 1) и с. Соловьево (ст. 7), не подверженные промышленным стокам. Зона экологического кризиса занимает район реки выше очистных сооружений г. Смоленска (ст. 9), где регистрируются максимальные отклонения значений химических и биологических показателей от таковых в других зонах. Участок

реки ниже очистных сооружений г. Смоленска (ст. 10) охватывает зона экологического бедствия, которая характеризуется высокой степенью концентрации ТМ и отсутствием донных организмов. На основном протяжении водотока (ст. 2-6, ст. 8, ст. 11-12) имеет место зона напряженной экологической ситуации.

Таким образом, экологическое состояние водной экосистемы р. Днепр на территории Смоленской области нельзя считать благополучным. Основной причиной является, на наш взгляд, загрязненность вод и донных отложений тяжелыми металлами как природного, связанного с геохимическими особенностями региона, так и техногенного происхождения. Низкая численность бентосных организмов, прежде всего, двусторчатых моллюсков-фильтраторов, а также олигохет, являющихся мощным фактором самоочищения дна водоемов от загрязнений, ограничивает способность экосистемы к самоочищению. При сохранении существующей антропогенной нагрузки на водную экосистему р. Днепр можно прогнозировать ее дальнейшую деградацию.

ЛИТЕРАТУРА:

1. Биоиндикация экологического состояния равнинных рек / под ред. О.В. Бухарина, Г.С. Розенберга. М. : Наука, 2007. 403 с.
2. Выхристюк Л.А., Зинченко Т.Д., Шитиков В.К. Комплексная оценка экологического состояния равнинных рек в условиях антропогенных воздействий // Научные аспекты экологических проблем России. СПб. : Гидрометеиздат, 2001. С. 70.
3. Государственные доклады о состоянии окружающей среды Российской Федерации. Ежегодное издание. М., 2000-2009. 540 с.
4. Государственный доклад о состоянии и об охране окружающей среды Смоленской области в 2002 году. Смоленск : Главное управление природных ресурсов и охраны окружающей среды МПР России по Смоленской области, 2003.
5. Зинченко Т.Д., Выхристюк Л.А., Шитиков В.К. Методологический подход к оценке экологического состояния речных экосистем по гидрохимическим и гидробиологическим показателям // Изв. СамНЦ РАН, 2000. Т. 2, № 2.
6. Карандашова А.А. Интегральная оценка экологического состояния малых рек крупного промышленного центра по структурно-функциональным показателям макрозообентоса (на примере Нижнего Новгорода): дис. ... канд. биол. Наук. Н. Новгород, 2002. 145 с.
7. Лосев К.С., Апапичева М.Д. Экологические проблемы России и сопредельных территорий. М. : Издательский дом «Ноосфера», 2000. 288 с.
8. Моисеенко Т.И., Яковлев В.А. Антропогенные преобразования водных экосистем Кольского Севера. Л. : Наука, 1990. 220 с.
9. Папина Т.С. Эколого-аналитическое исследование распределения тяжелых металлов в водных экосистемах р. Обь: дис. ... д-ра хим. наук. Барнаул, 2004. 270 с.
10. Руководство по химическому анализу поверхностных вод суши / под. ред. А.Д. Семенова. Л. : Гидрометеиздат, 1977. 532 с.
11. Экологическое состояние бассейна реки Чапаевки в условиях антропогенного воздействия (Биологическая индикация) / под ред. Т.Д. Зинченко, Г.С. Розенберга. Тольятти : ИЭВБ РАН, 1997. 337 с.
12. Экология бассейна Верхнего Днепра / Н.Н. Бамбалов [и др.]. Смоленск : МПР России по Смоленской области, 2003. 177 с.
13. Chernogaeva G. Ecological state of the Upper Dnieper and its basin and prospects for the near future / Environmental Health Risk II; WITpres, 2003.

УДК 630*43(470.311)

Лукьянова Т.С., Матвеев Н.П., Ганина Т.Д., Сушкова И.В.
Московский государственный областной университет

СОВРЕМЕННЫЕ ПРОБЛЕМЫ ПОЖАРООПАСНЫХ ТЕРРИТОРИЙ ЗАПАДНОЙ МЕЩЕРЫ

T. Lukyanova, N. Matveyev, T. Ganina, I. Sushkova
Moscow State Regional University

CURRENT ISSUES OF FIRE RISK TERRITORIES OF WEST MESCHERA

Аннотация. Мещера – зандровая песчаная равнина. На ее территории, благодаря леднику, скопились водные ресурсы. Именно ледник, стоявший на севере низменности, был поставщиком накопления воды. Сегодня источником пополнения воды в низменности являются только дождевые и снеговые осадки. Грунтовые воды первого уровня (верховодка), благодаря мелиорации XX в., ушли в мелиоративные каналы. Сегодня горит пересушенный торф. Его толщина в отдельных местах, переработанных торфопредприятиями, может достигать 6-8 метров. Необходимо найти другие методы предохранения торфа от горения, вместо воды Мещеры. Это могут быть, например, суглинки.

Ключевые слова: увлажненные территории; Мещера; торфяники; грунтовые воды; пирогенно-песчаные; пирогенно-торфяные почвы.

Abstract. Meschera is an outwash sandy plain. Due to the glaciers in the north of the region Meschera has accumulated waters. Today the only source of water on the territory is precipitation. The first level of subsoil waters, because of the 20th century meliorating processes, had gone to the irrigational canals or dried up. Today dry peat is burning. Its thickness is nearly forming from 6 to 8 meters. We must find some other methods, besides the Meschera waters, to put out fires. This could be loamy soils, for example.

Key words: wet territories; peat; subsoil waters; pyrogenic and sandy soils; pyrogenic and peat soils.

Мещера – это территория аллювиально - зандровой низменности (высота до 130 м), со смешанными лесами (на песках – сосновые боры, по долинам рек – луга). Запасы воды в Мещере находятся и в малых реках, и в озерах, и в болотах, и в увлажненных территориях. Низина в пределах Шатурского района расположена всего в сотне километров от гигантского мегаполиса Москвы с населением намного более 10 млн. жителей, нуждающихся в чистой воде и чистом воздухе. Мещера находится в центральной части Восточно-Европейской равнины между реками: Клязьмой на севере, рекой Москвой на юго-западе, рекой Окой на юге и рекой Судогой на востоке. Это область, где самой природой были созданы значительные водные и рекреационные богатейшие ресурсы. В первую очередь – запасы чистой питьевой воды, которую уже не одно десятилетие так ценит местное население. Продукт, без которого человек не может ни жить, ни существовать.

Для того чтобы накопились запасы ценнейших водных ресурсов, проходили целые геологические эпохи. Западная Мещера расположена в пределах прогиба кристаллического фундамента Русской платформы Московской синеклизы. Рельеф Мещеры образовался, в основном, в дочетвертичный период. К мощным отложениям относят юрские глины, пески, илы (мощностью 20-40 м), образовавшиеся в условиях теплого моря. Наиболее длительные континентальные периоды наблюдались в пермско-триасовое время (доюрское) и в палеоген-

неогеновое время. Однако окончательно рельеф низины сформировался в ледниковую и послеледниковую эпохи [1, 25-37]. Четвертичное оледенение захватило северную часть Западной Мещеры. Граница ледника проходила по реке Клязьме. Обводнение приледниковой зоны, в которую непосредственно входила рассматриваемая территория, было так велико, что низины заполнились озерами или превратились в мощные долины стока талых ледниковых вод. В них оседали взвеси, образуя зандровые равнины с песчаными и супесчаными отложениями, наиболее распространенными и в настоящее время на Мещере. Высокая обводненность сохранялась и в периоды ледниковый и межледниковый. Неоднократно проявлялись морские и континентальные режимы. При континентальных стадиях местность размывалась, закладывались речные долины и междуречья. Сегодня мощность ледниковых песчаных отложений достигает местами 10-30 м. Крупные ледниковые озера и долины стока преобразовывались в заболоченные территории с сосновыми борами и сосново-еловыми лесами, которыми так богат рассматриваемый край.

Естественных озер на территории Западной Мещеры (Шатурский район) около 50, площадь самого крупного озера Святого составляет 13 км². Вся речная сеть замыкается на приток Волги – реку Оку. Западная Мещера в пределах Шатурского района ограничена тремя крупными реками. На юго-западе протекает река Цна, а на юго-востоке – река Пра. Протяженность каждой из рек в пределах района не превышает 10-15 км, в связи с чем основными считаются притоки – реки Поля и Ялма. Длина реки Поля – 50 км. Ялма вытекает из Туголесских болот и имеет длину 20 км. Их ширина редко превышает несколько метров. Река Поля имеет глубину от 4 до 7 м., у Ялмы глубины еще меньше. В межень реки теряются в болотах, блуждая среди увлажненных территорий. Питание рек за счет атмосферных осадков, болот и грунтовых вод. Сегодня гидрографическая сеть за счет многочисленных мелиораций сильно изме-

нена человеком.

В районах флювиогляциальных песчаных отложений, в областях водоразделов и склонов долин, возникали в Мещере верховые болота. Низинные же болота располагаются на первой или второй террасах в речных долинах. Причиной тяготения верховых болот к водоразделам, а низинных – к речным долинам является происходящее, все время в одном направлении, обеднение области водоразделов растворимыми минеральными соединениями, с одной стороны, и обогащение речных долин – с другой. Большую роль в обеднении водораздела играет почвообразовательный процесс. Именно он ведет в лесной зоне к оподзоливанию почв водоразделов. Уносимые при оподзоливании элементы, такие, как калий, кальций, фосфор и железо, подхватываются грунтовыми водами и скапливаются в местах их выхода в речных долинах. Основным фактором, определяющим тип болота, является степень распределения минеральных веществ. Играет роль и положение верхового болота на плоской песчаной террасе или склоне водораздела. Велика дренарующая роль песчаных террас, и вследствие этого высока степень разложения торфяников.

Основным фактором, способствующим созданию на верховом болоте «динамических центров», является режим болота, который связан с рельефом подстилающей материнской породы, с водами окружающей среды, с дном торфяного болота. Условия насыщения почвы водой создаются под влиянием косвенных факторов болотообразования – климата, рельефа и состава грунтов, то есть основных элементов, определяющих ландшафт территории. Климат может изменять условия образования торфяных болот. В настоящее время климат уменьшает образование торфяных болот. Связанное с климатом начало отложения торфа и, следовательно, образование болота происходит в случаях избыточной влажности. Может возникать высокий уровень грунтовых вод, вызывавший в послеледниковую эпоху начало отложения торфа. Притеррасные болота, ключевые болота

возникают из-за выходов ключей. Делювиальные воды поверхностного стока, поступающие со склонов, являются дополнительным источником водного питания для болот, расположенных в водораздельных котловинах местности. Нарастание зыбуна (сплавины) из мхов и осок на поверхности озера также может служить образованию болота.

Как указывает в своей работе Сидорова М.В., с годами «максимальные снегозапасы на Восточно-Европейской равнине будут повсеместно снижаться в 2 раза, снижение весеннего половодья возможно в 3-5 раз. При неблагоприятном варианте потепления, здесь весеннее половодье может исчезнуть как фаза водного режима, а холодный период года будет представлять собой последовательность снегодождевых паводков» [7, 25]. При таких условиях общий режим водных ресурсов Мещеры значительно усложнится, а их запасы значительно уменьшатся.

В связи с биохимическим разложением, при недостатке кислорода на заболоченных местностях происходит постоянный прирост торфа за счет отмирающих деревьев, кустарников, мхов.

Болота Мещеры – особый тип наземных водных экосистем. В результате движения воды по болотам ил и связанные с ним биогены оседают, а вода очищается по мере просачивания в грунтовые воды. То есть наиболее важной ролью болот является фильтрация воды перед тем, как она оказывается в озерах, реках, грунтовых водах. Таким образом, увлажненные такими водами местности гораздо выгоднее использовать для местобитания многочисленных птиц и диких животных, применять их как заказники или рекреационные ресурсы, а не превращать их в «бросовые» бедленды, каковыми сегодня являются переработанные торфопредприятия территории Шатурского района.

Рассматриваемый регион еще в 20-е 30-е гг. XX в. стал привлекать энергетиков и торфодобытчиков. Начинаясь добыча торфа с ручной резки. К восьмидесятым годам XX в. 90% объема промышленно добытого торфа производилось и производится по

технологии фрезерного торфа [5, 179-180]. Однако в результате длительного антропогенного вмешательства в экосистемы болот изменился гидрологический и химический режимы, видоизменилась структура растительного покрова, произошла полная смена фитоценозов с образованием вторичного, не восстанавливаемого до первичного, растительного покрова. Растительный покров на указанных территориях чахлый: береза повислая не более 3 м., вейник, иван-чай, осока. Но, что наиболее опасно для всей Мещеры, стали возникать ежегодные пожары именно на выработанных торфяниках. Как указывал еще Герасимов А.Д. [1, 35], «в пограничном слое» сохранились пни, которые не выкорчевывались с тридцатых годов XX столетия. В последующие десятилетия пни накапливали в себе болотное железо и стали плотным, водонепроницаемым слоем для дождевых и снеговых осадков. Под ними возникли «карманы» с накопленным болотным газом и лежащими остатками пересушенного торфа. При этом при мелиорации тридцатых годов XX в. верховодка (первый уровень грунтовых вод) была спущена в прорытые каналы. Как предполагают известные исследователи Косов В.И. и другие в работе «Торф»: «К недостаткам технологии добычи торфа фрезерным способом следует, в первую очередь, отнести изменение гидрологического режима за счет снижения уровня грунтовых вод на прилегающих к торфяному месторождению территориях; крайне низкий коэффициент использования торфозапасов;...загрязнение атмосферного воздуха, что конечным образом изменяет установившееся биологическое, гидрологическое, геологическое, микроклиматическое равновесие на данной территории; резкое возрастание риска пожароопасности, как на полях добычи торфа, так и на местах складирования пней и штабелей торфа; смещение водного и углеродного циклов в сторону снижения и, как следствие, повышение температуры приземного воздуха» [4, 26]. Кроме того, благоприятны условия накопления болотного газа в понижениях рельефа материнской подстилающей

породы. При этом торфяники горят и летом, и зимой. Причины самовозгорания, ведущие к низовым и верховым пожарам, привели к полной смене экосистемы. Известные исследователи почв Зейдельман Ф.Р., Шваров А.П. указывают, что «на таких территориях сформировались совершенно новые, непригодные для развития растительного покрова, почвы: пирогенно-песчаные и песчаные (или супесчаные), пирогенно-торфяные на песках, супесях, пирогенно-древесно-песчаные или супесчаные» [3, 138-139].

Самовозгорание является постоянной угрозой распространения задымления в ряде регионов: Московском, Владимирском, Рязанском и др. Наиболее сильные пожары происходили в 1972, 2002, 2004 гг., наиболее тяжелыми пожары были в 2010 г. Сегодня многие мелиораторы [2] предлагают заливать Мещеру ее же водами по старой технологии мелиорации. Однако такой способ избавления от пожаров не только малоэффективен, он порочен, так как поверхностные воды рек (Оки, Клязьмы, Пры и других рек, из которых предполагается перебрасывать воды) уйдут в пески задровых равнин, из которых сформирован рельеф Мещеры. Мещера будет иметь вид пустынный с речными руслами, напоминающими вади в пустыне Сахара. Таким образом, к факторам низовых и верховых пожаров в Мещере следует отнести:

1/ отсутствие научных представлений о функционировании болотных экосистем Мещеры;

2/ необдуманную мелиорацию тридцатых годов XX в.;

3/ недостатки технологии добычи торфа фрезерным способом.

Кстати, фрезерный способ добычи торфа оставался доминирующим до конца XX столетия, то есть 90% объема добычи торфа производилась по технологии фрезерного торфа.

Однако возможное избавление от горящих бедлендов в Мещере все же имеется. Прежде всего, необходим научный подход к изучению современных бедлендов Мещеры. То есть необходимо составить ряд специали-

зированных карт, в том числе по вертикальному электроразведыванию, радиоэлектромagnetному профилированию территории; провести тепловую съемку и полевые работы территорий, преобразованных торфопредприятиями. Необходимо также точно представлять себе масштаб и последовательность методики и работ по тушению территории. В современной литературе рядом известных авторов предлагаются методы тушения, альтернативные мелиоративным работам XX в. По представлению академика Маслова Б.С., «при пожарах земля выступает на стороне воды против огня, препятствуя его распространению. Не зря издавна используют для борьбы с огнем опашивание, окапывание заболоченных земель, включая окрайки болот, создавая заслон продвижению огня. В земледелии на торфяных почвах эффективен прием землевания торфа путем внесения в пахотный слой торфяной почвы» [6; 2]. Зейдельман Ф.Р. и Шваров А.П. предлагают ряд мероприятий по рекультивации пирогенных образований при пятнистом и сплошном выгорании осушенных почв: а) дренаж; б) планировку; в) внесение на поверхность увеличенных масс суглинистого грунта (400-500т/га) в пирогенно-песчаные и песчано-пирогенные (или супесчаные) образования» [3, 139].

По мнению авторов данной статьи, требуется окапывание, внесение суглинистого грунта в горящие торфяные залежи при ворошении с оставшимся торфом. Удельный вес торфа равен 0,75 г/см³, в качестве породы используется суглинок, вес которого равен в среднем 2,6 г/см³. Суглинка потребуется в 3,5 раза меньше, чем выработанного торфа. Породы суглинка (можно с песком) при ворошении и продавливают торф, и потушат горящий торф [5, 120]. Такой процесс остановит горение. Следующим этапом станет посадка луговых семян. В отдельных точках требуется бурение скважин для освобождения болотного газа. На отдельных, в основном центральных, пирогенных образованиях можно использовать водные ресурсы из вырытых еще в 30-е гг. мелиоративных канав, глубина

которых иногда достигает 6-8 метров.

Мещеру еще можно сохранить в отдельных ее частях. Нужно только сначала полностью затушить торфяники, на следующем этапе постоянно вести мониторинг низменности. Использовать в дальнейшем Мещеру можно только как кладезь чистейших водных и рекреационных ресурсов с полным исключением промышленной эксплуатации.

ЛИТЕРАТУРА:

1. Герасимов Д.А. Торф. Его происхождение, залегание и распространение.. М.-Л.: Гос.науч.-техн. горное дело, 1932. 66 с.
2. Губер К.В. и др. Мелиорация земель в Нечерноземной зоне. / К.В. Губер, В.Г. Круцко, Е.П. Панов.-М: Россельхозиздат, 1986. 221 с.
3. Зейдельман Ф.Р., Шваров А.П. Пирогенная и гидротермическая деградация торфяных почв, их агроэкология, песчаные культуры земледелия, рекультивация. М.: МГУ, 2002. 155 с.
4. Косов В.И., Беляков А.С., Белозеров О.В., Гогин Д.Ю. Торф: Ресурсы, технологии, геоэкология. СПб., 2007. 450 с.
5. Лукьянова Т.С. Целесообразность и возможности дальнейшего существования увлажненных территорий западной части Мещеры // Экологические проблемы Московской области / Мин-во экологии и природопользования МО. М.: МГОУ, 2010.
6. Маслов Б.С. Не надо топить болота! Хрупкий мир природы. // Советская Россия. 11 нояб.
7. Сидорова М.В. Оценка возможных изменений речного стока в XXI веке на территории Восточно-Европейской равнины. Автореферат дисс. ... к.г.н. М.: МГУ, 2010. 25 с.

УДК 550.423

Никитина М.В., Попова Л.Ф.

Поморский государственный университет имени М.В. Ломоносова (г. Архангельск)

ТРАНСФОРМАЦИЯ ПОДВИЖНЫХ ФОРМ МЕТАЛЛОВ В ПОЧВАХ ГОРОДСКИХ ЛАНДШАФТОВ

M. Nikitina, L. Popova

Pomor State University Named After M. Lomonosov (Arkhangelsk)

TRANSFORMATION OF MOBILE FORMS OF METALS IN THE SOILS OF URBAN LANDSCAPES

Аннотация. В статье анализируется содержание трансформационных (обменных, комплексных и специфически сорбированных) форм тяжёлых металлов на примере меди, цинка и свинца в почвах урболандшафтов (промышленном, селитебном, лесном и луговом) г. Архангельска. Производится оценка состояния загрязнённых почв по выявлению не столько увеличения в них общего содержания металлов, сколько установлению изменений их подвижности, которая оценивалась путем определения доли каждой трансформационной формы, полученной с использованием селективных вытяжек, от общего количества потенциально подвижных форм. Выявлены общие закономерности в распределении и миграции тяжёлых металлов (свинца, цинка и меди) в почвах урболандшафтов.

Ключевые слова: тяжёлые металлы, подвижные формы, урболандшафты, почва.

Abstract. The article analyzes the content of the forms (exchange, complex, and specifically sorbed) of heavy metals by the example of copper, zinc and lead in the urban soils of Arkhangelsk. It assesses the state of contaminated soils to identify not only the increase the total metal content, but the changes in their mobility. Evaluation has been made by determining the proportion of each form of transformation obtained by selective extracts from the total number of potentially mobile forms. General regularities in the distribution and migration of heavy metals (lead, zinc and copper) in the soils have been identified.

Key words: heavy metals, mobile forms, urban landscapes, soil.

Одним из наиболее характерных и экологически значимых процессов антропогенного преобразования городских ландшафтов является изменение их микроэлементного состава [3, 124]. При этом городские почвы рассматриваются как депонирующая среда, аккумулирующая техногенные загрязнения за многолетний период и позволяющая оценить степень загрязнения территории города, например, тяжёлыми металлами (ТМ). Однако оценка экологического состояния загрязнённых почв должна сводиться к выявлению не столько увеличения в них общего содержания металлов, сколько установлению изменений их подвижности [5, 99].

Направление миграции металлов и степень их токсичности определяется в первую очередь химической формой, в которой они присутствуют в почве, и прочностью связи с почвенными компонентами. В понятие «подвижные формы» входят разные как по доступности, так и по подвижности соединения, поэтому необходимо разделение этой группы форм на более мелкие. Выделяют три основные трансформационные формы соединений: обменные, комплексные и специфически сорбированные. Степень их доступности для растений уменьшается в ряду: *обменные* > *комплексные* > *специфически сорбированные*. Для извлечения этих

форм используется схема фракционирования, представленная в табл. 1.

Фракционный состав подвижных форм ТМ на примере цинка, меди и свинца оценивался путем определения доли каждой формы, полученной с использованием селективных вытяжек, от общего количества потенциально подвижных форм, которые извлекаются 1N HNO₃. Исследования проводились в почвах основных урболандшафтах г. Архангельска: промышленном, селитебном, лесном и луговом. В *промышленном* ландшафте преобладают пустыри и территории заводов, АЗС, АТП, которые располагаются пятнами в селитебном ландшафте. Преобладающие почвы – реплантозёмы, встречаются урбанозёмы и урбоестественные почвы. В их почвенных профилях часто присутствует верхний горизонт, состоящий из пыли, песка, соли с дорог, частичек шин и осадка от выхлопных газов автотранспорта. Крупные блоки *селитебных* ландшафтов сконцентрированы в центральной части города, мелкие – достаточно линейно вдоль реки Северная Двина, приурочены к транспортным магистралям. Наиболее распространены здесь неокультуренные газоны. В селитебном ландшафте часто встречаются почвы старых огородов во дворах одноэтажных частных домов, а на пустырях, ближе к территории промышленного ландшафта, во дворах ма-

лоэтажной деревянной застройки, – урбоестественные почвы. В отличие от почв промышленного ландшафта, здесь отсутствует поверхностный слой пыли с дорог. *Луговые агроландшафты* в основном представлены сенокосами (как правило, с подсевом трав) и выгонами, реже – пашнями и дачными огородами. Основные площади луговых ландшафтов находятся в ведении сельскохозяйственных предприятий, мелиорированы открытым дренажом и используются как база кормовых угодий для животноводства. На сеяных и естественных кормовых угодьях ранее вносили известковые и минеральные удобрения, проводили боронование, фрезерование, что могло несколько изменить естественные свойства почв. *Лесные* ландшафты хаотично разбросаны островками во всех частях города. Почвы лесного ландшафта представлены в основном высокозольным торфом. Антропогенное воздействие проявляется, как правило, в захламлении, на некоторых территориях наблюдается несанкционированная вырубка. Определение металлов проводилось атомно-адсорбционным методом на приборе «Спектр-5» в 2 – 5 повторностях на наиболее типичных для данных ландшафтов пробных площадях.

Доля потенциально подвижных форм металлов от их валового содержания показана на рис. 1.

Таблица 1

Методика выполнения параллельной схемы фракционирования (разработанная Т.М. Минкиной, Г.В. Мотузовой и др.[6, 811])

Фракция	Экстрагент	Соотношение почва : раствор	Условия экстрагирования
Общий запас ионов, способных к обмену	1 N CH ₃ COONH ₄ , pH =4,8	1 : 5	1 мин. взбалтывать, оставить на 18ч.
Связанная с органическим веществом почвы в форме комплексов	1% раствор ЭДТА в CH ₃ COONH ₄ , pH =4,8	1 : 5	1 мин. взбалтывать, оставить на 18 ч.
Обменные формы и специфически сорбированные соединения с гидроксидами и оксидами Fe, Mn, Al	1 н. HCl	1 : 10	Взбалтывать 1 ч.

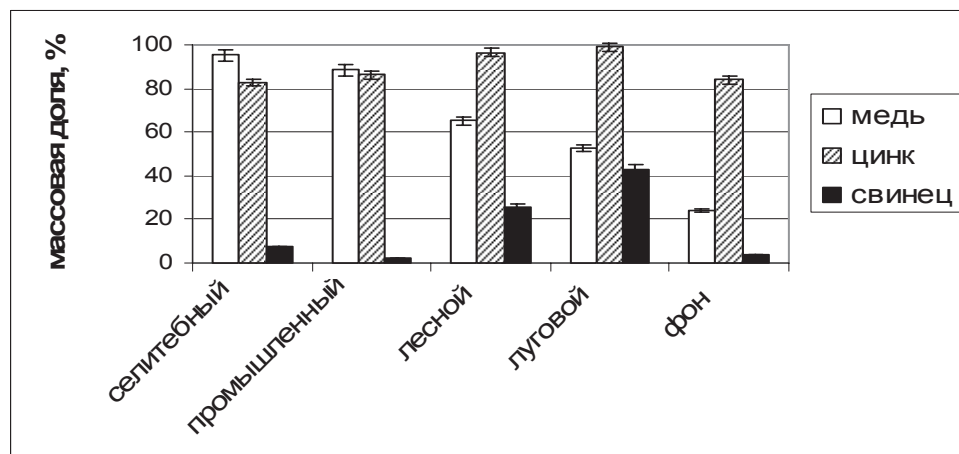


Рис.1. Массовая доля (%) потенциально доступных форм металлов от их валового содержания в почвах урболандшафтов г. Архангельска

Таблица 2

Содержание подвижных фракций ТМ в почвах урболандшафтов г. Архангельска

Ландшафт	Горизонт	Форма нахождения металла								
		Медь			Свинец			Цинк		
		Обменные	Комплексные	Специфически сорбированные	Обменные	Комплексные	Специфически сорбированные	Обменные	Комплексные	Специфически сорбированные
Фон	Ad	22,3	35,0	50,3	14,3	26,8	64,2	6,1	24,0	72,6
	A1	22,8	40,0	45,2	13,0	34,7	58,7	5,7	34,7	60,9
	B	20,0	31,9	48,8	9,6	23,3	71,2	8,1	60,9	57,4
Селитебн	Uha2	2,1	38,1	57,3	6,1	9,7	9,4	25,9	26,9	36,7
	U↑↓a2	2,4	39,8	54,4	26,2	29,0	28,1	19,0	20,2	40,9
	DUa3	0,6	17,4	29,0	80,4	80,6	78,1	10,9	18,2	29,5
Промыш	Ad	20,0	50,8	58,0	8,1	26,1	67,1	37,6	51,6	53,7
	Ud	32,9	84,3	74,4	7,2	27,1	67,2	58,1	61,4	75,8
	U↑↓	44,6	50,1	84,7	5,1	26,0	70,1	51,0	72,3	65,7
Лесной	A1	35,1	44,9	49,4	13,0	18,5	72,8	20,9	22,8	41,6
	B2	37,4	41,5	41,5	22,1	32,0	54,0	22,1	27,1	49,6
	BC	18,6	23,6	23,6	14,0	32,5	60,5	17,7	33,3	41,1
	C	55,8	21,9	21,9	9,2	14,9	83,7	20,8	24,2	41,1
Луговой	A	54,1	20,5	41,1	5,2	5,6	8,1	39,4	41,4	45,5
	B	36,8	39,1	43,8	27,6	30,4	40,7	47,5	55,9	60,8
	C	41,1	44,9	54,7	68,4	63,9	53,3	47,5	51,5	68,5

В техногенно-антропогенных ландшафтах – промышленном и селитебном, в отношении потенциальных запасов металлов наиболее подвижным является медь, тогда как в природно-антропогенных ландшафтах и почве фоновой территории, которая находится в 30 км от Архангельска и не испытывает антропогенного воздействия, наиболее подвижен цинк.

В почвах фоновой территории наибольшее количество меди (> 48%) присутствует в малоподвижной специфически сорбированной форме (табл.2), что объясняется исследованиями, опубликованными в работе Н.С. Касимова [2, 280] и Ю.А. Мажайского [4, 127]. Так как в фоновых районах содержание Си в среднем составляет $7,4 \pm 1,0$ мг/кг, она находится в необменно-зафиксированной форме в связи с низкой концентрацией в почвенном растворе. В почвах лугового, промышленного и лесного ландшафтов валовое содержание этого металла увеличивается, и доля обменных форм также увеличивается. Однако для селитебного ландшафта, где содержание меди в почвах максимально ($31,9 \pm 12,8$ мг/кг), доля обменных форм крайне низка (по всему профилю не превышает 3%). В этом ландшафте медь в большей степени находится в специфически сорбированном состоянии, что обусловлено прочным связыванием её с почвенно-поглощительным комплексом (ППК). Особенно высока подвижность меди в торфяных почвах лесного ландшафта. В связи с низким содержанием глины отсутствует поглощение этого элемента за счёт ППК, а слабая степень разложенности торфа не позволяет сорбировать металл органическим веществом.

Аналогичное распределение трансформационных форм характерно и для свинца. По данным Ю.А. Мажайского [5, 140], медь и свинец близки по химическим свойствам и тяготеют к образованию специфических связей с компонентами ППК.

Миграция этих элементов в почвенном профиле фоновой территории показывает относительно равномерное распределение трансформационных форм. В луговом ландшафте

с глубиной содержание обменных форм в почвах уменьшается, и происходит фиксация металлов как за счёт образования комплексных соединений с органическим веществом, так и за счёт сорбции их на оксидах и гидроксидах железа, алюминия, марганца. Такая же тенденция характерна и для торфяных почв лесного ландшафта, что объясняется увеличением доли глинистых компонентов вниз по профилю и, соответственно, их сорбционной способности. В подзолистых почвах лесного ландшафта происходит снижение обменных форм металлов вплоть до материнской горной породы и увеличение специфически сорбированных форм, что, по всей видимости, объясняется увеличением доли соединений железа, алюминия и марганца, которые вымываются в нижние горизонты в условиях промывного водного режима почв.

В промышленном ландшафте для данных металлов характерно увеличение доли специфически сорбированных форм вниз по профилю, но не за счёт фиксации обменных, а за счёт уменьшения доли комплексных соединений.

Распределение цинка по почвенному профилю лугового и лесного ландшафтов относительно равномерно, и наибольший процент форм в данных ландшафтах представлен специфически сорбированными. Вниз по профилю фоновой территории происходит фиксация цинка за счёт образования органо-минеральных комплексов, а в селитебном ландшафте – за счёт специфической сорбции почв.

Таким образом, рассматриваемые элементы по степени подвижности в отношении актуальных запасов на фоновом участке располагаются в ряд $Pb \approx Zn > Cu$. Несмотря на то, что ряд селективности связывания ТМ поглощающим комплексом почвы имеет вид: $Pb > Cu > Zn$, из-за низкого содержания обменных форм меди ведущую роль в подвижности занимает свинец. Для почв селитебного ландшафта, где отмечается достаточное содержание валовых форм меди, данный ряд соблюдается: $Pb > Cu > Zn$. В лесном и луговом ландшафтах ряд подвижности составляет Pb

> Zn > Cu. Свинец также является наиболее подвижным, что, по мнению Ю.А. Алексеева [1, 119], связано с особенностями строения его иона: из-за большого радиуса ($R_{Pb} = 0,126$ нм, $R_{Cu} = 0,080$ нм, $R_{Zn} = 0,060$ нм) связывание его ионов с ППК наименее эффективно. В промышленном ландшафте наиболее подвижна медь: $Cu > Pb > Zn$, что может быть объяснено высокой опесчаненностью почв и, как следствие – низким содержанием глинистых частиц, способных к сорбции.

Выявленные закономерности имеют экологическое значение, т. к. позволяют прогнозировать процессы трансформации почвенных компонентов, ответственных за закрепление металла в почве, и возможность их вторичной мобилизации, а следовательно, и количество его поступления в растительный покров.

ЛИТЕРАТУРА:

1. Алексеев В.А., Суворинов А.В., Власова Е.В. Металлы в окружающей среде. Лесные ландшафты Северо-Западного Кавказа. М.: Университетская книга, 2008. 264 с.
2. Касимов Н.С., Королёва Т.В., Проскуряков Ю.В. Биогеохимия городских ландшафтов (на примере г. Тольятти) // Экогеохимия городских ландшафтов. М.: МГУ, 1995.
3. Клименьев А.И. Геоэкологическая оценка почвенного покрова урбанизированных территорий (на примере г. Оренбурга). Екатеринбург: УрО РАН, 2006. 181 с.
4. Мажайский Ю.А. Агроэкология техногенно загрязнённых ландшафтов. Смоленск: Маджета, 2003. 384 с.
5. Минкина Т.М. Соединения тяжелых металлов в почвах Нижнего Дона, их трансформация под влиянием природных и антропогенных факторов: дис. ...докт. биол. наук. Ростов-на-Дону, 2008. 172 с.
6. Минкина Т.М., Мотузова Г.В., Назаренко О.Г., Крыщенко В.С., Манджиева С.С. Формы соединений тяжёлых металлов в почвах степной зоны // Почвоведение. 2008. №7.

УДК 338.46+628.4

Панков С.А.

Ставропольский государственный университет

**МОДЕЛИРОВАНИЕ ЭКОЛОГО-ЭКОНОМИЧЕСКИХ АСПЕКТОВ
ЗЕМЛЕПОЛЬЗОВАНИЯ НА МЕСТОРОЖДЕНИИ
ОБЩЕРАСПРОСТРАНЕННЫХ ПОЛЕЗНЫХ ИСКОПАЕМЫХ**

S. Pankov

Stavropol State University

**MODELING ECOLOGICAL AND ECONOMIC ASPECTS
OF LAND-UTILIZATION AT WIDESPREAD MINERALS DEPOSITS**

Аннотация. Проблема экологически рационального и экономически эффективного землепользования стоит особенно остро на предприятиях по добыче полезных ископаемых. В технологические схемы и, соответственно, в технико-экономические показатели не закладываются процессы полномасштабной рекультивации нарушенных земель, а также затраты на них, поскольку все стратегические решения нацелены только на извлечение полезного ископаемого с максимальным финансовым результатом. Предлагаемые в статье модельные подходы и показатели позволяют решить проблему стратегического проектирования процесса рациональной рекультивации нарушенных горными выработками земель, а также выполнить анализ степени оптимальности землепользования горнодобывающим предприятием. Модельные расчёты проиллюстрированы результатами более чем полувековой эксплуатации Пелагиадского месторождения известняка-ракушечника, обследованного автором.

Ключевые слова: модель процесса рекультивации; эколого-экономическая оптимальность землепользования; экологическая устойчивость территории; горные выемки; отвалы вскрышных пород; экологический ущерб.

Abstract. Mining enterprises have to deal with the acute problem of ecologically rational and economically efficient land-utilization. As their strategies are aimed merely at minerals extraction with the highest possible financial result the procedure of full-scale exhausted land reclamation and expenses for it are not included into technological schemes and thereafter into technological and economic indicators of the enterprises. The model approaches and indicators proposed in this article allow to solve the problem of corporate planning of the procedure of rational reclamation of lands destroyed by mine working, and also to carry out the analysis of land-utilization optimality extent of a mining enterprise. The model calculations are based on the results of the author's study of Pelegiada chalkstone deposit which have been exploited for more than fifty years.

Key words: reclamation procedure model, ecological and economic land-utilization optimality, ecological stability of region, mine excavation, uncovering rock piles, ecological harm.

Современная макроэкономическая ситуация в области защиты и восстановления земельных ресурсов складывается таким образом, что затраты на этот вид деятельности в структуре природоохранных затрат в 2003 - 2008 гг. не превышали 7,5%, в том числе на рекультивацию земель – 2,5 – 3,5%, причем от 68 до 76% в структуре источников финансирования занимали место собственные средства предприятий [5, 25-30]. Доля природоохранных инвестиций в ВВП не превышала 0,3%, хотя в экономически развитых странах на решение этих вопросов выделяется от 2 до 5% ВВП [5]. Как отмечается в докладе Государственного совета Российской Федерации [2, 76], система экономического стимулирования в области природоохран-

ных инвестиций и экологического контроля не эффективна и предприятия экономят на природоохранных инвестициях.

В связи с этим проблема рекультивации и восстановления земель – одна из наиболее актуальных на разрабатываемых месторождениях общераспространённых полезных ископаемых. Одним из важных аспектов решения этой проблемы является предлагаемый нами модельный подход к оценке возможной величины рекультивированной площади, получаемой без привлечения дополнительных ресурсов, за счёт рациональной технологии размещения собственных пород вскрыши и почв.

Моделируемый объект – Пелагиадское месторождение известняка-ракушечника расположено в Центральном Предкавказье, в равнинной части Ставропольской возвышенности. Более 50% площади горного отвода нарушено и представляет собой карьеры, различные выемки и отвалы вскрышных пород. Автором было выполнено полевое обследование состояния землепользования в районе месторождения. В процессе выполнения исследований привлекались фондовые и архивные материалы. Анализ этих материалов и изучение фактического состояния объекта исследования позволили построить модель влияния хозяйственных процессов на состояние землепользования в пределах месторождения.

Кустарная разработка известняка-ракушечника на месторождении началась в 19 веке. В 1930-х гг. была произведена разведка месторождения, и началась промышленная добыча известняков. Идея комплексного использования месторождения не была реализована, что привело к необходимости организации крупных отвалов пустых пород.

В конце 1980 гг. уже констатировались значительные экологические проблемы использования земельных ресурсов, связанные с неселективной выемкой почв и пород вскрыши, хаотическим их складированием совместно с глыбами известняка-ракушечника, что привело к появлению техногенного рельефа на большей части горного отвода, при этом

выемки карьеров практически не рекультивировались. Как следствие, произошло появление глубоких котлованов и переход данной территории в кризисное состояние.

В последний период производилось раздельное складирование почв и пород вскрыши, более рациональное использование песков вскрыши в строительных целях и для реализации. Предприятия, разрабатывающие месторождение, являются низко рентабельными [4, 111-114], что не позволяет осуществлять рекультивационные работы в полном объёме.

Модель землепользования на Пелагиадском месторождении известняка-ракушечника сводится к следующему. На основании данных геологической разведки и подсчета запасов, а также прогнозного объёма добычи полезного ископаемого рассчитываются объёмы извлекаемых вскрышных пород и объём складированных в бурты почв. На основании плана горного отвода и участков разработки полезного ископаемого определяется оптимальное место размещения отвалов и порядок проведения всех этапов рекультивации земель на отработанной части месторождения. Такой прогноз по площадям рекультивации и объёмам необходимых работ имеет смысл выполнять на несколько лет вперёд. Важными факторами прогнозирования являются устойчивость условий внешней среды, деятельности предприятия и гарантия стабильности использования его производственного потенциала.

Помимо модельных расчетов, предлагаемых нами, необходимо рассчитывать ряд эколого-экономических показателей, отражающих результативность природоохранных мероприятий: экологический ущерб, наносимый землям, и ряд относительных показателей экологической устойчивости горного отвода.

Расчёты по предложенной модели опираются на показатели разработки месторождения и выполняются в нижеизложенном порядке. Зная объёмы годовой добычи полезного ископаемого, изменение его запасов и изменение площади земель, нарушенных

горными выработками, рассчитываются интервальные величины объемов добычи известняка-ракушечника по периодам освоения месторождения. Эти величины определяют объемы вскрышных работ и площади нарушенных, а также рекультивируемых земель.

При построении модели, отражающей взаимосвязь процесса добычи известняка-ракушечника и процесса рекультивации горных выработок, необходимо исходить из следующих ограничений: во-первых, объем добычи полезного ископаемого определяет необходимый объем и площадь вскрышных работ; во-вторых, при выполнении вскрышных и рекультивационных работ необходимо минимизировать переэкскавацию пустых пород; в-третьих, до начала рекультивационных работ должна иметься выемка для отсыпки вскрышных пород и последующей её рекультивации путем засыпки почвенным слоем; в-четвертых, выемка по высоте должна засыпаться полностью с учетом последующей усадки вскрышных пород и засыпки их почвенным слоем. Выполнение этих ограничений позволяет аналитически связать объем добычи полезного ископаемого, объем неиспользуемых вскрышных пород и объем формируемых рекультивационных отвалов. Исходя из этих объемов и средних мощностей продуктивного пласта, вскрышных пород и почвенного слоя определяется площадь вскрыши, а исходя из формы отвала, определяется его площадь и высота, которые ограничиваются параметрами имеющейся горной выработки.

Все эти величины напрямую связаны между собой и корректируются лишь на поправочные коэффициенты: разрыхления горных пород, усадки отсыпанного отвала и другие. В модели учитывается то, что первоначальная вскрыша продуктивного пласта требует размещения вскрышных пород за пределами карьера на ненарушенной поверхности и, как следствие, предусматривается некоторый объем переэкскавации, а также отставание процесса рекультивации земель от процесса разработки полезного ископаемого. Следует

учесть тот факт, что при самом оптимальном процессе рекультивации с помощью пород вскрыши объем карьерной выемки будет заполнен не полностью, и будет больше объема выполненной рекультивации на величину извлеченных запасов полезного ископаемого и части использованных пород вскрыши.

Аналитически эту модель можно выразить с помощью взаимосвязанных уравнений и неравенств:

– величина запасов полезного ископаемого на начало и конец i -го периода: $Z1i=x1$; $Z2i=x2$;

– объем добычи полезного ископаемого за i -й период определяется через изменение его запасов и потери – di : $Qi=Z2-Z1-di$;

– площадь вскрыши: $Svi=Qi/hri$,
где: hri – средняя мощность продуктивного (рабочего) пласта;

– объем снимаемых почв: $Qgi=Svi*hgi*krgi$;
где: hgi – средняя мощность почвенного слоя, $krgi$ – коэффициент разрыхления почв;

– объем вскрышных пород: $Qvi=Svi*hvi*krvi$; где: hvi – средняя мощность пород вскрыши, $krvi$ – коэффициент их разрыхления;

– объем отвала вскрышных пород: $Qoti=Qvi-Qispi$;

– средняя высота рекультивационного отвала: $hot=(hvl+hrli)*1.1-hgli$; где: hvl , $hrli$, $hgli$ – средняя мощность соответственно пород вскрыши, продуктивного пласта и почв, извлеченных в предшествующем периоде;

– площадь параллелепипеда как части отвала: $Spri=a*b$;

где: $b=0.5*a$ – соотношение его сторон;

– площадь основания трапеций откосов отвала вскрышных пород: $Stri=hot*2*(a+0.5*a)+4*hot^2$;

– вся площадь отвала: $Soti=Spri+0.5*Stri$;

– ограничение по площади, используемой для размещения отвала: $Soti<(DSv1+Svi)$; где: $DSv1$ – площадь нереккультивированной ранее выемки, образовавшейся в предшествующем периоде;

– объем рекультивационного отвала, образующийся за i -й период: $Qoti=Spri*hot+0.5*(0.5*hot^2*2*(a+0.5*a)+4*0.5*hot^3)$;

Таблица 1

Результаты модельных расчётов по Пелагиадскому месторождению

Показатель \ Период (годы)	1954-1962	1962-1987	1987-2001	2001-2008	Итого
Добыча известняка, тыс. м ³	221	398	355	459	1433
Отношение возможной площади рекультивации к площади вскрыши, рассчитанное через коэффициент вскрыши	0,59	0,62	0,62	0,60	0,61 (среднее)
Площадь вскрыши, тыс. м ²	24,56	47,95	45,51	58,1	176,12
Площадь вскрыши нарастающим итогом, тыс. м ²	24,56	72,51	118,02	176,12	176,12
Объём отвала, тыс. м ³	475,39	907,25	825,06	1002,13	3209,83
Площадь отвала, тыс. м ²	18,76	30,68	28,16	35,85	113,46
Нерекультивированная площадь, тыс. м ²	15,02	28,82	27,90	33,85	84,70
Площадь рекультивированная нарастающим итогом, тыс. м ²	9,54	34,82	60,14	91,42	91,42
Отношение модельной площади рекультивации к модельной площади вскрыши, тыс. м ² (оптимальное)	0,39	0,48	0,51	0,52	0,52

Моделируемая функция, выражающая соотношение объёма проектируемого рекультивационного отвала и объёма, размещаемых в нём пород вскрыши, при решении которой находится параметр a , и длинная сторона отвала выглядит следующим образом:

$$F := Spri \cdot hot + 0.5 \cdot (0.5 \cdot hot^2 \cdot 2 \cdot (a + 0.5 \cdot a) + 4 \cdot 0.5 \cdot hot^3) - (Qvi - Qispi).$$

Подставляя значение параметра a , найдём проектируемую площадь отвала:

$$Soti := 0.5 \cdot a^2 + 1.50 \cdot (1.1 \cdot hv1 + 1.1 \cdot hri - hgi) \cdot a + 2.0 \cdot (1.1 \cdot hv1 + 1.1 \cdot hri - hgi)^2.$$

Расчётная площадь рекультивации (в последнем периоде) будет меньше площади отвала на величину площади откосов: $Sreci := Soti - 0.5 \cdot Stri$.

Объём проектируемого отвала вскрышных пород определяется занимаемой площадью, которую с его помощью можно рекультивировать, и средней высотой отвала, ограниченной глубиной выемки, с учетом усадки грунта и засыпки его почвенным слоем.

В нашем случае принята прямоугольная форма отвала. Отвал имеет плоскую вершину, а в сечении – трапецевидную форму, что соответствует его размещению на открытой поверхности и углу естественного

откоса рыхлых пород, который принят в 45 градусов. Сама площадь отвала будет ограничена площадью заранее подготовленной выемки. Для организации предлагаемого рационального землепользования необходимо при составлении проекта вскрышных работ предусмотреть засыпку отработанных карьерных выработок на высоту естественной поверхности.

После выполнения всех рекультивационных работ неизбежно останется нерекультивированный объём, величина которого приблизительно может быть выражена по отношению к рекультивированному объёму через среднюю величину коэффициента вскрыши для месторождения, так как площади добычи полезного ископаемого и вскрыши приблизительно равны. Соответствие этому условию будет отражать наиболее оптимальную организацию процесса рекультивации. Уменьшение величины рекультивируемого объёма может быть вызвано двумя факторами: во-первых, использованием части вскрышных пород в других целях, что является допустимым, во-вторых, формированием отвалов за пределами карьерных выемок либо превышением их высоты по сравнению с ненарушенной естественной

поверхностью, что является недопустимым с точки зрения рекультивации.

Проиллюстрируем использование предлагаемой модели на основе данных об изменении запасов полезного ископаемого и геологической разведки по Пелагиадскому месторождению известняка-ракушечника.

На основании результатов выполненных нами модельных расчётов, представленных в табл. 1, видим, что в случае реализации условий оптимального (модельного) размещения вскрышных пород при 20% использовании вскрышных пород для других целей, возможна рекультивация около 52% площади отработанных горных выработок. Максимально возможное соотношение рекультивируемой площади по отношению к площади вскрыши (без учета площади откосов отвалов), рассчитанное на основе коэффициента вскрыши, могло составить 61%.

Сравнение с фактическими величинами площади горных выработок, отвалов вскрышных пород и рекультивируемой площади позволяет сделать выводы, что превышение фактической площади выемок над площадью отвалов в 1,74 раза свидетельствует: во-первых, о большей доли использования вскрышных пород по сравнению с модельной, а во-вторых, о нерациональном складировании, то есть формировании отвалов большей высоты, чем естественная поверхность. Фактическая доля рекультивированной площади на момент обследования составляла около 40% площади горных выработок, что на 12% меньше моделируемой.

С точки зрения моделирования эколого-экономических аспектов также важен расчет величины ущерба, наносимого землям при разработке месторождения, и сравнение его с показателями доходности. Рассчитанный нами годовой ущерб, наносимый землям при современных объёмах добычи строительных материалов по месторождению, составляет около 890 тыс. руб. (коэффициент экологи-

ческой значимости территории – 1,9), что выше суммы дифференциальной горной ренты – 690 тыс. руб., но несколько ниже суммы чистой прибыли, составляющей 1075 тыс. руб. [1, 4].

Эти показатели свидетельствуют о высокой величине экологического ущерба, сопоставимой с прибылью предприятий. Сравнить эти показатели можно на основе применения предложенного В.Е. Домбровской коэффициента риска, рассчитываемого как соотношение ожидаемых величин экономического ущерба и прибыли [3, 182-184]. На исследованном нами месторождении оцениваемое его значение составляет – 0,828, что свидетельствует о критическом уровне экологического риска.

Предложенный нами модельный подход позволяет прогнозировать объём рекультивационных работ и восстанавливаемые площади.

ЛИТЕРАТУРА:

1. Временная методика определения предотвращённого экологического ущерба. М.: Госкомитет РФ по охране окружающей среды, 1999.
2. Доклад Государственного совета Российской Федерации «О совершенствовании системы государственного регулирования в сфере охраны окружающей среды». 2010.
3. Домбровская В.Е. Математическая модель максимизации прибыли с учётом эколого-экономического ущерба, наносимого окружающей среде. // Вестник Тверского государственного университета. Серия: Биология и экология. 2005. № 1.
4. Панков С.А. Анализ доходности горнодобывающих предприятий в процессе оценки месторождений общераспространённых полезных ископаемых // Вестник Московского государственного областного университета. Серия «Экономика». 2009, № 3.
5. Приложения к докладу Государственного совета Российской Федерации «О совершенствовании системы государственного регулирования в сфере охраны окружающей среды». 2010.

РАЗДЕЛ III ХИМИЯ

УДК 631.414-417 + 544.169

**Боголицын К.Г., Бойцова Т.А., Кузнецова И.А.,
Ларионов Н.С., Паламарчук И.А., Аксенов А.С., Бровко О.С.**
Институт экологических проблем Севера Уральского отделения РАН (г. Архангельск)

ОСОБЕННОСТИ КОМПЛЕКСООБРАЗУЮЩИХ И СОРБЦИОННЫХ СВОЙСТВ ГУМИНОВЫХ КИСЛОТ ВЕРХОВОГО ТОРФА АРХАНГЕЛЬСКОЙ ОБЛАСТИ

**K. Bogolitsyn, T. Boitsova, I. Kuznetsova, N. Larionov,
I. Palamarchuk, A. Aksyonov, O. Brovko**
Institute of Ecological Problems of the North, Ural Branch of RAS (Arkhangelsk)

COMPLEXATION AND SORPTION PROPERTIES OF HUMIC ACID EXTRACTED OUT OF ARKHNGELSK PEAT

Аннотация. В работе приведены результаты экспериментальных исследований функционального, элементного состава, молекулярно-массовых характеристик компонентов гуминовых кислот, выделенных из верхового торфа Архангельской области. Обсуждаются вопросы взаимосвязи сорбционных и комплексообразующих свойств гуминовых кислот с их структурно-функциональными особенностями. На основании исследований по сорбции гуминовыми кислотами ионов свинца и кадмия доказана принципиальная возможность использования данных растительных биополимеров в качестве сорбентов тяжелых металлов. Представлены результаты исследований комплексообразующих свойств гуминовых кислот. В целом перспективность проведения систематических исследований в области полимерных комплексов и сорбционных свойств гуминовых кислот определяется для Архангельской области значительными ресурсами торфа, возможностью создания на их основе доступных и эффективных функциональных полимерных материалов разнообразного значения.

Ключевые слова: торф, гуминовые кислоты, сорбция, комплексообразование, полиэлектролит.

Abstract. Data on the experimental studies of functional and ultimate composition, as well as on molecular-mass distribution of humic acids extracted out of oligotrophic peat bog of the Arkhangelsk region are presented in the given paper. Problems of dependence of sorption and complexing properties of humic acids on their structural and functional composition are discussed. Based on the studies of sorption activity of humic acids towards mercury and cadmium ions the possibility of utilization of the humic acids as heavy metals' sorbents has been proved. Data on the studies of complexing properties of humic acids is presented. Globally, prospective of the complex studies of the polymer complexes and sorption properties of humic acids is based on the large distribution of peat bogs in the Arkhangelsk region, which makes it possible to develop effective and functional polymer materials for different purposes on their basis.

Key words: peat, humic acid, sorption, complexation, polyelectrolyte.

© Боголицын К.Г., Бойцова Т.А., Кузнецова И.А., Ларионов Н.С., Паламарчук И.А., Аксенов А.С., Бровко О.С.
Настоящая работа выполнена при финансовой поддержке ФЦП "Научные и научно-педагогические кадры инновационной России" на 2009 - 2013 годы (ГК № 16.740.11.0159).

Гуминовые кислоты (ГК) наряду с фульвовыми относятся к наиболее обширному и реакционноспособному классу природных соединений, входящих в состав органического вещества почв, природных вод и твердых горючих ископаемых. ГК образуются в природных средах в результате химического и биологического разложения растительных и животных остатков под действием микроорганизмов и абиотических факторов среды [7]. В основе этого процесса лежит отбор кинетически устойчивых структур и объединение их в макромолекулы случайным образом. Наличие в молекулах ГК широкого спектра кислородсодержащих функциональных групп, таких, как карбоксильных, фенольных и алифатических гидроксильных, карбонильных и др. в сочетании с присутствием ароматических фрагментов обуславливает их способность вступать в ионные и донорно-акцепторные взаимодействия, образовывать водородные связи. Благодаря этому ГК, с одной стороны, активно участвуют в миграции тяжелых металлов, контролируя их геохимические потоки в окружающей среде. С другой стороны, они являются самоорганизующимися анионными полифункциональными полиэлектролитами (ПЭ), обладают ценными коллоидно-химическими свойствами, в частности выступают в роли природной матрицы для иммобилизации ферментов.

Одной из фундаментальных проблем химии растворов природных многоатомных молекул является установление взаимосвязи между их структурой и физико-химическими свойствами. Поэтому актуальной задачей является изучение макролигандных свойств ГК, благодаря которым они играют важную роль в процессах самоочищения водных и почвенных экосистем, связывая как тяжелые металлы, так и органические экотоксиканты [7].

Широкое распространение торфяных болот в Архангельской области обуславливает необходимость изучения ГК как потенциальных источников получения разнообразных органических соединений и установле-

ния взаимосвязи между функциональным составом, строением ГК и их реакционной способностью.

Цель исследования: изучить зависимость сорбционных и комплексообразующих свойств ГК, выделенных из верхового торфа Архангельской области, от их структурно-функциональных особенностей.

Экспериментальная часть

В качестве объекта исследования выбраны ГК, выделенные из верхового торфа Архангельской области согласно методике, изложенной в работе [6].

Функциональный анализ ГК проведен с использованием общепринятых методик [2; 1]. Элементный анализ ГК проведен на установке Elementar Vario Micro CUBE, а молекулярная масса (ММ) ГК определена методом гель-проникающей хроматографии (ГПХ) на установке Gibson Abimed. Определения проводились в лаборатории химического факультета МГУ им. М.В. Ломоносова. Для сравнения молекулярно-массовых характеристик выделенных препаратов использовался коммерческий образец ГК фирмы Aldrich (ГК-AL), полученный из леонардита.

Исследования сорбции ионов Cd^{2+} и Pb^{2+} (токсичных металлов, относящихся к d- и p-элементам соответственно) из водных растворов их солей проводили в статических условиях в системе сорбент – модельный раствор при соотношении 1:200 при pH 3,0. Диапазон концентраций ионов Cd^{2+} составил 10,9 – 1000,0 мг/л, а ионов Pb^{2+} 9,0 – 907,7 мг/л. Равновесную концентрацию ионов Cd^{2+} и Pb^{2+} в растворах определяли атомно-абсорбционным методом на спектрометре novAA 315 (Analytik Jena AG).

Для изучения поведения макромолекул ГК в растворах навеску ГК растворяли в небольшом количестве 0,1 н NaOH. Полученный раствор гумата натрия (ГNa) доводили дистиллированной водой до значения pH 7.

Потенциометрические измерения проводили на pH-метре 211 производства Hanna instruments с комбинированным стеклянным электродом HI 1131B в качестве измеритель-

Таблица 1

Характеристика ГК, выделенных из верхового торфа

Наименование показателей		Характеристика
Выход, %		38,3
Внешний вид		порошок
Цвет		темно-коричневый
Зольность, %		8,9±0,5
Элементный состав ГК, %	N ± Δ	2,3±0,2
	C ± Δ	51,5±3,9
	H ± Δ	4,7±0,2
	S ± Δ	2,1±0,1
	O ± Δ	39,4±0,2
Н/С		1,09
О/С		0,57

Таблица 2

Содержание функциональных групп ГК верхового торфа

Функциональная группа	Содержание, %
-COOH + -OH	5,98 ± 0,68
-COOH	4,67 ± 0,17
-OH	1,31 ± 0,06
-OCH ₃	6,13 ± 0,07

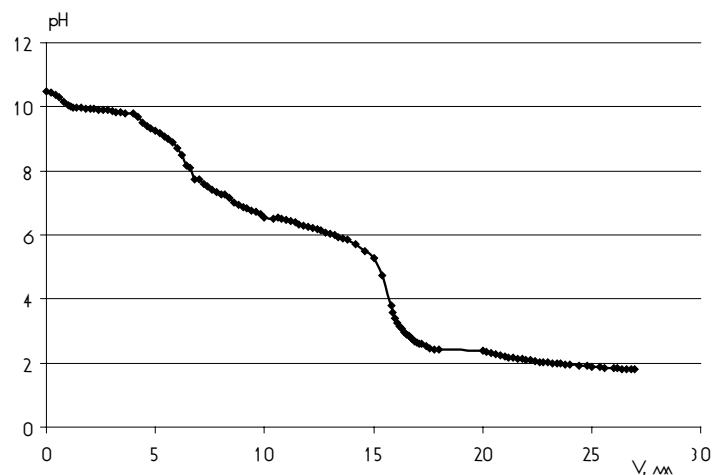


Рис. 2. Кривая потенциометрического титрования раствора ГНa.

Таблица 3

Молекулярно-массовая характеристика ГК

Образец	Mw, кDa	Mn, кDa	Mw/Mn
ГК	36,7	5,4	6,9
ГК-AL	13,6	3,3	4,1

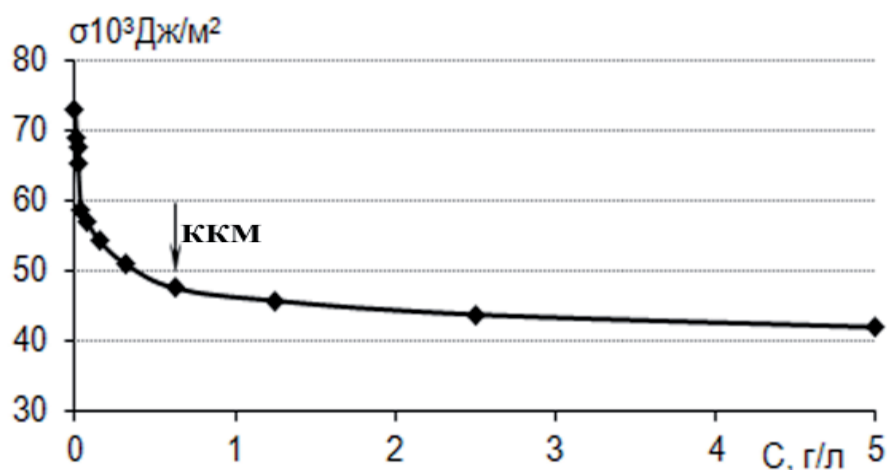


Рис. 3. Зависимость поверхностного натяжения ГНа от концентрации.

ного.

Поверхностное натяжение растворов полимеров и комплексов определяли методом тензиометрии (метод Вильгельми по отрыву пластинки от границы раздела фаз) при температуре 22 °С. Доверительный интервал измерения поверхностного натяжения для растворов составляет $\pm 0,2 \cdot 10^{-3}$ Дж/м².

Обсуждение результатов

Для оценки химических свойств гуминовых кислот, как и любого биополимера, прежде всего необходим анализ элементного и функционального состава. Выделенные препараты содержат 8,9 % минеральных компонентов, в органической части преобладает углерод и кислород (табл. 1). На основании данных по массовому содержанию элементов были рассчитаны атомные соотношения – Н/С, О/С, позволяющие оценить структуру полимера, содержание ненасыщенных фрагментов и кислородсодержащих функциональных групп. В выделенных образцах величина Н/С (1,09) свидетельствует о том, что в структуре гуминовых кислот в равной степени присутствуют как ароматические, так и алифатические фрагменты с линейным строением [5].

Для объяснения и прогнозирования химического поведения ГК и их реакционной способности по отношению к полярным и

ионным соединениям необходима информация о количественном содержании основных функциональных групп. Полученные результаты показывают, что ГК, включающие в свою структуру как ароматические, так и алифатические фрагменты, характеризуются высоким содержанием функциональных групп (табл. 2).

На рис. 2 приведен график обратного потенциометрического титрования раствора ГНа. Наличие двух точек эквивалентности в слабокислой и слабощелочной среде на кривой потенциометрического титрования свидетельствует о присутствии в макромолекуле ГНа различных по природе и по силе функциональных групп (–COOH и –OH). Основные области диссоциации карбоксильных и фенольных гидроксильных групп характеризуются рК 4,4 и 9,2 соответственно (рис. 2), что согласуется с литературными данными [9].

Одной из важных характеристик ГК, определяющих их поведение в растворах, способность к миграции в природной среде, взаимодействие с ферментными системами, является молекулярная масса. В табл. 3 приведены молекулярно-массовые характеристики ГК, полученные методом гель-проникающей хроматографии. В сравнении с препаратом ГК-АЛ, гуминовые кислоты, выделенные из верхового торфа имеют более

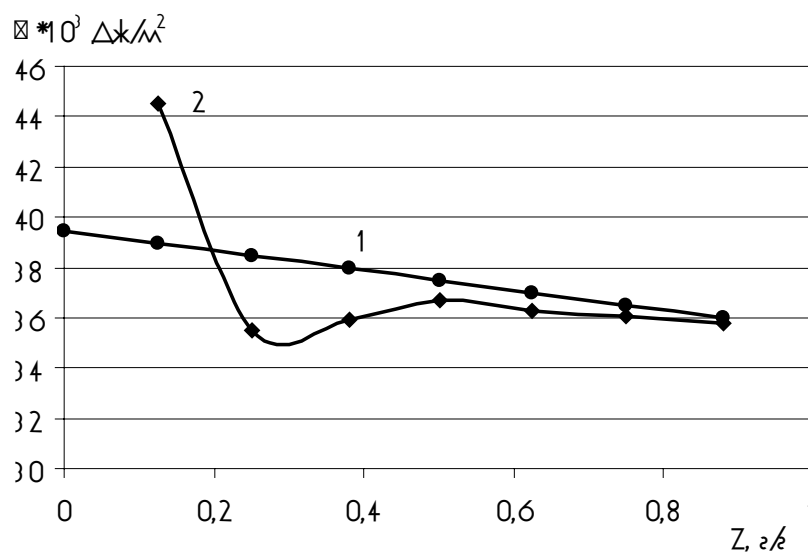


Рис. 4. Зависимость поверхностного натяжения гетерогенной системы ЦПБ– ГНа от состава реакционной смеси (Z): 1 – аддитивная расчетная зависимость; 2 – экспериментально полученная кривая

высокую среднемассовую ММ (M_w) и степень полимолекулярности (M_w/M_n).

Поскольку ГК имеют сложный химический состав, их структурные фрагменты можно условно разделить на гидрофильные (ионогенные функциональные группы) и гидрофобные (незаряженные участки полимерных цепей), что обуславливает их поверхностно-активные свойства. Известно, что соли ГК характеризуются невысокой поверхностной активностью на границе раздела жидкость – газ [10, 12-23]. Методом Вильгельми получена изотерма поверхностного натяжения раствора гумата натрия при pH=7 (рис. 3).

На начальном участке концентрационной кривой поверхностное натяжение монотонно уменьшается по мере увеличения концентрации. Далее характер зависимости при критической концентрации мицеллообразования (ККМ) резко меняется – значения поверхностного натяжения остаются постоянными. ККМ определяли по точке перегиба кривой $\sigma = f(C)$.

При определенной величине критической концентрации ГК в системе формируются мицеллы из макромолекул, не обладающих

поверхностной активностью и не вызывающих дальнейшего снижения поверхностного натяжения растворителя на границе раздела фаз. Амфифильный характер строения ГК способствует формированию супрамолекулярных агрегатов – мицелл при ассоциации относительно малых гетерогенных молекул за счет слабых Ван-дер-Ваальсовых взаимодействий.

Комплексообразующие свойства

Для более глубокого понимания механизмов формирования и функционирования природных поликомплексов целесообразным представляется изучение полиэлектролитных взаимодействий ГНа с поверхностно-активными веществами. Такие соединения являются близкими аналогами биосистем, участвующих в самоорганизации и функционировании. Комплексы биополимеров с ПАВ приобретают новые свойства, в частности могут быть перспективными с точки зрения стабилизации ферментов.

Проведены исследования взаимодействия ГНа с катионным ПАВ – цетилпиридиний бромидом (ЦПБ), который является четвертичным аммониевым основанием, образующим в водном растворе мицеллы. В

Таблица 4

Поверхностная активность ГNa и ЦПБ

Реагент	Молекулярная масса, а. е. м.	Поверхностная актив- ность G, мДж·м/кмоль	Коэффициенты уравнения: $y = a \cdot C + b$		Коэффициент парной корреляции, R ²
			а	в	
ЦПБ	402	3690	-3690	72,5	0,97
ГNa	36700	42,3	-42,3	72,5	0,99

работе изучены тензиометрические характеристики реакционных смесей ЦПБ с ГNa на границе раздела жидкость-газ. При низких концентрациях компонентов доминируют электростатические взаимодействия между поверхностно-активными ионами и противоположно заряженными ионами ПЭ. С увеличением концентрации компонентов возрастает роль гидрофобных взаимодействий между неполярными участками ПЭ и ПАВ. Связывание молекул ионных ПАВ полиэлектролитом при постепенном увеличении концентрации компонентов приводит к образованию комплексов ПАВ/ПЭ и последующему формированию мицеллоподобных структур (рис. 4).

Полученные результаты можно объяснить с позиций представлений образования комплексов ПАВ/ПЭ. Добавление небольших количеств катионного ПАВ приводит к образованию комплексов с преобладанием электростатических взаимодействий. Образующийся комплекс более гидрофобен, чем ПЭ за счет частичного блокирования заряда полианиона ГNa катионом ЦПБ, имеет большую поверхностную активность и в большей мере снижает поверхностное натяжение, чем ГNa.

В системе ЦПБ–ГNa, как показывают данные табл. 4 и рис. 4, ПЭ обладает меньшей поверхностной активностью, чем ПАВ.

В реакционной смеси ЦПБ–ГNa гумат натрия оказывает доминирующее влияние на поверхностное натяжение смеси. Весь ЦПБ связывается с относительно низко поверхностно-активным ГNa и поэтому поверхностное натяжение смеси выше, чем раствора

ЦПБ при той же концентрации. Наблюдается существенное отклонение между расчетной и экспериментальной зависимостью $\sigma = f(C)$. Неаддитивный характер изменения поверхностного натяжения с увеличением Z указывает на взаимодействие макромолекул ГNa и ЦПБ в реакционных смесях.

Таким образом, благодаря наличию карбоксильных и гидроксильных групп макромолекулы ГNa в водных растворах отрицательно заряжены и могут взаимодействовать с положительно заряженными группами ЦПБ, который является катионным ПАВ, с образованием ПАВ – полиэлектролитных (полимер коллоидных) комплексов. Этот вывод подтверждается данными о поверхностных свойствах реакционных смесей ЦПБ–ГNa.

Сорбционные свойства

В настоящее время хорошо известно, что взаимодействие тяжелых металлов с ГК происходит преимущественно по механизму образования комплексных соединений с координационной связью ГК – металл [3]. Координация осуществляется через атом кислорода донорных групп (метоксильных, карбоксильных, фенольных) ГК. Возможен и ионный обмен за счет ионов водорода кислородсодержащих функциональных групп ГК. Кислотные и полиэлектролитные свойства, в конечном итоге, определяют реакционную способность ГК, которые играют важную роль в процессах миграции тяжелых металлов, радионуклидов и органических экотоксикантов, контролируя их геохимические потоки в окружающей среде.

Таблица 5

Параметры сорбции катионов Cd^{2+} и Pb^{2+} ГК в статических условиях при 296 К

Образец	Уравнение Ленгмюра		Уравнение Фрейндлиха		По уравнению теории БЭТ	
	G_{∞} , мг/г	k	β , мг/г	n	A_m , мг/г	k
Pb^{2+}	89,286	0,034	4,988	0,435	54,350	31,600
Cd^{2+}	20,576	0,407	3,592	0,422	23,36	21,4

Выяснение механизма сорбции тяжелых металлов ГК требует предварительной оценки их сорбционной активности, изучения кинетики сорбции, получения равновесных изотерм сорбции и расчета предельной сорбционной емкости по известным моделям моно- и полимолекулярной адсорбции. В результате исследований установлено, что равновесие в изучаемой системе достигается в течение первых 10 мин. контакта фаз. Полученные данные использовали в дальнейшем для планирования и проведения эксперимента по изучению сорбции Pb^{2+} и Cd^{2+} из водных растворов ГК.

Расчет сорбционной способности ГК по отношению к ионам Cd^{2+} и Pb^{2+} проводили с помощью уравнений изотерм Фрейндлиха, Ленгмюра (теории мономолекулярной адсорбции), а также уравнения Брунауэра, Эммета и Теллера (теория БЭТ), описывающего полимолекулярную адсорбцию. Использование для обработки экспериментальных данных разных уравнений обусловлено неоднородностью сорбционных центров ГК, а также характером изотерм сорбции [4, 58-64].

Основные области диссоциации карбоксильных и фенольных гидроксильных групп характеризуются рК 4,4 и 9,2 соответственно. Следовательно, изотерма сорбции вряд ли может быть однородной во всем диапазоне насыщения ГК ионами металла. При этом в реальных условиях возможно наложение зависимостей, характеризующих сорбцию ионов металлов с участием функциональных групп разных типов [8, 71-75]. Предельная сорбция и коэффициенты к уравнениям изотерм сорбции представлены в табл. 5.

Как видно из табл. 2 и 5, для исследованных образцов наблюдается хорошее соответствие

результатов определения карбоксильных групп и сорбционных характеристик ГК, рассчитанных по уравнению Ленгмюра ($R^2 = 0,4634$ – умеренная корреляция) и согласно теории БЭТ ($R^2 = 0,9972$ – значимая корреляция).

Сорбционная способность ионов сильно зависит от радиуса иона и плотности заряда. Из двух ионов одинакового заряда большую сорбционную способность проявляют ионы большего радиуса, т. к. они сильнее поляризованы и лучше притягиваются заряженной поверхностью сорбента, а ионы меньшего радиуса более склоны к гидратации и формированию гидратной оболочки, снижающей такое электростатическое взаимодействие. Радиус иона кадмия составляет 0,099 нм, а радиус иона свинца – 0,126 нм, следовательно, сорбционная емкость сорбентов по отношению к ионам свинца должна быть выше, чем по отношению к ионам кадмия.

Таким образом, количественные характеристики процесса сорбции ионов тяжелых металлов ГК позволяют характеризовать их как высокоактивные природные сорбенты.

Выводы

Экспериментально показано, что сорбционные и комплексообразующие свойства макромолекул ГК в растворах определяются структурно-функциональными особенностями макромолекул и полиэлектролитной природой ГК. На основании экспериментальных данных по сорбции гуминовыми кислотами катионов Pb^{2+} и Cd^{2+} доказана принципиальная возможность применения гуминовых кислот, выделенных из верхового торфа, в качестве сорбентов тяжелых металлов.

Установлено, что благодаря наличию карбоксильных и гидроксильных групп макромолекулы ГNa в водных растворах отрицательно заряжены и могут взаимодействовать с положительно заряженными группами цетилпиридиний бромида, с образованием полимер коллоидных комплексов. При создании полимерных матриц для иммобилизации ферментов на основе природных ПЭ и комплексов с их участием в качестве комплексообразователя, могут быть использованы гуминовые кислоты, функциональный состав которых открывает широкие перспективы для их модификации.

Перспективность проведения исследований в области полимерных комплексов и сорбционных свойств ГК определяется для Архангельской области значительными ресурсами торфа, возможностью создания на их основе доступных и эффективных функциональных полимерных материалов различного назначения.

ЛИТЕРАТУРА:

1. Закис Г.Ф. Функциональный анализ лигнинов и их производных Рига: Зинатне, 1987. 230 с.
2. Климова В.А. Основные микрометоды анализа органических соединений. М.: «Химия», 1975. 224 с.
3. Куликова Н.А. Защитное действие гуминовых веществ по отношению к растениям в водных и почвенных средах в условиях абиотических стрессов: Дисс... докт. биол. наук. М.: МГУ, 2008. 302 с.
4. Минкина Т.М., Пинский Д.Л., Самохин А.П., Статовой А.А. Поглощение меди, цинка и свинца черноземом обыкновенным при моноэлементном и полиэлементном загрязнении // *Агрохимия*. 2005. № 8. С. 58-64.
5. Орлов Д.С. Гумусовые кислоты почв. М.: МГУ. 1974. 177 с.
6. Орлов Д.С., Садовникова Л.К., Суханова Н.И. *Химия почв*. М.: «Вышая школа». 2005. 558 с.
7. Перминова И.В. Анализ, классификация и прогноз свойств гумусовых кислот: Автореферат дисс... докт. хим. наук 2000. 50 с.
8. Портнова А.В., Вельхин В.В. Иммобилизация ионов меди (II) гуминовой кислотой, переведенной в малорастворимое состояние // *Вестник НУ им. Н.И. Лобачевского*. 2008. № 4.
9. Стокс Р., Робинсон Р. Растворы полиэлектролитов. М., 1963. 647 с.
10. Хилько С.Л., Титов Е.В. Физико-химические свойства солей гуминовых кислот // *Химия твердого топлива*. 2006. № 3.

УДК 539.6

Стовбун С.В., Михайлов А. И., Скоблин А. А.

Институт химической физики имени Н.Н. Семенова РАН (г. Москва)

ОПРЕДЕЛЕНИЕ ПОНЯТИЯ НАНОРАЗМЕРНОСТИ ЧЕРЕЗ ЭНЕРГЕТИЧЕСКИЙ СПЕКТР ОБЪЕКТОВ

S. Stovbun, A. Mikhailov, A. Skoblin

N.N. Semenov Institute of Chemical Physics of RAS (Moscow)

DEFINITION OF NANOPARTICLES THROUGH THE ENERGY SPECTRUM OF OBJECTS

Аннотация. Предложено физически корректное определение наночастицы как объекта, у которого расстояния между соседними энергетическими уровнями, определяющие его физико-химические свойства, имеют порядок фактически существующей на поверхности Земли температуры. Размер такого объекта оказывается равным нескольким нанометрам, что обосновывает интуитивистское метрическое определение нанобъекта, опирающееся на размер атомов и молекул. Рассмотрена связь спектрального определения нанобъектов и антропного принципа.

Abstract. The article offers physically correct definition of nanostructure as an object for which the distances between adjacent energy levels that determine its physical and chemical properties has the same order of temperature that exists on the Earth surface. The size of such an object is equal to several nanometers, which justifies the definition of nanostructure, based on the size of atoms and molecules. The relationship between nanoobjects and the anisotropic principle based on spectral determination is considered.

Ключевые слова: нанобъект, наноразмерность, энергетический уровень, предбиологические структуры, потенциальная яма

Key words: nanoobject, nanosized, energy level, prebiological structure, potential well

Традиционное определение наночастиц, нанотехнологии и комплекса связанных с ними понятий, обозначаемых термином наноразмерность, восходит к размеру атома, составляющему несколько десятых долей нанометра. Соответственно, объекты, состоящие из актуально конечного количества атомов или молекул, имеют размер от одного до нескольких десятков нанометров. Эти соображения приводят к метрическому определению наноразмерности [5]:

$$L \sim 1 - 100 \text{ нм} = 10^{-9} - 10^{-7} \text{ м.} \quad (1)$$

С нанобъектами связываются большие надежды: овладение манипуляциями с ними должно обеспечить принципиально новые возможности для человечества [7].

Рассмотренное выше «метрическое» определение наноразмерности является интуити-

© Стовбун С.В., Михайлов А.И., Скоблин А.А.

Статья выполнена в рамках работы по Государственному контракту № 14.740.11.90629 от 05 октября 2010 г.

вистским, так как не опирается на физические значимые основания, объясняющие уникальность свойств нанообъектов. Поставим задачу сформулировать физически обоснованное определение понятия нанообъекта. Для этого прежде всего заметим, что основной частицей, с поведением которой связаны химические, электрические, механические и другие свойства реальных физических тел, является электрон. Любые изменения, происходящие в физических телах, сопровождаются переходами электронов из одного энергетического состояния в другое и связаны с изменением энергии, обыкновенно соответствующей *разности энергий соседних электронных уровней*. Поэтому определение физических свойств тела естественно связать с указанными спектральными понятиями, соответствующими реальным физическим изменениям объектов.

Далее отметим, что существует естественная энергетическая единица, опирающаяся на среднюю температуру, имеющуюся на поверхности Земли:

$$T \sim 300 \text{ К}, \quad kT \sim (1/2) 10^{-20} \text{ Дж}, \quad (2)$$

где k – постоянная Больцмана.

Физические объекты естественно считать:

– существенно квантовыми, если разность ΔE между уровнями энергии соседних состояний объекта существенно больше температуры, выраженной в энергетических единицах:

$$\Delta E \gg kT, \quad (3)$$

так что соседние квантовые состояния объекта термически не перемешиваются и хорошо различимы;

– макроскопическими в противоположной ситуации, то есть когда расстояния между энергетическими уровнями малы в сравнении с температурой:

$$\Delta E \ll kT, \quad (4)$$

так что целые группы соседних состояний объекта практически неразличимы, что обеспечивает равновесное поведение макроскопического тела в виде термически активированного блуждания отвечающей ему фазовой точки по энергетической поверхности в фазовом пространстве и позволяет построить термодинамику макроскопических объектов [2];

– промежуточными, когда две рассматриваемые величины оказываются одного порядка:

$$\Delta E \sim kT. \quad (5)$$

Свойства таких объектов должны значительно отличаться как от свойств существенно квантовых объектов (атомов и молекул), так и от свойств макроскопических тел.

Энергетические уровни реальных физических объектов определяются, как правило, энергиями электронных состояний при заданном положении атомных ядер [3]. Поэтому для оценки энергии объектов воспользуемся простой одноэлектронными моделью. Именно, рассмотрим электрон в бесконечно глубокой сферической потенциальной яме диаметра D . Такая яма моделирует систему из достаточно большого количества атомов, внутри которой электрон связан усредненным потенциалом притяжения к атомам. Рассматривая сферически симметричные решения, получим спектр разрешенных энергий [3]:

$$E_n = (2 \pi^2 \hbar^2 / m \cdot D^2) n^2 \quad (n = 1, 2, 3 \dots), \quad (6)$$

где $\hbar$ – постоянная Планка, m – масса электрона. Характерное расстояние между уровнями составит:

$$\Delta E \sim 2 \pi^2 \hbar^2 / m \cdot D^2. \quad (7)$$

Подставляя (7) в (5), получим значение характерного размера потенциальной ямы, отвечающей объекту, промежуточному между макроскопическим и существенно квантовым:

$$D \sim (2 p^2 h^2 / m \cdot k \cdot T)^{1/2} \sim 7 \cdot 10^{-9} \text{ м} = 7 \text{ нм.} \quad (8)$$

Теперь рассмотрим случай, когда яма диаметра D имеет характерную глубину U , и потенциал не постоянен внутри ямы. Прежде всего отметим, что если яма является достаточно мелкой, а именно, если характерное значение потенциала U удовлетворяет неравенству:

$$U \ll h^2 / m \cdot D^2, \quad (9)$$

то, в соответствии с классическим результатом Пайерлса, такая яма вообще не имеет связанных состояний [3].

Пусть теперь яма является умеренно глубокой, а именно, выполняется соотношение:

$$U \sim h^2 / m \cdot D^2. \quad (10)$$

Электрон в такой яме имеет импульс, все три компоненты которого, в соответствии с соотношением неопределенности, имеют следующий порядок:

$$P_x \sim P_y \sim P_z \sim h / m \cdot D. \quad (11)$$

Соответственно, кинетическая энергия электрона T^* имеет порядок:

$$T^* \sim (P_x^2 + P_y^2 + P_z^2) / 2m \sim 3 h^2 / 2m \cdot D^2. \quad (12)$$

Будем полагать, что движение электрона в яме является квазиклассическим и периодическим во времени (что соответствует связанному состоянию). Тогда средняя за период потенциальная $\langle U^* \rangle$ и кинетическая $\langle T^* \rangle$ энергии электрона совпадают [4]:

$$\langle U^* \rangle \sim \langle T^* \rangle \sim 3 h^2 / 2m \cdot D^2, \quad (13)$$

а потому средняя за период полная энергия $\langle E^* \rangle$ электрона составляет:

$$\langle E^* \rangle \sim 3 h^2 / m \cdot D^2. \quad (14)$$

Расстояния между соседними энергетическими уровнями должны иметь тот же порядок величины, что и значения энергии:

$$\Delta E \sim 3 h^2 / m \cdot D^2. \quad (15)$$

Для того, чтобы объект был промежуточным между существенно квантовыми и классическими объектами, необходимо выполнение соотношения (5). С его учетом получаем из (15) оценку на размер объекта:

$$D \sim (3 h^2 / m \cdot k \cdot T)^{1/2} \sim 2 \cdot 10^{-9} \text{ м} = 2 \text{ нм.} \quad (16)$$

Таким образом, во всех рассмотренных случаях оказывается, что объект, промежуточный между существенно квантовым и макроскопическим в смысле его энергетического спектра, оказывается нанообъектом в метрическом смысле. Полученный результат позволяет придать понятиям «нано-размерность» и «нанообъект» конкретный физический смысл: *нанообъект — это объект, у которого расстояния между соседними энергетическими уровнями сопоставимы с фактически имеющейся на поверхности Земли температурой*. Полученный результат можно сформулировать иначе: для объектов размером в несколько диаметров молекул расстояние между энергетическими уровнями имеет порядок характерной температуры на Земле. Дадим интерпретацию этому факту.

Отметим, что существование нанообъектов – необходимая предпосылка возникновения предбиологических структур. Если температура в какой-либо области много больше разницы между уровнями энергии наносистем, то в этой области наносистемы быстро термически разрушаются. Если где-либо температура много меньше разницы между уровнями энергии наносистем, то

наносистемы там «замерзают», то есть стабилизируются в конкретном состоянии наподобие кристалла. В обоих случаях оказывается невозможным устойчивое движение достаточно стабильных наносистем, то есть существование предбиологических структур с развитой молекулярной динамикой, а с ними и жизнь. Это позволяет сформулировать вывод в духе антропного принципа [1]: *совпадение расстояний между соседними энергетическими уровнями объектов размером в несколько молекулярных диаметров и характерной температуры на поверхности Земли связано с тем, что только при наличии такого совпадения на Земле может су-*

ществовать жизнь.

ЛИТЕРАТУРА:

1. Базь А.И., Зельдович Я.Б., Переломов А.М. Рассеяние, реакции и распады в нерелятивистской квантовой механике. М.: Наука, 1966. 544 с.
2. Ландау Л.Д., Лифшиц Е.М. Теоретическая физика. Статистическая физика. Т. V. Ч. 1. Изд. 3. М.: Наука, 1976. 584 с.
3. Ландау Л.Д., Лифшиц Е.М. Теоретическая физика. Квантовая механика. Т. III., нерелятивистская теория. Изд. 3. М.: Наука, 1974. 752 с.
4. Ландау Л.Д., Лифшиц Е.М. Теоретическая физика. Механика. Т. I.. Изд. 3. М.: Наука, 1973. 208 с.
5. Baraton M.I. Synthesis, Functionalization and Surface Treatment of Nanoparticles. L.A.: Am. Sci., . 2002. 323 p.
6. Barrow J.D., Tipler F.J. The Anthropic Cosmological Principle. Oxford: Oxford University Press, 1986. 706 p.
7. Drexler K.E. Engines of Creation. The Coming Era of Nanotechnology. N.Y.: Anchor Books, 1986. 646 p.

НАШИ АВТОРЫ

Аббасов Вагиф Магеррам оглы, член корреспондент Национальной академии наук Азербайджана, заведующей лабораторией Института нефтехимических процессов им. Ю. Мамедалиева Национальной академии наук Азербайджана; e-mail: azmbi@mail.ru

Абиев Гусейн Азизулла оглы, кандидат биологических наук, доцент, докторант Института радиационных проблем Национальной академии наук Азербайджана; e-mail: Huseyn.Abiyev@mail.ru

Агабекова Рахила Алекбер кызы, кандидат биологических наук, доцент кафедры микробиологии Бакинского государственного университета; e-mail: azmbi@mail.ru

Аксенов Андрей Сергеевич, кандидат технических наук, заведующий лабораторией Института экологических проблем Севера Уральского отделения Российской академии наук (г. Архангельск); e-mail: biopolimer@iepn.ru

Алесина Надежда Валерьевна, аспирант кафедры ботаники Московского государственного областного университета; e-mail: nva2104@mail.ru

Арешидзе Давид Александрович, кандидат биологических наук, доцент кафедры теории и методики физвоспитания и спорта Московского государственного областного университета; e-mail: labim@stavs.ru

Ахмедова Айнур Фаик кызы, аспирант кафедры биохимии и биотехнологии Бакинского государственного университета; e-mail: azmbi@mail.ru

Ахмедова Фараат Рамазан кызы, доктор биологических наук, профессор кафедры микробиологии Бакинского государственного университета; e-mail: mpanah@mail.ru

Бабаев Эльмар Тофик оглы, младший научный сотрудник группы «Токсикология и биохимия животных ядов» Института зоологии Национальной академии наук Азербайджана; e-mail: Doctor.Elmar@mail.ru

Баскаков Владимир Ильич, научный сотрудник Института химической физики им. Н.Н. Семенова Российской академии наук; e-mail: wowa@panavir.ru

Баурин Павел Витальевич, аспирант кафедры ботаники и основ сельского хозяйства Московского государственного областного университета; e-mail: pavelbaurin@gmail.com

Бельчева Нина Николаевна, кандидат биологических наук, ведущий научный сотрудник Тихоокеанского океанологического института им. В. И. Ильичева Дальневосточного отделения Российской академии наук (г. Владивосток); e-mail: belcheva@poi.dvo.ru

Блажнова Галина Николаевна, магистр медико-биолого-химического факультета Ставропольского государственного университета; e-mail: labim@stavs.ru

Бойцова Татьяна Александровна, кандидат химических наук, старший научный сотрудник Института экологических проблем Севера Уральского отделения Российской академии наук (г. Архангельск); e-mail: tboitsova@yandex.ru

Бровко Ольга Степановна, кандидат химических наук, доцент, научный сотрудник Института экологических проблем Севера Уральского отделения Российской академии наук (г. Архангельск); e-mail: brovko-olga@rambler.ru

Гаврилова Светлана Евгеньевна, кандидат биологических наук, ассистент кафедры ботаники и основ сельского хозяйства Московского государственного областного университета; e-mail: s-e-gavrilova@rambler.ru

Ганина Тамара Дмитриевна; аспирант кафедры геологии и геоэкологии Московского государственного областного университета; e-mail: irinda2142@yandex.ru

Гахраманова Фарида Хосров кызы, кандидат биологических наук, ученый секретарь Института микробиологии Национальной академии наук Азербайджана; e-mail: azmbi@mail.ru

Гусейнова Лала Абуали кызы, кандидат биологических наук, старший лаборант Бакинского государственного университета; e-mail: mpanah@mail.ru

Гюльяхмедов Сахиб Гурбан, кандидат биологических наук, доцент кафедры биохимии и биотехнологии Бакинского государственного университета; e-mail: sahib66@rambler.ru

Занин Анатолий Михайлович, кандидат физико-математических наук, старший научный сотрудник Института химической физики им. Н.Н. Семенова Российской академии наук; e-mail: info@panavir.ru Жуковская Авианна Фаязовна, соискатель, младший научный сотрудник лаборатории морской экотоксикологии Тихоокеанского океанологического Института им. В. И. Ильичева Дальневосточного отделения Российской академии наук (г. Владивосток); e-mail: avianna@poi.dvo.ru

Зверькова Юлия Сергеевна, доцент Военной академии войсковой противовоздушной обороны Вооруженных Сил Российской Федерации им. Маршала Советского Союза А. М. Василевского; e-mail: julia-150880@yandex.ru

Катунина Людмила Семеновна, кандидат биологических наук, старший научный сотрудник лаборатории питательных сред Ставропольского научно-исследовательского противочумного института; e-mail: labim@stavsu.ru

Коничев Александр Сергеевич, доктор биологических наук, профессор, почетный работник высшего профессионального образования РФ, директор Естественно-экологического института, научный руководитель научно-исследовательской лаборатории экологической биохимии Московского государственного областного университета; e-mail: pavelbaurin@gmail.com

Костяновский Рэмир Григорьевич, профессор, доктор химических наук, заведующий лабораторией стереохимии Института химической физики им. Н.Н. Семенова Российской академии наук; e-mail: kost@center.chph.ras.ru

Кузнецова Ирина Андреевна, аспирант Института экологических проблем Севера Уральского отделения Российской академии наук (г. Архангельск); e-mail: kia.iepn@gmail.com

Кулиев Акиф Алекбер оглы, доктор биологических наук, профессор, декан биологического факультета Бакинского государственного университета; e-mail: sahib66@rambler.ru

Курчева Светлана Александровна, научный сотрудник научно-производственной лаборатории препаратов для диагностики особо опасных и других инфекций Ставропольского научно-исследовательского противочумного института; e-mail: kurcheva@yandex.ru

Кучеров Владимир Анатольевич, заместитель генерального директора по маркетингу, рекламе и продажам ООО «Био Фарма»; e-mail: kucherov@panavir.ru

Ларионов Николай Сергеевич, кандидат химических наук, научный сотрудник Института экологических проблем Севера Уральского отделения Российской академии наук (г. Архангельск); e-mail: nikolay.larionov@iepn.ru

Ларичев Тимофей Сергеевич, соискатель кафедры биологии животных и растений Московского городского педагогического университета; e-mail: naren@yandex.ru

Лукьянова Татьяна Семеновна, доктор географических наук, профессор кафедры геологии и геоэкологии Московского государственного областного университета; e-mail: dekanat_gef@mail.ru

Марахова Анна Игоревна, кандидат фармацевтических наук, ассистент кафедры фармакогнозии Первого Московского государственного медицинского университета им. И.М. Сеченова; e-mail: pavelbaurin@gmail.com

Матвеев Николай Петрович, кандидат географических наук, профессор кафедры общей физической географии и охраны природы Московского государственного областного уни-

верситета; e-mail: dekanat_gef@mail.ru

Михайлов Альфа Иванович, профессор, доктор химических наук, старший научный сотрудник Института химической физики им. Н.Н. Семенова Российской академии наук; e-mail: alfaim@mail.ru

Мартышов Александр Владимирович, аспирант кафедры безопасности жизнедеятельности Московского городского педагогического университета; e-mail: alex.markus@mail.ru

Мехрабова Метанет Ахмедовна, кандидат физико-математических наук, доцент, ведущий научный сотрудник Института радиационных проблем Национальной академии наук Азербайджана; e-mail: Mehrabova@mail.ru

Мурадов Панах Зулфигар оглы, доктор биологических наук, член-корреспондент Национальной академии наук Азербайджана, заместитель директора Института микробиологии Национальной академии наук Азербайджана; e-mail: mpanah@mail.ru

Никитина Мария Викторовна, аспирант, ассистент кафедры химии Поморского государственного университета им. М.В. Ломоносова (г. Архангельск); e-mail: fc.chemistry@pomorsu.ru

Панков Сергей Александрович, кандидат экономических наук, доцент Ставропольского государственного университета, e-mail: snisarenko_t@rambler.ru

Паламарчук Ирина Анатольевна, кандидат химических наук, старший научный сотрудник Института экологических проблем Севера Уральского отделения Российской академии наук (г. Архангельск); e-mail: IrPalamarchuk@mail.ru

Пенькова Надежда Ивановна, аспирант Ставропольского государственного университета, e-mail: labim@stavsru.ru

Поликарпова Людмила Викторовна, научный сотрудник лаборатории экологической биохимии Московского государственного областного университета; e-mail: ljudmilapolikarpova@yandex.ru

Попова Людмила Федоровна, кандидат химических наук, профессор Российской академии естествознания, доцент кафедры химии Поморского государственного университета им. М.В. Ломоносова (г. Архангельск); e-mail: ludap9857@pochta.ru

Снисаренко Татьяна Александровна, доктор биологических наук, профессор Московского государственного областного университета; e-mail: snisarenko_t@rambler.ru

Расулзаде Злата Ислам кызы, диссертант Республиканской противочумной станции им. С. Имамалиева Министерства здравоохранения Республики Азербайджан (г.Баку); e-mail: zlata_r@rambler.ru

Расулова Гюлшан Р., диссертант Института микробиологии Национальной академии наук Азербайджана; e-mail: azmbi@mail.ru

Рачков Игорь Геннадьевич, кандидат биологических наук, ведущий научный сотрудник лаборатории свиноводства Ставропольского научно-исследовательского института животноводства и кормопроизводства; e-mail: RIGEN26@mail.ru

Сафронов Дмитрий Юрьевич, старший научный сотрудник Института химической физики им. Н.Н. Семенова Российской академии наук; e-mail: dy@panavir.ru

Скоблин Алексей Алексеевич, кандидат физико-математических наук, научный сотрудник Института химической физики им. Н.Н. Семенова Российской академии наук; e-mail: info@panavir.ru

Слобдскова Валентина Владимировна, младший научный сотрудник Тихоокеанского океанологического институт им. В.И. Ильичева Дальневосточного отделения Российской академии наук; e-mail: chelomin@poi.dvo.ru

Солодова Евгения Евогеньевна, научный сотрудник Тихоокеанского океанологического института им. В.И. Ильичева Дальневосточного отделения Российской академии наук; e-mail: chelomin@poi.dvo.ru

Старцева Ольга Леонидовна, кандидат биологических наук, старший научный сотрудник лаборатории питательных сред Ставропольского научно-исследовательского противочумного института; e-mail: labim@stavsus.ru

Стовбун Сергей Витальевич, кандидат физико-математических наук, старший научный сотрудник Института химической физики им. Н.Н. Семенова Российской академии наук; e-mail: info@panavir.ru

Сушкова Ирина Владимировна, аспирант кафедры геологии и геоэкологии Московского государственного областного университета; e-mail: irinda2142@yandex.ru

Таран Татьяна Викторовна, доктор медицинских наук, заведующая лабораторией питательных сред Ставропольского научно-исследовательского противочумного института; e-mail: labim@stavsus.ru

Тимченко Людмила Дмитриевна, доктор ветеринарных наук, профессор кафедры общей биологии, академик Российской академии естественных наук, заведующая Проблемной научно-исследовательской лаборатории экспериментальной иммуноморфологии, иммунопатологии и иммунобиотехнологии Ставропольского государственного университета, главный научный сотрудник Южного научного центра Российской академии наук; e-mail: labim@stavsus.ru

Топчиева Шафига Аниваровна, доктор биологических наук, главный научный сотрудник, руководитель группы «Токсикология и биохимия животных ядов» Института зоологии Национальной академии наук Азербайджана; e-mail: Shtopchiyeva@mail.ru

Фарзалиев Талех Надир Оглы, начальник отдела контроля качества ООО «Био Фарма»; e-mail: taleh@panavir.ru

Федоровский Николай Николаевич, кандидат химических наук, профессор кафедры неорганической химии Московского государственного университета технологий и управления им. К.Г. Разумовского; e-mail: pavelbaurin@gmail.com

Филоненко Андрей Владимирович, аспирант кафедры ботаники биолого-химический факультета Московского педагогического государственного университета; e-mail: avfilonenko@yandex.ru

Чекамеева Вера Леонидовна; тренинг-менеджер ООО «Био Фарма»; e-mail: vera@panavir.ru

Челомин Виктор Павлович, доктор биологических наук, старший научный сотрудник Тихоокеанского океанологического института им. В. И. Ильичева Дальневосточного отделения РАН (г. Владивосток); e-mail: chelomin@poi.dvo.ru

Черников Сергей Валерьевич, аспирант кафедры общей биологии Ставропольского государственного университета. E mail: labim@stavsus.ru

Черникова Мария Александровна, студентка фармацевтического факультета Первого Московского государственного медицинского университета им. И.М. Сеченова; e-mail: pavelbaurin@gmail.com

Якубович Любовь Михайловна, кандидат химических наук, доцент кафедры химии медико-профилактического факультета Первого Московского государственного медицинского университета им. И.М. Сеченова; e-mail: pavelbaurin@gmail.com

СОДЕРЖАНИЕ

РАЗДЕЛ I. БИОЛОГИЯ

Абиев Г.А., Топчиева Ш.А., Мехрабова М.А., Бабаев Э.Т. Определение радионуклидов в составе змеиного яда и возможности создания детекторов на их основе.....	7
Алесина Н.В., Снисаренко Т.А. Влияние загрязнения почвы нефтепродуктами на актиномицеты, обитающие на корнях растений на примере овса посевного (<i>Avena sativa</i>).....	12
Ахмедова А.Ф., Гюльахмедов С.Г., Кулиев А.А. Влияние различных факторов на Протеолитическую активность штамма <i>Enterococcus faecalis</i> AN1.....	17
Гаврилова С.Е., Девятков А.Г. Анатомо-морфологическое строение плодов видов рода <i>Viola</i> L.....	21
Гоголицын В.А. Распределение хлорофиллов в устьевой части реки Северная Двина.....	29
Жуковская А.Ф., Бельчева Н.Н., Челомин В.П. Идентификация и частичная характеристика двух высокомолекулярных кадмий-связывающих белков приморского гребешка <i>Mizuhopecten yessoensis</i>	36
Занин А.М., Стовбун С.В. О калибровке ингалятора для продукции субмикроскопической фракции.....	43
Катунина Л.С., Тимченко Л.Д., Арешидзе Д.А., Пенькова Н.И., Таран Т.В., Старцева О.Л. Разработка новых питательных сред для культивирования легионелл на основе кислотного гидролизата моркови с использованием нетрадиционных стимулирующих добавок.....	45
Коничев А.С., Федоровский Н.Н., Марахова А.И., Баурин П.В., Якубович Л.М., Черникова М.А. Традиционные и современные методы экстракции биологически-активных веществ из растительного сырья: перспективы, достоинства, недостатки.....	49
Курчева С.А. Разработка биотехнологии производства иммунодиагностических препаратов для выявления возбудителя туляремии.....	55
Ларичев Т.С. К вопросу о гнездовой биологии орла-карлика (<i>Hieraaetus pennatus</i> Gm.) в Европейской России.....	58
Мартышов А.В. Влияние комплекса упражнений на развитие приспособительных реакций организма к физическим нагрузкам при подготовке единоборцев на учебно-тренировочных занятиях в обучающем режиме.....	60
Поликарпова Л.В. Сезонная динамика активности кислой фосфатазы и нуклеаз в печени и жабрах леща (<i>Abramis brama</i>).....	65
Расулзаде З.И., Гусейнова Л.А., Мурадов П.З., Ахмедова Ф.Р. Результаты апробации ремедиации загрязненных почв <i>In situ</i> путем интродукции выделенных штаммов <i>Rhodococcus erythropolis</i>	69
Расулова Г.Р., Аббасов В.М., Гахраманова Ф.Х., Агабекова Р.А. Антимикробное действие композиций фракций белого нафталанского масла с эфирным маслом <i>Staphylococcus aureus</i>	73
Рачков И.Г. Использование гормонального препарата оксипрогестерон капроат для предупреждения ранних эмбриональных потерь.....	79
Сафронов Д.Ю., Стовбун С.В., Кучеров В.А., Фарзалиев Т.Н., Чекамеева В.Л. Противовоспалительный эффект панавира в модельных экспериментах и клинической практике.....	82
Слободскова В.В., Солодова Е.Е., Челомин В.П. Использование моллюска <i>Corbicula japonica</i> (<i>bivalvia</i>) для оценки генотоксичности эстуарных вод.....	86
Стовбун С.В., Михайлов А.И., Занин А.М., Костяновский Р.Г. Хиральность при самоорганизации струн в жидкой фазе и принципы экономии в природе.....	92
Тимченко Л.Д., Арешидзе Д.А., Черников С.В., Блажнова Г.Н. Показатели физического развития куриного эмбриона.....	98
Филоненко А.В. Гистогенез перикарпия и структура плодов <i>Fontanesia</i> (<i>oleaceae</i>) в связи с систематическим положением рода.....	102

Филоненко А.В. Структура и развитие трихом на плодах представителей рода <i>Fraxinus (oleaceae)</i>	107
--	-----

РАЗДЕЛ II. ГЕОГРАФИЯ

Зверькова Ю.С. Современное состояние реки Днепр на территории Смоленской области в условиях антропогенного воздействия.....	112
Лукиянова Т.С, Матвеев Н.П., Ганина Т.Д., Сушкова И.В. Современные проблемы пожароопасных территорий Западной Мещеры.....	117
Никитина М.В., Попова Л.Ф. Трансформация подвижных форм металлов в почвах городских ландшафтов.....	122
Панков С.А. Моделирование эколого-экономических аспектов землепользования на месторождении общераспространенных полезных ископаемых.....	127

РАЗДЕЛ III. ХИМИЯ

Боголицын К.Г., Бойцова Т.А., Кузнецова И.А., Ларионов Н.С., Паламарчук И.А., Аксенов А.С., Бровко О.С. Особенности комплексообразующих и сорбционных свойств гуминовых кислот верхового торфа Архангельской области.....	132
Стовбун С.В., Михайлов А.И., Скоблин А.А. Определение понятия наноразмерности через энергетический спектр объектов.....	140
Наши авторы.....	144

CONTENTS

SECTION I. BIOLOGY

H. Abiyev, M. Mehrabova, Sh. Topchiyeva, E. Babayev Identifying radionuclids in snake venom and possibilities of creating detectors on their basis.....	7
N. Alesina, T. Snisarenko Influence of oil-contaminated soils on actinomyces by example of <i>Avena sativa</i>	12
A. Ahmedova, S. Gulahmedov, A. Kuliyeu Effect of different factors on proteolytic activity of strain <i>Enterococcus faecalis</i> AN1	17
S. Gavrilova, A. Deviatov Anatomic-morphological structure of fruit species <i>Viola</i> L.	21
V. Gogolitzyn The distribution of chlorophylls in the mouth of the Northern Dvina river	29
A. Zhukovskaya, N. Belcheva, V. Chelomin Involvement of high molecular weight Cd-binding proteins in Cd-accumulation in the scallop <i>Mizuhopecten yessoensis</i>	36
A. Zanin S., Stovbun Calibration of the inhaler for the production of submicroscopic fraction	43
L. Katunina, T. Taran, O. Startseva, L. Timchenko, N. Pen'cova, D. Areshidze Working out of new nutrient mediums for cultivating legionella on the basis of carrot acid hydrolization with the use of nonconventional stimulating additives	45
A. Konichev, P. Baurin, N. Fedorovskiy, A. Marakhova, M. Chernikova	49
S. Kurcheva Elaborating biotechnology for producing immunodiagnostic preparations for tularemia pathogene detection	55
T. Larichev On the issue of nesting biology of the booted eagle on the territory of European Russia	58
A. Martyshov Influence of the set of exercises on the development of adaptive body reactions of single combat wrestler to physical stress during training sessions in adaptive mode	60
L. Polikarpova Seasonal dynamics of acid phosphatase and nucleases activity in liver and branchiae of bream (<i>Abramis brama</i>)	65
Z. Rasulzade, L. Huseynova, F. Akhmedova, P. Muradov The results of oil polluted soils remediation <i>In situ</i> by introducing the <i>Rhodococcus erythropolis</i> culture	69
G. Rasulova, F. Gakhramanova, V. Abbasov, R. Agabekova Antibacterial influence of the composition of naphthalen oil fractions and essential oils of plants	73
I. Rachkov The use of oxiprogesterone capronat for early embryonic losses prophylaxis	79
S. Stovbun, D. Safronov, V. Kuchеров, T. Farzaliev, V. Chekameyeva Anti-inflammatory panavir effect in simulation experiments and clinical practice	82
V. Slobodskova, V. Chelomin, E. Solodova Use of the mollusc <i>Corbicula japonica (bivalvia)</i> to estimate genotoxicity of estuarine waters	86
S. Stovbun, A. Mikhailov, A. Zanin, R. Kostyanovsky Chirality by self-ordering of strings in liquid phase and lexparsimoniae in nature	92
L. Timchenko, S. Chernikov, G. Blazhnova, D. Areshidze Indexes of the physical development of the chick embryo	98
A. Filonenko Pericarp histogenesis and fruit structure of <i>Fontanesia (oleaceae)</i> in relation with its systematic position	102
A. Filonenko Structure and development of trichomes on <i>Fruit of genus fraxinus (oleaceae)</i>	107

SECTION II. GEOGRAPHY

Yu. Zver'kova The contemporary state of the river dneperon the territiry of the Smolensk regionunder the condition of anthropogenic influence	112
T. Lukyanova, N. Matveyev, T. Ganina, I. Sushkova Current issues of fire risk territories of West Meschera	117
M. Nikitina, L. Popova Transformation of mobile forms of metals in the soilsof urban landscapes	122
S. Pankov Modeling ecological and economic aspectsof land-utilization at widespread minerals deposits ...	127

SECTION III. CHEMISTRY

K. Bogolitsyn, T. Boitsova, I. Kuznetsova, N. Larionov, I. Palamarchuk, A. Aksyonov, O. Brovko Complexation and sorption propertiesof humic acid extracted out of Arkhngelsk peat	132
S. Stovbun, A. Mikhailov, A. Skoblin Definition of nanoparticles through the energyspectrum of objects	140
Our autors.....	144

РАЗДЕЛ I БИОЛОГИЯ

УДК 573.4,577.3

Абиев Г.А., Мехрабова М.А.

Институт радиационных проблем НАНА (Баку)

Топчиева Ш.А., Бабаев Э.Т.

Институт зоологии НАНА (Баку)

ОПРЕДЕЛЕНИЕ РАДИОНУКЛИДОВ В СОСТАВЕ ЗМЕИНОГО ЯДА И ВОЗМОЖНОСТИ СОЗДАНИЯ ДЕТЕКТОРОВ НА ИХ ОСНОВЕ

H. Abiyev, M. Mehrabova

Institute of Radiation Problems of ANAS (Baku)

Sh. Topchiyeva, E. Babayev

Institute of Zoology of ANAS (Baku)

IDENTIFYING RADIONUCLIDS IN SNAKE VENOM AND POSSIBILITIES OF CREATING DETECTORS ON THEIR BASIS

Аннотация. Было определено наличие радионуклидов низкой активности в образцах змеиного яда. Выявлена активность урана и цезия в составе кристаллов змеиного яда. Впервые создан гетероконттакт моноселе-нид индия р-типа проводимости и кристаллов змеиного яда. Исследовано влияние технологических факторов на электрические характеристики гетероконттакта. Показано, что в этом контакте кристаллы змеиного яда ведут себя аналогично полупроводнику р-типа проводимости. Обнаружено, что исследуемый гетероконттакт обладает заметной фоточувствительностью в ближней области инфракрасного спектрального диапазона. Рассматривается вопрос о применении змеиного яда в приборостроении в качестве фотодетектора.

Ключевые слова: яд, гюрза, *Macrovipera lebetina obtusa*, гетероконттакт, цезий радионуклиды, детекторы.

Abstract. The presence of radionuclids of low activity has been stated in the samples of snake venom, namely uranium and caesium. For the first time heterocontact monocelenid, indium p-type of conductivity and crystals of snake venom has been created. The influence of technological factors on electric characteristics of heterocontact has been investigated. It is shown that in this contact the crystals of snake venom behave similarly to the semiconductor of r-type of conductivity. It has been revealed that the investigated heterocontact possesses appreciable photosensitivity in the area next to an infra-red spectral range. The question of snake venom application as photodetector in instrument making has been considered.

Key words: venom, vipera, *Macrovipera lebetina obtusa*, heterocontact, caesium, radionuclids, detectors.

Введение. Яды змей издавна привлекали внимание ученых как источники лекарственных средств, однако лишь в последние десятилетия в этом направлении достигнуты важные успехи. Змеиные яды представляют большую ценность для медицины и биологии [5, 791-799;

7, 138-143; 8, 268-269].

В результате активной деятельности человека все живые организмы на планете, в том числе и змеи, стали подвергаться дополнительному воздействию радиационного излучения. Два вида излучения – рентгеновские и гамма-лучи производят ионизирующее действие, α - и β -лучи имеют малую проникающую способность. Их влияние на облучаемые материалы незначительно.

Действие ионизирующей радиации на живой организм интересовало мировую науку с момента открытия и первых же шагов применения радиоактивного излучения, так как с самого начала исследователи столкнулись с его отрицательными эффектами. За последние годы радиационный фон окружающей среды, который на протяжении последних нескольких тысячелетий оставался стабильным, возрастает. С этой точки зрения изучение влияния радиации на окружающую среду представляет огромный интерес. Цель работы – выявление влияния радиации на яд кавказской гюрзы и возможности создания

детекторов на их основе.

Материалы и методы исследования. Материалом исследования являлся стандартный яд гюрзы. Определение тяжелых металлов в яде гюрзы проводили методом атомно-абсорбционной спектроскопии на атомно-абсорбционном спектрометре AAS-300 (Perkin Elmer, USA). Содержания радионуклидов в образцах змеиного яда, почв, растений и воды были проведены на гамма спектрометре «Canberra» с Ge HP-детектором (рис. 1).

Результаты исследования и их обсуждение. Методом атомно-абсорбционной спектроскопии на AAS-300 (Perkin Elmer, USA) в яде гюрзы определены содержание следующих металлов: Cd (0.012%), Ca(1.234%), Fe (0.487%) , Cr(0.171%), Zn (0.78%). Часть змеиного яда была подвергнута анализу на содержание радионуклидов на установке «CANBERRA», γ -spectrometers with HP Ge detector (рис.1). Время эксперимента – 24 часа. Спектр, определяющий активность радионуклидов в змеином яде представлен на рис. 2.



Рис.1. «CANBERRA», γ -spectrometers with HP Ge detector.

Нами было определено наличие природных радионуклидов низкой активности в образцах змеиного яда. Выявленная активность элемента урана в спектре яда является результатом радиационного фона, который

образуется при воздействии этого элемента в окружающей среде. После Чернобыльских событий в некоторых регионах Азербайджана в настоящее время имеется радиационный фон от элемента цезия. Это в свою очередь влияет на флору и фауну Азербайджана.

Наличие малой активности радионуклидов в исследуемых образцах яда свидетельствует о наличии влияния окружающей среды на продукты жизнедеятельности змей.

Радиационный фон радионуклидов (радий, цезий), определенный в змеином яде представлен в табл. 1. В таблице представлены радиоактивные элементы, имеющиеся в составе змеиного яда.

Исследования свойств различных классов гетероконтактов непрерывно расширяются, что в конечном итоге приводит как к совершенствованию параметров полупро-

водниковых приборов традиционного назначения, так и к обнаружению новых функциональных зависимостей, инициирующих разработки новых приборов и систем [1, 13-18]. В ряде недавних работ приводятся результаты исследований физических свойств биологических объектов [2, 36-41], а также полупроводник/биологический объект. При определенном конструктивном решении основные фотоэлектрические параметры таких структур могут быть на уровне или даже значительно превышать аналогичные величины серийно выпускаемых традиционных уст-

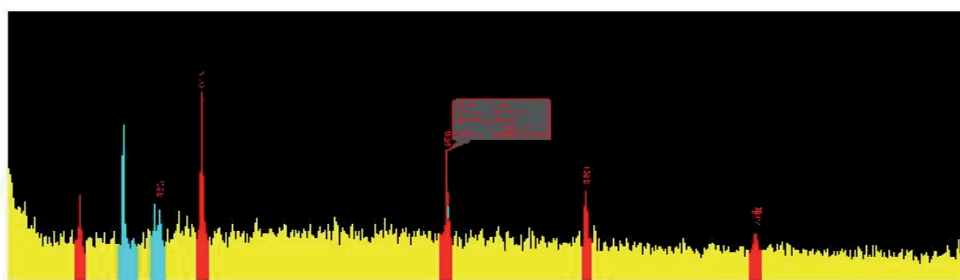


Рис.2. Спектр, определяющий активность радионуклидов в змеином яде.

Таблица 1

Радиационная активность элементов в змеином яде

Элементы	Радиационная активность, mBk/g
Ra ²²⁸	0.174 ± 0.090
Ra ²²⁶	2.48 ± 0.05
Cs ¹³⁷	MDA=0.315

ройств [3, 1201-1204; 4, 14; 6, 3541-3543].

В данной работе приводятся результаты первых исследований гетероконтакта полупроводник - кристаллы змеиного яда (на примере моноселенида индия InSe р-типа проводимости). Мы использовали змеиный яд в качестве материала для изготовления фоточувствительных устройств. Для изготовления гетероструктур использовались подложки из моноселенида индия InSe р-типа проводимости с концентрацией носителей заряда $p \approx 10^{14} \text{ см}^{-3}$ при $T = 300 \text{ К}$. Выбор данного полупроводника обусловлен целым рядом факторов, среди которых следует вы-

делять следующие:

- его слоистая структура, т. е. возможность получения путем скола моноселенида индия в воздушной атмосфере пластин с атомарно-зеркальной поверхностью и низким числом поверхностных состояний (меньше чем 10^{10} см^{-2});
- способностью создавать на его основе выпрямляющие барьеры в контакте с материалами как с меньшей, так и с большей работой выхода.

На свежесколотые полупроводниковые подложки с предварительно нанесенным с тыльной стороны омическим (серебря-

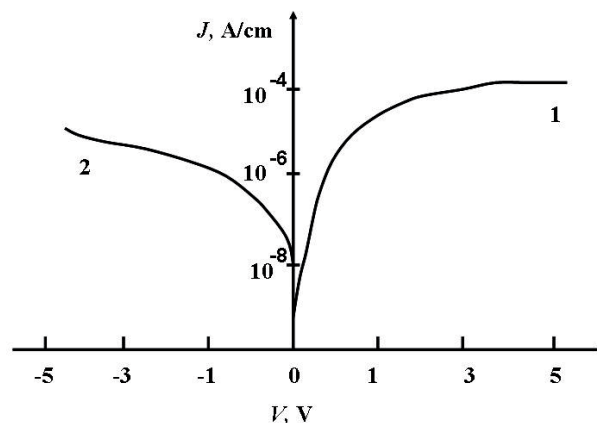


Рис. 3. Стационарные ВАХ гетероконтакта змеиный яд - p-InSe при температуре $T=300$ К. пропускное направление отвечает: 1- положительной, 2- отрицательной полярности внешнего смещения на змеиный яд.

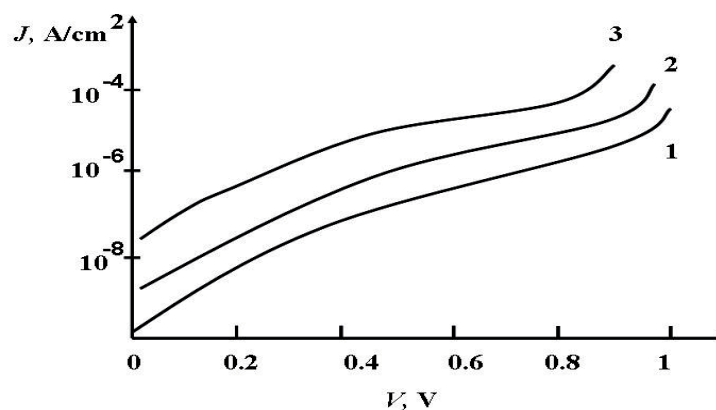


Рис. 4. Прямые ветви ВАХ гетероконтакта змеиный яд - p-InSe при различных температурах: T=220 К: 2- T=239 К: 3- T=300 К.

ным) контактом наносилась капля спиртово-водного раствора змеиного яда. Для получения равномерной по толщине пленки полупроводниковая подложка помещалась на центрифугу. Для токо-вывода со стороны змеиного яда также использовалось серебро. Толщина полученных таким образом пленок змеиного яда была в пределах $10\text{--}30\text{ }\mu\text{m}$, а их удельная проводимость составляла $\approx 10^{-8}\text{--}10^{-10}\text{ }\Omega^{-1}\text{cm}^{-1}$.

Измеренные стационарные вольт-амперные характеристики (ВАХ) змеиный яд - p-InSe проявляют четкий эффект выпрямления (рис. 1, зависимости 1): при напряжениях смещения $|V| = 2\text{--}2.5\text{ V}$ прямой ток превышает обратный не менее чем в 10^2 . При этом пропускное направление ВАХ соответствует

подключению плюса внешнего источника тока к p-InSe к змеиному яду. Принимая во внимание увеличение удельного сопротивления змеиного яда, этот факт может свидетельствовать о том, что биологический объект в контакте с полупроводником ведет себя аналогично материалу p-типа проводимости. При освещении структур змеиный яд-p-InSe возникает фотоэдс, причем змеиный яд заряжается положительно, что коррелируется с направлением пропускания ВАХ, соответствующих гетероконтакту. Максимальные значения напряжения холостого хода U достигались при освещении структур со стороны змеиного яда и при мощности падающего светового потока 100 mW/cm^2 составляли $\sim 0.45\text{ V}$.

Когда большая часть напряжения падает на змеиный яд, прямые ветви ВАХ такого гетероконтакта с учетом последовательного дифференциального сопротивления при $T=300\text{ K}$ (рис. 3, зависимость) имеют три участка в области низких смещений (рис. 4):

$J \sim \exp\{eV/nkT\}$, где $n \approx 2$.

При $V \approx 4-9\text{ V}$ $J \sim \exp(\alpha V + \beta T)$, где α - и β -параметры, не зависящие от напряжения и температуры.

При $V > 8.7-9\text{ V}$ $J \sim \exp\{eV/nkT\}$, где $n \approx 1$.

Таким образом, несмотря на проведенные исследования и полученные результаты, механизм фоточувствительности змеиный яд - p-InSe пока что до конца не ясен.

Выводы. На основе полученных данных анализов можно констатировать, что исследуемый яд пригоден для приготовления лекарственных препаратов на основе змеиного яда. Наличие малой активности радионуклидов в стандартном яде, обеспечивает безвредность применения змеиного яда в фармацевтической промышленности при приготовления лекарственных препаратов.

Результаты первых исследований змеиный яд -p-InSe позволяют расширить диапазон материалов, используемых для изготовления фотодетекторов для ближней инфракрасной области спектрального диапазона. В гетероконтакте змеиный яд-p-InSe ведет себя как полупроводник p-типа проводимости. Оп-

ределение элемента, „отвечающего” за чувствительность змеиный яд -p-InSe в инфракрасной области спектрального диапазона и увеличение его концентрации в змеином яде, может привести к созданию фотоприемников с конкурентоспособными фотоэлектрическими характеристиками.

ЛИТЕРАТУРА:

1. Алфёров Ж.И. // II ФТП. 1998. Т. 32. В. 1.
2. Грищук В.П., Давиденко С.А., Жолнер Я.Д., Вербицкий А.В., Курик М.В., Пирятинский Ю.Л. // II Письма в ЖТФ. 2002. Т. 28. В. 21.
3. Рудь Ю.В., Рудь В.Ю., Боднарь И.Л., Шаталова В.В., Ильчук Г.А. // II ФТП. 1999. Т. 33. В. 10.
4. Рудь В.Ю., Рудь Ю.В., Шпунт В.Х. // II ФТП. 1997. Т. 31. В. 2.
5. Galán, J.A., Sánchez, E.E., Rodríguez-Acosta, A., Pérez, J. C., Neutralization of venoms from two Southern Pacific Rattlesnakes (*Crotalus helleri*) with commercial antivenoms and endothermic animal sera // Toxicon - 2004. V.43.
6. Rinaldi R., Branca E., Cingolani R., Masiero S., Spada G.P., Gollarelli G. // II Appl. Phys. Lett. 2001. V. 78. N 22.
7. Topchiyeva Sh.A., Abiyev H.A. Effect of γ -irradiation on Spectral Characteristics of Lebetiba Viper // Journal of "News" ANAS. Series of Biology. Baku, 2006. № 5-6.
8. Topchiyeva Sh.A., Mehrabova M.A., Abiyev H.A., Babayev E.T. Application of Ionizing Radiation of Sterilization on the Basis of Snake Venom // V Eurasian Conference on Nuclear Science and its Application. 2008, 14-17 October, Ankara-Turkey.

УДК 579.22

Алесина Н.В., Снисаренко Т.А.

Московский государственный областной университет

**ВЛИЯНИЕ ЗАГРЯЗНЕНИЯ ПОЧВЫ НЕФТЕПРОДУКТАМИ
НА АКТИНОМИЦЕТЫ, ОБИТАЮЩИЕ НА КОРНЯХ РАСТЕНИЙ
НА ПРИМЕРЕ ОВСА ПОСЕВНОГО (*AVENA SATIVA*)**

N. Alesina, T. Snisarenko

Moscow State Regional University

**INFLUENCE OF OIL-CONTAMINATED SOILS ON ACTINOMYCES
BY EXAMPLE OF *AVENA SATIVA***

Аннотация. Целью работы являлось изучение влияния загрязнения почвы нефтепродуктами на одну из групп микрофлоры ризосферы и ризопланы травянистых растений на протяжении всего периода вегетации, а именно на группу актиномицетов. В работе, в лабораторных условиях, моделировалось 1% (слабое) и 5% (среднее) загрязнение почвы нефтепродуктами. Микробиологический учёт в зоне ризопланы и ризосферы производили отдельно. Выявлена закономерность, между степенью нефтезагрязнения почвы и количеством обнаруженных микроорганизмов группы актиномицетов.

Ключевые слова. Микроорганизмы, ризосфера, ризоплана, влияние, нефтезагрязнение, актиномицеты.

Summary. The aim was to study the influence of oil-contaminated soils in one of the groups of rhizosphere microflora and rizoplany throughout the growing season, namely a group of actinomycetes. We modeled the 1% (weak) and 5% (average) of soil contamination with oil products. The microbiological account in a zone rizoplany and rhizosphere made separately. Pattern, between degree of oil-contaminated of soil and quantity of the found out microorganisms of group actinomycetes is taped.

Key words. Microorganisms, rhizosphere, rizoplana, the impact of pollution, actinomycetes.

Развивающаяся корневая система, проникая в глубь почвы, вступает во взаимодействие с почвенными микроорганизмами, животными и корнями других растений. Вокруг корня формируется так называемая ризосфера – окружающее корень пространство почвы, характеризующееся более высокой плотностью микроорганизмов. Размер ризосферы исчисляется примерно от 0 до 8 мм в диаметре, количество микробных клеток в ней может превышать их число в окружающей почве в сотни раз. Ризосфера является областью интенсивной микробной активности, управляемой корневыми экссудатами. Полезные свободно живущие, или «ассоциативные» бактерии могут быть обнаружены среди этих микроорганизмов точно так же, как и возбудители заболеваний растений или нейтральные для растения-хозяина.

Актиномицеты (*Actinomicetes*), стрептомицеты, лучистые грибки – группа микроорганизмов, соединяющая в себе черты бактерий и грибов. Для них характерно нитевидное или палочковидное и кокковидное строение и наличие боковых выростов.

К актиномицетам относятся: собственно актиномицеты (род *Actinomyces*), образующие споры на спороносцах, формирующиеся в виде длинных цепочек путём сегментации или фрагментации спороносцев; проактиномицеты (*Proactinomyces*) с хорошо развитым мицелием, распадающимся на палочки и кокки; микобактерии (*Mycobacterium*) с типичным ветвлением мицелия в виде палочковидных клеток, размножающихся делением (перешнуровыванием); микококки

(*Mucosoccus*) в виде округлых неправильно очерченных клеток (часто с боковыми выростами-почками), размножающихся перешнуровыванием и почкованием; микромоноспоров (*Micromonospora*) – группа, объединяющая 4 рода (*Micromonospora*, *Microbispora*, *Micropolyspora* и *Actinobifida*); формы со сложными органами плодonoшения – спорангиями со спорами внутри (*Streptosporangium*, *Actinosporangium* и др.); формы, образующие споры со жгутиками (*Actinoplanes*, *Dermatophilus* и др.).

Живут актиномицеты в самых разных условиях: в аэробных и анаэробных, при t 5-7 и 45-70°C. Актиномицеты участвуют в разнообразных почвенных процессах (аммонификация, разложение клетчатки, синтез и разложение перегноя). Многие актиномицеты продуцируют антибиотики, витамины, пигменты, аминокислоты и другие биологически активные вещества.

Актиномицеты широко распространены в природе и легко культивируются в лабораторных условиях. Они непривередливы к количеству и качеству питательных веществ и поселяются даже на скалистых обрывах, на которых почти нет органических веществ. Для усвоения различных белковых веществ животного и растительного происхождения эти микроорганизмы используют целый набор ферментов, которые наряду с азотом минеральных солей помогают грибам питаться азотом органических соединений. Углерод актиномицеты получают из спиртов и полисахаридов, крахмала и сахарозы. Некоторые из этих микробов приспособились к «углеводородному» питанию за счет керосина и бензина, каучука и поливинила, а также асфальта и битума. Наиболее распространены и обнаруживаются в почве представители почти всех родов актиномицетов. Актиномицеты обычно составляют четверть бактерий, вырастающих на традиционных средах при посевах их разведённых почвенных суспензий. Их экологическая роль заключается чаще всего в разложении сложных устойчивых субстратов; предположительно они участвуют в синтезе и разложении гумусовых веществ [4; 9].

В нашем исследовании мы производили

учёт актиномицетов, выделенных из зоны ризосферы травянистых растений (овса полевого) в условиях загрязнения почвы нефтепродуктами (использовалось дизельное топливо). Моделировали слабое (1%) и среднее (5%) нефтезагрязнение почвы.

Нефть и нефтепродукты являются одними из распространенных и опасных загрязнителей окружающей среды. Загрязнение нефтью почвы сопровождается сильным негативным воздействием на растения [2, 121-150] из-за изменения ее физико-химических свойств, главным образом за счет увеличения гидрофобности и заполнения нефтью почвенных капилляров и прямого токсического действия углеводородов нефти (фитотоксичности) [2, 121-150; 8, 59-64], обусловленного развитием в ней микромицетов, образующих токсины [8, 59-64; 10].

Цель нашего исследования - экспериментальная оценка воздействия 1% и 5% нефтяного загрязнения почвы на микроорганизмы группы актиномицетов, обнаруженных в зоне ризосферы и ризопланы травянистых растений.

В работе использован овёс посевной (*Avena sativa*). Почва для лабораторных экспериментов суглинистая дерново-подзолистая, содержание гумуса 5.2%, рН водной вытяжки 6,2. В лабораторных условиях растения для анализа численности микроорганизмов, обитающих в прикорневой зоне (ризосфере) и зоне непосредственного примыкания к корням (ризоплане), выращивали в сосудах, вмещающих 3 кг почвы, по 100 растений в каждом. Влажность почвы поддерживали на уровне 60% полной влагоемкости, а температуру – на уровне 18-20 °C.

Микробиологический анализ ризосферы (почвы, на которую воздействуют корни растений) и ризопланы (поверхности корней растений) проводили согласно руководству [3]. Для количественного учета бактерий использовали метод десятичных предельных разведений с применением для пересчета таблиц Мак-Креди [3; 7]. Количество выделенных актиномицетов подсчитывали на чашках со средой Чапека.

Исследования микробного ценоза ризосферы и ризопланы проводилось в разных фазах

развития растений (фазы кущения, колошения, цветения и созревания).

Контролем служили образцы растений, выросших в лабораторных условиях, но без антропогенной нагрузки на почву.

В результате опыта нами были получены следующие данные:

1. В контрольных образцах было обнаружено следующее количество микроорганизмов группы актиномицетов (см. табл. 1, 2).

Таблица 1

Количество актиномицетов, выделенных из ризосферы овса, на различных стадиях развития растения. Анализ растений, выросших в лабораторных условиях без антропогенного влияния на почву (число микроорганизмов в тыс. на 1 г почвы)

Фаза вегетации растения	Количество выделенных актиномицетов
Кущение	3,3*10 ¹
Колошение	1,2*10 ¹
Цветение	1,6*10 ¹
Созревание	3,4*10 ¹

Таблица 2

Количество актиномицетов, выделенных из ризопланы овса, на различных стадиях развития растения. Анализ растений, выросших в лабораторных условиях без антропогенного влияния на почву (число микроорганизмов в тыс. на 1 г почвы).

Фаза вегетации растения	Количество выделенных актиномицетов
Кущение	2*10
Колошение	7*10
Цветение	1,1*10 ¹
Созревание	3,2*10 ¹

2. При 1% загрязнении почвы нефтепродуктами было обнаружено следующее количество микроорганизмов группы актиномицетов (см. табл. 3, 4).

Таблица 3

Количество актиномицетов, выделенных из ризосферы овса, на различных стадиях развития растения. Анализ растений, выросших в условиях 1% загрязнения почвы нефтепродуктами (число микроорганизмов в тыс. на 1 г почвы).

Фаза вегетации растения	Количество выделенных актиномицетов
Кущение	6*10 ¹
Колошение	2*10 ¹
Цветение	2,5*10 ¹
Созревание	4,7*10 ¹

Таблица 4

Количество актиномицетов, выделенных из ризопланы овса, на различных стадиях развития растения. Анализ растений, выросших в условиях 1% загрязнения почвы нефтепродуктами (число микроорганизмов в тыс. на 1 г почвы).

Фаза вегетации растения	Количество выделенных актиномицетов
Кущение	$7 \cdot 10$
Колошение	$1 \cdot 10^1$
Цветение	$1,5 \cdot 10^1$
Созревание	$4 \cdot 10^1$

3. При 1% загрязнении почвы нефтепродуктами было обнаружено следующее количество микроорганизмов группы актиномицетов (см. табл. 5, 6).

Таблица 5

Количество актиномицетов, выделенных из ризосферы овса, на различных стадиях развития растения. Анализ растений, выросших в условиях 5% загрязнения почвы нефтепродуктами (число микроорганизмов в тыс. на 1 г почвы).

Фаза вегетации растения	Количество выделенных актиномицетов
Кущение	$9 \cdot 10^1$
Колошение	$5,5 \cdot 10^1$
Цветение	$8,1 \cdot 10^1$
Созревание	$9,4 \cdot 10^1$

Таблица 6

Количество актиномицетов, выделенных из ризопланы овса, на различных стадиях развития растения. Анализ растений, выросших в условиях 5% загрязнения почвы нефтепродуктами (число микроорганизмов в тыс. на 1 г почвы).

Фаза вегетации растения	Количество выделенных актиномицетов
Кущение	$1,2 \cdot 10^1$
Колошение	$1,8 \cdot 10^1$
Цветение	$2,6 \cdot 10^1$
Созревание	$5,2 \cdot 10^1$

Было отмечено, что в зоне ризосферы растений актиномицеты представлены многочисленней, чем в ризоплане. Наибольшее их количество было обнаружено в фазе созревания, т. е. «старения» растений. Разница между фазами кущения и созревания составила практически 10 раз в образцах ризосферы и от 4 до 16 (контроль) раз – в образцах ризопланы.

Также, как видно из предложенных таблиц, загрязнение почвы нефтепродуктами стимулирует развитие группы актиномицетов; причём чем выше степень загрязнения почвы, тем интенсивней актиномицеты размножаются как в ризосфере, так и в ризоплане. Более наглядно демонстрируют эту динамику предложенные диаграммы (рис.1, 2).

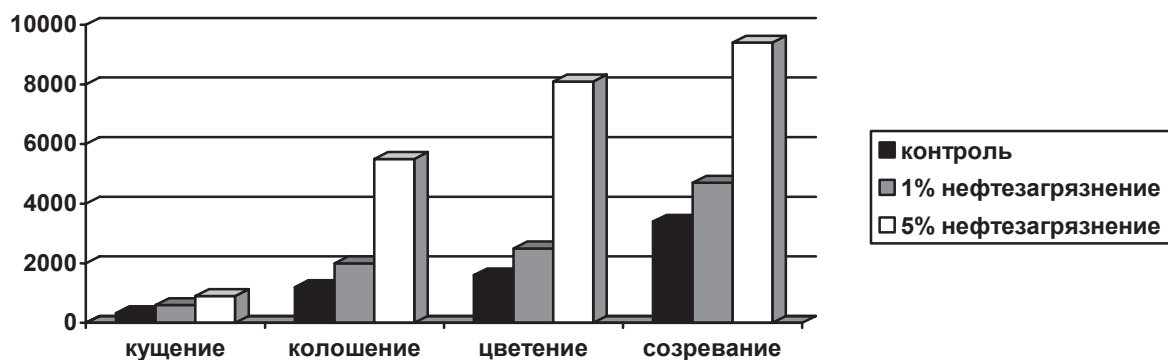


Рис 1. Динамика количества актиномицетов в образцах ризосферы при различной степени загрязненности почвы нефтепродуктами.

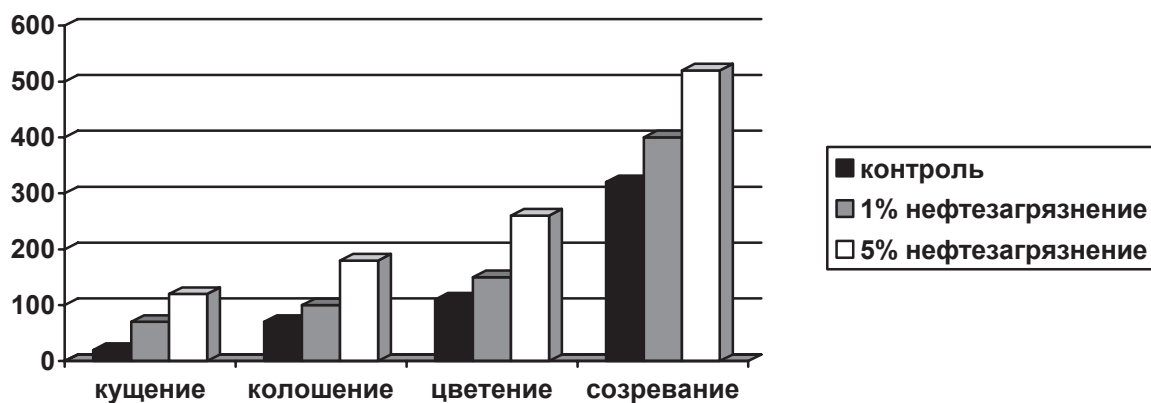


Рис 2. Динамика количества актиномицетов в образцах ризопланы при различной степени загрязненности почвы нефтепродуктами.

ЛИТЕРАТУРА:

1. Гельцер Ф.Ю. Симбиоз с микроорганизмами - основа жизни растений. М., 1990.
2. Гузев В.С., Левин С.В., Селецкий Г.И., и др. Роль почвенной микробиоты в рекультивации нефтезагрязненных почв. // Микроорганизмы и охрана почв. М.: Изд-во МГУ, 1989.
3. Егоров Н.С. Руководство к практическим занятиям по микробиологии. М.: изд-во МГУ, 1995.
4. Емцев В.Т., Мишустин Е.Н. Микробиология. М., 2006.
5. Заварзин Г.А. Лекции по природоведческой микробиологии. М., 2003.
6. Звягинцев Д.Г. Почва и микроорганизмы. М.: изд-во МГУ, 1987.
7. Методы почвенной микробиологии и биохимии. М.: изд-во МГУ, 1991.
8. Халимов Э.Н., Левин С.В., Гузев В.С. Экологические и микробиологические аспекты повреждающего действия нефти на свойства почвы // Вестн. МГУ. Сер.17. Почвоведение. 1996. № 2.
9. Экология микроорганизмов / под. ред. проф. А.И. Нетрусова. М., 2004.
10. McGrath D. Oil spillage on grassland effects on grass and soil // Farm Food Res. 1988. T.19. № 5.

УДК: 581.19:577.157

Ахмедова А.Ф., Гюльахмедов С.Г., Кулиев А.А.
Бакинский государственный университет

ВЛИЯНИЕ РАЗЛИЧНЫХ ФАКТОРОВ НА ПРОТЕОЛИТИЧЕСКУЮ АКТИВНОСТЬ ШТАММА *ENTEROCOCCUS FAECALIS* AN1

A. Ahmedova, S. Gulahmedov, A. Kuliyeu
Baku State University

EFFECT OF DIFFERENT FACTORS ON PROTEOLYTIC ACTIVITY OF STRAIN *ENTEROCOCCUS FAECALIS* AN1

Аннотация: Цель данной работы состояла в изучении влияния температуры и pH среды на протеолитическую активность штамма *Enterococcus faecalis* AN1. Исследуемый штамм был изолирован из традиционного сыра, произведенного в Азербайджане. Влияние pH и температуры на протеолитическую активность исследовали с помощью непродливающей системы клеток. Наличие гидролиза белков молока проверяли с помощью электрофореза в додецил-сульфат-натрий-полиакриламидном геле. Изучение влияния pH на протеолитическую активность исследуемого штамма показало, что pH оптимум для протеолитических ферментов штамма *Enterococcus faecalis* AN1 находится в нейтральных значениях. Изучение протеолитической активности штамма при различных температурах показало наличие гидролиза субстрата при всех исследуемых значениях температуры, от 150С до 550С. Однако, температурный оптимум для протеаз данного штамма находится в пределах 30-370С.

Ключевые слова: *Enterococcus faecalis*, сыр, протеолитическая активность, pH среды, температура.

Abstract. The aim of this work was to study pH and temperature effect on proteolytic activity of strain *Enterococcus faecalis* AN1. The strain was isolated from traditional homemade dairy cheese of Azerbaijan and was identified as producer of proteolytic enzymes. Protein hydrolysis and peptides profiles arising from enzymatic activities of the studied strain were analyzed by SDS-PAGE. PH and temperature effect on proteolytic activity of the strain was studied in non proliferative cells system. Maximal protein degradation was observed in the pH range 6.0 - 7.2. Further increase or decrease of pH led to decrease in the proteolysis level. It can be concluded that the optimal pH values for proteinases activity of the strain in assayed system are in the neutral pH range. Optimal temperature for hydrolysis of caseins was found to be 30-37°C for strains A121, A124, A1221, A1232 and 37 °C in case of strains A71 and AN1. However, hydrolysis of substrate was observed in all assayed temperatures.

Key words: *Enterococcus faecalis*, cheese, proteolytic activity, pH, temperature.

Гидролиз казеинов молока играет важную роль в созревании и формировании текстуры ферментированных молочных продуктов [2, 8]. Первичный гидролиз казеинов молока осуществляется протеазами молочнокислых бактерий (далее по тексту – МБК), присутствующих как в качестве стартерных, так и в качестве нестартерных культур в ферментированных молочных продуктах [6, 7]. Протеолитическая система МБК обеспечивает их аминокислотами, необходимыми для роста и жизнедеятельности, и включает 3 компонента: экзопроteaseы, которые связаны с клеточной стенкой и осуществляют первоначальный гидролиз казеинов молока до олигопептидов; транспортную систему, осуществляющую транспорт олигопептидов через клеточную стенку в цитоплазму; эндопептидазы – большого количества олиго- ди- и трипептидаз, которые осуществляют дальнейший гидролиз внутри клетки до аминокислот [1, 9].

Как известно, протеолитическая активность каждого штамма строго специфична и зависит от многих факторов, в том числе и от значений кислотности среды. В большинстве случаев МКБ продуцируют несколько различных экзопротеаз, которые обладают различными оптимумами pH [5]. Температура среды также имеет большое значение, поскольку температурный оптимум протеаз МКБ не всегда совпадает с оптимальной температурой для их роста [4].

Данные о протеолитической системе нестартерных МКБ, которые являются доминирующей микрофлорой традиционных сыров домашнего производства, крайне ограничены. Изолирование и изучение протеолитических штаммов МКБ из ферментированных молочнокислых продуктов открывает огромные перспективы в плане разработки новых стартерных культур. Более того, применение протеолитических штаммов МКБ в качестве стартерных культур позволит снизить аллергенность молочных белков и разработать гипоаллергенные молочные продукты, а также ферментированные продукты, содержащие биологически активные пептиды [3, 12]. Цель данной работы состояла в изучении влияния температуры и pH среды на протеолитическую активность штамма *Enterococcus faecalis* AN1.

Материалы и методы

Бактериальные штаммы и условия культивирования. Штамм *Enterococcus faecalis* AN1, исследуемый в данной работе, был изолирован из традиционного сыра, произведенного в Азербайджане. Штамм хранился при температуре -80°C в 30% (о/о) глицероле. Перед использованием штамм дважды культивировали в M17 среде.

Влияние pH и температуры на протеолитическую активность. Влияние pH и температуры на протеолитическую активность исследовали с помощью непродливающей системы клеток. При использовании этого метода протеолитическая активность измерялась в стационарной фазе роста и при контролируемых значениях pH и температуры

среды. Свежую культуру исследуемого штамма культивировали на поверхности молоко-цитратагаризованной среды (обезжиренное молоко 4.4%, Na-цитрат 0.8%, дрожжевой экстракт 0.1%, глюкоза 0.5%, агар 1.5% (м/о)) [5] в чашках Петри для индукции протеаз. Через 48 часов клетки собирали с поверхности молоко-цитратагаризованной среды и растворяли в 100 мМ фосфатном буфере для получения клеточной суспензии с ОП600nm 20, что приблизительно равно 2×10^{10} КФЕ/мл. Далее в этом же буфере растворяли субстрат (смесь казеинов в концентрации 12 мг/мл), смешивали в равном количестве с клеточной суспензией и инкубировали в течении 24 ч. При изучении влияния температуры на протеолитическую активность для приготовления клеточной суспензии и раствора казеинов использовали 100 мМ фосфатный буфер со значением pH 7.0, и затем смесь клеток с субстратом инкубировали при различных температурах (20, 30, 37, 45 и 55°C). При изучении влияния pH на протеолитическую активность для приготовления клеточной суспензии и раствора казеинов использовали 100 мМ фосфатный буфер с различными значениями pH (5.4, 5.7, 6.0, 6.5, 7.2 and 8.0), и затем смесь клеток с субстратом инкубировали при температуре 37°C . В качестве контроля использовали раствор субстрата без клеток. В определенные интервалы времени смесь клеток с субстратом центрифугировали (10000 об /мин в течение 15 мин.) для осаждения клеток. Наличие гидролиза казеинов проверяли с помощью электрофореза в 12% додецил-сульфат-натрий-полиакриламидном геле (ДС-Na-ПААГ), с концентрацией акриламида 12%. Надосадочную жидкость смешивали в равном количестве с раствором для введения образцов в гель (ДС-Na 4%; Трис HCl 50 мМ pH 6,8; глицерин 20%; бромфенол синий; β -меркаптоэтанол) и подвергали термической обработке для денатурации белков (100°C 3 мин). Электрофорез был проведен в аппарате Mini Protean II Gel Electrophoresis (Bio-Rad Hercules, Калифорния, США) по методу Laemmli [10]. Процент гидролиза казеинов рассчитывали при помощи денсито-

метрического анализа гелей, проведенного с использованием программного приложения Fuji Film Image Gauge V3.0 software (Fuji Photo Film Co. Ltd. Japan).

Результаты

Штамм *Enterococcus faecalis* AN1 является продуцентом протеолитических ферментов, которые гидролизуют α_{s1} - и β -казеины молока. В данной работе мы исследовали влияние различных факторов, таких, как pH и температура среды, на протеолитическую активность этого штамма.

Изучение влияния pH на протеолитическую активность исследуемого штамма показало, что значение кислотности среды имеет большое влияние на эффективность гидро-

лиза субстрата продуцируемыми им протеазами. Рис. 1 отображает гель с профилем гидролиза субстрата при инкубации клеток в условиях различных значений pH среды. Степень гидролиза определяли через 24 часа инкубации с субстратом. Как видно на геле, при pH 5.4 гидролиз казеинов не наблюдался. Мы можем заключить, что протеазы, продуцируемые исследуемым штаммом, не активны при кислых значениях среды. При pH 5.7 наблюдался частичный гидролиз субстрата. При значениях pH от 6.0 до 7.2 протеазы полностью расщепляли субстрат. Согласно полученным результатам мы можем заключить, что pH оптимум для протеаз штамма *Enterococcus faecalis* AN1 находится в нейтральных значениях. Полученные результаты не про-

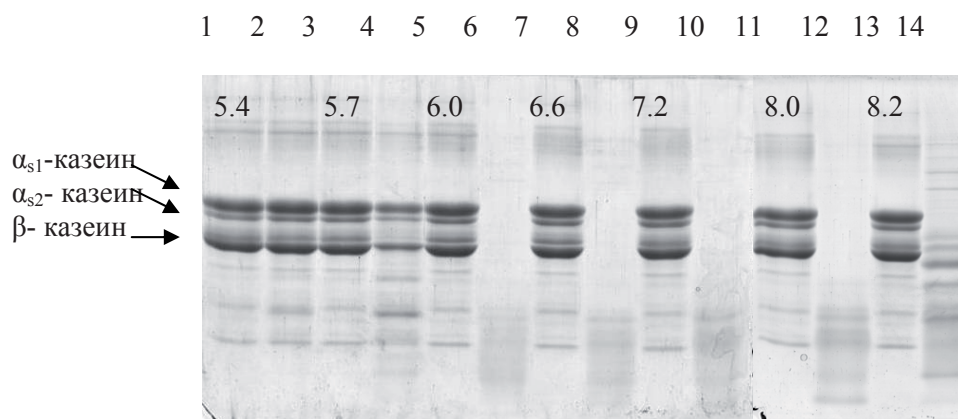


Рис. 1. Протеолитическая активность при различных значениях pH среды. Линии 1, 3, 5, 7, 9, 11, 13 – контроли (субстрат без клеток); линии 2, 4, 6, 8, 10, 12 – гидролизаты.

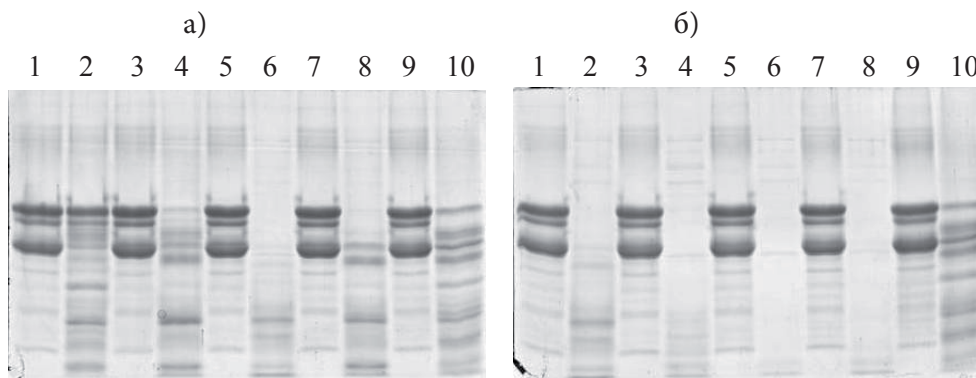


Рис. 2. Влияние температуры на протеолитическую активность штамма *Enterococcus faecalis* AN1. а – 6 ч. инкубации, б – 24 ч. инкубации. Линии 1, 3, 5, 7, 9 – контроли (субстрат без клеток); Линии 2, 4, 6, 8, 10, 12 – гидролизаты.

тиворечат ранее полученным результатам изучения протеаз МКБ. Оптимальный гидролиз казеинов при нейтральных значениях pH среды наблюдался и в других исследованиях протеолитической активности различных штаммов МКБ [3, 13, 14].

В другом эксперименте мы исследовали влияние температуры среды на активность протеолитических ферментов, продуцируемых исследуемым штаммом. Для этого мы инкубировали клетки с казеинами при различных температурах. Степень гидролиза субстрата проверяли с помощью электрофореза в полиакриламидном геле через 6 ч и 24 часа инкубации с субстратом. На рис.2 отображены результаты данного эксперимента. Как видно на геле (рис 2а), гидролиз субстрата наблюдался при всех исследуемых значениях температуры, от 15 °С до 55 °С. Однако протеолитические ферменты расщепляли субстрат с различной степенью эффективности в зависимости от температуры инкубации. Через 6 ч. инкубации с субстратом наиболее эффективный гидролиз наблюдался при 37 и 45 °С. Через 24 ч инкубации (рис 2б) полный гидролиз субстрата наблюдался при всех исследуемых температурах, кроме 55 °С.

Согласно полученным результатам мы можем заключить, что влияние температуры на протеолитическую активность исследуемого штамма незначительно, и степень гидролиза субстрата зависела больше от времени инкубации. Тем не менее, результаты, полученные после 6 ч. инкубации клеток с субстратом, позволяют заключить, что температурный оптимум для протеаз данного штамма находится в пределах 30-37 °С. Следует отметить, что согласно данным предыдущих исследований, оптимальная температура для протеолитической активности МКБ не всегда совпадает с оптимальной температурой роста [4, 5].

Полученные данные имеют ценность и актуальность, поскольку данные о протеолитической активности энтерококков очень ограничены, и большинство исследований в этой области проводились с лактобацил-

лами. Результаты данной работы указывают на наличие эффективной протеолитической системы у энтерококков, что делает их потенциальными кандидатами для пищевой промышленности.

ЛИТЕРАТУРА:

1. Bjurlin M.A., Bloomer S., Nelson C.J. 2002. Characterization of proteolytic activity of proteases. *Biotechnology Letters* 24: 191-195.
2. Centeno J.A., Menendez S., Hermida M., Rodriguez-Otero J.L. 1999. Effect of the addition of *Enterococcus faecalis* in Cebreiro cheese manufacture. *International Journal of Food Microbiology* 48: 97-111.
3. El-Ghaish S., Dalgarrondo M., Choiset Y., Sitohy M., Ivanova I., Haertli T., Chobert J.-M. 2010. Characterization of a new isolate of *Lactobacillus fermentum* IFO 3956 from Egyptian Ras cheese with proteolytic activity. *European Food Research and Technology* 230: 635-643.
4. Exterkate F., Alting A., Bruinenberg P. 1993. Diversity of cell envelope proteinase specificity among strains of *Lactococcus lactis* and its relationship to charge characteristics of the substrate-binding region. *Applied and Environmental Microbiology* 59, 3640-3647.
5. Fira D., Kojic M., Banina A., Spasojevic I., Strahinic I., Topisirovic L. 2001. Characterization of cell envelope-associated proteinases of thermophilic lactobacilli. *Journal of Applied Microbiology* 90: 123-130.
6. Foulquier-Moreno M.R., Sarantinopoulos P., Tsakalidou E., de Vuyst, L. 2006. The role and application of *Enterococci* in food and health. *International Journal of Food Microbiology* 106: 1-24.
7. Giraffa G. 2003. Functionality of *Enterococci* in dairy products. *International Journal of Food Microbiology* 88: 215-222.
8. Jensen J.P., Reinbold G.W., Washam C.J., Vedamuthu E.R. 1975. Role of *Enterococci* in Cheddar cheese: proteolytic activity and lactic acid development. *Journal of Milk and Food Technology* 38: 3-7.
9. Kunji E.R.S., Mierau I., Hagfing A., Poolman B.I., Konings W.N. 1996. The proteolytic systems of lactic acid bacteria. *Antonie van Leeuwenhoek* 70: 187-221.
10. Laemmli U.K. 1970. Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. *Nature* 227: 680-685.
11. Psoni L., Kotzamanides C., Andrighetto C., Lombardi A., Tzanetakis N., Litopoulou-Tzanetaki E. 2006. Genotypic and phenotypic heterogeneity in *Enterococcus* isolates from Batzos, a raw goat milk

- cheese. International Journal of Food Microbiology 109: 109-120.
12. Sarantinopoulos P., Kalantzopoulos G., Tsakalidou E. 2001. Citrate metabolism by *Enterococcus faecalis* FAIR-E 229. Applied and Environmental Microbiology 67: 5482-5487.
13. Suzzi G., Caruso M., Gardini F., Lombardi A., Vannini L., Guerzoni M.E., Andrighetto C., Lanorte, M.T. 2000. A survey of the *Enterococci* isolated from an artisanal Italian goat's cheese (*Semicotto caprino*). Journal of Applied Microbiology 89: 267-274.
14. Veljovic K., Fira D., Terzic-Vidojevic A., Abriouel H., Galvez A., Topisirovic L. 2009. Evaluation of antimicrobial and proteolytic activity of *Enterococci* isolated from fermented products. European Food Research and Technology 230: 63-70.

УДК 581.47-681.26

Гаврилова С.Е.

Московский государственный областной университет

Девятков А.Г.

Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова

АНАТОМО-МОРФОЛОГИЧЕСКОЕ СТРОЕНИЕ ПЛОДОВ ВИДОВ РОДА *VIOLA* L.

S. Gavrilova

Moscow State Regional University

A. Deviatov

Lomonosov Moscow State University

ANATOMIC-MORPHOLOGICAL STRUCTURE OF FRUIT SPECIES *VIOLA* L.

Аннотация. В статье приводятся результаты анатомо-морфологического исследования плодов видов рода *Viola* L. Изучена ультраскульптура поверхности коробочек, анатомическое строение стенки и основания плода, типы устьичного аппарата, особенности вскрывшихся коробочек. Показана зависимость анатомического строения и механизма вскрывания плодов. Выделены основные карпоэкологические типы плодов.

Ключевые слова: *Viola* L., коробочка, гигрохазическое вскрывание, ксерохазическое вскрывание, экзокарпий, мезокарпий, эндокарпий.

Abstract: The article presents the results of anatomical and morphological study of the fruits of the genus *Viola* L. Ultraskulptura surface capsules, anatomical wall and the base of the fruit as well as the types of stomatal apparatus, especially uncovered capsules have been studied. The dependence of the anatomical structure and mechanism dehiscence fruits has been revealed. The basic carpoeekologikus types of fruits have been distinguished.

Key words: *Viola* L., capsula, dehiscencia gigrochastica, dehiscencia xerochastica, exocarpium, mesocarpium, endocarpium.

Плоды фиалок – продолговато-эллипсоидальные, реже шарообразные паракарпные коробочки, вскрывающиеся по спинным жилкам плодолистиков тремя лодочкообразными створками.

Важными признаками строения плодов, применяемыми в систематике рода *Viola* L., являются форма коробочек и характер их расположения. Данные признаки традиционно используются для диагностики видов секции *Viola* [2, 4, 5, 6]. В последнее время также было показано, что в систематике рода могут быть использованы признаки скульптуры поверхности коробочек, которые позволяют различать группы достаточно высокого ранга – подроды и секции [3].

У видов рода *Viola* коробочки образуются из хазмогамных и клейстогамных цветков (подрод *Viola*), или только из хазмогамных цветков (подрод *Melanium* (Ging.) Peterm.). Плоды хазмогамных цветков фиалок отличаются от плодов клейстогамных цветков большей шириной, наличием столбика на верхушке и отогнутыми нижними чашелистиками, между которыми проходил шпорец хазмогамного цветка [1, 7].

Вскрывание коробочек у одних видов происходит гигрохазически, без разбрасывания семян (секция *Viola*), у других – ксерохазически, с разбрасыванием семян на некоторое расстояние. Способ вскрывания коробочек напрямую связан со способом распространения семян [2].

Комплексное исследование строения плодов фиалок до последнего времени не проводилось. Остаются не обобщенными разрозненные данные о морфологическом и анатомическом строении плодов, механизме их вскрывания, взаимосвязи строения коробочек с экологическими условиями обитания видов.

Нами проведено всестороннее сравнительное изучение плодов видов рода *Viola*, произрастающих на территории Московской области (МО): *V. mirabilis* L., *V. hirta* L., *V. collina* Bess., *V. odorata* L., *V. montana* L., *V. persicifolia* Schreb., *V. nemoralis* Ktze., *V. canina* L., *V. rupestris* F.W.Schmidt, *V. riviniana* Reichenb.,

V. selkirkii Pursh ex Goldie, *V. uliginosa* Bess., *V. palustris* L., *V. epipsila* Ledeb., *V. arvensis* Murr., *V. matutina* Klok., *V. tricolor* L.

С целью изучения морфологических особенностей раскрывшихся коробочек и определения характера их расположения проведены наблюдения в природе, а также просмотрены гербарные коллекции УРАН Главного ботанического сада им. Н.В. Цицина РАН (МНА), Московского государственного университета им. М.В. Ломоносова (МГУ), Московского государственного областного университета (МГОУ). Для изучения анатомического строения коробочек и особенностей ультраскульптуры поверхности использовали плоды фиалок, собранные на территории МО в 2008 - 2010 гг., зафиксированные в 70% спирте. Особенности строения поверхности коробочек были изучены с помощью сканирующего электронного микроскопа JSM-6380 (МГУ им. М.В.Ломоносова) после высушивания фиксированного материала в критической точке, а также с использованием метода отпечатков, сделанных с поверхности коробочек при помощи лака. Анатомию плодов изучали путем анализа сделанных от руки поперечных и продольных срезов разных частей плода, на которых была проведена флуоресцирующая реакция на одревеснение. Отпечатки и срезы рассматривали в проходящем свете под световым микроскопом Микромед Р-1 на малом (Ч100) и на большом увеличении (Ч400 и Ч1000). По результатам исследования сделаны фотографии.

В ходе исследования нами установлено, что форма плодов, образующихся из хазмогамных и клейстогамных цветков, более или менее различается у изученных видов. Так, у видов секции *Viola* коробочки из хазмогамных цветков имеют шаровидную форму; коробочки из клейстогамных цветков у *V. odorata* и *V. hirta* более удлиненные, а у *V. collina* Bess. обычно имеют округло обратно-яйцевидную форму. У *V. riviniana* коробочки из хазмогамных цветков продолговато-яйцевидные, из клейстогамных – продолговато-эллиптические. У *V. selkirkii* плоды из хазмогамных цвет-

ков эллиптические, из клейстогамных – более или менее яйцевидные. Наиболее явно различаются по форме коробочки у *V. rupestris*: плоды из хазмогамных цветков эллиптические, из клейстогамных – обратно-яйцевидные. У *V. mirabilis*, *V. nemoralis*, *V. canina*, *V. montana*, *V. palustris*, *V. epipsila* форма плодов различного происхождения практически не различается.

Нами также отмечены различия в окраске коробочек. У большинства видов они зеленые. У *V. selkirkii* поверхность коробочек (особенно образующихся из клейстогамных цветков) обычно покрыта фиолетовыми пятнами. У *V. hirta*, *V. collina* и *V. odorata* плоды, возникающие из хазмогамных цветков, зеленые, а из клейстогамных цветков – фиолетовые.

Эпидерма, покрывающая поверхность коробочек видов *Viola*, образована более или менее вытянутыми или почти изодиаметрическими клетками. У видов секции *Plagiostigma* радиальные стенки эпидермальных клеток извилистые, в отличие от остальных видов, у которых радиальные стенки эпидермальных клеток прямые. У таких видов, как *V. hirta*, *V. collina*, *V. odorata* и *V. rupestris* часть эпидермальных клеток имеет выросты в виде простых волосков.

У всех исследованных видов рода *Viola* на

поверхности коробочек обнаружены устьица. При этом характер их распределения различается у разных видов. Так, у розеточных видов *V. selkirkii*, *V. hirta*, *V. collina*, *V. odorata*, *V. uliginosa*, *V. palustris*, *V. epipsila*, а также у *V. mirabilis* устьица более или менее равномерно распределены по всей поверхности коробочки. У видов с хорошо развитым стеблем – *V. nemoralis*, *V. riviniana*, *V. rupestris*, *V. arvensis*, *V. matutina* устьица располагаются только на противоположных плаценте частях створок коробочки, а по краям створок устьица отсутствуют.

Ранее отмечалось, что устьица на поверхности коробочек видов рода *Viola* могут быть двух типов: анизоцитного и аномоцитного [3]. Однако помимо устьиц анизоцитного и аномоцитного на поверхности плодов подмосковных видов *Viola* нами обнаружены также тетрацитные, парацитные и диацитные устьица. Преобладающим типом устьичного аппарата у всех исследованных видов является анизоцитный. Кроме того, у всех видов всегда встречаются единичные устьица тетрацитного типа. У большинства видов, за исключением *V. palustris*, *V. uliginosa*, *V. odorata*, *V. arvensis* на поверхности коробочек также встречаются единичные устьица аномоцитного типа. Парацитный тип устьичного аппарата был обнаружен нами только

Таблица 1

Типы устьичного аппарата на поверхности плодов некоторых видов *Viola*

Вид	Тип устьичного аппарата				
	Анизоцитный	Аномоцитный	Тетрацитный	Диацитный	Парацитный
<i>V. mirabilis</i>	+	+	+		
<i>V. hirta</i>	+	+	+		
<i>V. odorata</i>	+		+		
<i>V. nemoralis</i>	+	+	+		
<i>V. rupestris</i>	+	+	+		
<i>V. riviniana</i>	+	+	+		
<i>V. selkirkii</i>	+	+	+		
<i>V. uliginosa</i>	+		+		
<i>V. palustris</i>	+		+		
<i>V. epipsila</i>	+	+	+	+	
<i>V. arvensis</i>	+		+		+
<i>V. matutina</i>	+	+	+		+

у видов подрода *Melanium* – *V. arvensis* и *V. matutina*. Диацитный тип является наиболее редким и был обнаружен нами только у *V. epipsila* (табл.1).

Плоды исследованных видов различаются по характеру опушения. У видов секции *Viola* (*V. hirta*, *V. collina*, *V. odorata*) коробочки всегда густо опушены довольно длинными волосками, часто заметными невооруженным глазом. Плоды *V. rupestris* опушены более короткими волосками, характер опушения у этого вида варьирует: коробочки могут быть густо опушенными, рассеянно опушенными, реже голыми. У остальных видов, произрастающих на территории МО, плоды всегда голые.

Исследование ультраскульптуры поверхности коробочек показало, что плоды всех исследованных видов рода *Viola* снаружи покрыты кутикулой, которая бывает двух типов: гладкая и струйчатая.

Гладкая кутикула обнаружена нами у представителей подрода *Melanium* – *V. arvensis* и *V. matutina*. Струйчатая кутикула покрывает коробочки видов подрода *Viola*. Наиболее мощная кутикула характерна для болотных видов *V. epipsila* и *V. palustris*. Наше исследование подтверждает данные В.В. Никитина о том, что для видов подрода *Viola* характерно наличие на поверхности коробочек «валикообразных, червеобразно извивающихся кутикулярных складок».

В анатомической структуре коробочки четко выделяются экзокарпий, мезокарпий и эндокарпий. Экзокарпий-1-слойный, образован клетками с целлюлозными оболочками. Мезокарпий имеет довольно сложное строение и состоит из двух слоев: наружного паренхимного и внутреннего склеренхимного. Паренхимный слой образован живыми клетками, в которых до созревания коробочки хорошо заметны хлоропласты. У *V. rivini-*

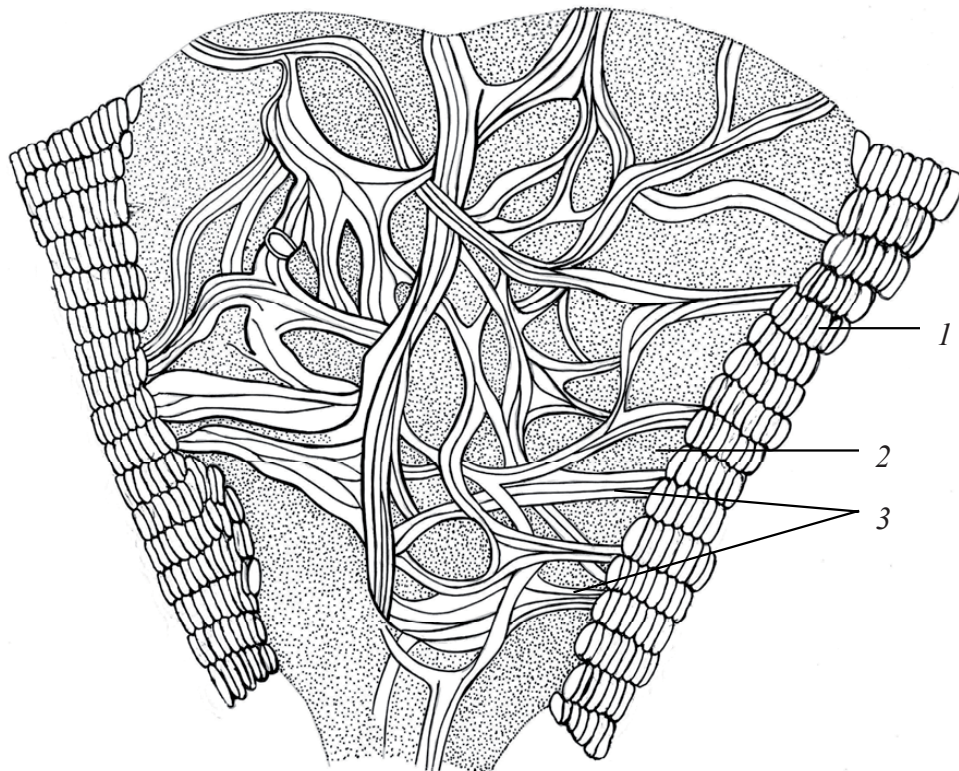


Рис.1. Схема анатомического строения разрастаний в основании коробочки (на примере *V. arvensis*):

1 – склеренхима створок, 2 – флоэма, 3 – ксилема.

ana и *V. mirabilis* в составе паренхимы мезокарпия нами были обнаружены идиобласты, у остальных видов структура этого слоя более или менее равномерная. Склеренхимный слой мезокарпия образован одревесневшими волокнами, которые вне плацент ориентированы в поперечном направлении. В области плацент во внутреннем слое мезокарпия имеются группы радиально вытянутых клеток с разной степенью лигнификации. У видов секции *Viola* одревеснение отсутствует. У *V. nemoralis*, *V. canina*, *V. montana* ткани плаценты сильно одревесневают. У *V. arvensis*, *V. mirabilis*, *V. palustris*, *V. epipsila* одревеснение менее мощное. В мезокарпии в области плацент проходят проводящие пучки, ведущие к семезачаткам. Эндокарпий однослойный, в области створок представлен поперечно ориентированными лигнифицированными волокнами.

Изучение анатомии основания коробочек показало, что большая часть его образована переплетающимися проводящими пучками, наибольшую часть массы которых составляют неодревесневшие флоэмные волокна (рис.1). Самый большой объем эти проводя-

щие пучки имеют у *V. mirabilis*, *V. nemoralis* и *V. riviniana*; наименьший объем – у видов секции *Viola*.

Основание коробочки, по-видимому, играет ведущую роль при ксерохазическом вскрывании плодов. По мере созревания коробочки оно деформируется, в результате чего коробочка начинает растрескиваться по швам. При дальнейшем усыхании основания створки коробочки отгибаются и располагаются более или менее под прямым углом к плодоножке. У видов секции *Viola*, коробочки которых вскрываются гиgroхазически, створки раздвигаются за счет разбухания ткани плацент.

Исследование морфологии вскрывшихся коробочек показало, что у всех видов, за исключением представителей секции *Viola*, створки коробочки после вскрывания сжимаются и выдавливают лежащие в них семена.

Створки могут сжиматься в различной степени: края створок при сжатии плотно смыкаются, створка сжимается не полностью или вообще не сжимается (рис.2).

У всех исследованных видов обнаружены коробочки с различной степенью сжатия

Таблица 2

Встречаемость коробочек с различной степенью сжатия створок

вид	кол-во исследованных гербарных листов (MW, МГОУ) (шт.)	кол-во исследованных растений с плодами (шт.)	Кол-во растений с коробочками, створки которых:		
			сомкнуты (шт.)	не сомкнуты (шт.)	сомкнуты и не сомкнуты (шт.)
<i>V. mirabilis</i>	110	124	62	50	12
<i>V. montana</i>	29	33	19	11	3
<i>V. persicifolia</i>	11	20	12	6	2
<i>V. nemoralis</i>	25	34	27	4	3
<i>V. canina</i>	96	148	100	34	14
<i>V. riviniana</i>	67	80	54	22	4
<i>V. rupestris</i>	98	208	46	108	54
<i>V. selkirkii</i>	54	99	86	4	9
<i>V. uliginosa</i>	14	23	14	9	0
<i>V. palustris</i>	28	61	55	6	0
<i>V. epipsila</i>	52	91	76	12	3
<i>V. arvensis</i>	50	103	32	41	30
<i>V. matutina</i>	20	25	6	10	8
<i>V. tricolor</i>	57	71	33	23	15

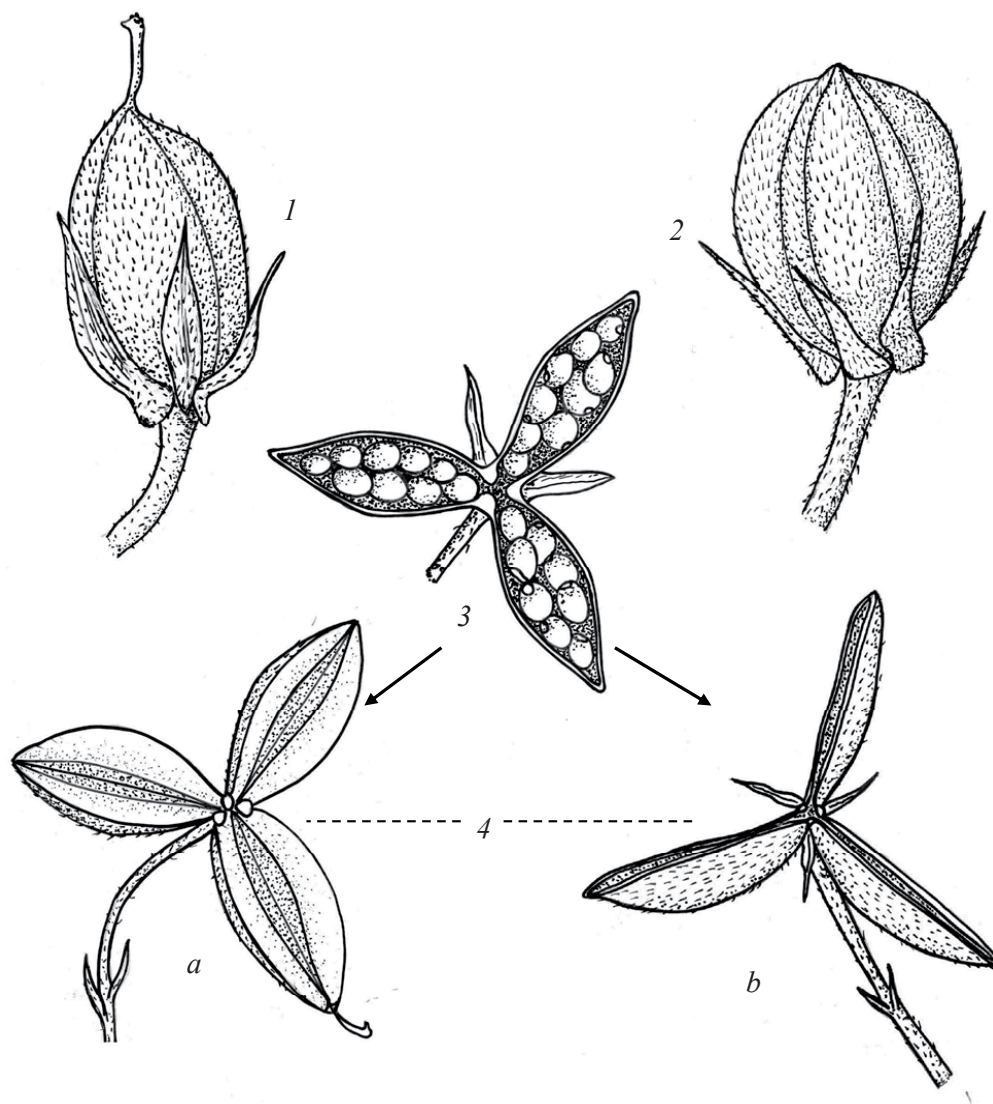


Рис. 2. Строение ксерогазических коробочек (на примере *V. rupestris*)

1 – коробочка из хазмогамного цветка, 2 – коробочка из клейстогамного цветка, 3 – вскрытая коробочка, 4 – коробочка после разбрасывания семян: а – створки сжаты, б – створки сохраняют свою форму.

створок (табл. 2).

Следует отметить, что по данному признаку различаются близкородственные виды *V. riviniana* и *V. rupestris*: у *V. riviniana* явно преобладают коробочки со сжатыми створками, а у *V. rupestris* гораздо чаще встречаются коробочки, створки которых после вскрытия сохраняют свою форму (рис.3).

Коробочки со сжатыми створками преобладают также у *V. mirabilis*, *V. canina*, *V. nemoralis*, *V. montana*, *V. persicifolia*, *V. selkirkii*, *V. epipsila*, *V. palustris*, *V. uliginosa*. У видов подрода *Melanium* – *V. arvensis* и *V. matutina*

– наиболее часто встречаются коробочки, створки которых после вскрытия не сжимаются, а у *V. tricolor* преобладают плоды со сжатыми створками. У всех исследованных видов, за исключением *V. palustris* и *V. epipsila*, на одном растении могут встречаться коробочки с различной степенью сжатия створок. Степень сжатия створок коробочки, по-видимому, определяется степенью одревеснения радиально ориентированных клеток склеренхимы в области плаценты. Чем больше одревеснение, тем сильнее сжимаются края створок.

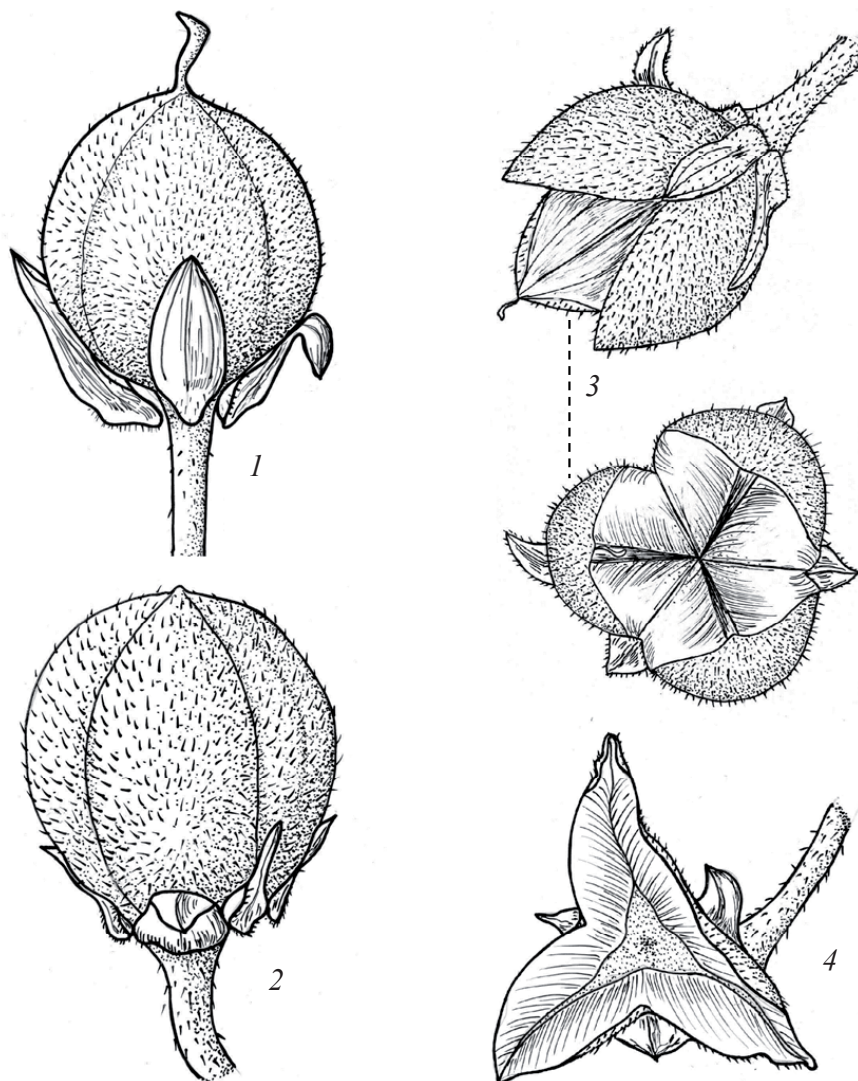


Рис.3. Строение гиgroхазических коробочек (на примере *V. hirta*)

1 – коробочка из хазмогамного цветка, 2 – коробочка из клейстогамного цветка, 3 – вскрывшаяся коробочка, 4 – коробочка после высыпания семян.

У видов секции *Viola* створки раскрывшейся коробочки постепенно засыхают, но не сжимаются (рис.3).

В целом, среди фиалок МО мы можем выделить два карпоэкологических типа.

I тип. Гигрохазические коробочки. Зрелые плоды шаровидной формы, с характерным опушением, лежат на земле или погружены в лесную подстилку, вскрываются при намокании. Кутикула струйчатая. Механические ткани в области плаценты не одревесневают, проводящие пучки в основании коробочки развиты слабо. Плоды раскрываются примерно на 2/3 длины за счет разбухания ткани

плацент. Створки раскрывшейся коробочки постепенно засыхают, но не сжимаются. – *V. hirta*, *V. collina*, *V. odorata* (секция *Viola*)

II тип. Ксерохазические коробочки. Зрелые плоды расположены на прямостоячих плодоножках в пазухах розеточных или стеблевых листьев. Вскрываются при подсыхании. Механические ткани в области плаценты в различной степени одревесневают, проводящие пучки в основании коробочки хорошо развиты. Вскрытие плода происходит в результате деформации его основания по мере созревания, в результате чего коробочка начинает растрескиваться по швам. Створки

раскрывшейся коробочки сжимаются в различной степени или вообще не сжимаются.

1 подтип. Кутикула струйчатая:

1 вариант. Коробочки голые: *V. mirabilis* (секция *Mirabiles* (Nym. ex Borb.) Vi.Nikit.); *V. montana*, *V. persicifolia*, *V. nemoralis*, *V. canina* (секция *Triginocarpea* Godr., подсекция *Arosulatae* (Borb.) Juz.), *V. riviniana* (секция *Triginocarpea*, подсекция *Rosulantes* (Borb.) Juz.); *V. selkirkii* (секция *Adnatae* (W.Beck.) Vl.Nikit.), *V. uliginosa* (секция *Ictasion* Juz. ex Tzvel.); *V. palustris*, *V. epipsila* (секция *Plagiostigma* Godr.).

2 вариант. Коробочки опушенные: *V. rup-estris* (секция *Triginocarpea*, подсекция *Rosulantes* (Borb.) Juz.);

2 подтип. Кутикула гладкая: *V. arvensis*, *V. matutina*, *V. tricolor* (подрод *Melanium*, секция *Novercula* Kupff.)

ЛИТЕРАТУРА:

1. Елисафенко Т.В. Экология цветения интродуцированных редких сибирских видов рода *Viola* L. // Сиб. экол. журн. 2001. Т. 6. № 6. С. 711-716.
2. Немирова Е.С., Гаврилова С.Е. Род *Viola* L. флоры Московской области. Изд. 2-е, перераб. и доп. Ставрополь: АГРУС, 2010. 304 с.
3. Никитин В.В. Род *Viola* L. флоры Восточной Европы и Кавказа: дис...к.б.н.: 03.00.05. СПб., 1996а. 446 с.+ прил. (240 с.: ил.).
4. Никитин В.В. *Violaceae* Batsch - Фиалковые // Флора Восточной Европы / Под ред. Н.Н. Цвелева. СПб: Изд-во «Мир и семья – 95», 1996. Т. IX. С. 180-206.
5. Никитин В.В. Система рода *Viola* L. (*Violaceae*) флоры Восточной Европы и Кавказа // Бот. журн. 1998. Т. 83. № 3. С. 123-137.
6. Юзепчук С.В. Фиалковые - *Violaceae* Juss. // Флора СССР. М.Л.: Изд-во Академии наук СССР, 1949. Т. 15. С. 350-452.
7. Uphof J. Cleistogamie flowers // Bot. Rev., 1938. V.4. №1. P. 21-49.

УДК 574.583

Гоголицын В.А.

*Институт океанологии им. Ширшова РАН
(северо-западное отделение, г. Архангельск)*

РАСПРЕДЕЛЕНИЕ ХЛОРОФИЛЛОВ В УСТЬЕВОЙ ЧАСТИ РЕКИ СЕВЕРНАЯ ДВИНА

V. Gogolitzyn

*P.P. Shirshov Institute of Oceanology of RAS
(The North-Western Branch, Arkhangelsk)*

THE DISTRIBUTION OF CHLOROPHYLLS IN THE MOUTH OF THE NORTHERN DVINA RIVER

Аннотация. На обширном мониторинговом материале показана структурная стабильность пигментного комплекса (хлорофиллов) фитопланктона. Она не зависит от абиотических, биотических и антропогенных факторов. Выявлена характерная закономерность в соотношении основного хлорофилла а и дополнительных b, с к их сумме, как показатель А:В:С, где $A=a/(a+b+c)$, $B=b/(a+b+c)$, $C=c/(a+b+c)$ в процентах. Показатель отражает общую структуру и функциональность фитопланктона (видовой состав, варианты метаболизма, «зрелость» фитоценоза. Применим к любому водному фитоценозу.

Ключевые слова: фитопланктон, фитоценоз, пигментный комплекс (хлорофиллы), абиотические, биотические, антропогенные факторы.

Abstract. Structural stability of a pigmentary complex (chlorophylls) of the phytoplankton is shown on extensive material. It does not depend on abiotic, biotic and anthropic factors. Characteristic law has been revealed in the ratio of the basic chlorophyll a and additional b and c to their sum as parameter A:B:C, where $A=a/(a+b+c)$, $B=b/(a+b+c)$, $C=c/(a+b+c)$ in percentage. The parameter reflects the general structure and functionality of phytoplankton (specific structure, versions of metabolism, "maturity" of phytocenosis) and can be applied to any water phytocenosis.

Key words: phytoplankton, phytocenosis, chlorophyll, abiotic, biotic, and anthropic factors.

Актуальность темы. В экологической практике разрабатываются различные подходы к оценке состояния биоты (от локального уровня до биосферы в целом) под воздействием антропогенного фактора. Объектом оценки становятся самые разнообразные характеристики различных уровней. Чаще всего берутся, в зависимости от профессионализма и экологического мышления автора, отдельные составляющие произвольно взятых сообществ, по которым выводят различные показатели, индексы и т. п. качества воды или состояния биоты в целом. Таковы система сапробности Колквитца-Марсона, «виды-индикаторы» Пантле-Букка или Сладечека, пигментный индекс E480/E664 и т. п. Все это частные показатели, при которых отсутствует экосистемный подход.

В работе рассмотрен пигментный комплекс (хлорофиллы), отвечающий за поступление в экосистему «бесплатной» энергии кванта. Содержание хлорофиллов пигментного комплекса в биогеоценозе (хотя носителем его является только «живой» фитоценоз) и степень его функциональности (выходная «мощность» через АТФ, НАДФ+, молекулярный кислород в световой реакции) могут быть показателями состояния биогеоценоза в целом. В данной статье представлена новая интерпретация отношений основного и дополнительных пигментов к их

сумме как показатель структурного и функционального состояния фитопланктоценоза в целом.

Материал и методы. В основу данной работы положены материалы автора по устьевой части реки Северной Двины (г. Архангельск) за 1975-2000 гг. Рассматриваются уникальные данные по пигментному комплексу на створе водного поста «Соломбала» в 1994-2000 гг. за весь вегетационный период: апрель (май) – ноябрь (декабрь), с периодичностью отбора раз в 3-4 дня за все семь лет и ежемесячные наблюдения за весь вегетационный период по створу «железнодорожный мост» с точками отбора проб «левый» и «правый» берег за 1975-1993 гг., 488 проб [1, 300-304; 2; 3, 33-37; 4; 6].

Для сбора и оценки численности фитопланктона, для определения видового состава использовались планктонные сети (газ № 75), отстойный метод, прямая и обратная фильтрация, счётный метод в камере Фукса – Розенталя. Для разделения фитопланктона «живой»-«мёртвый» пробы обрабатывались методом флуоресцентной микроскопии. Пробы на пигменты фильтровались через ультрафильтры «Сынпор» № 6, осадок на фильтре покрывался тонким слоем углекислого магния и обрабатывался непосредственно, экстракция – 90 % ацетоном. Обработка – спектрофотометрия при длинах волн 480,

630, 647, 664, 750 нм. Расчёт хлорофиллов *a*, *b*, *c* и каротиноидов проводился по общепринятым в мировой практике методикам [7; 8; 9].

Результаты и их обсуждение. Фитопланктон всех крупных водотоков Северной Двины как носитель пигментного комплекса имеет одну и ту же структуру: доминирует всегда диатомовый комплекс с преобладанием родов *Asterionella*, *Melosira*, *Cyclotella* с включением *Diatoma*, *Tabellaria*, *Fragilaria*, *Synedra*, *Nitzschia*, т. е. представителями хромофитной линии. Среди зелёных доминанты *Scenedesmus*, *Pediastrum*, *Hyaloraphidium*, *Actinastrum*, *Dictyosphaerium*, *Coelastrum*, из сине-зелёных – *Microcystis*, *Anabaena*, *Aphanizomenon*, *Gomphosphaeria*, *Merismopedia*, *Glaeocapsa*, из золотистых – *Dinobryon*, из эвгленовых – *Trachelomonas*, *Euglena*, *Facus*, *Monomorphyna*. Указанные роды являются планктонными и в сумме составляют более 80-90% общей численности. Виды, встречающиеся редко, очень разнообразны. Как правило, это формы, вымываемые из бентоса и перифитона, а также вынесенные из мелких водоёмов, почв и т. п. Количественно этот аллохтонный материал фактически не играет функциональной роли. Но с его учётом общий флористический список для водотоков Сев. Двины превышает 300 видов и форм. Сезонные изменения по

Таблица 1

Хлорофилл *a*. Река Северная Двина, г. Архангельск, створ «ж/д-мост», точки «левый», «правый» берег, 1979-93 гг. и в/пост «Соломбала», 1994-2000 гг.

годы	пункт	кол-во проб	выше 10 мкг/л	%	выше 15 мкг/л	%
1979-1993	ждм, л	62	9	14	2	3
	ждм, п	62	7	11	2	1,6
1994-2000	в/п С.	364	23	6,3	1	0,2
примечание: из 23 проб с величинами выше 10 мкг/л, 13 приходятся на 1997 год.						
максимальные величины по <i>a</i> из 124 проб по створу ждм			левый	18,9 мкг/л	сентябрь	1982
			правый	18,0 мкг/л	сентябрь	1982
максимальные величины из 364 проб по <i>a</i> , <i>b</i> , <i>c</i> , каротиноиды:			<i>a</i>	17,2 мкг/л	20августа	1999
			<i>b</i>	5,2мкг/л	11октября	1999
			<i>c</i>	7,3мкг/л	11октября	1999
			каротиноиды	9,6мкг/л	30августа	1999

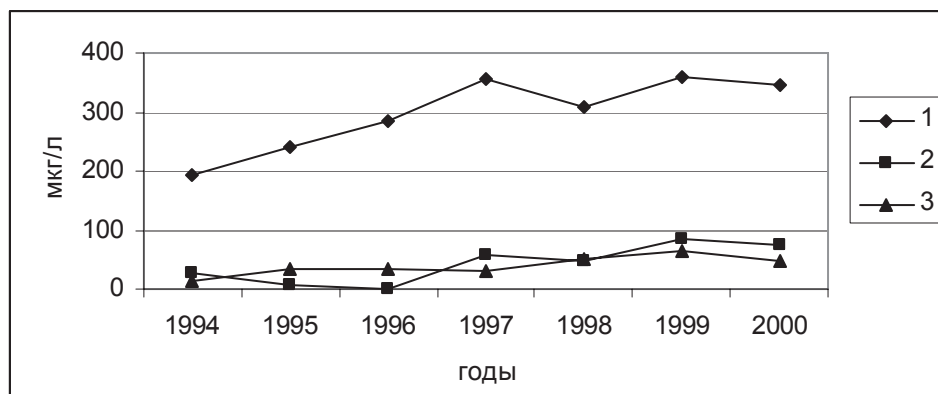


Рис. 1. 1 – хлорофилл а, 2 – хлорофилл b, 3 – хлорофилл с, суммарно по вегетационному сезону за каждый год. Река Северная Двина, г. Архангельск, в/пост Соломбала, 1994-2000

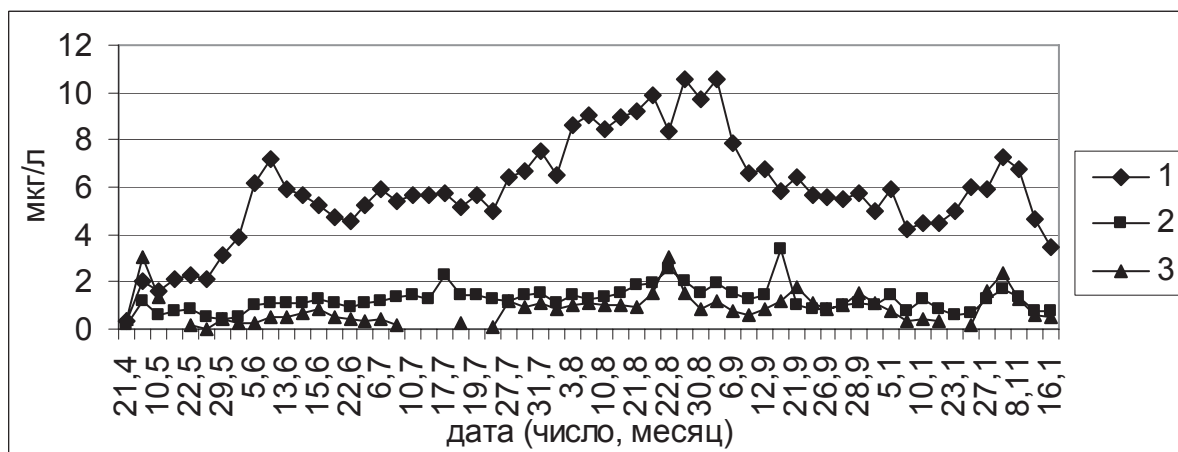


Рис. 2. 1 – хлорофилл а, 2 – хлорофилл b, 3 – хлорофилл с. Река Северная Двина, г. Архангельск, в/пост Соломбала, вегетационный период 2000

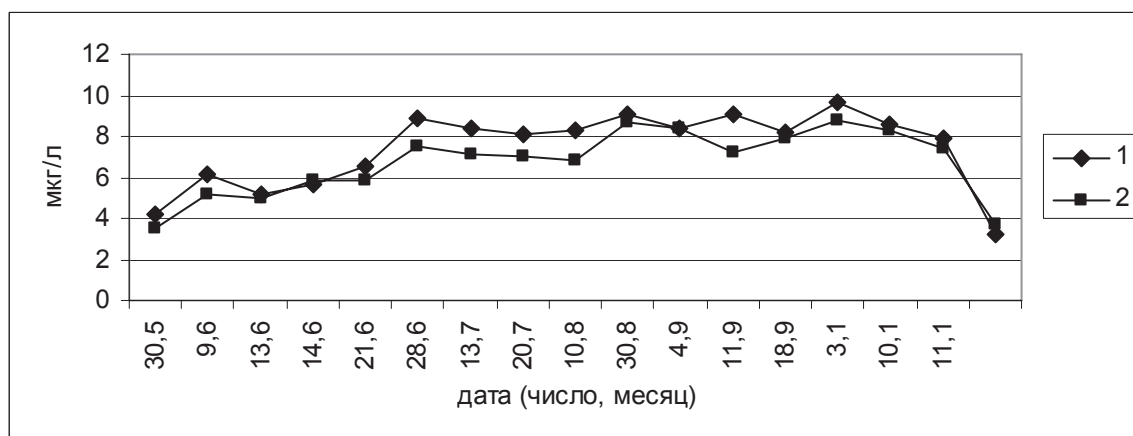


Рис. 3. Хлорофилл а: 1 – отлив, 2 – прилив. Река Северная Двина, г. Архангельск, в/пост Соломбала, весь вегетационный период 1995 г.

видам внутри отделов незначительны. При сильном прогреве воды могут доминировать сине-зелёные (как правило, виды рода *Anabaena*).

Фактический материал по пигментам (основной хлорофилл) представлен в табл. 1. Анализ материала выявляет очень стабильную общую структуру: содержание хлорофилла *a* – 4-10 мкг/л, хлорофилла *b* 0,2-2 мкг/л, хлорофилла *c* – 0,1-1,6 мкг/л и каротиноидов 1-7 мкг/л. Число проб с содержанием хлорофилла *a* (из общего числа проб 364) выше 10 мкг/л составляет 5 %, а выше 15 мкг/л – всего лишь 0,2 % (одна проба). Причём все максимальные величины пришлось на 1999 г.: по хлорофиллу *a* и каротиноидам – на август (17,2 и 9,6 мкг/л соответственно), по хлорофиллам *b* и *c* – на октябрь (5,2 и 7,3 мкг/л соответственно).

Аналогичная картина по распределению основного и дополнительных хлорофиллов и по створу «ж/д мост» («левый» берег и «правый» берег) за период 1979-1993 гг.: из 124 проб (по 62 на каждую точку «левый» и «правый» берег с синхронным отбором проб), пробы с содержанием хлорофилла *a* свыше 10 мкг/л составляют 14 и 11 %, свыше 15 – 2 и 2 % соответственно, причём максимальная величина по хлорофиллу *a* за 15 (!) лет составила 18,9 и 18,0 мкг/л соответственно только раз – в сентябре 1982 г. Распределение по хлорофиллам хорошо прослеживается и на их суммарных величинах за каждый год, учитывая, в первую очередь, климатические условия года: «растянутость» или «сжатость» вегетационного периода (рис. 1). По этой же причине динамика величин основного и дополнительных хлорофиллов демонстрирует межгодовую и сезонную изменчивость, но с сохранением пределов варьирования величин и их соотношений. Для примера представлена расшивка всей съёмки за 2000 г. (рис. 2).

Содержание хлорофилла *a* в начале июня достигает 4 мкг/л и, заметно варьируя вплоть до 10 мкг/л, остаётся в этих пределах (4-10-4 мкг/л) практически до ледостава (середина ноября). Величины хлорофил-

лов *b* и *c* за единичными исключениями не превышают 2 мкг/л. В 1997 г. ход кривых содержания хлорофиллов в ледостав (10-23 октября) «обрывается» на высоких значениях: 10-12 мкг/л – хлорофилла *a*, 1,5-1,7 мкг/л – хлорофилла *b* и 0,7-1,2 мкг/л хлорофилла *c*. Из анализа рассматриваемых материалов, учитывая гидрологию, выявляется ряд обобщений. Так, в любых случаях содержание основного хлорофилла не зависит от температуры воды (хотя видовой состав, численность, биомасса фитопланктона зависят несомненно).

Учитывая особенности рассматриваемого водного биотопа (устьевая часть с сильно выраженной приливо-отливной динамикой), были проведены наблюдения за содержанием пигментов в течение всего вегетационного периода строго по фазам «прилив-отлив» (рис. 3). Кривые содержания хлорофилла *a* (и дополнительных тоже) практически совпадают. Незначительные изменения могут быть вызваны постоянным перемешиванием водной толщи и привнесом аллохтонного материала из многочисленных локальных микробиотопов.

Литературные источники дают противоречивые сведения по некоторым индексам оценки состояния водных объектов, к примеру, «пигментному индексу» E480/E664 (отношение оптических плотностей на 480 и 664 нм, безразмерная величина), но, как правило, на единичных или немногочисленных наблюдениях, иногда с противоположными выводами у одного и того же автора [5, 162-167]. На всём протяжении вегетационных периодов в наших наблюдениях индекс практически равен 1,0 и только в начале вегетационного сезона (особенно) и в конце он повышается до 2 и чуть выше (рис. 4). Очевидно, что величина больше 1,0 характеризует будущие зрелые фитоценозы в стадии формирования, а также нестабильные фитоценозы в зонах смешения, к примеру, в зоне смешения двинских вод и вод вершины Двинского залива Белого моря (острова Лебедин и Мудьюг), где E480/664 составлял 1,9-2,3 в съёмке 25-26 мая 2004 [10]. Здесь же заметим, что

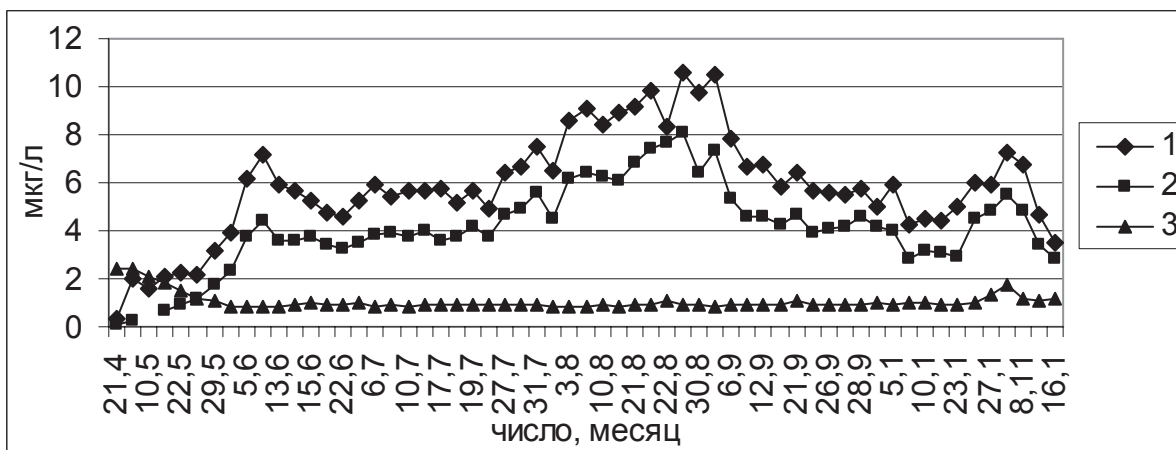


Рис. 4. Хлорофилл а, каротиноиды и «пигментный индекс». 1 – хлорофилл а, 2 – каротиноиды, 3 – E480/664. Река Северная Двина, г. Архангельск, в/пост Соломбала, весь вегетационный период, 2000 г.

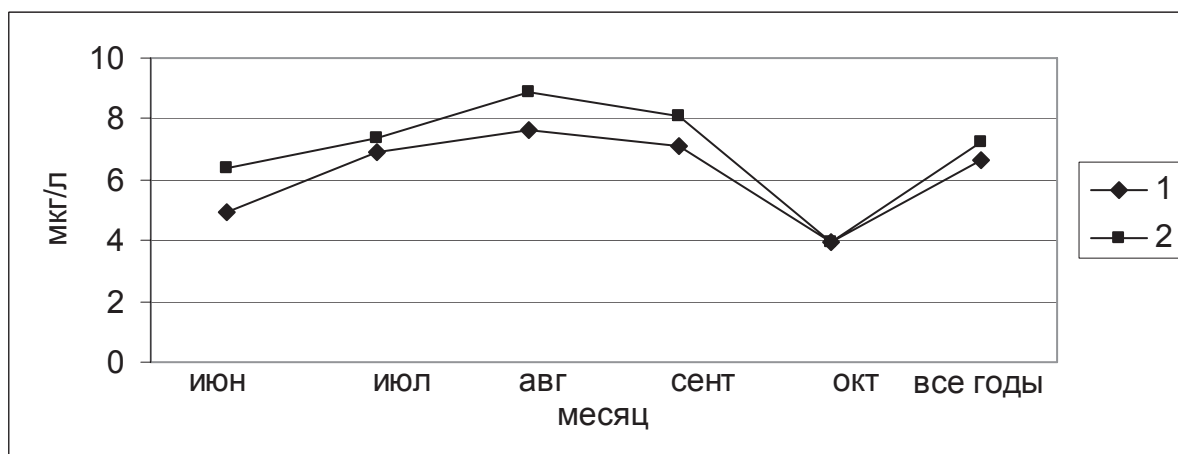


Рис. 5. Хлорофилл а: средний по месяцам вегетационного периода за 15 лет и суммарно по всем данным («все годы»), р. Северная Двина, г. Архангельск, створ «ж/д мост»: 1 – точка «правый берег», 2 – точка «левый берег», 1979-1993 гг.

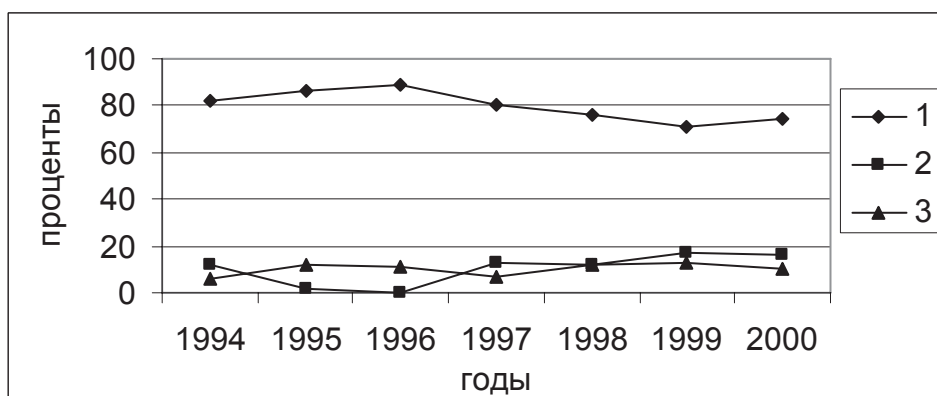


Рис. 6. Хлорофиллы. Отношения: 1 – $A=a/(a+b+c)$, 2 – $B=b/(a+b+c)$, 3 – $C=c/(a+b+c)$; суммарно по каждому году. Река Северная Двина, в/пост Соломбала, 1994-2000 гг.

при всех наблюдениях за хорошо выраженными фитоценозами кривые содержания основного хлорофилла и каротиноидов идут практически параллельно (но каротиноидов всегда меньше).

Устьевая часть особенно подвергалась и подвергается сильнейшему антропогенному воздействию на все компоненты водной биоты (Архангельский и Соломбальский целлюлозно-бумажные комбинаты). Но пигментный комплекс, защищённый и эволюционно и генетически, теоретически должен менее всего испытывать подобные влияния. Данные по пигментам в точках отбора «левый» и «правый» берег створа «ж/д мост» за 15-летний период наблюдений в течение всего вегетационного периода подтверждают это (рис. 5). Хорошо просматривается параллельность кривых за весь вегетационный период, при этом величины хлорофилла *a* несколько выше по левому берегу. По абсолютным величинам расхождение также весьма незначительно: 99,73 мкг/л (правый) и 108,42 мкг/л (левый) – для суммарных данных по месяцам и 6,65 мкг/л (правый) и 7,23 мкг/л (левый) – для средних данных по месяцам. При такой относительной стабильности пигментного комплекса на обеих точках, по остальным синхронным гидробиологическим и гидрохимическим данным (микробиология, биогены, «загрязнители»), отличие по этим точкам очень велико: именно водоток левого берега подвержен постоянному влиянию сбросов Архангельского ЦБК [4].

Рассматривая и сопоставляя любые отдельные годы, не отмечаем никаких корреляций по точечным величинам хлорофиллов. Это вполне объяснимо климатическими особенностями вегетационного периода (отсюда вариабельность видового состава, численности, биомассы фитопланктона, водной массы, биогенов) каждого года. В нашем случае величина **A** за все годы составляет от 71 до 89%, **B** – от 0 до 17% и **C** – от 6 до 13%; показатель же по абсолютным величинам (суммарно за все 7 лет) **A:B:C = 78:11:10**.

Характерно, что кривые **A** (по основному хлорофиллу) и **B**, **C** (по дополнительным)

идут зеркально (в противофазе, особенно между **A** и **B**) и с большим разрывом. Этот вариант показателя уже *a priori* может показывать, что данный фитоценоз структурно и функционально хорошо развит (а это подтверждено синхронными наблюдениями за структурой фитоценоза и скоростью фотосинтеза): основной хлорофилл максимально превалирует в пигментном комплексе (фотоавтоаккумулируемая энергия фотосинтеза). Водоросли хлорофитной линии, т. е. зелёные и эвгленовые, могут «выпадать» из фитопланктона (1996 г.) или переходить на другие пути метаболизма (как и гетеротрофы хромофитной линии). Хорошо просматривается общая структура и функциональность фитоценоза по годам: «благоприятный» (с точки зрения ввода в экосистему аккумулированной энергии кванта) 1996 г. и, наоборот, – 1999 г. Фактически, по таким отношениям в многолетних (временных) или сезонных рядах мы можем определять динамику функционирования биоты в целом: обеспеченность её фотоавтоаккумулируемой энергией, направленностью метаболизма, влиянием внешних («стрессовых») факторов и т. п. Что касается функциональности пигментного комплекса, укажем только (по нашим синхронным опытам), что при одинаковой структуре пигментного комплекса, валовая продукция, чистая продукция, общая деструкция и АЧ значительно варьируют по створам и месяцам: от практического отсутствия до величин 1,72, 1,61, 1,18 мг кислорода/л/сутки и 3,35 мг углерода/хлорофилл *a* / час соответственно. Это значит, что функциональный выход пигментного комплекса не связан линейно с видовым составом, численностью или биомассой его носителя – фитоценоза и что объём хлорофилла *a* вероятно всегда достаточен для выполнения своей функции по «запросу» биоты.

Заключение. Характеристики фитоценоза (видовой состав, численность, биомасса) устьевой части Северной Двины в вегетационный период изменяются. Содержание хлорофилла *a* – 3-9 мкг/л, хлорофилла *b* – 0,2-1,8, хлорофилла *c* – 0,1-1,6 и каротиноидов – 1-7.

Относительное соотношение хлорофиллов (по показателю **A:B:C**) показывает стабильную структуру пигментного комплекса, в среднем составляя **78:11:10**.

ЛИТЕРАТУРА:

1. Гоголицын В.А. Стабилизирующая (регуляторная) роль фитопланктона (пигментный комплекс) в системе реопланктона // Проблемы изучения, рационального использования и охраны природных ресурсов Белого моря. Материалы X Международной конференции. 18-20 сентября 2007.. Архангельск.
2. Гоголицын В.А. Регуляторная роль фитопланктона (хлорофилла «а») в системе реопланктона водотоков бассейна р. Северная Двина 1979 – 2000 гг. Доклад на международной Конференции «Лоир». М., 2005.
3. Гоголицын В.А. Фитопланктон (фикопланктоценоз). Экологический подход. Материалы Всероссийской конференции с международным участием «Водные экосистемы: трофические уровни и проблемы поддержания биоразнообразия». 24-28 ноября 2008. Вологда.
4. Ежегодники качества поверхностных вод по гидробиологическим показателям (раздел «Северо-запад» под ред. Гоголицына В.А.). Москва. Гидрометеиздат. 1979-2000.
5. Сиделев С.И., Бабаназарова О.В.. Анализ связей пигментных и структурных характеристик фитопланктона высокоэвтрофного озера Неро // Journal of Siberian Federal University. Biology. 2 (2008 1).
6. Gogolitzyn V. A. Planktonic biocenose of the mouth parts of the river Northern Dvina. 1975-2001. // Seventh Workshop on Land Ocean Interactions in the Russian Arctic, LOIRA projet. November 15-18. 2004. IASC. Moscow
7. Jeffrey S.W., Humphrey G.F. (1975). New spectrophotometric equations for determining chlorophylls a, b, c1 and c2 in higher plants algae and natural phytoplankton. Biochem. Phys. Pflanz. 2: 191-194
8. Lorenzen G.J. (1967) Determination of chlorophyll and pheopigments: spectrophotometric equations. Limnology and Oceanography. 2: 343-346
9. Parsons T.R., Strickland J.D.H. (1963) Discussion on spectrophotometric determination of marine plant pigments with revised equations for ascertaining chlorophylls and carotenoids. J. Marine Res. 3: 155-163
10. Shevchenko P. Gogolitzyn V.A. System approach in biogeochemical studies in the Northern Dvina delta during the flood period. May 2004// Seventh Workshop on Land Ocean Interactions in the Russian Arctic. LOIRA projet. November 15-18. 2004. IASC. Moscow

УДК 577.2

Жуковская А.Ф., Бельчева Н.Н., Челомин В.П.

Тихоокеанский Океанологический Институт им. В. И. Ильичева
Дальневосточного отделения РАН (Владивосток)

ИДЕНТИФИКАЦИЯ И ЧАСТИЧНАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ДВУХ ВЫСОКОМОЛЕКУЛЯРНЫХ КАДМИЙ-СВЯЗЫВАЮЩИХ БЕЛКОВ ПРИМОРСКОГО ГРЕБЕШКА *MIZUHOPECTEN YESSOENSIS*

A. Zhukovskaya, N. Belcheva, V. Chelomin

V.I.Il'ichev Pacific Oceanological Institute of the Far Eastern Branch of RAS (Vladivostok)

INVOLVMENT OF HIGH MOLECULAR WEIGHT Cd -BINDING PROTEINS IN Cd-ACCUMULATION IN THE SCALLOP *MIZUHOPECTEN YESSOENSIS*

Аннотация. Много уже известно о кадмий-связывающих лигандах в других видах семейства Pectinidae, однако ничего не известно о дальневосточном представителе этого семейства – приморском грёбешке *Mizuhopecten yessoensis*. В работе были исследованы кадмий-связывающие лиганды в пищеварительной железе *M. yessoensis*. В данной работе впервые обнаружены в клетках пищеварительной железы *Mizuhopecten yessoensis* термостабильные, устойчивые к органическим растворителям высокомолекулярные кадмий-связывающие лиганды. Уникальными особенностями Cd-связывающих белков данного вида является не только вес (72 кДа и 43 кДа), но также и спектроскопические характеристики ($\lambda_{254}/\lambda_{280} \text{ нм} > 2$); 10 SH - групп на два белка. Результаты исследований накопления кадмия в пищеварительной железе приморского грёбешка и исследование распределения кадмия среди цитоплазматических белков в особях из мест с разной степенью антропогенного вмешательства свидетельствуют о хорошо развитых механизмах адаптации у *Mizuhopecten yessoensis* к кадмию.

Ключевые слова: кадмий-связывающие белки, MT-подобные белки, тяжелые металлы, приморский грёбешок, адаптация.

Abstract. Mollusks have long been known to naturally accumulate metals to high concentrations, particularly in the digestive gland. Among them scallops have able to accumulate toxic Cd to concentrations far exceeding those in the surrounding seawater. We have studied the cadmium-binding ligands in the digestive gland of *M. yessoensis*. The results have revealed two high molecular weight proteins with a 72 and 43 kDa in *M. yessoensis* with specific spectroscopic relation ($\lambda_{254}/\lambda_{280} \text{ nm} > 2$) and 10 SH-groups for both proteins. The results of the study of cadmium accumulation in the digestive gland of the scallop and the distribution of cadmium among cytoplasmic proteins in the *M. yessoensis* from locations with varying degrees of anthropogenic impact showed a well-developed mechanism of adaptation in *M. yessoensis* to highly toxic cadmium.

Key words: Cd-binding proteins, MT-like proteins, heavy metals, scallop, Bivalvia, biochemical adaptation.

Проблема загрязнения морей тяжелыми металлами (Cd, Hg, Cu и др) существует всего несколько десятилетий, и на сегодняшний день много еще не известно о механизмах детоксикации и функционирования системы адаптации морских беспозвоночных к тяжелым металлам. В настоящее время распространена точка зрения, что центральным звеном в биохимической системе детоксикации потенциально токсичных металлов являются металлсвязывающие белки металлотioneины (MT). Эти представления базируются на уникальных свойствах и

повсеместном распространении этих белков, которые обнаружены в представителях практически всех основных филогенетических групп от простейших до позвоночных [8, 913; 11, 25; 16, 153; 19, 81].

Среди морских беспозвоночных двустворчатые моллюски являются наиболее интересными представителями, так как являются гетерогенной группой по содержанию разного типа металлсвязывающих белков и чувствительной группой организмов к повышенным содержаниям тяжелых металлов в окружающей среде. Среди *Bivalvia* именно у представителей сем. *Pectinidae* были обнаружены чрезвычайно высокие концентрации кадмия в почках и пищеварительной железе даже в видах, обитающих в акваториях с низким содержанием кадмия в морской воде [21, 216: 4, 1355]. Этот факт говорит о том, что представители сем. *Pectinidae* хорошо развили биохимические механизмы адаптации к повышенным содержаниям токсичного кадмия в среде. Среди дальневосточных представителей сем. *Pectinidae* наиболее интересным видом является приморский гребешок (*Mizuhopecten yessoensis*), который способен накапливать высокие концентрации высокотоксичного кадмия в мягких тканях. Однако на сегодняшний день ничего не известно о кадмий-связывающих белках в тканях этого вида двустворчатого моллюска. Поэтому целью данного исследования являлось идентификация и частично характеристика биохимических механизмов адаптации приморского гребешка *Mizuhopecten yessoensis* к высокотоксичному кадмию.

Материал и методы. Приморский гребешок *Mizuhopecten yessoensis* (возраст 3 и 5 лет) был отобран из акваторий с разной степенью нагрузки кадмием: из загрязненной акватории Амурского залива (Японское море) г. Владивостока вблизи нефтебазы (район 1-я речка) и из экологически чистой акватории залива Посыета Японского моря. Пищеварительную железу приморского гребешка извлекали для дальнейшего проведения биохимических исследований. Водорастворимые цитоплазматические белки разделяли с

помощью гель-хроматографии на Superosa 12 с соблюдением условий и рекомендаций, разработанных для морских организмов [18, 263]. Выход фракций регистрировали при λ 254 нм и λ 280 нм. В процессе хроматографии элюат отбирали для определения металлов (Cd, Zn и Cu). Содержание металлов определяли так же на всех стадиях фракционирования и очистки белков методом [10, 9; 1]. Для определения концентрации белка использовали метод Лоури [13, 265]. SDS-PAAGE электрофорез проводили согласно методу Лэммли [12, 680]. Концентрация акриламида в разделяющем геле в зависимости от эксперимента варьировала от 9 до 12%. Визуализацию белков проводили методом окрашивания красителями Кумасси G-250 и хлористым серебром.

Результаты. Получено, что 70 % всего аккумуляированного пищеварительной железой кадмия содержится в цитоплазматической фракции (фракция А), при этом на долю этой же фракции приходится более 90 % всего белка. Результаты анализа содержания кадмия среди цитоплазматических белков показали, что основная часть этого металла находится в белках с молекулярной массой в области 70 кДа, и только малая часть кадмия – в области низкомолекулярных белков (рис. 1). Интересно, что после многоэтапного фракционирования (температурное осаждение, осаждение органическим растворителем), доля кадмия во фракции D (фракция, полученная после 80 % ацетонного осаждения) составляет более 50 %, а доля белка составляет от 15 до 20 % от всего белка, находящегося в цитоплазме клетки. Получено также, что на 1 мг белка приходится от 7 до 10 мкг кадмия.

На долю фракции В (15 мин при t 70 °C), содержащей термостабильные белки приходится от 70 до 80 % всего цитоплазматического кадмия, что свидетельствует о том, что основной кадмий-связывающий белок является термостабильным. Осаждение органическим растворителем (50% и 80% содержание ацетона – фракция С и фракция D) показало, что кадмий находится в белках,

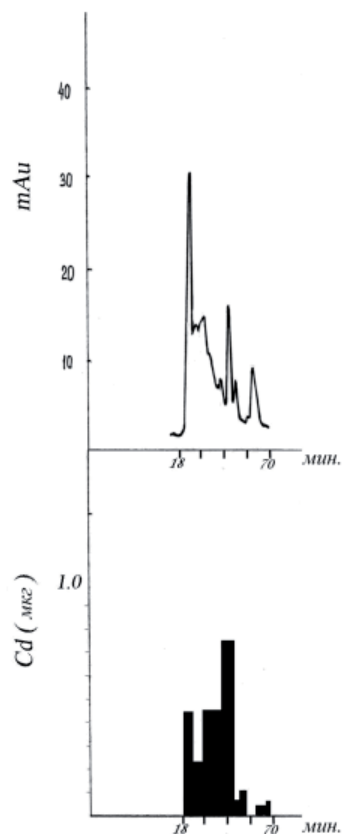


Рис. 1. Распределение кадмия в цитоплазматических белках пищеварительной железы *M. yessoensis* (FPLC, Superosa 12).

осаждаемых в присутствии ацетона с концентрацией от 50 до 80 %. Фракцию D, ресуспендированную в 0,02 М Tris-HCl буфере pH 8,5, разделили методом высоко скоростной проточной жидкостной хроматографии FPLC на колонке Superosa 12. Получено два кадмий-содержащих пика (рис.2), соответствующих высокомолекулярным белкам. При этом, основная часть кадмия локализуется в первом и втором элюированном пике (пик 1 и пик 2) у гребешков из экологически чистой акватории, тогда как у животных из импактного района кадмий локализуется в пике 1 (табл. 1). Согласно полученным результатам, белок, соответствующий пику 1, является основным кадмий-связывающим белком.

Анализ содержания микроэлементов показал, что кроме токсичного кадмия в полу-

ченных белках содержатся и такие физиологически важные металлы, как Cu и Zn. Соотношение Cd:Zn:Cu в пике 1 и пике 2, а следовательно, можно предполагать, и в кадмий-связывающих белках, составляет 2:3,5:1 и 2,7:3,2:1, соответственно, для гребешков из зал. Посьет. Для гребешков из района нефтебазы это же соотношение в пике 1 составляет 34:2:1, а в пике 2 соотношение Cd:Zn:Cu составляет 5:3,5:1. Соотношение адсорбции в кадмий-содержащих белках при λ 254 и λ 280 нм составляет около 2, что существенно ниже, чем это же соотношение для МТ. При разделении Cd- связывающего белка методом SDS-электрофореза в ПААГЕ было получено две полосы, которые соответствуют полипептидам с массой 72 и 43 кДа (рис. 3).

Таблица 1

Сравнение распределения кадмия (мкг) в фракциях 80% ацетонного осадка элюированных FPLC между приморском гребешке из экологически чистой и импактной акваторий

НАЗВАНИЕ ПРОБЫ	Cd, мкг		Zn, мкг		Cu, мкг	
	Посьет	1-я речка	Посьет	1-я речка	Посьет	1-я речка
Пик 1	0,11	3,4	0,18	0,2	0,05	0,1
Пик 2	0,11	0,32	0,13	0,03	0,04	0,03
Пик 3	0,01	0,1	-	0,07	-	0,02

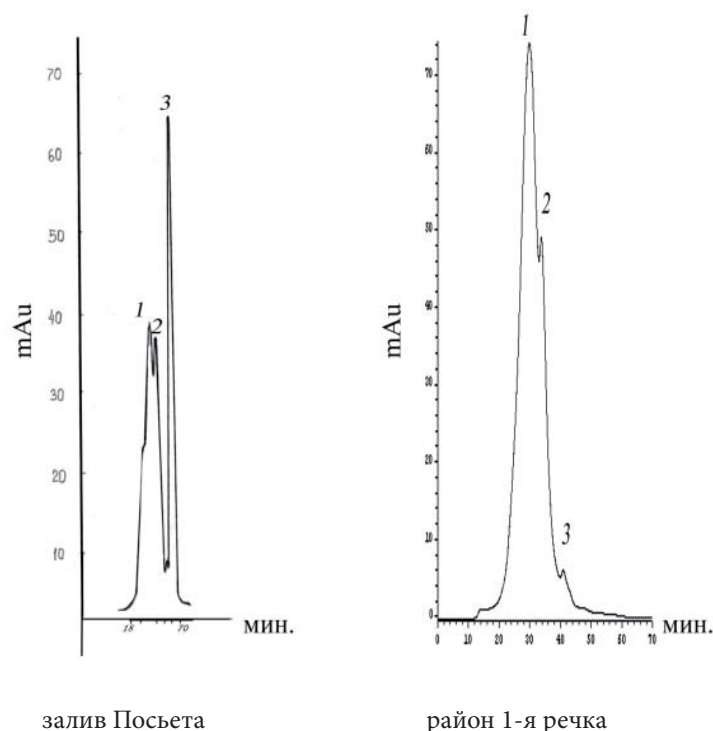


Рис. 2. Хроматографический профиль (FPLC, Superosa 12, λ 280 нм) ресуспендированного ацетонного осадка пищеварительной железы приморского гребешка из акваторий с различным содержанием кадмия в среде (экологически чистый район и импактная акватория).

Обсуждение. В данной работе впервые проведено исследование по изучению кадмий-связывающих лигандов в приморском гребешке *M. yessoensis*. Представленные результаты демонстрируют, что *M. yessoensis* способен концентрировать в некоторых тканях токсичный кадмий до уровней, превышающих концентрации этого металла в окружающей среде. Такая уникальная способность приморского гребешка, как и других видов *Pectinidae*, свидетельствует о хорошо развитых механизмах адаптации представителей этого семейства к высокотоксичному кадмию.

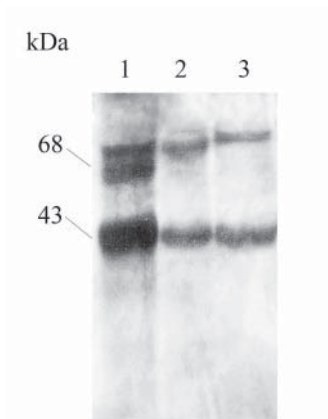


Рис. 3. Молекулярная масса Cd-связывающих белков *Mizuhopecten yessoensis*. 1-стандарты, 2- проба 10 мкл (пик № 1 и пик № 2), 3- проба 20 мкл (пик № 1 и пик № 2). Окраска Кумасси.

В многочисленных исследованиях на представителях разных семейств двустворчатых моллюсков получено, что помимо пищеварительной железы в аккумуляции тяжелых металлов могут участвовать такие органы, как жабры, мантия и др. [3, 726; 15, 153]. У представителей сем. Pectinidae кадмий накапливается главным образом в пищеварительной железе, вне зависимости от источника поступления кадмия (морская вода, грунт или еда). Так, в эксперименте по изучению путей поступления кадмия на двух видах гребешков [14, 58]: королевского гребешка *Chlamys varia* и королевского гребешка *Pecten maximus*, получено, что пищеварительная железа является основным органом, аккумулирующим кадмий. В приморском гребешке *Mizuhopecten yessoensis* жабры и мантия принимают минимальное участие в накоплении кадмия по сравнению с пищеварительной железой и почками [2].

Наши исследования показали, что кадмий в пищеварительной железе приморского гребешка *M. yessoensis* аккумулируется в цитоплазматической фракции (около 80 % кадмия) и связан с белками: проявляющими устойчивость к температуре (70 °C 15 мин.) и способными растворяться в органическом растворителе с 50 % концентрацией. У гребешка *P. maximus* также около 80 % кадмия приходится на водорастворимую фракцию

клеток пищеварительной железы, тогда как в этой же работе авторами [14, 58] обнаружено, что у королевского гребешка *C. varia* только 40 % кадмия приходится на цитоплазматическую фракцию.

Свойства термостабильности и устойчивости к органическим растворителям характерны для белков, которым принадлежит ведущая роль в связывании высокотоксичных металлов, в том числе и кадмия – металлотионеинов (МТ) и МТ-подобным белкам, найденным во многих представителях морских беспозвоночных [5, 185; 7, 739; 9, 425].

Распределение кадмия среди термостабильных цитоплазматических белков в приморском гребешке *M. yessoensis* показывает, что кадмий связывается с высокомолекулярными белками (72 и 43 кДа). В импактной группе *M. yessoensis* кадмий связывается с белком с молекулярной массой 72 кДа.

Что касается распределения цинка и меди в пищеварительной железе приморского гребешка, то из полученных нами результатов можно утверждать, что, по крайней мере, на распределение Cd, Zn и Cu в белке с молекулярной массой 43 кДа повышенное содержание кадмия в окружающей среде значительно не влияют. Основная роль в связывании кадмия принадлежит белку с молекулярной массой 72 кДа.

В ходе исследования получено, что осо-

бенностями Cd-связывающих белков данного вида приморского гребешка (*Mizuhopecten yessoensis*) являются: молекулярная масса (72 кДа и 43 кДа); спектроскопические характеристики, такие, как разница в два раза при λ 254 нм и λ 280 нм; и только 10 SH - групп на два белка обнаруженных кадмий-связывающих белка.

Похожие исследования на североатлантическом представителе семейства Pectinidae *Adamussium colbecki* [17, 147] обнаружили в пищеварительной железе данного вида кадмий-связывающий низкомолекулярный белок (10 кДа).

Стоун с соавторами [20, 189] идентифицировали и исследовали некоторые физико-химические свойства кадмий-связывающих компонентов в пищеварительной железе гребешка *Pecten maximus*. Авторам удалось обнаружить, что кадмий в пищеварительной железе *P. maximus* распределяется между тремя цитоплазматическими компонентами - 150 кДа, 55 кДа и 10 кДа. Фракция с молекулярным весом более чем 150 кДа содержит, по крайней мере, три компонента и связывает менее чем 5 % от всего кадмия. Компонент с молекулярным весом 10 кДа также является белком, связывающим кадмий, и охарактеризован Стоуном с коллегами как МТ-подобный белок.

В современных представлениях о стратегии адаптации организма к тяжелым металлам общепринято считать, что ведущая роль в детоксикации, например, кадмия принадлежит МТ. Далингер [6, 331], однако, считает, что такое представление о роли МТ верно только для беспозвоночных, тогда как у позвоночных основная роль МТ – связывание жизненно важных элементов, таких, как цинк и медь. Стратегии детоксикации среди огромного видового разнообразия типа Mollusca в целом схожи как на тканевом, так и на молекулярном уровне организации. Зачастую в морских моллюсках, обитающих в сублиторальной зоне, и вне зависимости от того, являются ли они концентраторами тяжелых металлов или нет, экзогенные металлы аккумулируются в одном или нескольких

органах, которые, как правило, являются органами пищеварительной системы: или же это почки, или жабры. На молекулярном уровне стратегии адаптации к тяжелым металлам у двустворчатых моллюсков представлены синтезом металлсвязывающих белков – металлотионеинов. За счет некоторых особенностей в аминокислотном составе эти белки называют металлотионеинами моллюсков. Однако, несмотря на то, что в нашем исследовании в пищеварительной железе приморского гребешка не найдено металлотионеинов, это не означает, что в исследуемом моллюске отсутствуют механизмы устойчивости к повышенному содержанию токсичного кадмия в среде. Более того, получено, что именно за счет обнаруженных новых МТ-подобных Cd-связывающих белков пищеварительной железы *M. yessoensis* способен аккумулировать кадмий в значительных количествах. Однако для того, чтобы понять функцию кадмий-связывающих белков, необходимо понять механизм связывания не только кадмия, но и цинка, и меди, и их взаимосвязь в кинетике связывания, и приоритетность в сорбции белков к этим металлам, и ответить на многие другие вопросы, касающиеся биологической и физиологической роли обнаруженных белков. Кроме того, мы полагаем, что исследования механизмов аккумуляции и детоксикации кадмия в приморском гребешке *M. yessoensis* позволит ответить не только на такие фундаментальные вопросы, как, каким же путем шла эволюция биохимической системы адаптации к тяжелым металлам у двустворчатых моллюсков и всего типа Mollusca, в целом, но также использовать полученные результаты об особенностях аккумуляции и детоксикации тяжелых металлов в приморском гребешке *M. yessoensis* в экотоксикологических исследованиях. Это позволит выполнять не только мониторинг состояния морской среды, но и сделать комплексные эколого-биохимические оценки состояния биоты в ответ на изменяющиеся условия среды.

ЛИТЕРАТУРА:

1. Никаноров А.М., Жулидов А.В., Покаржевский А.Д. Биомониторинг тяжелых металлов в пресных экосистемах. Л.: Гидрометеиздат, 1985.
2. Челомин В.П. Экоотоксикологические аспекты биоаккумуляции кадмия (на примере морских двусторчатых моллюсков). Автореф. дис. ... док. биол. наук. Владивосток: ТОЙ ДВО РАН. 1998.
3. Bebiano M., Serafim M. and Rita M. Involvement of metallothionein in cadmium accumulation and elimination in the clam *Ruditapes decussata* // Bull. Environ. Contam. Toxicol. 1994. V. 53.
4. Bustamante P., Miramand P. Interspecific and geographical variations of trace element concentrations in Pectinidae from European waters // Chemosphere. 2004. V. 57.
5. Dallinger R., Berger B., Gruber C., Störzenbaum S. Metallothioneins in Terrestrial Invertebrates: Structural Aspects, Biological Significance, and Implications for their Use as Biomarkers // Cell. Mol. Biology. 2000. V. 46(2).
6. Dallinger R., Berger B., Hunziker P.E., Birchler N., Hauer C.R. and Jeremias H.R. Kagi. Purification and primary structure of snail metallothionein. Similarity of the N-terminal sequence with histones H4 and H2A // Eur. J. Biochem. 1993. V. 216.
7. Giguere A., Coulliard Y., Campbell P. G.C., et al. Steady-state distribution of metals among metallothionein and other cytosolic ligands and links to cytotoxicity in bivalves living along a polymetallic gradient // Aquatic Toxicology. 2003. V. 64.
8. Hamer D.H. Metallothionein // Ann. Rev. Biochem. 1986. V. 55.
9. Jin-Sung Park, Soohee Chung, Il-Seon Park, Yangsun Kim, Chul -Hwan Koh, In-Sook Lee. Purification and characterization of metallothionein-like cadmium-binding protein from Asian periwinkle *Littorina brevicula* // Comparative Biochemistry and Physiology Part C. 2002. V. 131.
10. Julshamn K., Andersen K.-J. Subcellular distribution of major and minor elements in unexposed mollusks in western Norway-I. The distribution and binding of cadmium, zinc and copper in the liver and the digestive system of the oyster *Ostrea edulis* // Comp. Biochem. Physiol. 1983. V. 75A.
11. Kagi J.H.R., Kojima Y. Chemistry and biochemistry of metallothionein. Metallothionein II. Eds. by Kagi J.H.R., Kojima Y., Basel: Birkhauser Verlag. 1987.
12. Laemly U. K. Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. // Nature. 1970. № 5259.
13. Lowry O. H., Rosebrough N. J., Farr, A. L., Randall R. J. Protein measurement with the Folin phenol reagent // Journal of Biological Chemistry. 1951. V. 193.
14. Metian Marc, Warnau Michel, Bustamante Paco, et. al. Interspecific comparisons of Cd bioaccumulation in European Pectinidae (*Chlamys varia* and *Pecten maximus*) // Journal of Experimental Marine Biology and Ecology. 2007. V. 353.
15. Nolan C.V., Duke E.J. Cadmium accumulation and toxicity in *Mytilus edulis*: involvement of metallothioneins and heavy-molecular weight protein // Aquat. Toxicol. 1983. V. 4.
16. Petering D.H., Fowler B.A. Discussion summary. Role of metallothionein and related proteins in metal metabolism and toxicity: problems and perspectives // Environ. Health Perspect. 1986. V. 65.
17. Ponzano E., Dondero E., Bouquegneau J.-M., Sack R., Hunziker P., Viarengo A. Purification and biochemical characterization of cadmium metallothionein from the digestive gland of the Antarctic scallop *Adamussium colbecki* (Smith, 1902) // Polar Biology. 2001. V. 24.
18. Roesijadi G. Metallothioneins in metal regulation and toxicity in aquatic animals (Review) // Aquat. Toxicol. 1992. V. 22.
19. Roesijadi G., Fowler B. A. Purification of invertebrate metallothioneins // Methods in Enzymology. - 1991. V. 205.
20. Stone H.C., Wilson S.B., Overnell J. Cd-binding proteins in the scallop *Pecten maximus* // Environ. Health Perspect. 1986. V. 65.
21. Viarengo A., Canesi L., Massu-Cotelli A., Ponzano E., Orunesu M. Cu, Zn, Cd content in different tissues of the Antarctic scallop *Adamussium colbecki* (Smith 1902): role of metallothionein in the homeostasis and in the detoxification of heavy metals // Mar. Env. Res. - 1993. - V. 35. - P. 216-217.

УДК 616.24

Занин А.М., Стовбун С.В.

Институт химической физики им. Н.Н. Семенова РАН (г. Москва)

О КАЛИБРОВКЕ ИНГАЛЯТОРА ДЛЯ ПРОДУКЦИИ СУБМИКРОСКОПИЧЕСКОЙ ФРАКЦИИ

A. Zanin, S. Stovbun

N.N. Semenov Institute of Chemical Physics of RAS (Moscow)

CALIBRATION OF THE INHALER FOR THE PRODUCTION OF SUBMICROSCOPIC FRACTION

Аннотация. Разработан способ увеличения диспергирования частиц аэрозоля с целью усиления терапевтического эффекта лекарственных средств при ингаляции их. Показано, что применение рассекателя капель в стандартном ингаляторе позволило увеличить долю субмикроскопических частиц ($d \leq 1 \mu\text{м}$) с 7 до ~50%, что может существенно увеличить эффективность лечения, повысить безопасность его, существенно снизить эффективные дозы лекарственных средств.

Ключевые слова: альвеолы, лекарственные средства, ингалятор, рассекатель, субмикроскопические частицы, терапевтический эффект.

Abstract. The method for increasing the dispersion of aerosol particles was developed to enhance the therapeutic effect of drugs by inhalation them. It is shown that the use of the sparger in a standard inhaler has increased the proportion of submicroscopic particles ($d \leq 1 \mu\text{m}$) from 7 to about 50%, which can substantially increase the treatment efficiency, improve its safety and significantly reduce the effective doses of drugs.

Key words: alveoli, medicines, inhalers, sparger, submicroscopic particles, therapeutic effect.

Важнейшим показателем эффективности ингалятора является легочная депозиция лекарственного препарата. Известно, что в альвеолы проникают и, следовательно, обладают наибольшим терапевтическим эффектом частицы размером $d \leq 1 \mu\text{м}$, что связано со срывом более крупных и тяжелых микрочастиц (микрокапель) с аэродинамических линий тока воздуха в местах разветвления трахеол [1]. В существующих системах доставки эта величина составляет 4-7%. В данной работе предпринята попытка увеличить долю субмикроскопических или нереспираторных частиц ($d \leq 1 \mu\text{м}$). В качестве каплеобразователя выбран стандартный компрессорный ингалятор поршневого типа ДЕЛЬФИН F1000. Частицы регистрировались на выходе из трубки (длина 18-20 см) переменного диаметра (до 1 см), моделирующей легочную трахею.

Как известно, чем выше коэффициент поверхностного натяжения и вязкость лекарственного раствора, тем больше размер частиц и ниже производительность [2, 320-321]. Поэтому применение веществ с высокой поверхностной активностью уменьшает ширину спектра, делает аэрозоль более высокодисперсным и улучшает его терапевтические свойства. Поэтому выбран модельный 0,1% -ный раствор этилового спирта и глицерина в воде. Предметное стекло покрывалось полимерной пленкой толщиной $H = \lambda / 4 = 0,1 \mu\text{м}$, что привело к увеличению контрастности путем сложения волн, находящихся в противофазе (в максимуме спектра излучения источника, $\lambda \approx 400 \text{ нм}$). Это позволило, с одной стороны, существенно улучшить визуализацию частиц вплоть до 0,1 мкм, а с другой – приблизить наблюдаемый диаметр к истинному.

© Стовбун С.В., Занин А.М.

Статья выполнена в рамках работы по Государственному контракту № 14.740.11.90629 от «05» октября 2010 г.

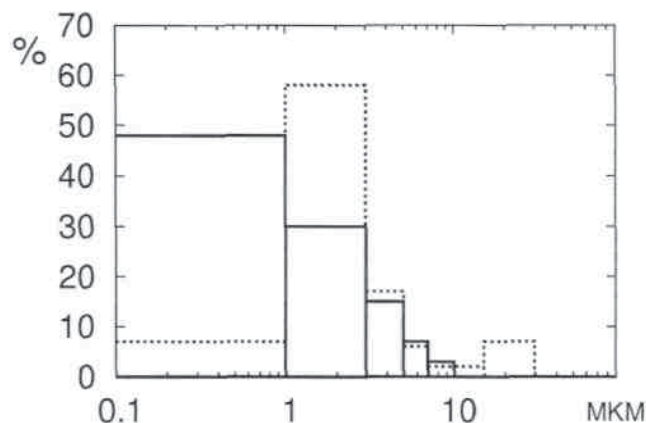


Рис. 1. Дифференциальное распределение частиц. Пунктирная линия – без рассекателя, сплошная линия – с рассекателем.

Частицы фиксировались при максимальном увеличении $\times 1000$. Рассматривалось по 20 полей (каждое площадью 7670 кв. мкм), с которых и получены статистические данные. На гистограммах (см. рис. 1) по горизонтальной оси отложен в логарифмическом масштабе размер частиц (в мкм). По вертикальной оси – суммарная масса частиц аэрозоля (в %) размером, не превышающим определенную величину, указанную на горизонтальной оси. Из графика дифференциального распределения (рис.1, сплошная линия) видно, что частицы размером ≤ 1 мкм составляют до 50% от общей массы. Это удалось зафиксировать при внесении наипростейшего конструктивного изменения в ингалятор. А именно, применен т. н. рассекатель капель, обеспечивающий эффективный срыв с линий тока и последующий сбор крупных частиц. Рассекатель выполнен из фольги (ширина 5 мм, толщина 0,05 мм) и расположен непосредственно над

соплом ингалятора. В отсутствии вышеуказанного рассекателя доля капель размером ≤ 1 мкм не превышает 7% (рис.1, пунктирная линия)

Таким образом, использование плоского рассекателя позволяет снизить дозу препарата, попадающего в организм, по отношению к фракции ≤ 1 мкм, обладающей высокой терапевтической эффективностью более чем в 7 раз. Это повышает безопасность и эффективность лечения, т. к. позволяет использовать более длительные процедуры ингалирования при значительно меньшем общем попадании лекарственного средства в организм.

ЛИТЕРАТУРА:

1. Лайтфут Э. Явления переноса в живых системах. М.: Мир, 1977. 516 с.
2. Общая химия Изд. 22-ое / под ред. В.А. Рабиновича. Л.: Химия, 1982. 720 с.

УДК 57.083.134:616.98

Катунина Л.С., Таран Т.В., Старцева О.А.

Ставропольский научно-исследовательский противочумный институт

Тимченко Л.Д., Пенькова Н.И.

Ставропольский государственный университет

Арешидзе Д.А.

Московский государственный областной университет

**РАЗРАБОТКА НОВЫХ ПИТАТЕЛЬНЫХ СРЕД ДЛЯ
КУЛЬТИВИРОВАНИЯ ЛЕГИОНЕЛЛ НА ОСНОВЕ КИСЛОТНОГО
ГИДРОЛИЗАТА МОРКОВИ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ
НЕТРАДИЦИОННЫХ СТИМУЛИРУЮЩИХ ДОБАВОК**

L. Katunina, T. Taran, O. Startseva

Stavropol Research Anti-Plague Institute

L. Timchenko, N. Pen'cova

Stavropol State University

D. Areshidze

Moscow State Regional University

**WORKING OUT OF NEW NUTRIENT MEDIUMS FOR CULTIVATING
LEGIONELLA ON THE BASIS OF CARROT ACID HYDROLIZATION
WITH THE USE OF NONCONVENTIONAL STIMULATING ADDITIVES**

Аннотация. Предложена рецептура новой питательной среды для культивирования легионелл на основе кислотного гидролизата моркови со стимулирующими компонентами из миндаля, арахиса и креветок. Проведен аналитический обзор литературы по химическому составу используемого сырья для стимуляторов роста и обнаружены факторы роста легионелл. Подробно описана технология приготовления среды. Полученные результаты свидетельствуют о том, что питательные среды со стимулирующими компонентами из миндаля и арахиса способствуют высокому выходу бактериальной массы, незначительно уступают контролю, не изменяют классических характеристик микроорганизмов и могут явиться экономически выгодной моделью в диагностических и производственных целях.

Ключевые слова: питательная среда, легионеллы, стимулирующая добавка, ферментативный гидролизат из миндаля, ферментативный гидролизат арахиса, ферментативный гидролизат креветок.

Abstract. A new nutrient medium for cultivating Legionella has been suggested on the basis of carrot acid hydrolization with stimulating components from almonds, peanut and shrimps. A review of the sources on chemical compounds of the used raw materials for growth factors has been made and growth factors for Legionella have been found out. The technology of preparing the environment has been described in detail. The received results testify that nutrient mediums with stimulating components from almonds and peanuts promote a high output of bacterial weight, slightly concede to the control, do not change classical characteristics of microorganisms and can be an economical model for diagnostic and industrial purposes.

Key words: a nutrient medium, Legionella, the stimulating additive, fermentum hydrolization from almonds, fermentum hydrolization from peanuts, fermentum hydrolization from shrimps.

Легионеллез (болезнь легионеров) – острое системное инфекционное заболевание, инициированное микроорганизмами рода *Legionella*, преимущественно видом *L. pneumophila*, классически проявляющее себя пневмонией, а также более легкой респираторной инфекцией (лихорадка *Pontiac*). Уровень заболеваемости легионеллезом в мире неуклонно растет. Его клиническая диагностика практически невозможна из-за полиморфизма проявлений, что характерно для всех атипичных пневмоний. Это предопределяет актуальность совершенствования лабораторной диагностики указанной инфекции.

Легионеллез является типичным примером техногенных инфекций, обусловленных активным использованием в промышленности и быту циркулирующих замкнутых водных систем, источников бактериального аэрозоля [1, 428-430]. Это обстоятельство предопределяет актуальность контроля легионелл в этих системах.

Поскольку клиническая диагностика легионеллеза сложна, решающим при постановке диагноза являются данные микробиологических и серологических исследований. Применяют гематодиагностику (ПЦР), а также выявление возбудителя в мокроте, слизи, биоптатах. Для посева материала обычно используют среду Мюллера-Хинтона с добавлением солей железа и L-цистеина [2, 392-401].

К настоящему времени разработано значительное количество питательных сред для легионелл: угольно-дрожжевой агар, GVPC, GVPN, BMAP, BCYEa. Все указанные среды производятся зарубежными фирмами: Oxoid (Великобритания), Becton Dickinson (США), BioMerieux (Франция), Himedia (Индия) [6].

В РФ выпускают питательные среды для культивирования легионелл – легионелбакагар (Оболенск, ФГУН ГНЦПМиБ); среду СЭЛ (Ростов, ОАО «Медис»).

Бактериологический метод, включающий выделение чистой культуры и ее идентификацию, остается «золотым» стандартом диагностики легионеллезом. Существующие микробиологические методы диагностики легионеллезом длительны в исполнении (7-

10 суток) и обладают высокой стоимостью [8, 144-145]. Легионеллы не растут на простых питательных средах (агаре Хоттингера, кровяном агаре, агаре MacConkey и др.), что связано с потребностью возбудителя в L-цистеине и в растворимом пирофосфате железа (Fe^{2+}). Для выделения возбудителя используют модификации буферного угольно-дрожжевого агара, содержащего L-цистеин, растворимый пирофосфат железа и α -кетоглутаровую кислоту (среда BCYEa, СЭЛ, легионелбакагар и другие). Однако чувствительность бактериологического метода остается недостаточно высокой, что предопределяет актуальность разработки новых дешевых питательных сред для культивирования легионелл и улучшение качества имеющихся питательных сред.

Целью настоящего исследования явилось конструирование плотных недорогих питательных сред для культивирования легионелл, отвечающих требованиям современной нормативной документации по контролю качества питательных сред [3].

Нами была предложена рецептура питательной среды на основе кислотного гидролизата моркови (КГМорк.). В связи с тем, что легионеллы растут при определенном наборе аминокислот, ростовых факторов, pH среды и температуре 37°C на искусственных питательных средах (угольно-дрожжевом агаре) [1, 428-430], для усиления ростовых качеств среды применили стимулирующие добавки, выбору которых уделили особое внимание.

По сообщениям ряда авторов в качестве стимулирующих компонентов целесообразно использовать гидролизаты из различных сырьевых субстанций, которые являются богатыми источниками питательных веществ в доступной для микроорганизмов форме [5, 117-118; 7, 74-77].

С учетом пищевых потребностей выращиваемого микроба провели аналитический обзор доступной литературы по химическому составу используемого сырья для гидролиза [4]. Установлено, что арахис, миндаль и креветки являются богатыми субстанциями, в составе которых обнаружены комплексы

Таблица 1

Ростовые качества питательных сред для культивирования легионелл

Название питательной среды	<i>Legionella pneumophilla</i> ATCC 33152	<i>Legionella pneumophilla</i> ATCC 33155	Подвижность	Цвет колоний
КГМорк.	25±0,1	18±0,2	сохранена	голубые с розоватым оттенком
КГМорк. + ФГМ	51±0,1	55±0,3	выражена	голубые с сероватым оттенком
КГМорк. + ФГК	нет роста	нет роста	-	-
КГМорк. + ФГА	65±0,2	67±0,1	выражена	голубые
СЭЛ	80±0,2	85±0,2	сохранена	голубые
Агар Хоттингера	нет роста	нет роста	-	-

витаминов (А, Е, С, В₆, В₁₂, биотин, ниацин, пантотеновая кислота, рибофлавин, тиамин, фолацин), аминокислот и минеральных элементов. Это свидетельствует об уникальном составе используемого сырья и позволяет рассчитывать на конечные продукты гидролиза с уникальными свойствами, а также высокими показателями качества.

В связи с вышеизложенным, в качестве стимулирующих добавок использовали ферментативные гидролизаты из миндаля (ФМ), арахиса (ФА) и креветок (ФК) в концентрации 10,0 мл/л. В состав плотной питательной среды, помимо основы и стимулирующего компонента, входили: L-цистеин, калий-фосфатный буфер на дистиллированной воде (КН₂РO₄ – 0,9 г/л, КН₂РO₄·CH₂O – 2,2 г/л), активированный уголь – 2,0 г/л и микробиологический агар – 10,0 г/л.

В работе использовались типичные по культурально-морфологическим свойствам тест-штаммы *Legionella pneumophilla* ATCC 33155 Bloomington 2, *Legionella pneumophilla* ATCC 33152 Philadelphia 1, полученные из ГИСК им. Л.А. Тарасевича.

Эффективность различных вариантов новой питательной среды (рН 6,9) с указанными стимулирующими добавками оценивали в сравнении с контрольной средой СЭЛ (рН 7,1) и агаром Хоттингера (рН 6,8). Показатель аминного азота всех питательных сред соответствовал 120 мг/%. Среды, разлитые во

флаконы, стерилизовали при 121°C в течение 20 мин. На свежие разлитые и просушенные пластинки исследуемых питательных сред засеивали взвесь легионелл в дозе 100 м.к. в 0,1 мл. Результаты учитывали на третьи, четвертые и пятые сутки путем подсчета выросших колоний, определения их цвета, а также подвижности микробных клеток в раздавленной капле (табл. 1).

По результатам исследований, приведенным в табл. 1, можно сделать вывод, что питательная среда на основе кислотного гидролизата из моркови с добавлением гидролизата из миндаля обеспечивает выход *Legionella pneumophilla* ATCC 33152 – 64%, а *Legionella pneumophilla* ATCC 33155 – 65%, с ферментативным гидролизатом из арахиса – 81% и 79%, при сравнении с количеством колоний, выросших на контрольной среде – СЭЛ (100%).

Питательная среда, приготовленная на основе кислотного гидролизата моркови без стимулирующих компонентов, способствует выходу бактериальной массы *Legionella pneumophilla* ATCC 33152 – 31%, а *Legionella pneumophilla* ATCC 33155 – 21%.

Новая питательная среда с ферментативным гидролизатом из креветок при культивировании легионелл не показала ростостимулирующего эффекта.

Агар Хоттингера использовали в качестве отрицательного контроля.

При изучении морфологических свойств микроорганизмов *Legionella pneumophila* ATCC 33152 и *Legionella pneumophila* ATCC 33155, выросших на всех вариантах рецептур питательной среды на основе кислотного гидролизата моркови, а также на питательной среде - СЭЛ установлено, что они идентичны на всех средах и соответствуют классическим характеристикам микроба. Так, *Legionella pneumophila* является грамотрицательной палочковидной подвижной бактерией, размерами 3Ч0,5Ч0,7 мкм.

Таким образом, предложенные питательные среды со стимулирующими компонентами из миндаля и арахиса по количеству выросших колоний незначительно уступают контрольной среде СЭЛ, а также соответствуют требованиям контроля питательных сред для культивирования возбудителя легионеллеза по биологическим показателям [3].

Проявление культуральных, сохранность морфологических свойств, а также выраженная подвижность микробных клеток свидетельствует о полноценности двух новых питательных сред для культивирования легионелл из растительного сырья – моркови со стимулирующими компонентами – ферментативными гидролизатами из арахиса и миндаля. С учетом вышеизложенного, а также с учетом низкой стоимости основных компонентов разработанных сред, открывается перспектива их широкого использования в диагностических и производственных целях.

ЛИТЕРАТУРА:

1. Борисов, Л.В. Медицинская микробиология, вирусология, иммунология. Изд. 4-е, доп. и перераб. М.: ООО «Медицинское информационное агентство», 2005.
2. Воробьев, А.А. Медицинская микробиология, вирусология и иммунология // А.А. Воробьев // Учебник для студентов мед. 2-е изд., испр. и доп. М.: ООО «Медицинское информационное агентство», 2008.
3. Методические рекомендации / Контроль диагностических питательных сред по биологическим показателям для возбудителей чумы, холеры, сибирской язвы, туляремии, бруцеллеза, легионеллеза. М.: Федеральный центр гигиены и эпидемиологии Роспотребнадзора, 2007.
4. Нестерин, М.Ф. Химический состав пищевых продуктов / М.Ф. Нестерин, И.М. Скурихина. М.: «Пищевая промышленность», 1979.
5. Пенькова, Н.И. Оценка качества ферментативных гидролизатов на основе нетрадиционного сырья / Н.И. Пенькова // Университетская наука – региону: Матер. 54-й научно-практ. конф. / Сб. труд. молодых ученых. Ставрополь: Изд-во СГУ, 2009.
6. Темежникова, Н.Д. Легионеллезная инфекция / Н.Д. Темежникова, И.С. Тартаковский. М.: ОАО «Медицина», 2007.
7. Тимченко, Л.Д. Эффективность добавления гидролизата из каллизии душистой в питательной среде – агаре Хоттингера при культивировании лактобактерий / Л.Д. Тимченко, Н.И. Пенькова // Проблемы развития биологии и экологии на Северном Кавказе: Матер. научн. конф. «Университетская наука – региону». Ставрополь: СГУ, 2009.
8. Ярков, С.П., Третьяков С.И., Башарова Л.А. и др. Проблемы особо опасных инфекций. Саратов, 2009. Вып. 2 (100).

УДК 53.09

Коничев А.С., Баурин П.В.

Московский государственный областной университет

Федоровский Н.Н.

*Московский государственный университет технологий и управления
им. К.Г. Разумовского*

Марахова А.И., Якубович Л.М., Черникова М.А.

Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова

ТРАДИЦИОННЫЕ И СОВРЕМЕННЫЕ МЕТОДЫ ЭКСТРАКЦИИ БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ ВЕЩЕСТВ ИЗ РАСТИТЕЛЬНОГО СЫРЬЯ: ПЕРСПЕКТИВЫ, ДОСТОИНСТВА, НЕДОСТАТКИ

A. Konichev, P. Baurin

Moscow State Regional University

N. Fedorovskiy

Moscow State University of Technologies and Management named after K.G. Razumovsky

A. Marakhova, L. Yakubovich, M. Chernikova

I.M. Sechenov First Moscow State Medical University

TRADITIONAL AND MODERN METHODS OF EXTRACTION OF BIOLOGY ACTIVE SUBSTANCES FROM PLANT MATERIALS: PERSPECTIVE, DIGNITIES, LIMITATIONS

Аннотация. В настоящее время заметно возрос интерес к фитотерапии. Лекарственные растения являются уникальными источниками целебных соединений – биологически активных веществ (БАВ), применяющихся как для профилактики, так и для лечения различных заболеваний организма человека. На современном фармацевтическом рынке широко представлен ассортимент лекарственных средств на растительной основе. В связи с вышесказанным актуальными остаются вопросы выделения (экстракции) БАВ из лекарственного растительного сырья. Методы экстракции можно разделить на традиционные – прессование (горячее и холодное), водно-паровая экстракция, экстракция различными растворителями – и современные – сверхкритическая (экстракция сжиженными газами), ультразвуковая и другие виды экстракции. Несмотря на разнообразие методов выделения экстракции, каждый из них обладает своими достоинствами и недостатками, которые необходимо учитывать в зависимости от поставленной задачи. Публикаций, посвященных экстракции БАВ из сырья в воду, крайне мало, несмотря на то, что водные извлечения на-более физиологичны.

Ключевые слова: мацерация, перколяция, ультразвуковая экстракция, экстракция сжиженными газами, ремация, электроосмос, электроплазмолиз.

Abstract. Modern science shows a big interest in phytotherapy. Medicinal plants save many biologically active substances, which cure different diseases. The extraction of biologically active substances is an acute question. All ways of extraction could be subdivided into traditional: pressing (hot and cold), percolation, maceration extraction and modern: supercritical ultrasound extraction, extraction by liquefied gas, electro osmosis, etc. All of them have dignities and specificities, which should be taken into consideration depending on the set task. Unfortunately the investigations of the most physiological of all extractions, namely extraction of biologically active substances into water, are quite rare.

Key words: percolation, maceration, ultrasound extraction, extraction by liquefied gases, electro osmosis.

© Коничев А.С., Федоровский Н.Н., Марахова А.И., Баурин П.В., Якубович Л.М., Черникова М.А.

Традиционные методы экстракции представляют собой большую группу методов выделения биологически активных веществ из растительного или животного сырья, известную с давних времен и приведшую впоследствии к созданию новых, передовых методов, использующих принципиально иные подходы. К традиционным методам экстракции относятся прессование (горячее и холодное), водно-паровая экстракция, экстракция различными растворителями. Среди современных можно отметить сверхкритическую, ультразвуковую и другие виды экстракции.

Несмотря на разнообразие, все способы экстрагирования можно разделить на статические и динамические. В статических способах сырье периодически заливают экстрагентом и настаивают определенное время. Динамические методы предполагают постоянную смену либо экстрагента, либо экстрагента и сырья.

Известными и широко применяемыми статическими способами являются мацерация и ремацерация. Эти способы используются для приготовления экстрактов и настоек. На производстве густых и сухих экстрактов чаще применяются ремацерационные методы.

В настоящее время мацерация не отвечает требованиям интенсификации производства и используется только в редких случаях [9; 18, 42-45]. Достоинством способа является простота метода и оборудования. К недостаткам можно отнести неполноту экстракции действующих веществ, большую продолжительность процесса, завышенное содержание балластных веществ в извлечениях (ВМС, пектины, слизи, белки и др.), трудоемкость (двойное прессование, промывка шрота).

В настоящее время прослеживается тенденция к изысканию и внедрению новых форм мацерации с максимальной динамизацией всех видов диффузии. Примерами таких модификаций мацерации являются: вихревая экстракция (турбоэкстракция), акустическая экстракция, электроимпульсный и другие методы импульсной обработки сырья; центробежная экстракция, дроб-

ная мацерация и др.

Турбо-экстракция часто осуществляется с использованием роторно-пульсационной аппаратуры [1], где колебания (вибрация) частицы сырья наиболее выражены.

Метод вихревой экстракции (турбоэкстракции) позволил сократить до 5-10 мин. стадии экстрагирования действующих веществ корней горечавки, аира болотного, листьев красавки, коры хинного дерева [12; 13; 16]. Методом экстракции растительного сырья в турбулентном потоке экстрагента с одновременным измельчением сырья можно получить извлечения из свежих растений.

К кинематическим способам – колебания частицы в движущейся жидкости – относится способ интенсификации процесса экстракции путем размолва сырья в среде экстрагента с помощью шаровых мельниц. При применении этого способа время выделения основных биологически активных веществ из такого сырья, как трава мяты, пустырника, ландыша, корневища с корнями валерианы и др., сокращается до 1-3 ч. по сравнению с 8-48 ч. при существующих методах. Одним из недостатков способа получения извлечений с помощью шаровой мельницы является то, что при достаточно продолжительном ведении процесса (в 2-3 раза превышающем оптимальное) происходит адсорбция основных действующих веществ большой поверхностью измельченностью сырья.

Для интенсификации процессов гомогенизации и перемешивания, растворения труднорастворимых веществ, ускорения стадии экстрагирования биологически активных соединений успешно применяются пульсационные методы обработки растительного сырья [19, 468-478]. Частота пульсаций в современных пульсационных пневматических установках лежит в пределах 20-300 колебаний в минуту.

Интенсификация процесса при пульсации потока жидкости, протекающей через слой сырья, объясняется турбулизацией пограничного слоя, уменьшением его толщины, разрушением застойных зон в точке соприкосновения частиц.

Весьма перспективным в технологическом отношении оказался метод ускорения стадии экстрагирования биологически активных веществ из лекарственного сырья с помощью электроимпульсных разрядов [10, 35-38; 15]. Можно успешно интенсифицировать процесс экстрагирования, не нарушая целостности молекулы. Жидкости, обработанные электроимпульсным ударом, продолжительное время не поддаются микробиологической порче.

Другими современными методами повышения эффективности экстракции биологически активных веществ из растительного сырья являются высокочастотная и сверхвысокочастотная обработка [9]. Такая обработка сырья позволяет комплексно интенсифицировать технологические процессы путем улучшения качества готовой продукции, увеличения ее выхода, значительного сокращения производственных площадей, соблюдения необходимых санитарно-гигиенических условий обработки лекарственного сырья. Однако ВЧ- и СВЧ-нагрев должны быть включены в технологический процесс именно там, где возможен наибольший эффект: на стадии экстрагирования или упаривания жидкостей, получения густых и сухих экстрактов при сушке различного фармацевтического сырья (порошков, гранулятов, сыпучего растительного материала, различных полуфабрикатов, готовой продукции и т. д.), когда процессы в сравнении с традиционными могут быть ускорены в несколько раз. При электромагнитной обработке происходит одновременный нагрев всей массы обрабатываемого материала как в макро-, так и микрообъемах. Как правило, готовность ВЧ- и СВЧ-аппаратуры к работе достигается в течение 30-50 с, что в условиях производства экономически выгодно благодаря сокращению энергозатрат.

Другим важным преимуществом высокочастотной обработки является то, что в отличие от традиционного тепломассообмена здесь нет необходимости создавать, например, при сушке лекарственного сырья, большие градиенты температур, влажности,

давления.

Кроме того, этот способ повышения экстракции способствует стерилизации получаемых извлечений. Следует отметить некоторые недостатки, присущие электромагнитному полю. Эффективная глубина проникновения электромагнитных волн в обрабатываемый материал составляет 45-50 мм [4, 30-32]. При дальнейшем повышении толщины высушиваемого образца эффективность обработки снижается, что проявляется в увеличении длительности сушки.

К электрическим способам обработки растительного сырья относят электроплазмолиз и электродиализ. Электроплазмолиз чаще всего используется для получения соков из растительного сырья при прессовом способе извлечения [17]. Растительные ткани, особенно живые, ввиду наличия в них ионов, коллоидно-белковых веществ, способных электрически заряжаться, весьма быстро реагируют на внешнее воздействие, в том числе и на электрический ток. При обработке сырья электрическим током процесс разрушения протоплазмы происходит практически мгновенно. Ток в отличие от температурного плазмолиза не вызывает разрушения клеточных стенок, в результате чего в полученных извлечениях весьма мало пектина.

Электродиализ основан на диффузии электролитов через полупроницаемую пористую перегородку под действием электрического тока. В процессе электродиализа достигается изменение солевого состава основных частей жидкостей, содержащих биологически активные вещества.

При электродиализе не происходит изменения агрегатного состояния и фазового превращения системы, а вещества, входящие в обрабатываемые жидкости, остаются в нативном состоянии [2]. Недостатком является длительность процесса.

Широкое применение в фармации нашел ультразвук, используемый при растворении, получении эмульсий, суспензий, изготовлении микрогранул, стерилизации и фонофорезе, производстве ампул [15], т. е. там, где

ультразвук непосредственно контактирует через жидкую фазу с молекулой вещества.

Однако, при УЗ-воздействии которые способны не только изменить конформационную структуру озвучиваемой молекулы, ее пространственную ориентацию и свойства, но и деформировать, рвать молекулярную цепочку на отдельные фрагменты. В этом отношении звукохимические эффекты, связанные с превращением энергии упругих колебаний ультразвука, являются одним из видов механохимических реакций.

Любой технологический процесс находит широкое применение в фармации, если он не нарушает химической устойчивости лекарственных веществ. С этой точки зрения ультразвуковые волны весьма специфичны. Одни препараты под их действием теряют свои свойства, другие остаются нейтральными, третьи, наоборот, становятся терапевтически более активными. Таким образом, в растворе могут наблюдаться явления химической деполимеризации, образование новых макрорадикалов, гомогенизация обрывков и т. д.

С увеличением времени озвучивания и интенсивности степень деструкции веществ увеличивается. Процесс разложения может быть приостановлен или замедлен в случае добавления стабилизаторов, антиоксидантов, консервантов.

В литературе часто встречаются публикации, посвященные экстракции сжиженными газами [15].

Обработка лекарственного и эфиромасличного растительного сырья сжиженными газами с целью извлечения отдельных компонентов в неизменном (нативном) виде относится к высокоэффективным технологическим процессам, обеспечивающим снижение трудовых затрат, улучшающим качество продукции и способствующим комплексному использованию сырьевых ресурсов и материалов. В фармации этот способ используют при получении высококачественных ароматизаторов, отдушек, биологически активных веществ, оригинальных лекарственных препаратов, различных продуктов

и полуфабрикатов, предназначенных для дальнейшей переработки [8, 18-25].

Экстракционный процесс сжиженными газами проводится под большим статическим давлением, что в технологическом отношении весьма важно, так как при снятии давления уже в условиях нормальной температуры экстрагент быстро улетучивается из извлеченного и отработанного сырья. В результате остается сумма экстрагированных веществ, не нуждающихся в какой-либо дополнительной обработке.

Каждый из сжиженных газов характеризуется индивидуальными физико-термодинамическими свойствами, в том числе гидрофильными и олеофильными. Это создает возможность подобрать ряд сжиженных газов и вести экстракцию отдельных химических соединений из сырья растворителями, обладающими различной полярностью. Такое свойство сжиженных газов позволяет вводить в технологический процесс фазу селективной экстракции растворителем, способным формировать заданное количество экстракта, извлекать по мере надобности индивидуальные химические вещества, комплексы, классы соединений, не затрагивая оставшуюся в шроте сумму экстрактивных веществ.

Для извлечения биологически активных и других веществ наиболее часто применяют сжиженный углекислый газ [15; 16]. В химическом отношении сжиженный углекислый газ – прочное и инертное вещество, проявляющее химическую индифферентность по отношению к перерабатываемому сырью, извлекаемым веществам и конструкционным материалам аппаратуры. Кроме того, он пожаро- и взрывобезопасен. К сожалению, не все сжиженные газы обладают этими свойствами.

Количественный выход действующих веществ при извлечении сжиженными газами может достигать 88-98 %, что, как правило, выше, чем у других способов экстрагирования – мацерации, перколяции, отгонки паром и т. д. Сравнивая экстракты, полученные с помощью CO_2 , с экстрактами, по-

лученными паровой отгонкой, можно отметить следующее. Как правило, экстракты, полученные экстрагированием CO_2 , имеют окраску более темных тонов с тенденцией к коричневому, меньшие плотность и показатель преломления, большее кислотное число, особенно экстракты из листьев, стеблей, корней и корневищ растений, что, по-видимому, связано с энзиматическими процессами, протекающими в сырье при нарушении процесса сушки или длительном хранении. В жиросодержащих фракциях экстрактов, полученных экстрагированием CO_2 , преобладают сложные эфиры и эфиры неглицеридного характера, поэтому отмечаются высокие значения эфирного числа экстрактов [14].

Процесс извлечения различных веществ из лекарственного сырья (в случае использования сжиженных газов) на основных технологических стадиях (экстракции и дистилляции) ведется при относительно низкой температуре. Это исключает окислительные процессы во время извлечения биологически активных веществ. Тем не менее, полученные экстракты за редким исключением все же не могут заменить уже существующие экстракты (густые или жидкие), широко используемые в практике химико-фармацевтического и аптечного производства для изготовления стандартных лекарственных форм.

В извлечениях, полученных сжиженным газом, отсутствуют отдельные экстрактивные вещества и компоненты, придающие определенные вкусовые, органолептические, фармакологические свойства – качества, отличающие один лекарственный препарат от другого. Будучи разведенными спиртом или водно-спиртовыми растворами, такие экстракты нередко приобретают специфический запах и вкус. Это объясняется тем, что каждый из сжиженных газов в отдельности обладает характерной особенностью.

Как известно, после экстрагирования, например углекислотой, в шроте сохраняются почти все водорастворимые вещества. Основная масса экстрактов из лекарственного сырья, полученных с помощью сжиженных

газов, оказывает губительное влияние на жизнедеятельность микроорганизмов. Выявленные антибактериальные свойства экстрактов, полученных экстракцией сжиженным CO_2 , открывают новые возможности их использования как природных консервантов, особенно для жидких лекарственных форм, предназначенных для длительного хранения. Подбирая композиции экстрактов, можно на длительное время блокировать развитие микрофлоры в жидкостях. Получение экстрактов с помощью сжиженных газов выгодно экономически, так как этот способ дает возможность производить достаточно концентрированные препараты с относительно небольшой стоимостью.

Несмотря на разнообразие способов повышения эффективности экстракции, а также бурное развитие современных технологий, направленных на оптимизацию процессов извлечения биологически активных веществ из растительного сырья, многие вопросы остаются открытыми. Так, например, большое количество лекарственного растительного сырья применяется в виде водных извлечений, а публикаций, посвященных проблеме увеличения перехода БАВ в воду довольно мало. Однако, водные настои и отвары являются наиболее физиологичными лекарственными формами для организма человека.

ЛИТЕРАТУРА:

1. Балабудкин М.А. Роторно-пульсационные аппараты в химико-фармацевтической промышленности. М.: Медицина. изд.фирма, 1983. 160 с
2. Брок Т. Мембранная фильтрация. М.: Мир. изд. фирма, 1987. 464 с.
3. Георгиевский В.П., Комиссаренко Н.Ф., Дмитрук С.Е. Биологически активные вещества лекарственных растений. Новосибирск: Наука, 1990. 330 с.
4. Гончаренко Г.К., Орлова Е.И. Кинетика экстрагирования растительного материала// Мед. пром-ть СССР. 1992. № 3.
5. Государственная Фармакопея СССР. МЗ СССР. 10-е изд. М.: Медицина, 1968. 150 с.
6. Государственная Фармакопея СССР. МЗ СССР. 11-е изд. М.: Медицина, Вып. 1, 1987; Вып. 2, 1990. 336 с.

7. Государственный реестр ЛС РФ. М.: МЗ РФ, 2001. 12 с.
8. Дорофеев В.И., Косенко Н.В., Северцев В.А. Формирование рынка лекарственного растительного сырья в России // Материалы 4 Международного съезда «Актуальные проблемы создания лекарственных препаратов природного происхождения». СПб., 2000.
9. Захаров В.П., Либизов И.И., Асланов Х.А. Лекарственные вещества из растений и способы их производства. Ташкент: изд-во ФАН. изд.фирма, 1980. 187 с.
10. Медицинская пром-сть СССР. 1961. № 10.
11. Минина С.А., Шимолина Л.Л. Сапонины. Методы выделения, разделения, очистки и анализа. СПб.: ХФИ. изд.фирма, 1992. 16 с
12. Минина С.А., Шимолина Л.Л. Антрахиноновые гликозиды. Химическая структура, методы выделения, очистки и анализа. СПб.: ХФИ. изд. фирма, 1993. 272 с
13. Минина С.А. Характеристика алкалоидов. Общие методы их выделения и разделения. Л., 1978. 488 с.
14. Минина С.А., Каухова И.Е. Химия и технология фитопрепаратов. М.: Гэотар-Медиа. изд.фирма, 2009. 560 с.
15. Молчанов Г.И. Интенсивная обработка лекарственного сырья. М.: Медицина. изд.фирма, 1981. 241 с.
16. Пономарев В.Д. Экстрагирование лекарственного растительного сырья. М.: Медицина. изд. фирма, 1976. 210 с.
17. Романков П.Г., Курочкина М.А. Экстрагирование из твёрдых материалов. Л.: Химия. изд. фирма, 1983. 367 с.
18. Химико – фармацевтический журнал. 1998. № 7.
19. Хим. пром-сть. 1998. № 8.

УДК 579.841.95:576.8.071.3

Курчева С.А.

*Ставропольский научно-исследовательский
противочумный институт*

**РАЗРАБОТКА БИОТЕХНОЛОГИИ ПРОИЗВОДСТВА
ИММУНОДИАГНОСТИЧЕСКИХ ПРЕПАРАТОВ ДЛЯ ВЫЯВЛЕНИЯ
ВОЗБУДИТЕЛЯ ТУЛЯРЕМИИ**

S. Kurcheva

Stavropol Research Anti-Plague Institute

**ELABORATING BIOTECHNOLOGY FOR PRODUCING
IMMUNODIAGNOSTIC PREPARATIONS FOR TULAREMIA
PATHOGENE DETECTION**

Аннотация. К настоящему времени для диагностики туляремии отечественными и зарубежными учеными предложено множество эффективных иммунодиагностических тестов. Большая их часть – экспериментальные разработки. В статье приводятся результаты по конструированию иммунобиологических препаратов для диагностики туляремии и индикации ее возбудителя: диагностикумов эритроцитарных, тест-систем иммуноферментных, иммуноглобулинов флуоресцирующих, тест-системы диагностической магнимоносorbентной. Разработана производственная биотехнология изготовления названных диагностикумов, оформлена нормативная документация (регламенты производства, технические условия, инструкции по применению), утвержденная на учрежденческом и федеральном уровнях, что позволяет осуществлять коммерческий выпуск сертифицированных диагностических препаратов.

Ключевые слова: туляремия, диагностика, чувствительность, специфичность, иммунобиологические препараты.

Abstract. So far Russian and foreign scientists have suggested a lot of efficient immunodiagnostic tests, but most of them are only experimental elaborations. The article provides the results of constructing immunobiological preparation data for tularemia pathogen laboratory diagnosis and identification: erythrocytes diagnostic, immunoferment test-systems, fluorescent immunoglobulins, magnoimmunosorbent diagnostic test-systems. Biotechnology of producing the above mentioned preparations has been elaborated and official standard documents (production regulations, technical conditions, usage instructions) have been approved at local and federal levels documents, which permits commercial certificated diagnostic preparations production.

Key words: tularemia, diagnostics, sensitivity, specificity, immunobiological preparations.

Туляремия – природно-очаговая инфекция, относящаяся к особо опасным возвращающимся инфекционным болезням, крупные вспышки и спорадические случаи которой периодически регистрируются во многих странах мира, в том числе в России. Особенностью эпидемиологии туляремии является большое разнообразие источников носителей, переносчиков, факторов передачи возбудителей, механизмов заражения, входных ворот инфекции [2; 1, 67-76; 4, 249-261].

К настоящему времени для диагностики туляремии отечественными и зарубежными учеными предложено множество эффективных иммунодиагностических тестов. Однако боль-

шая их часть – экспериментальные разработки [3, 12-15]. Цель исследования – разработка биотехнологии производства иммунобиологических препаратов для идентификации *Francisella (F.) tularensis* и диагностики туляремии.

При производстве диагностических препаратов необходимым условием является получение высококачественного антигенного и антительного материала. Для извлечения наиболее полного антигенного комплекса из микробов с сохранением нативности биополимеров мы избрали щадящий режим дезинтеграции микробных клеток с помощью ультразвуковой установки в сочетании с водно-солевой экстракцией и последующим осаждением белка. Из штаммов *F. tularensis*, относящихся к разным подвидам (*F. tularensis* 543/6 (*mediaasiatica*), *F. tularensis* Schu (*nearctica*) и *F. tularensis* 503/840 (*holarctica*)), этим методом изолирован полигрупповой водорастворимый антиген.

Иммунные туляремиальные сыворотки получили по разработанным нами схемам иммунизации кроликов-продуцентов, используя иммунокорректоры феракрил, тималин, циклофосфан, тимоген, обладающие различным механизмом действия, иммуногеном при этом служил полигрупповой туляремиальный водорастворимый антиген.

До сих пор остаются актуальными и широко используются простые, достаточно чувствительные, не требующие применения специальной аппаратуры и поэтому общедоступные серологические тесты, в частности РНГА, РПГА, РНАт. Нами налажен производственный выпуск диагностикумов эритроцитарных туляремиальных – антигенного и иммуноглобулинового, при этом оптимальная биотехнология их изготовления заключается в следующем: концентрация формализированных эритроцитов – 20 %, температура связывания эритроцитов с сенситином (при его нагрузке в 200 мкг/мл) – полигрупповым водорастворимым белковым туляремиальным антигеном либо иммуноглобулинами класса G (IgG), фракционированными октановой кислотой – 45 °C, pH

раствора – 6,0 в течение 18 ч.

Для получения иммуноглобулинов диагностических туляремиальных флуоресцирующих использовали IgG с концентрацией 10 мг/мл, выделяемые из иммунных сывороток октановой кислотой. Наилучшие серии конъюгатов получены при значении pH реакционной смеси – 9,5, нагрузке ФИТЦ – 20 мг на 1 г белка, температуре 20 °C и четырехчасовом контакте белка с красителем. При использовании высокоактивных IgG, выделенных из туляремиальных гипериммунных сывороток с помощью ПЭГ-6000, получены иммунопероксидазные конъюгаты, рабочий титр которых составил 1:200 – 1:400, чувствительность по водорастворимому антигену – 50-100 нг/мл, по корпускулярному антигену – 5×10^4 – 1×10^5 м.к./мл. Названные конъюгаты входят в «Набор реагентов тест-системы диагностической для выявления возбудителя туляремии в иммуноферментном анализе (ИФА)», который зарегистрирован в Росздравнадзоре (№ ФСР 2010 /06744).

Важным условием повышения чувствительности и специфичности методов диагностики является селективное концентрирование возбудителя инфекции с последующей постановкой экспресс-анализов, так как чаще всего в исследуемом материале концентрация возбудителя ниже порога чувствительности метода диагностики. С этой целью нами разработаны композиционные магнитные иммуносорбенты на основе поликлональных туляремиальных IgG. В качестве структурных единиц, формирующих остов кремнезема, использовали алюмосиликат, модифицирование поверхности которого осуществляли в присутствии полигликина и вторичного алкилсульфата натрия. Полученный иммуносорбент применен для проведения иммуномагнитной сепарации возбудителя туляремии и детекции его в иммуноферментном анализе, при этом в качестве твердой фазы вместо полистироловых микропланшетов, традиционно используемых при постановке ИФА, применяли разработанный нами магнитоуправляемый иммунный сорбент при постановке «сэндвич»-варианта этого мето-

да. Чувствительность модифицированного ИФА составила $1,0 \times 10^2$ – $1,0 \times 10^3$ м.к./мл., то есть повышалась на два-три порядка по сравнению с общепринятым ИФА.

Применение МИС позволяет на этапе подготовки пробы путем многократных промываний сорбента с фиксированным на нем инфекционным агентом освобождаться от всевозможных примесей, тем самым исключая их отрицательное влияние на реакцию, максимально концентрируя искомый патоген, что повышает специфичность и чувствительность методов экспресс-анализа, а также достоверность как положительных, так и отрицательных результатов.

Таким образом, проведенные исследования позволили унифицировать биотехнологию производства иммунобиологических препаратов для идентификации *F. tularensis* и диагностики туляремии, что позволяет наладить их коммерческий выпуск. Полученные

результаты являются основанием для рассмотрения вопроса о внедрении разработанных МИБП в практику работы учреждений санэпиднадзора в условиях повседневной деятельности чрезвычайных ситуаций.

ЛИТЕРАТУРА:

1. Никифоров, В.В. Туляремия: от открытия до наших дней / В.В. Никифоров, Г.Н. Кареткина // Инф. болезни. 2007. Т. 5, № 1.
2. Олсуфьев, Н.Г. Таксономия, микробиология и лабораторная диагностика возбудителя туляремии / Н.Г. Олсуфьев. М. : Медицина, 1975. 416 с.
3. Сырова, Н.А. Современное состояние иммунодиагностики туляремии / Н.А. Сырова, З.Л. Терешкина, З.Л. Девдариани // Проблемы особо опасных инфекций. Саратов, 2008. Вып. 97.
4. Diagnostic procedures in tularemia with special focus on molecular and immunological techniques / W.D. Splettstoesser [et al.] // J. Vet. Med. Infect. Dis. Vet. Public. Health. 2005. Vol. 52, № 6.

УДК 598.279.23

Ларичев Т.С.

Московский городской педагогический университет

К ВОПРОСУ О ГНЕЗДОВОЙ БИОЛОГИИ ОРЛА-КАРЛИКА (*HIERAAETUS PENNATUS* GM.) В ЕВРОПЕЙСКОЙ РОССИИ

T. Larichev

Moscow City Pedagogical University

ON THE ISSUE OF NESTING BIOLOGY OF THE BOOTED EAGLE ON THE TERRITORY OF EUROPEAN RUSSIA

Аннотация. Данная работа посвящена изучению гнездовой биологии орла-карлика (*Hieraaetus pennatus* Gm.) на территории Европейской России. Рассматривались сроки прилёта к местам гнездования, расположение гнёзд в пределах лесного массива, виды гнездовых деревьев, гнездовые биотопы, высота гнёзд над поверхностью земли. Полученные данные указывают на значительный адаптивный потенциал и экологическую пластичность вида.

Ключевые слова: орёл-карлик, *Hieraaetus pennatus* Gm., гнездовая биология, гнездовые деревья, гнездовой биотоп

Abstract. This paper is devoted to the study of nesting biology of the Booted Eagle (*Hieraaetus pennatus* Gm.) on the territory of European Russia. The following records have been put to scrutiny: the time of the arrival at nesting places, the location of nests within the forest, types of nesting trees, nesting biotopes, the height of nests above the ground. The results indicate considerable adaptive potential and ecological plasticity of this species.

Key words: Booted Eagle, *Hieraaetus pennatus* Gm., nesting biology, nesting trees, nesting biotope.

Орёл-карлик (*Hieraaetus pennatus* Gm.) – один из самых интересных представителей соколообразных нашей фауны. Сведения о гнездовой биологии этого хищника отрывочны, так как монографических работ по нему не было. Между тем биология этого вида, в том числе такая важная её часть, как гнездовая биология, весьма интересна и сама по себе, и с точки зрения охраны биоразнообразия, поскольку орёл-карлик – вид редкий.

Цели и задачи работы. В процессе нашей работы были изучены особенности гнездовой биологии европейского подвида орла-карлика. Полевые данные были собраны в течение 9 полевых сезонов (1997–2005 гг.) на территории 9 областей Европейской России. Проведено 5 суточных наблюдений у гнезда в течение 3 полевых сезонов (2003–2005 гг.) [1, 32–33]. Рассматривались такие компоненты гнездовой биологии вида, как сроки появления в районах гнездования, особенности гнездостроения, гнездовые биотопы, гнездовые деревья, высота гнезда над уровнем земли, тип развилки, где располагалось гнездо, количество птенцов в гнезде.

Результаты работы. В процессе наших исследований в весенний период (как правило, последние числа апреля – начало мая) орлы-карлики уже держались на своих гнездовых участках (данные по Курской, Липецкой, Саратовской и Тульской областям). Только в начале мая 2003 г. в «Тульских Засаках» ввиду низких температур и осадков орлов-карликов ещё не было, а в летний период они были обнаружены на своих участках.

Судя по нашим наблюдениям в заповеднике «Галичья гора» в Липецкой области, Воронежском, Центрально-Чернозёмном заповедниках, в «Тульских Засаках», орлы-карлики могут

располагать свои гнёзда как в центре лесного массива, так и недалеко от опушки и даже в лесных микрофрагментах (ЦЧЗ, Баркаловка, урочище «Заказник», общая площадь которого составляет не более 4 га). Следовательно, с одной стороны, нет боязни человека, а с другой, лётные качества позволяют орлам легко долетать с добычей до гнезда в центре лесных массивов.

Орлы-карлики гнездились на деревьях лиственных пород. В 5 случаях из 10 это был дуб (*Quercus robur*), в 3 случаях — осина (*Populus tremula*), в 1 случае — клён (*Acer platanoides*) и в 1 случае — липа (*Tilia cordata*). Гнездовым биотопом орлов-карликов служили лиственные леса, обычно дубравы, с примесью других пород (липы, ясеня, клёна). Подлесок (если он имелся) составляли лещина, черёмуха, рябина, черноклён либо молодые деревья 1-го яруса, не достигшие полной высоты. Травянистый ярус составляли обычные растения лиственных лесов — сныть, пролесник, черемша, иногда папоротник, крапива, подмаренник цепляющийся.

Высота расположения гнёзд варьировала от 5 м (Центрально-Чернозёмный запо-

ведник) до 21 м (Воронежский заповедник). Средняя высота гнездования составила 12,9 м, в том числе на высоте до 10 м включительно — 4 гнезда, на высоте от 11 до 20 м — 5 гнёзд и на высоте свыше 20 м — 1 гнездо. Необходимо заметить, что, поскольку во всех случаях гнездование орлов-карликов происходило в достаточно старых лиственных лесах, то можно говорить о том, что эти биотопы на исследованной территории [2, 311-331] чрезвычайно важны для сохранения вида.

ЛИТЕРАТУРА:

1. Ларичев Т.С. Суточные наблюдения у гнезда *Hieraaetus pennatus* // Русский орнитологический журнал (экспресс-выпуск). № 249. Санкт-Петербург, 2004.
2. Лихачёв Г.Н. Очерк гнездования крупных дневных хищных птиц в широколиственном лесу // Тр. 2 Прибалтийской орнитол. конф. М., 1957.
3. Cramp S., Simmons K. Handbook of the Birds of Europe the Middle East and North Afrika. The birds of the Western Palearctic. Oxford, London, New York, 1980, Vol. II.

УДК 371.4

Мартышов А.В.

Московский городской педагогический университет

**ВЛИЯНИЕ КОМПЛЕКСА УПРАЖНЕНИЙ НА РАЗВИТИЕ
ПРИСПОСОБИТЕЛЬНЫХ РЕАКЦИЙ ОРГАНИЗМА К ФИЗИЧЕСКИМ
НАГРУЗКАМ ПРИ ПОДГОТОВКЕ ЕДИНОБОРЦЕВ
НА УЧЕБНО-ТРЕНИРОВОЧНЫХ ЗАНЯТИЯХ В ОБУЧАЮЩЕМ РЕЖИМЕ**

A. Martyshov

Moscow City Pedagogical University

**INFLUENCE OF THE SET OF EXERCISES ON THE DEVELOPMENT
OF ADAPTIVE BODY REACTIONS OF SINGLE COMBAT WRESTLERS
TO PHYSICAL STRESS DURING TRAINING SESSIONS
IN ADAPTIVE MODE**

Аннотация. Рассматривается влияние комплекса упражнений, направленного на развитие выносливости, который применялся автором на учебно-тренировочных занятиях по боевым единоборствам. Мониторинг функционального состояния организма проводился в течение всего периода исследования. В качестве определения ответной реакции организма на предлагаемые физические нагрузки, нами были выбраны объективные показатели состояния сердечно-сосудистой и центральной нервной систем. Происходящие изменения в сердечно-сосудистой системе во время занятий фиксировались с помощью диагностирующего прибора «Варипульс» с выделенными индексами вариационной пульсометрии: частота сердечных сокращений и индекс симпато-адреналового тонуса. Учебно-тренировочные занятия проводились в обучающем режиме, ориентированном на развитие аэробных возможностей у единоборцев.

Ключевые слова: выносливость, мониторинг, индексы вариационной пульсометрии, комплекс упражнений, вариативность, индекс симпато-адреналового тонуса, физические качества, спортивная результативность.

Abstract. The article explores the influence of a set of stamina-developing exercises, which was used by the author during martial arts training sessions. The monitoring of the functional state was conducted during the research period. Objective indicators of the cardiovascular and central nervous systems have been selected to define the reaction of the body to the proposed physical stress. Changes in the cardiovascular system during the sessions were recorded with the help of the screening device "Varipuls" containing variational pulsometry indices: the heart rate and the index of the sympathoadrenal tone. The training sessions were conducted in a training mode, aimed at developing the aerobic qualities of martial arts fighters.

Key words: stamina, monitoring, indices of variation pulsometry, a set of exercises, variability, index of the sympathoadrenal tone, physical features, sports performance.

По данным Минздравсоцразвития России, только 14 процентов обучающихся в старших классах считаются практически здоровыми. Свыше 40 процентов допризывной молодежи не соответствует требованиям, предъявляемым армейской службой, в том числе в части выполнения минимальных нормативов физической подготовки.

Увеличение объема спортивной работы в общеобразовательных учреждениях во внеурочное время, предусмотренное Федеральным государственным образовательным стандартом,

позволяет расширить содержание блока дополнительного образования программами спортивно-оздоровительных групп и групп начальной подготовки спортивных школ. Благодаря увеличению времени занятий возможно применение специальных комплексов упражнений направленного воздействия, в результате которых, при систематических занятиях, возможна положительная тенденция в общей двигательной активности, физической подготовленности и физического развития всего населения [3].

Многообразие изменений, происходящих в различных системах организма, обусловлено характером специализированных физических нагрузок, свойственных тому или иному виду спорта или направлению физической подготовки.

Все возрастающая популярность единоборств среди учащихся делает актуальным вопрос создания методик использования средств этого вида спорта в качестве прикладной спортивной физической подготовки современных школьников допризывного возраста.

При подготовке учащихся к физическим нагрузкам важно развивать выносливость. Выносливость – способность организма противостоять утомлению.

Выносливость необходима в той или иной мере при выполнении любой физической деятельности. В одних видах физических упражнений она непосредственно определяет спортивный результат (ходьба, бег на средние и длинные дистанции, велогонки, лыжные гонки), в других – позволяет лучшим образом выполнить определенные тактические действия (бокс, борьба, единоборства, спортивные игры и т. п.). Выносливость помогает также переносить многократные кратковременные высокие нагрузки и обеспечивает быстрое восстановление после работы (метания, прыжки, тяжелая атлетика и т. д.) [5].

По мнению отечественных и зарубежных специалистов, уже в детском и подростковом возрасте имеются благоприятные предпосылки для развития выносливости.

Современные исследования, проведенные

А.Н. Макаровым, и практика детского спорта убеждают, что уже в среднем школьном возрасте следует направленно воздействовать на развитие выносливости разного типа, в первую очередь выносливости в работе умеренной и переменной интенсивности. Основными же средствами для развития выносливости в условиях умеренных нагрузок являются продолжительные циклические упражнения (например, длительная ходьба, кроссовый бег) [2].

О степени развития выносливости можно судить на основе двух групп показателей: внешних (поведенческих), которые характеризуют результативность двигательной деятельности человека во время утомления, и внутренних (функциональных), которые отражают определенные изменения в функционировании различных органов и систем организма, обеспечивающих выполнение данной деятельности (изменения в центральной нервной системе, сердечно-сосудистой, дыхательной, эндокринной и других системах и органах человека в условиях утомления).

При анализе и планировании учебно-тренировочных занятий с различным циклом подготовки и направленности (аэробная, анаэробная) важно проводить мониторинг ответной реакции сердечно-сосудистой системы на предлагаемые на занятиях физические нагрузки. Реакция сердечно-сосудистой системы может проявляться в динамике роста, стабилизации или снижении индексов вариационной пульсометрии. Считается, что только аэробная физическая работа выполняется на отрезке 130-150 уд./мин. [5].

Широкое распространение в диагностике состояний нервно-психического напряжения здорового человека получили индексы вариационной пульсометрии (ВП). В многочисленных исследованиях было показано, что при увеличении нервно-психических нагрузок индексы вариационной пульсометрии у человека изменяются раньше многих других физиологических характеристик, включая такие показатели, как частота сердечных сокращений или дыхания, артериальное дав-

ление. Только за последние 10 лет изучению диагностической ценности показателей вариабельности ритма сердца было посвящено несколько тысяч статей [1, 345-350].

Как справедливо считает Терешкин А.Ф., повысить эффективность учебно-тренировочного процесса возможно при построении учебно-тренировочного занятия на основе оценки срочных тренировочных эффектов, получаемых посредством регламентации специальных упражнений направленного воздействия (развитие выносливости) на организм единоборцев в различных циклах спортивной подготовки [4, 20-26].

В экспериментальной работе мы использовали комплекс упражнений, развивающий выносливость. Данный комплекс обобщает опыт и знания, полученные в результате многолетних занятий каратэ, борьбой, а также в ходе изучения различных видов самозащиты и рукопашного боя.

Комплекс представляет собой универсальную систему, сочетающую в себе целый ряд самостоятельных упражнений. Он включает набор базовых движений, основанных на генетически заложенной в каждом человеке механике двигательных навыков. Комплекс формирует у человека дыхательные и двигательные навыки, позволяющие на рефлекторном уровне избирать наиболее экономичный способ расходования своей энергии

при необходимости переносить значительные нагрузки. Двигательные навыки приобретаются на базе изучения подводящих упражнений из боевых единоборств.

В опытно-экспериментальной работе изучалось влияние комплекса упражнений, подобранных автором, на уровень выносливости и спортивную результативность юношей, занимающихся в кружке рукопашного боя.

В исследовании приняло участие 20 учащихся старшей возрастной группы, занимающихся в кружке рукопашного боя ГОУ ЦО №1432 ЗАО г. Москвы. В контрольную и экспериментальную группы входило по 10 человек. В течение учебного года на занятиях по рукопашному бою экспериментальная группа занималась в соответствии с комплексом упражнений, направленных на развитие физических качеств с превалированием упражнений на развитие специальной выносливости. А контрольная группа занималась по стандартной программе рукопашного боя, где использовался комплекс упражнений на развитие общей выносливости. Обучение комплексам в обеих группах проходило в обучающем режиме (табл. 1). Режим выполнения комплекса имел свою вариативность в зависимости от половозрастных особенностей учащихся и уровня их подготовки.

В начале учебного года юноши обеих групп показали относительно равные ис-

Таблица 1

Вариативность режимов выполнения комплекса в зависимости от половозрастных особенностей учащихся, а также в зависимости от уровня подготовки [4]

Характеристика методики применения	Режим выполнения комплекса	
	Обучающий (до 1 года обучения)	Развивающий (после 2 года обучения)
Характеристика режима	Аэробно-тренирующий	Аэробно-анаэробный
Направленность комплекса	Обучающая	Развивающая
Скорость	Низкая	Максимальная
Повторения	10-15	Максимальная
Подходы	3-4	1-3
Время выполнения упражнения (сек.)	15	15
Время отдыха между подходами (сек.)	25	25
Время отдыха между упражнениями(сек.)	60	60
Время отдыха между комплексами (мин.)	3	5

Таблица 2

Тенденция изменения пульса и индекса САТ у учащихся обеих возрастных групп в зависимости от этапа учебно-тренировочных занятий

Группа	Этапы занятий	В начале учебного года		Р при переходе из ЭГ в КГ	В конце учебного года		Р при переходе из ЭГ в КГ
		ЧСС уд. мин.	САТ у. е.		ЧСС уд. мин.	САТ у. е.	
ЭГ	1	89±1	315.2±0,5	>0,05	88±1	310.15±0,3	<0,05
	2	133±1	693±0,5		129±1	680±0,3	
	3	103±4	410±0,5		99±1	401±0,3	
КГ	1	90±1	311.3±0,5		89±1	309.04±0,5	
	2	132±1	743±0,5		130±1	740±0,5	
	3	102±1	440±0,5		106±1	443±0,5	

Этапы учебно-тренировочных занятий:

1-до занятий

2-после физической нагрузки

3-после времени восстановления (5 минут)

ЭГ – экспериментальная группа

КГ- контрольная группа

ЧСС – среднее значение частоты сердечных сокращений (уд./ мин.)

САТ- симпато-адреналовый тонус (индекс вариационной пульсометрии (у. е.)

p- индекс статистической значимости

ходные показатели уровня физической подготовленности и развития (были проведены тесты на проверку уровня развития физических качеств).

На всех этапах учебно-тренировочных занятий проводился мониторинг функционального состояния единоборцев, который осуществлялся как по регистрации частоты сердечных сокращений, так и с помощью прибора «Варипульс», применяемого для оперативной регистрации и вычисления индексов вариационной пульсометрии.

В настоящее время существует множество индексов вариационной пульсометрии, отражающих состояние сердечно-сосудистой системы спортсмена. В данной работе применялся достаточно новый для подобных исследований индекс для оценивания вариативности ритма сердца (происходило оценивание только быстрого компонента вариативности межсистолических интервалов в отличие от индекса напряжения Баевского) – индекс симпато-адреналового тонуса (САТ). Вычисления индекса САТ проводились автоматически и выводились на экран

монитора компьютера в «готовом» виде [4, 20-26].

Диапазон частоты сердечных сокращений при выполнении комплекса, направленного на развитие выносливости в обучающем режиме, составил 129 -133уд/мин. Результаты исследования представлены в табл. 2.

На основании проведенного эксперимента можно сделать заключение, что приспособительные реакции ярче выражены у учащихся экспериментальной группы, поскольку к концу учебного года у них наблюдалось достоверное снижение пульса на всех трех этапах занятий (по сравнению с юношами из контрольной группы). Отмечено также быстрое восстановление сердечной деятельности после физической нагрузки: измерения, проведенные после восстановления в течение 5 мин., показали величину ЧСС, равную 129±1 уд/мин, в конце занятия 99±1 уд/мин. Таким образом, разница составила, в среднем, 30 уд/мин., тогда как у юношей контрольной группы этот показатель равен в среднем около 24 уд/мин.

По итогам тестирования наиболее чувс-

твительной характеристикой вариационной пульсометрии оказался индекс САТ. Поскольку этот индекс в наибольшей степени отражает быстрые компоненты вариативности межсистолических интервалов, его увеличение свидетельствует о стабилизации ритма сердца именно в ряду последовательных межсистолических интервалов. Анализируя значения САТ, полученные в итоге контрольного тестирования в отдельном срезе занятий (при переходе из 1 ко 2 этапу занятий), можно заметить пропорциональное увеличение его значения, что свидетельствует о стабилизации пульса на конкретном отрезке (этапе) занятия. А также мы замечаем достоверное снижение индекса САТ к концу учебного года в экспериментальной группе (к примеру: на пике физической нагрузки индекс $САТ_{ЭГ} = 680 \pm 0,3$; а индекс $САТ_{КГ} = 740 \pm 0,5$). Это является еще одним подтверждением развивающихся приспособительных реакций в обеих группах. В конце учебного года учащиеся обеих групп демонстрируют снижение по всем показателям вариационной пульсометрии, однако наиболее заметен эффект у юношей экспериментальной группы.

Контроль уровня развития выносливости проводился по специальным тестам, представленным в комплексе в разделе общей выносливости. В результате систематических наблюдений и определения уровня функциональной подготовки учащихся в период занятий установлен достоверный положительный прирост уровня физической подготовленности к концу учебного года (особен-

но в части развития общей и специальной выносливости) у учащихся экспериментальной группы по сравнению с контрольной.

Прирост физических качеств, продемонстрированный в ходе применения специально разработанного комплекса упражнений, существенно повлиял на уровень общей подготовленности единоборцев: 70% юношей из экспериментальной группы заняли призовые места в первенствах города Москвы по рукопашному бою, ушу а также контактно-му каратэ (в контрольной группе результаты выступлений на соревнованиях гораздо скромнее – 30% юношей оказались в числе призеров). В итоге обладателями следующих спортивных разрядов в большей мере оказались юноши экспериментальной группы.

ЛИТЕРАТУРА:

1. Каплан А.Я. 1999, Журнал высшей нервной деятельности. Т. 48. (6).
2. Кузнецов В.С., Колодницкий Г.А. Оздоровительная физическая культура для учащихся. Методическое пособие. М.: МИОО, 2010.
3. Никитин Б.П., Никитина Л.А. Резервы здоровья наших детей. М.: Физкультура и спорт, 1990.
4. Терешкин А.Ф. Динамика функционального состояния организма детей и подростков при систематическом использовании статических упражнений на занятиях по физической культуре // Развитие двигательной и функциональной подготовленности школьников. Свердловск, 1990.
5. Янсен Петер. ЧСС, лактат и тренировки на выносливость: Пер. с англ. Мурманск: Издательство «Тулома», 2006.

УДК 577.15.

Поликарпова Л.В.

Московский государственный областной университет

**СЕЗОННАЯ ДИНАМИКА АКТИВНОСТИ КИСЛОЙ ФОСФАТАЗЫ
И НУКЛЕАЗ В ПЕЧЕНИ И ЖАБРАХ ЛЕЩА (*ABRAMIS BRAMA*)**

L. Polikarpova

Moscow State Regional University

**SEASONAL DYNAMICS OF ACID PHOSPHATASE AND NUCLEASES
ACTIVITY IN LIVER AND BRANCHIAE OF BREAM (*ABRAMIS BRAMA*)**

Аннотация. Исследована сезонная динамика активности кислой фосфатазы, кислой ДНКазы и кислой РНКазы в печени и жабрах лещей, выловленных в Рыбинском водохранилище. Динамика активности всех изученных ферментов имеет сходный характер и отражает интенсивность обмена веществ в различные периоды жизнедеятельности рыб. Установлена взаимосвязь между уровнем удельной активности исследованных ферментов и периодами размножения (нереста) и интенсивного питания (нагула) рыб. Обсуждаются возможности использования полученных данных для мониторинга физиологического состояния рыб.

Ключевые слова: лещ, ферменты, динамика активности, сезоны, физиологическое состояние, мониторинг.

Abstract. The paper is concerned with seasonal dynamics of acid phosphatase, acid DNase and acid RNase activity in liver and gills of the bream inhabiting the Rybinsk reservoir. The seasonal activity dynamics appears to be similar for all studied enzymes and shows the intensity of fish metabolism in different time of their life. We have revealed a distinct correlation between the level specific activity of the enzymes and reproductive periods (spawning) and intensive periods of fish feeding. We have discussed a possible use of the collected data to monitor physiological conditions of fish.

Key words: bream, proteins, activity dynamics, seasons, physiological condition, monitoring.

Актуальной задачей современной экологической биохимии гидробионтов является анализ биохимических процессов, обеспечивающих нормальное существование и адаптационные возможности различных организмов в изменяющихся условиях среды [9]. Одновременно такие исследования существенны для создания комплексной системы мониторинга пригодности различных сред обитания, включая водные экосистемы. Отсюда, в частности, возникает необходимость оценки состояния популяций рыб и особенно их хозяйственно ценных видов, что обуславливает поиск биохимических показателей, служащих индикаторами физиологического состояния в различные периоды годового цикла при изменяющихся условиях обитания [10; 11]. В связи с этим несомненный интерес представляет изучение сезонных изменений активности ферментов в тканях и органах рыб. Перспективность использования ферментов для оценки влияния среды обитания на обменные процессы у различных видов пресноводных гидробионтов была ранее продемонстрирована в целом ряде исследований [4; 5, 518-523]. В тоже время, эти работы были связаны, преимущественно, с анализом изменения активности тех или иных ферментов в условиях токсического воздействия и не учитывали нормальных сезонных изменений их активности.

© Поликарпова Л.В.

Автор выражает глубокую признательность зав. лабораторией физиологии и токсикологии водных животных ИБВВ РАН (Борок), д.б.н. Г.М.Чуйко за предоставленный биологический материал, а также к.б.н. Попову А.П. и д.б.н. Коничеву А.С. за помощь в обсуждении полученных данных.

Следует отметить, что выбор конкретных ферментов-индикаторов имеет большое значение для интегрированной оценки интенсивности метаболических процессов, детерминирующих физиологическое состояние организма. Одновременно, учитывая задачи мониторинга, предпочтение, очевидно, должно быть отдано ферментам, способным сохранять активность в условиях неизбежного периода хранения образцов тканей и органов, собранных в природных условиях, а также доступных с точки зрения простого, точного и быстрого определения их активности.

Учитывая вышеизложенное, целью нашей работы стало выявление сезонных изменений активности кислых гидролаз (кислой фосфатазы КФ, кислой ДНКазы и кислой РНКазы) в печени и жабрах леща, которые могут служить индикаторами физиологического состояния этого широко распространенного и имеющего важное промысловое значение вида рыб. Известно, что нуклеазы с максимальной активностью при кислых значениях pH локализованы, преимущественно, в лизосомах, где наряду с другими кислыми гидролазами осуществляют катаболические реакции, лежащие в основе важнейших физиологических и биохимических процессов [7; 8, 85-95]. КФ относится к числу ферментов широко представленных в разных субклеточных формах, обладающих широкой субстратной специфичностью, и расщепляет разнообразные фосфомоноэфиры различных органических соединений биологической природы, участвуя в обмене углеводов, липидов и энергетическом обмене. Поэтому уровень активности избранных для исследования ферментов может, в определенной мере, служить показателем интенсивности метаболизма в целом. Как показали наши предварительные эксперименты, активность этих ферментов хорошо сохраняется в замороженных образцах ткани рыб в течение нескольких месяцев.

Материалом для исследования служили экстракты водорастворимых белков печени и жабр лещей, выловленных траловым методом в районе Шумаровых островов Рыбинского водохранилища в течение девяти месяцев нормального с точки зрения климатических

факторов сезона 2009 г. Ткани извлекали из половозрелых особей рыб, и белки из замороженных индивидуальных образцов тканей экстрагировали пятикратным по отношению к навеске (W/V) количеством 0,15 М раствора NaCl при 0-2 °C в течение 20 мин. Экстракты центрифугировали при 6000 g в течение 30 мин. при 4 °C и полученные супернатанты использовали для определения активности ферментов.

Активность КФ определяли спектрофотометрическим методом по скорости гидролиза модельного субстрата – p-нитрофенилфосфата [6, 1161-1167]. За единицу активности (Е) фермента принимали такое его количество, которое вызывает увеличение оптической плотности при 415 нм на 1 единицу (при инкубации 20 мин. при 37 °C в 0,05М ацетатном буфере с pH 4,8). Активность ДНКазы и РНКазы определяли спектрофотометрическим методом по простоте продуктов деградации ДНК и РНК соответственно [5, 518-523], в качестве субстратов использовали препараты высокополимерной ДНК из тимуса телят («Sigma», США) и РНК из пекарских дрожжей («Sigma», США). Активность нуклеаз определяли при предварительно установленных нами оптимальных значениях pH инкубационной среды (0,05М ацетатный буфер): для ДНКазы – pH 5,2, для РНКазы – pH 5,6. За единицу активности (Е) принимали такое количество фермента, которое вызывало увеличение оптической плотности при 260 нм на 1 единицу после 1ч. инкубации при 37 °C. Удельную активность ферментов рассчитывали в единицах активности на 1мг белка (Е/мг белка), определенного по методу Лоури. Статистическую достоверность результатов рассчитывали по методу Стьюдента для вероятности $p \geq 0,95$.

Судя по полученным результатам, активность КФ в печени выше, чем в жабрах леща, тогда как активность кислой РНКазы, напротив, выше в жабрах рыб. Полученные данные свидетельствуют о ярко выраженных достоверных изменениях активности исследованных ферментов в жабрах и печени лещей в течение проанализированного сезона. Эти изменения носят сходный характер в тканях и отчетливо приурочены к определенным

физиологическим периодам существования рыб (см. рис.).

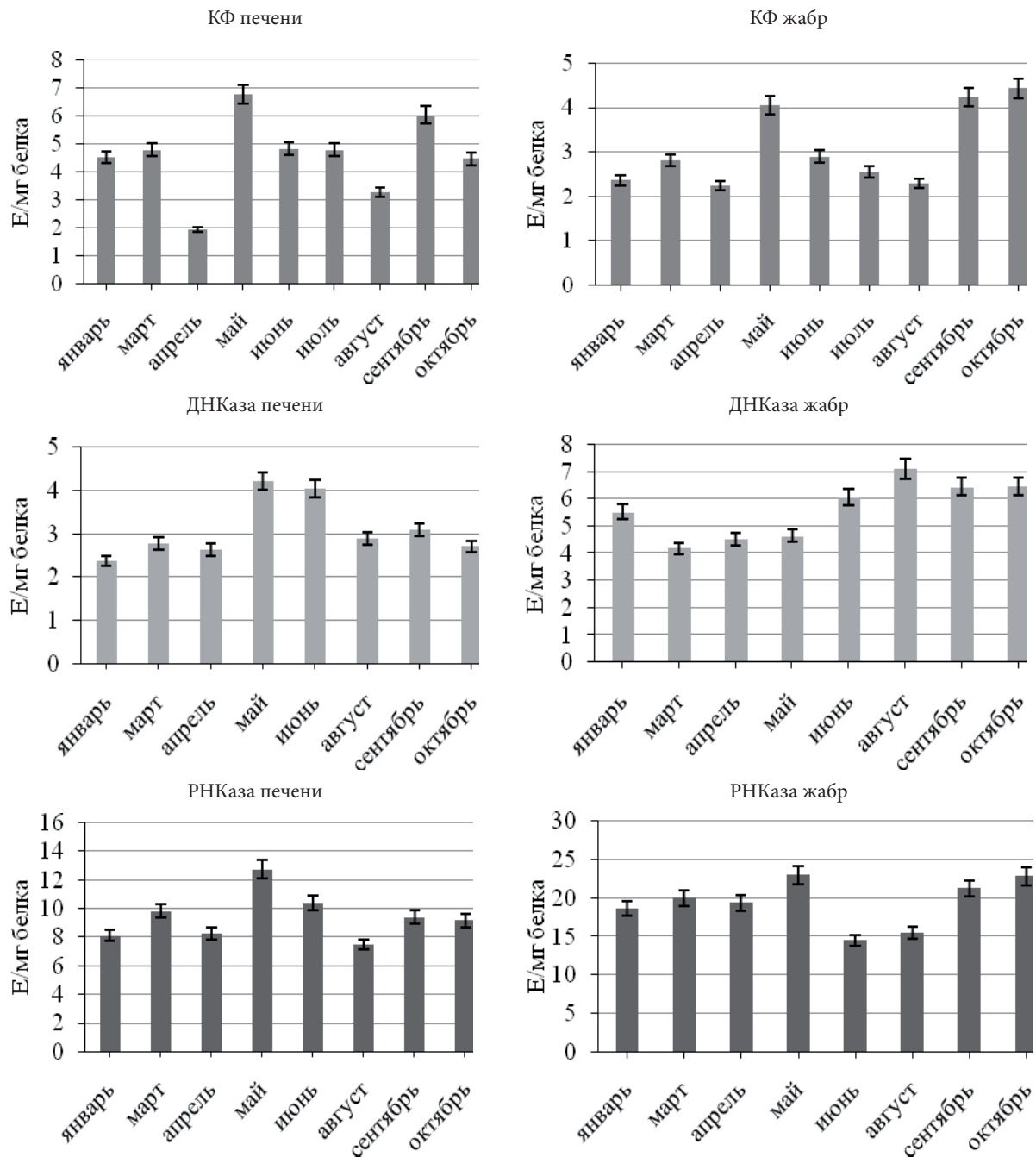


Рис. Активность гидролитических ферментов печени и жабр леща, выловленного в районе Шумаровых островов Рыбинского водохранилища в разные месяцы 2009 г.

После периода относительной стабильности в зимний и предвесенний периоды (январь – апрель) в мае наблюдается всплеск активности всех ферментов (кроме РНКазы в жабрах) и в печени, и в жабрах, что совпадает с началом нереста леща в Рыбинском водохранилище. Очевидно, что резкое увеличение активности ферментов связано с общим повышением уровня физиолого-биохимических процессов в организме рыб: активизацией деятельности

желез внутренней секреции, использованием энергетических резервов, интенсификацией питания и двигательной активности. К концу лета (август) активность всех трех ферментов в печени и активность КФ в жабрах снижается, что, вероятно, связано с прекращением генеративных процессов и наступлением периода нагула, когда обменные процессы связаны, преимущественно, с накоплением питательных веществ. В сентябре и октябре (в период предзимнего особенно активного питания) активность ферментов вновь повышается, что может указывать на интенсификацию процессов внутриклеточного пищеварения с участием лизосомальных ферментов.

Следует отметить, что среди изученных нами ферментов наиболее ярко выраженное изменение в активности в зависимости от отмеченных периодов физиологического состояния свойственно кислой фосфатазе и в меньшей мере нуклеазам. Однако во всех случаях отчетливо прослеживается достаточно синхронная динамика изменений активности всех трех ферментов. Нам представляется логичным предположить, что возможные отклонения от этой динамики могут служить показателями негативных сдвигов в обменных процессах рыб, связанных, в частности, с возможным загрязнением водной среды обитания.

ЛИТЕРАТУРА:

1. Высоцкая Р.У., Немова Н.Н. Лизосомы и лизосомальные ферменты рыб. М.: Наука, 2008. 284 с.
2. Зиньковский О.Г., Потрохов А.С., Евтушенко Н.Ю. Влияние меди и марганца на нуклеазную активность органов и тканей производителей карпа в репродуктивный период // Гидробиол. журн. 1995. 31, № 4.
3. Морозов А.А., Чуйко Г.М., Подгорная В.А. Функциональное состояние антиоксидантной системы печени леща (*Abramis brama* L.) из районов Рыбинского водохранилища с различной степенью антропогенной нагрузки // III Всерос. конф. по водной токсикологии, конф. по гидроэкологии и школа-семинар: Объединенные материалы. Борок, 11–16 ноября 2008 г. Т. 2.
4. Немова Н.Н., Высоцкая Р.У. Биохимическая индикация состояния рыб. М.: Наука, 2004. 216 с.
5. Попов А.П., Коницев А.С., Цветков И.Л. Влияние токсичных соединений техногенного происхождения на активность и множественные формы кислой ДНКазы живородки речной (*Viviparus viviparus* L.) // Прикл. биохимия и микробиол. 2003. 39, № 5.
6. Попов А.П., Цветков И.Л., Коницев А.С. Разделение и характеристика дезоксирибонуклеаз гепатопанкреаса живородки речной в норме и при модельной интоксикации *in vivo* // Биохимия. 2008. 73, Вып. 8.
7. Покровский А.А., Тутельян В.А. Лизосомы. М.: Наука, 1976. 382 с.
8. Руоколайнен Т.Р., Высоцкая Р.У. Активность лизосомальных ферментов в печени окуня из разных зон Онежского озера // В кн.: Сравнительная биохимия водных животных. Петрозаводск: Изд-во Карел. науч. центра РАН, 1983.
9. Хочака П., Сомеро Дж. Биохимическая адаптация. М.: Мир, 1988. 568 с.
10. Шатуновский М.И. Экологические закономерности обмена веществ морских рыб. М., 1980. 283 с.
11. Шульман Г.Е. Физиолого-биохимические особенности годовых циклов рыб. М., 1972. 367 с.

УДК 579.2/6

Расулзаде З.И.

Республиканская противочумная станция им. С. Имамалиева (Баку)

Гусейнова Л.А., Ахмедова Ф.Р.

Бакинский государственный университет

Мурадов П.З.

Институт микробиологии НАНА (Баку)

**РЕЗУЛЬТАТЫ АПРОБАЦИИ РЕМЕДИАЦИИ ЗАГРЯЗНЕННЫХ ПОЧВ
IN SITU ПУТЕМ ИНТРОДУКЦИИ ВЫДЕЛЕННЫХ
ШТАММОВ RHODOCOCCLUS ERYTHROPOLIS**

Z. Rasulzade

Imamaliyev Republican Anti-Plague Station (Baku)

L. Huseynova, F. Akhmedova

Baku State University

P. Muradov,

Institute of Microbiology of ANAS (Baku)

**THE RESULTS OF OIL POLLUTED SOILS REMEDIATION IN SITU
BY INTRODUCING THE RHODOCOCCLUS ERYTHROPOLIS CULTURE**

Аннотация. В статье приведены результаты эколого-гигиенических исследований прибрежных зон Апшеронского полуострова, используемых для рекреационных целей. Полученные результаты показали необходимость разработки эффективных мероприятий для сохранности прибрежных полос полуострова и перспективности использования для этого *Rhodococcus erythropolis* выделенных из прибрежных нефтезагрязненных почв.

Ключевые слова: Апшеронский полуостров, прибрежные почвы, *Rhodococcus erythropolis*, санитарно-гигиенические.

Abstract. The article presents the results of the study of ecological and hygienic investigation of the coastal areas of the Absheron peninsula used for recreation purposes. The received results have proved the necessity of effective actions to protect the coastal soils of the peninsula and perspectives of using *Rhodococcus erythropolis* got from the coastal petropolluted ground for this purpose.

Key words: the Absheron peninsula, coastal soils, *Rhodococcus erythropolis*, sanitary hygienic.

Известно, что влияние нефти и нефтепродуктов (НП) на объекты окружающей среды несопоставимо с действием других техногенных факторов, приводящих к губительным последствиям для биосферы [2, 89-91; 7, 904]. Проведенными нами исследованиями установлено [3, 28-30; 4, 9, 19-22], какое разрушительное действие могут оказывать нефтепродукты на биодинамические свойства прибрежных почв, их микробиологические и физико-химические характеристики, что ведёт за собой понижение рекреационной привлекательности прибрежной полосы. В сложившихся условиях применение аборигенных микроорганизмов,

разлагающих нефть и НП, может привести к благоприятным изменениям свойств почв, используемых населением в рекреационных целях.

В прибрежной полосе полуострова, особенно в части ее рекреационного использования, были проведены комплексные эколого-гигиенические исследования. Их цель – эколого-гигиеническая референция загрязненности прибрежной полосы (почва-морская вода) Апшеронского полуострова нефтью и нефтепродуктами, с выявлением особенностей и закономерностей их взаимодействия с почвой. Полученные результаты эксперимента по изучению роста выделенных штаммов микроорганизмов на углеводородов нефти позволили нам предположить эффективность использования выделенной культуры микроорганизмов и в целях рекультивации почв на загрязненном участке – юго-восточной части побережья Апшеронского полуострова провести полевой эксперимент.

Материалы и методы исследований

В ходе экспериментальных исследований осуществлён подбор концентрации нефтепродуктов в жидких и плотных питательных средах для культивирования выделенных бактериальных штаммов в лабораторных условиях. Объектом исследований служили выделенные из нефтезагрязненных почв штаммы микроорганизма *Rhodococcus erythropolis*. Интродукция штаммов проводилась на опытные площадки в наиболее загрязненных нефтепродуктами участках прибрежной

полосы, используемой в рекреационных целях.

Анализ физико-химических, биохимических и микробиологических показателей проводился по общепринятым методам [4; 6].

Результаты исследований

Численность основных физиологических групп микроорганизмов, а также активность ферментов были зафиксированы до начала эксперимента и через 3 месяца (табл. 1). Для сравнения приводятся данные с северо-западного направления Апшеронского полуострова.

Так, общее микробное число (ОМЧ) исследованных почв до начала эксперимента составила $(1,47 \pm 0,05) \cdot 10^5$ КОЕ/г почвы, численность спорообразующих микроорганизмов $(4,9 \pm 0,05) \cdot 10^4$ КОЕ/г почвы, мицелиальных грибов – $(9,8 \pm 0,08) \cdot 10^3$ КОЕ/г почвы, УОМ – $4,5 \cdot 10^3$ НВЧ кл/г. Активность уреазы составила $28,82 \pm 0,06$ мг CO_2 /г, дегидрогеназы – $0,02 \pm 0,00$ ед. опт. плотности, инвертазы – $0,15 \pm 0,00$ мг. глюкозы/г почвы.

После проведенных рекультивационных мероприятий было отмечено увеличение численности почти всех физиологических групп микроорганизмов в исследуемых почвах. Так, к примеру, наблюдалось значительное повышение общего микробного числа углеводородоразлагающих микроорганизмов (УОМ), спорообразующих, целлюлозолитических, аммонифицирующих, азотфиксирующих микроорганизмов. Численность остальных групп микроорганизмов существенно не по-

Таблица 1

Численность микроорганизмов почвы, отобранных с опытного участка в юго-восточной части Апшеронского полуострова до и после полевого эксперимента

Вариант	ОМЧ, КОЕ/г		УОМ, НВЧ кл/г	
	до внесения	через 3 месяца	до внесения	через 3 месяца
10 м	$3,24 \cdot 10^6$	$2,89 \cdot 10^6$	$9,5 \cdot 10^1$	$2,5 \cdot 10^4$
50 м	$1,39 \cdot 10^6$	$2,61 \cdot 10^6$	$4,5 \cdot 10^1$	$1,5 \cdot 10^4$
100 м	$1,09 \cdot 10^6$	$5,80 \cdot 10^6$	$1,10 \cdot 10^3$	$2,5 \cdot 10^3$
СЗ	$2,56 \cdot 10^6 \pm 0,64$		$4,9 \cdot 10^3 \pm 0,91$	

Таблица 2

Ферментативная активность нефтезагрязненных почв почвы, отобранных с опытного участка в юго-восточной части Апшеронского полуострова до и после полевого эксперимента

Вариант	Уреаза, мг CO ₂ /г		Дегидрогеназа, ед. опт. плотности	
	до внесения	через 3 месяца	до внесения	через 3 месяца
10 м	26,95±0,61	36,59±0,9	0,54±0,2	1,11±0,4
50 м	29,15±1,27	38,5±0,8	0,28±0,2	0,58±0,2
100 м	27,65±0,2	33,3±0,3	0,21±0,01	0,26±0,1
СЗ	34,63±0,02		0,92±0,1	

вышалась либо вовсе не изменялась.

Анализ ферментативной активности почв показал, что внесение в нефтезагрязненную почву *Rhodococcus erythropolis* способствовало повышению ферментативной активности почв. Через три месяца после проведенных рекультивационных мероприятий наблюдалось увеличение активности ферментов на всех расстояниях. Хотя в опыте их значения были значительно выше, чем в почвах в относительно чистых почвах северо-восточной части побережья Каспийского моря (табл. 2).

Наибольшее значение активности ферментов наблюдалось в вариантах с интродукцией *Rhodococcus erythropolis* на участки на расстоянии 100 м от уреза воды. Это объясняется, по-видимому, меньшей инсоляцией и отсутствием влияния морской воды. Отмечено значительное увеличение значений всех почвенных ферментов.

Внесение нефтеокисляющих микроорганизмов способствовало стабилизации окислительно-восстановительных процессов, физико-химических свойств почв, увеличению микрофлоры почвы, деструкции углеводородов нефти.

Данные таблицы показывают, что внесение *Rhodococcus erythropolis* в нефтезагрязненную почву оказывает благоприятный эффект на ее состояние. Так, в вариантах на расстоянии 50 и 100 метров от уреза воды наблюдалась максимальная деструкция нефти, процент разрушения составил 68,85% и 62,66% соответственно. Тогда как в остальных вариантах этот показатель варьировал в

диапазоне от 8,33-35,74%. Процент деструкции в контрольном варианте почв составил 5,27%. Полученные данные позволяют говорить об эффективности применения *Rhodococcus erythropolis* при очистке почвы от нефтяного загрязнения.

Изучение динамики роста и развития различных групп микроорганизмов на контрольные площадки биоремедиации позволило установить зависимость структуры микробиоценоза нефтезагрязненных почв в процессе очистки от НП и времени биодеструкции. Зависимость показывает, что на первой фазе деструкции происходит увеличение численности основных групп микроорганизмов, как ответная реакция на поступление новых питательных субстратов. На следующей фазе происходит снижение численности одних групп микроорганизмов (сапрофитов, анаэробов, споровых, актиномицетов), исчезновение (микроскопические грибы) и рост (УОМ) других групп. В процессе снижения НП в почве начинают развиваться все основные группы микроорганизмов, что свидетельствует о снижении токсичности субстрата.

Результаты эксперимента показали, что внесение *Rhodococcus erythropolis* значительно повышают биологическую активность почв, ускоряют процессы биоразложения нефтяных углеводородов, нормализуют ферментативную активность и в более короткие сроки ведут к восстановлению почв до исходного состояния.

Проведенные исследования показали, что эффективность внесения *Rhodococcus eryth-*

ropolis на опытных площадках биоремедиации составила 82-87%. Эти экспериментальные данные согласуются с литературными данными об эффективном использовании аборигенных штаммов микроорганизмов разных родов [1, 140-141; 2, 89-91; 5, 121-129; 7, 904; 8, 335-343].

Таким образом, применение местного выделенного штамма *Rhodococcus erythropolis* можно рекомендовать при ремедиации нефтезагрязненных почв, используемых населением в рекреационных целях.

ЛИТЕРАТУРА:

1. Логинов О.Н., Биккинина А.Г., Силищев Н.Н., Назаров А.М. Новые биопрепараты для рекультивации почв, загрязненных нефтью и нефтепродуктами // Материалы IV съезда Общества биотехнологов России им. Ю.А. Овчинникова: Пуццино, М.: МАКС Пресс, 2006.
2. Назарько М.Д., Щербаков В.Г., Александрова А.В. Перспективы использования микроорганизмов для биodeградации нефтяных загрязнений // Изв. вузов. Пищевая технология, 2004. № 4.
3. Расулзаде З.И., Агаева З.И., Фараджова А.А. Изучение бактерии рода выделенных из нефтезагрязненных почв Апшерона // Мат. Международной конф. по экологии, охране труда и технике безопасности. Баку, 2003.
4. Расулзаде З.И. Меры по улучшению экосистемы "почва-морская вода" в прибрежной полосе Апшеронского полуострова, используемой населением в рекреационных целях (Методические рекомендации). Баку, 2003.
5. Салманов М.А., Велиев М.Г., Бекташи Н.Р., Алиева С.Р. Дegradaция сырой бакинской нефти и нефтепродуктов микроскопическими грибами // Труды Института микробиологии НАНА. Баку, 2006. Т.3.
6. Яковлев А.С., Шептухов В.Н. и др. Методические рекомендации по выявлению деградированных нефтезагрязненных земель. М., 1995.
7. Breton F., Clapes T., Marques A., Priestley G. The recreational use of beaches and consequences for the development new trends in management: the case of the beaches of the Metropolitan Region of Barcelona (Catalonia, Spain) // Oceanographic Literature Review, 2007. V.44. N 8.
8. Luz A.P., Ciapina E.M.P., Gamba R.C. et al. Potential for bioremediation of hydrocarbon polluted soils in the Maritime Antarctic // Antarctic Science Cambridge University Press, 2006. N 18. Vol.3.
9. Rasulzade Z.I., Gurbanov S.M., Tchounwou P.B. Assessment of oil pollution in soil and sea water ecosystem of Caspian coastal zone in the Apsheron peninsula // First International Symposium on Recent Advances in Environmental Health Research, Marriott Hotel, Jackson, Mississippi, 2004.

УДК 579.01

Расулова Г.Р., Гахраманова Ф.Х.
Институт микробиологии НАНА (Баку)

Аббасов В.М.
Институт нефтехимических процессов им.Ю. Мамедалиева НАНА (Баку)

Агабекова Р.А
Бакинский государственный университет

**АНТИМИКРОБНОЕ ДЕЙСТВИЕ КОМПОЗИЦИЙ ФРАКЦИЙ
БЕЛОГО НАФТАЛАНСКОГО МАСЛА С ЭФИРНЫМ МАСЛОМ
STAPHYLOCOCCUS AUREUS**

G. Rasulova, F. Gakhramanova
Institute of Microbiology of ANAS (Baku)

V. Abbasov
Institute of Petrochemical Processes named after Yu. Mamedaliyev of ANAS (Baku)

R. Agabekova
Baku State University

**ANTIBACTERIAL INFLUENCE OF THE COMPOSITION OF NAPHTALAN
OIL FRACTIONS AND ESSENTIAL OILS OF PLANTS**

Аннотация. Целью исследования было изучение антибактериальной способности отдельных фракций белого нафталанового масла, полученных в результате перегонки этого масла в диапазоне 220-4200С, с эфирным маслом растения фенхеля и чабреца на *Staphylococcus aureus*. Результаты показали, что композиции фракций белого нафталанового масла с эфирными маслами чабреца, фенхеля по сравнению с чистыми фракциями демонстрируют более активное антимикробное действие. 100% антимикробное действие для чабреца составляет 1:0,04-0,1 мл, а для фенхеля – 1:0,08-0 мл.

Ключевые слова: белое нафталановое масло, эфирное масло, чабрец, фенхель, композиция, *Staphylococcus aureus*, антибактериальная способность.

Abstract. The aim of the study was to investigate the antibacterial feature of individual fractions of white Naftalan oil, obtained by distillation of this oil in the range of 220-4200C, with essential oils of plants of fennel and thyme in *Staphylococcus aureus*. The results showed that the composition of fractions of white Naphthalan oil with essential oils of thyme, fennel, show more active antimicrobial effect than pure fractions. 100% antimicrobial effect of thyme for 1:0,04-0,1 ml, and fennel for 1:0,08-0 ml.

Key words: White Naftalan oil, essential oil, thyme, fennel, composition, *Staphylococcus aureus*, antibacterial feature.

Уникальная Нафталанская нефть издавна используется как средство лечения различных заболеваний. Нафталанская нефть – это особая форма бальнеотерапии, обладающая общепризнанными лечебными свойствами при целом ряде заболеваний: кожных, нервных, опор-

но-двигательного аппарата, в гинекологии, при различных ранениях, ожогах, отморожениях [1, 178; 6-7; 10, 112; 11; 12]. Однако, Нафталанская нефть так же, как и другие нефти, содержит в качестве токсичного компонента сконденсированные ароматические углеводороды, смолы, асфальтены, что делает невозможным применение Нафталанской нефти при лечении ряда тяжелых заболеваний.

В настоящее время она используется методом примитивной ванны, в результате чего происходит перерасход нефти. Одновременно использованная нефть выбрасывается в окружающую среду, что в свою очередь создает экологические и экономические проблемы [2, 119].

В начале 40-х гг. XX вв. выдающийся азербайджанский ученый Ю.Г. Мамедалиев доказал, что лечебные свойства этой нефти объясняются наличием в ней нефталановых углеводородов [9, 560-562]. Он, последовательно очищая Нафталанскую нефть от асфальтенов, смол, ароматических углеводоро-

дов, обнаружил, что после каждой очистки лечебные свойства увеличиваются и уменьшаются побочные явления, в том числе токсические действия. Великий ученый установил, что лечебное свойство Нафталанской нефти связано с содержанием в его составе полициклических нафтенных углеводородов с короткими боковыми радикалами.

Изучены бактерицидное и фунгицидное воздействие, а особенно антимикробная активность Нафталанской нефти [4, 30-35; 5]. Однако, антимикробное и фунгицидное воздействие лечебных нафталановых углеводородов, являющихся составной частью этой нефти, не были изучены. Принимая во внимание научную значимость этой работы, мы поставили перед собой цель её проведения.

Материалы и методы

Эфирные масла чабрец (плотности D_4^{20} - 0,9380 г/см³; рефракция n_d^{20} - 1,5068) и фенхеля (плотности D_4^{20} - 0,9305 г/см³; рефракция n_d^{20} - 1,5125) получены группой Института

Таблица 1

Физико-химические свойства 20°C фракций белого нафталанового масла

№	Температура	d_4^{20} плотность	Рефракция
I	220-240	0,8680	1,4475
II	240-260	0,8403	1,4550
III	260-280	0,8467	1,4600
IV	280-300	0,8612	1,4680
V	300-320	0,8689	1,4720
VI	320-340	0,8830	1,4750
VII	340-360	0,8832	1,4770
VIII	360-380	0,8850	1,4790
IX	380-400	0,8883	1,4830
X	400-420	0,8895	1,4860
XI	220-420	--- 0,8895	1,4775 – 1,4860

Таблица 2

Биологическая активность фракций белого нафталянового и вазелинового масел при воздействии на стафилококк

Фракция №	Время экспозиции									
	30 мин.	1 час	2 часа	3 часа	4 часа	5 часа	6 часа	1 сутки	2 суток	3 суток
I	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-
II	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-
III	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-
IV	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-
V	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-
VI	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-
VII	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-
VIII	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-
IX	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
X	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
XI	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Вазел. масло	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+

Примечание: «+» присутствие роста «-» отсутствие роста

Таблица 3

Бактерицидная активность композиций белого нафталянового масла с эфирным маслом в соотношении = 1:0.02 мл

Фракция №	Время экспозиции									
	30 мин.	1 час	2 часа	3 часа	4 часа	5 часа	6 часа	1 сутки	2 суток	3 суток
I	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
II	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
III	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-
IV	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-
V	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-
VI	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-
VII	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-
VIII	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-
IX	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-
X	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-
XI	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-
Вазел. масло	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+

Примечание: «+» присутствие роста «-» отсутствие роста

нефтехимических процессов НАНА.

Для выяснения воздействия композиций белого нафталянового масла с эфирными маслами фенхеля и чабреца на *Staphylococcus aureus* был использован метод тест-объекта [12].

Определена антимикробная активность этих фракций с методом тест-объекта, полученных в результате перегонки Нафталяно-

вой нефти при разных температурах (табл.1) на *Staphylococcus aureus*, как при единичном воздействии, так и в композиции с эфирными маслами фенхеля (*Foeniculum*) и чабреца (*Thymus lamiaceae*).

С этой целью батистовую материю моют, высушивают и нарезают на куски в размерах 10x10 мм, кладут в чашки Петри и стерилизуют при температуре 160°C -170°C в

течение 45-60 мин. Далее батистовые тесты в количестве необходимом для проведения опыта стерильным пинцетом кладутся в чаши Петри и на них добавляются суточные эмульсии *Staphylococcus aureus*, имеющие 1 миллиард микробных частиц в 1 мл.

Через 25-30 минут эмульсия стерильной пипеткой высасывается из чаши, а чаша в открытом виде высушивается в термостате (в течение 30-40 мин.). Полностью высушенные частицы материи кладутся в герметически закрывающуюся стерильную стеклянную посуду, и на них добавляется 5 мл изучаемой фракции (с условием 1 мл вещества на 2 теста). Воздействие вещества на микроорганизмы проводится в течение 3 суток, то есть посуда в течение 3 суток содержится в закрытом виде и из посуды стерильным пинцетом берется 1 тест в разных экспозициях (30 мин., 1 час, 2 часа, 3 часа, 4 часа, 5 часов, 6 часов, 1 сутки, 2 суток, 3 суток), кладется на поверхность пептонового агара и несколько передвигается, чтобы получилась более широкая поверхность роста. Посеянные чаши хранятся в термостате 1-2 суток при температуре 37°C. Далее отмечается результат. Если существует рост, выявляется отсутствие воздействия вещества. В каком часу у взято-

го теста обнаруживается отсутствие роста, то выясняется бактерицидное воздействие изучаемого материала в экспозиции на такое количество времени. В качестве контроля используется вазелиновое масло. При изучении воздействия фракций вместе с эфирными маслами во фракции добавляются эфирные масла 0,02; 0,04; 0,06; 0,08; 0,1 мл.

Результаты и обсуждения

Из проведенных опытов стало ясно, что I, II, III фракции по сравнению с другими фракциями обладают более высокими бактерицидными воздействиями. То есть I фракция в течение 6 часов, II и III фракция в течение 1 суток оказали на *Staphylococcus aureus* бактерицидное воздействие. IV-VIII фракции уничтожили золотистый стафилококк за 2 часа, а IX-XI фракции даже за 3 суток не оказали какого-либо антимикробного воздействия. Результаты указаны в табл. 2.

Эфирные масла активизируют бактерицидное воздействие фракций, в результате чего композиции во фракциях проявляют более высокую антимикробную активность. Так, при изучении антимикробной активности композиций белого нафталанового масла с маслами чабреца, состоящими в со-

Таблица 4

Бактерицидная активность композиций белого нафталанового масла с эфирным маслом в соотношении = 1:0,04-0,1 мл

Фракция №	Время экспозиции									
	30 мин.	1 час	2 часа	3 часа	4 часа	5 часа	6 часа	1 сутки	2 суток	3 суток
I	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
II	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
III	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
IV	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
V	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
VI	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
VII	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
VIII	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
IX	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
X	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
XI	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Вазел. масло	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+

Примечание: «+» присутствие роста «-» отсутствие роста

Таблица 5

Бактерицидная активность композиций белого нафталанового масла с эфирным маслом в соотношении = 1:0,06 мл

Фракция №	Время экспозиции									
	30 мин.	1 час	2 часа	3 часа	4 часа	5 часа	6 часа	1 сутки	2 суток	3 суток
I	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-
II	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-
III	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-
IV	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-
V	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-
VI	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-
VII	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-
VIII	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-
IX	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-
X	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-
XI	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-
Вазел. масло	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+

Примечание: «+» присутствие роста «-» отсутствие роста

Таблица 6

Бактерицидная активность композиций белого нафталанового масла с эфирным маслом в соотношении = 1:0,08-0,1 мл

Фракция №	Время экспозиции									
	30 мин.	1 час	2 часа	3 часа	4 часа	5 часа	6 часа	1 сутки	2 суток	3 суток
I	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
II	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
III	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
IV	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
V	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
VI	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
VII	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
VIII	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
IX	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
X	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
XI	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Вазел. масло	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+

Примечание: «+» присутствие роста «-» отсутствие роста

отношении 1:0,02 мл, были получены нижеприведенные результаты.

Композиции I и II фракций с эфирными маслами чабреца оказали бактерицидное воздействие на *Staphylococcus aureus* в течение 1 часа, III-IV фракции 2 часов, V-VI фракции 3 часов, VII-IX фракции в течение 5 часов, рост не был отмечен. А в контролях,

совсем наоборот, наблюдался рост (табл. 3).

При соотношении в композициях эфирных масел 1:0,04-0,1 мл бактерицидное воздействие достигает еще более высокого уровня. Спустя 30 мин. начинается уничтожающее воздействие на золотистый стафилококк (табл. 4).

В исследованиях проведенных по анти-

микробному воздействию эфирных масел фенхеля с фракциями Нафталановой нефти перед нами раскрывается совершенно другая картина.

Так, композиции фенхеля с I, II, III фракциями нафталанового масла в соотношении 1:0,06 мл уничтожают *Staphylococcus aureus* в течение 2 часов, IV-VII фракции 3 часов, VIII-IX фракции в течение 4 часов. Результаты опытов указаны в табл. 5.

Композиции фракций белой Нафталановой нефти с эфирными маслами фенхеля в соотношении 1:0,08-0,1 мл имеют более сильную антимикробную активность.

То есть эта смесь начинает свое бактерицидное воздействие спустя 1 час на *Staphylococcus aureus*, какой-либо рост не наблюдается. А в контролях, наоборот, наблюдается рост. Результаты опытов указаны в табл. 6.

Выводы

Белое нафталановое масло обладает антимикробным воздействием и бактерицидное воздействие фракций, полученных в результате перегонки этого масла в интервале 220-420, уменьшается с увеличением температуры кипения фракций.

Композиции фракций белого нафталанового масла с эфирными маслами чабреца, фенхеля по сравнению с чистыми фракциями демонстрируют более активное антимикробное воздействие. 100% антимикробное воздействие для чабреца составляет 1:0,04-0,1 мл, а для фенхеля – 1:0,08-0,1 мл.

ЛИТЕРАТУРА:

1. Аббасов В.М., Исаева Г.А., Аббасов З.В. и др. / Тезисы докладов III Бакинской Международной Мамадалиевской конференции по нефтехимии. Баку, 1998. 5-8 октября.

2. Аббасов В.М., Мусаев А.В., Исаева Г.А. Нафталановая нефть и его нафтеновые карбогидрогены. Баку: Наука, 199.
3. Аббасов В.М., Зейналова С.К., Расулова Г.Р. и др. Фунгицидное влияние композиций белого нафталанового масла семейства губоцветных на грибы рода *Candida albicans* // Процессы нефтехимии и нефтепереработки. 2007. № 4 (31).
4. Алиев Н.Д., Зейналова С.К. Фунгицидное действие нафталана и его препаратов // Азмеджурнал, 1975. № 8.
5. Алиев Н.Д. Новые экспериментальные данные о механизме действия нафталана. Автореф. дисс... д-ра мед. наук. Баку, 1969.
6. Гулиева С.А. Уникальная лечебная нафталановая нефть. Баку: Азернешр, 1981.
7. Гусейнова С.Г. Физические факторы (импульсные токи и нафталанотерапия) в восстановительном лечении больных с огнестрельными травмами периферической нервной системы: Автореферат дисс... докт. мед. наук. Баку, 2004.
8. Зейналова С.К. Фунгицидная активность нафталана и его компонентов. Автореферат дисс... канд. мед. наук. Баку, 1981.
9. Мамедалиев Ю.Г. К теории механизма действия Нафталанской нефти. Известия Академии наук СССР. 1946. № 5.
10. Мамедов З.М. Применение нафталана при различных хирургических заболеваниях. Баку: Азернешр, 1952.
11. Методические рекомендации по комплексному применению курортных факторов Азербайджанской ССР при лечении различных заболеваний. Баку: Азернешр, 1984.
12. Пашаева Т.Г. Нафталанская нефть и ее лечебное действие. Москва, 1959.

УДК 636.4.082.453.5

Рачков И.Г.

Ставропольский научно-исследовательский институт животноводства и кормопроизводства

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ГОРМОНАЛЬНОГО ПРЕПАРАТА ОКСИПРОГЕСТЕРОН КАПРОНАТ ДЛЯ ПРЕДУПРЕЖДЕНИЯ РАННИХ ЭМБРИОНАЛЬНЫХ ПОТЕРЬ

I. Rachkov

Stavropol Research Institute of Livestock Breeding and Feed Production

THE USE OF OXIPROGESTERONE CAPRONAT FOR EARLY EMBRYONIC LOSSES PROPHYLAXIS

Аннотация. Приведены данные о положительном влиянии повышенного содержания прогестерона в период имплантации эмбрионов на продуктивность свиноматок. Установлено, что инъекции прогестерона способствовали повышению многоплодия на 0,3-0,6 поросят на опорос.

Ключевые слова: свиньи, прогестерон, многоплодие, эмбрион.

Abstract. The article provides data on positive influence of the increased quantity of progesterone on sows' productivity during implantation of embryos. It has been established that progesterone injections contributed to polycarpia effect by 0.3 – 0.6 piglets in a farrow.

Key words: sows, progesterone, polycarpia effect, embryo.

Многоплодие – один из основных показателей воспроизводительной функции свиноматок. Величина его в значительной мере обуславливается выживаемостью зародышей в течение их развития. Фундаментальными исследованиями А.В. Квасницкого, А.П. Студенцова, Е.П. Ладана, Н.А. Мартыненко, В.Ф. Коваленко установлены основные причины гибели зародышей у свиней. Наиболее распространенные из них – биологическая неполноценность яйцеклеток и сперматозоидов, нарушение взаимосвязи между эмбрионами и материнским организмом (период имплантации), недоброкачественное и неполноценное кормление животных, неблагоприятные условия их содержания, недостаточная организация и техника осеменения. При этом размеры эмбриональной смертности у свиней достигают 30-40%, а в отдельных случаях даже больше [2; 4].

Успешное применение экзогенных гормонов для сохранения беременности у овариоэктомизированных животных привело исследователей к мысли о возможном предупреждении аналогичным путем эмбриональной смертности. Однако применение гонадотропных и половых гормонов, оказывающих в конечном итоге влияние на весь комплекс функционально взаимосвязанных желез внутренней секреции, вызывает изменение гормонального баланса в организме самки, при этом далеко не всегда в лучшую сторону [1]. Решить этот вопрос помогают исследования на овариоэктомизированных после наступления беременности животных при определении концентрации того или иного гормона в крови самки в течение беременности, особенно при условии учета количества развивающихся плодов и желтых тел. В частности, для нормального дробления зиготы и миграции ее к участку имплантации, а также подготовки эндометрия к приему бластоцисты необходим прогестерон. Однако исследо-

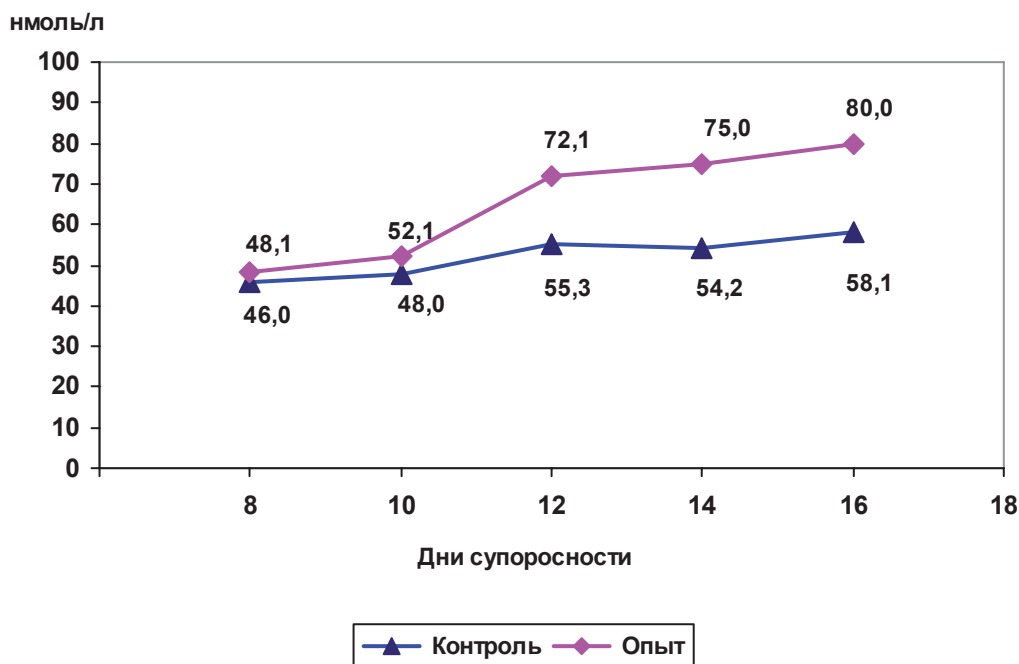


Рис. 1. Уровень содержания прогестерона у свиноматок, обработанных оксипрогестерон капрономатом.

ваниями В.Ф. Коваленко и др. установлено, что в начале супоросности (15 сутки) происходит уменьшение размеров и массы желтых тел и, как следствие, содержание прогестерона в крови свиноматок становится наименьшим. Таким образом, этот период в развитии эмбрионов свиньи можно считать критическим, связанным с ранней их гибелью [3].

Целью работы являлось изучение влияния концентрации прогестерона в период имплантации эмбрионов при нормальном (контроль) и повышенном (инъекция 125 мкг масляного раствора оксипрогестерон капрономата) гормональном фоне на многоплодие свиноматок. Экспериментальная часть работы выполнена на репродукторных фермах Ставропольского края на свиноматках крупной белой (КБ), скороспелой мясной (СМ-1) и дюрок (Д) породах с 2-3 опоросами. Животных подбирали в опытные и контрольную группы по принципу аналогов с учетом живой массы и срока отъема поросят. Животных, пришедших в охоту, осеменяли двукратно: утром и через 24 часа после первого осеменения. Содержание свиноматок в период супоросности групповое, за исключением критического периода (1-30 дней),

когда осемененных животных размещали в индивидуальных станках технологического фильтра. Инъекцию 125 мкг масляного раствора оксипрогестерон капрономата опытным животным проводили на 10 день условно-супоросного периода. Уровень прогестерона в крови животных определяли на 8, 10, 12, 14 и 16 дни условно-супоросного периода методом иммуно-ферментного анализа.

В результате проведенных исследований установлено, что содержание прогестерона в крови как у опытных, так и у контрольных животных плавно повышается с 8 по 10 день супоросности в среднем с 47,0 до 50,0 нмоль/л. Однако после инъекции опытным свиноматкам 125 мкг масляного раствора оксипрогестерон капрономата на 10 день супоросности содержание прогестерона у последних резко возрастает до $72,1 \pm 1,3$ нмоль/л (12 день) и незначительно повышается ($80,0 \pm 1,32$) к 16 дню супоросности (рис.1).

У контрольных животных к 14 дню супоросности наблюдается даже незначительное понижение содержания прогестерона в крови ($54,2 \pm 2,1$), которое повышается к 16 дню до $58,1 \pm 1,1$ нмоль/л. Снижение содержания прогестерона в ранний период супоросности

Таблица 1

Эффективность применения 125 мкг оксипрогестерон капроната при осеменении свиноматок КБ, СМ-1 и Д

Показатели	КБ	СМ-1	Д	КБ	СМ-1	Д
	опытные			контрольные		
Число свиноматок в группе, гол.	16	18	15	17	14	19
Из них опоросилось: гол. %	14 87,5	16 88,8	13 86,6	15 88,2	12 85,7	17 89,4
Многоплодие, гол.	11,0±0,1	10,8±0,14	8,3±0,12	10,4±0,13	10,3±0,1	8,0±0,14
Крупноплодность, кг	1,3±0,12	1,38±0,2	1,43±0,14	1,32±0,1	1,4±0,13	1,42±0,23
Получено поросят в пересчете на 100 осемененных свиноматок, гол.	963	959	719	917	883	715

свиноматок можно объяснить следующим: у свиней ответственным за поддержание желтых тел в течение беременности является лютеотропный гормон эстрадиол, который, в свою очередь, синтезируется трофобластом эмбрионов в течение 10-12 дней и прекращается с началом имплантации (13-й день). Учитывая то, что прогестерон у свиней может вырабатываться и в плаценте, то, возможно, недостаток в этом гормоне эмбрионы могут испытывать именно в период формирования плаценты.

Использование 125 мкг оксипрогестерон капроната положительно сказалось и на многоплодии свиноматок. Так, в опытных группах у свиноматок КБ, СМ-1 и Д многоплодие было выше на 0,6; 0,5 и 0,3 поросенка на опорос соответственно (табл. 1).

Таким образом, однократная инъекция 125 мкг оксипрогестерон капроната позволила повысить содержание прогестерона в организме животных с 12 по 16 день супо-

росности (период имплантации эмбрионов) в среднем на 34,4% и, как следствие, повысить многоплодие на 0,3-0,6 поросенка на опорос, что позволяет дополнительно получить на 100 первично осемененных свиноматок от 26 до 52 поросят.

ЛИТЕРАТУРА:

1. Гордон А. Контроль воспроизводства сельскохозяйственных животных / М.: Агропромиздат, 1988. 415 с
2. Квасницкий А.В. Искусственное осеменение свиней / К.: Урожай, 1983. 185 с.
3. Коваленко В.Ф., Усенко С.А., Пелипенко С.В., Шостя А.М. Взаимосвязь между уровнем содержания прогестерона в крови и динамикой развития желтых тел у свиноматок // Материалы международной научно-практической конференции «Прошлое, настоящее и будущее зоотехнической науки». Дубровицы, 2004. 71с.
4. Мартыненко, Н.А. Эмбриональная смертность сельскохозяйственных животных и ее предупреждение / К.: Урожай, 1971. 157с.

УДК 57.016.6

Сафронов Д.Ю., Стовбун С.В.

Институт химической физики им. Н.Н. Семенова РАН (г. Москва)

Кучеров В.А., Фарзалиев Т.Н., Чекамеева В.Л.

ООО «Био Фарма» (г. Москва)

ПРОТИВОВОСПАЛИТЕЛЬНЫЙ ЭФФЕКТ ПАНАВИРА В МОДЕЛЬНЫХ ЭКСПЕРИМЕНТАХ И КЛИНИЧЕСКОЙ ПРАКТИКЕ

S. Stovbun, D. Safronov

N.N. Semenov Institute of Chemical Physics of RAS (Moscow)

V. Kucheroov, T. Farzalieov, V. Chekameyeva

LLC "Bio Pharma" (Moscow)

ANTI-INFLAMMATORY PANAVIR EFFECT IN SIMULATION EXPERIMENTS AND CLINICAL PRACTICE

Аннотация. Показана необходимость проведения исследований вновь выявляемых свойств лекарственных препаратов. Описаны проведенные в рамках исследования противовоспалительного действия лекарственного препарата Панавир эксперименты на моделях острого и хронического воспаления. Экспериментально доказано наличие у противовирусного препарата Панавир собственного противовоспалительного действия, сравнимого с аналогичным действием диклофенака натрия. Рекомендовано проведение полномасштабных клинических исследований противовоспалительного действия Панавира с целью расширения показаний к применению в клинической практике.

Ключевые слова: панавир, воспаление, эксперимент, крыса, каррагинан, конканавалин, диклофенак, циклооксигеназа.

Abstract. The necessity of studying newly discovered properties of medical products has been shown. As a part of the exploration of anti-inflammatory effect of Panavir medication we have described the experiments on models of acute and chronic inflammation. It has been proved by experiment that Panavir viricide displays anti-inflammatory action which may be compared with the similar one of diclofenac sodium. It is recommended that full-scale clinical studies of anti-inflammatory Panavir effect should be carried out to extend the indications for clinical application.

Key words: Panavir, inflammation, experiment, rat, carrageenan, concanavalin, diclofenac, cyclooxygenase.

Постмаркетинговые исследования, проводимые после внедрения лекарственных препаратов в клиническую практику, обычно выявляют новые фармакологические свойства, демонстрируемые изучаемыми препаратами при лечении сочетанных заболеваний.

За 10 лет применения Панавира как противовирусного препарата были выявлены противовоспалительный, жаропонижающий, анальгетический, антиульцерогенный, гепатопротекторный, десенсибилизирующий, инсулин-потенцирующий, противоопухолевый, антипаркинсонический и ноотропный эффекты препарата.

В связи с отсутствием у Панавира ulcerogenic действия, а также системной и репродуктивной токсичности, особое внимание привлекло наличие у препарата выраженного

самостоятельного противовоспалительного эффекта.

Для верификации наличия у Панавира противовоспалительного действия, на базе НИИ физико-химической медицины Федерального агентства по здравоохранению и социальному развитию РФ были проведены эксперименты на трёх моделях острого и хронического воспалительного процесса.

В качестве эталонного препарата с выраженной противовоспалительной активностью для всех трёх моделей был выбран диклофенак натрия. Использовался лекарственный препарат Диклофенак в форме раствора для инъекций.

Противовоспалительное действие диклофенака натрия основано на неизбирательном угнетении циклооксигеназы 1 и 2, в результате которого блокируются реакции арахидонового каскада и нарушается синтез простагландинов E_2 и $F_{2\alpha}$, тромбксана A_2 , простациклина, лейкотриенов и выброс лизосомальных ферментов в очаге воспаления.

Проверка возможного влияния Панавира на активность циклооксигеназы исследовалась на модели экссудативного отёка стопы крыс на каррагинан. В данной модели отёк развивается в результате последовательного выделения ряда провоспалительных медиаторов – гистамина, 5-окситриптамина, кинина и простагландинов.

В эксперименте на модели экссудативного отёка на каррагинан исследовались четыре опытные группы и одна контрольная. За 60 минут до введения каррагинана животным вводили внутривентрально: 1 группе – панавир в дозе 0,02 мг/кг; 2 группе – панавир в дозе 0,5 мг/кг; 3 группе – панавир в дозе 2,5 мг/кг; 4 группе – диклофенак натрия в дозе 6,75 мг/кг, что в пересчёте на крыс по E.J.Freireich et al. соответствует суточной дозе для человека – 75 мг. Контрольной группе аналогично вводили физиологический раствор. Через час всем животным в подушечку правой задней стопы вводили 0,1 мл 1% раствора каррагинана, а в подушечку левой задней стопы (контроль) 0,1 мл физиологического раствора. Далее, в течение 5 часов у всех животных

каждый час измеряли микрометром отёк стоп задних конечностей. Через 5 часов опыта, сразу после забоя животных, стопы обеих задних лап отрезали по линии голеностопного сустава и оценивали выраженность острого экссудативного воспаления по разнице масс опытной и контрольной лап.

Выраженность воспалительной реакции в контрольной группе достигала максимума на 2-3 час эксперимента и затем незначительно снижалась. В 4 группе (диклофенак) максимум реакции приходился на 1-2 час и затем выраженность отёка резко снижалась. В 1 группе (панавир 0,02 мг/кг) максимум реакции достигался к 1 часу эксперимента и по выраженности совпадал с контролем, а затем медленно снижался. В третьей (панавир 0,5 мг/кг) и четвёртой (панавир 2,5 мг/кг) группах максимум также достигался к 1 часу, но был достоверно менее выражен, чем в 4 группе (диклофенак), а затем выраженность реакции плавно снижалась, достигая к окончанию эксперимента тех же значений, что и в 4 группе.

Дополнительно воспалительная реакция оценивалась по индексу реакции острого экссудативного воспаления через 5 часов после введения каррагинана. Индекс рассчитывался делением разности средних масс правых (опытных) и левых (контрольных) лап на среднюю массу контрольных лап и выражался в процентах.

Для контроля и 1 группы (панавир 0,02 мг/кг) индексы были сопоставимы (40,0% и 40,9% соответственно), так же как сопоставимы были вдвое меньшие индексы третьей (панавир 2,5 мг/кг) и четвёртой (диклофенак) групп (19,1% и 19,6% соответственно). Индекс 2 группы (панавир 0,5 мг/кг) занимал промежуточное положение (23,8%).

Эксперимент показал выраженный дозозависимый противовоспалительный эффект панавира, сопоставимый с действием диклофенака. Сроки максимальной выраженности и динамика воспалительной реакции свидетельствуют о влиянии панавира на этапы воспалительной реакции, предшествующие синтезу простагландинов.

Также для исследования противовоспалительного действия Панавира было изучено его влияние на модель конканавалин А – индуцированного воспаления у мышей. Реакция воспаления на конканавалин А (псевдоаллергическая реакция) основана на способности конканавалина А неспецифически, т. е. без участия реагинов с аллергенами на мембранах клеток-мишеней, в результате прямого действия на рецепторы мембран тучных клеток и базофильных лейкоцитов высвобождать медиаторы воспаления (гистамин, серотонин, лейкотриены и др.).

Здесь также исследовались четыре опытные группы и одна контрольная. За 60 мин. до введения конканавалина А животным первых трёх опытных групп вводили панавир внутривенно: 1 группе – в дозе 0,02 мг/кг; 2 группе – в дозе 0,5 мг/кг; 3 группе – в дозе 2,5 мг/кг. А 4 группе вводили диклофенак натрия внутримышечно в дозе 6,75 мг/кг, что в пересчёте на крыс по E.J.Freireich et al. соответствует суточной дозе для человека – 75 мг. Контрольной группе внутривенно вводили физиологический раствор. Через час всем животным в подушечку правой задней стопы вводили 0,02 мл 5мг/мл раствора конканавалина А, а в подушечку левой задней стопы (контроль) 0,02 мл физиологического раствора. Через 1 час после введения конканавалина А животных забивали, стопы обеих задних лап отрезали по линии голеностопного сустава и оценивали выраженность острого экссудативного воспаления по индексу реакции острого экссудативного воспаления. Индекс рассчитывался делением разности средних масс правых (опытных) и левых (контрольных) лап на среднюю массу контрольных лап и выражался в процентах.

Внутривенное введение панавира в дозах 0,02 мг/кг, 0,5 мг/кг и 2,5 мг/кг приводило к подавлению конканавалин А – индуцированной воспалительной реакции на 41,6%, 47,5% и 52,5% соответственно. Для четвёртой опытной группы (диклофенак) индекс составил 38,4%

Эксперимент показал выраженный дозозависимый противовоспалительный эффект

панавира, сопоставимый и превышающий соответствующее действие диклофенака. Полученный результат свидетельствует о влиянии панавира на этапы воспалительного процесса, предшествующие синтезу простагландинов.

Для определения влияния панавира на экссудативную и пролиферативную фазы воспалительного процесса эксперимент проводился на модели хронического пролиферативного воспаления. Также исследовались четыре опытные группы и одна контрольная.

Хроническое пролиферативное воспаление вызывали подкожным вживлением двух ватных шариков массой 10 мг в межлопаточную область спины. Операция проводилась в асептических условиях под лёгким эфирным наркозом.

Животным первой опытной группы в день операции однократно внутривенно вводили панавир в дозе 0,5 мг/кг. Животным второй и третьей опытных групп ежедневно в течение 7 дней, начиная со дня операции, вводили панавир внутримышечно: 2 группе – в дозе 0,02 мг/кг; 3 группе – в дозе 0,5 мг/кг. Четвёртой опытной группе ежедневно в течение 7 дней, начиная со дня операции, внутримышечно вводили диклофенак натрия в дозе 6,75 мг/кг, что в пересчёте на крыс по E.J.Freireich et al. соответствует суточной дозе для человека – 75 мг. Контрольной группе внутримышечно вводили физиологический раствор. На 8 день после операции ватные шарики с образовавшейся вокруг них грануляционной тканью извлекали, взвешивали на электронных весах и высушивали при температуре 70°C в течение суток, после чего вновь взвешивали.

Пролиферативную реакцию оценивали по разнице между массой высушенной гранулёмы и исходной массой ватного шарика. Экссудативную реакцию оценивали по разнице между массой сырой и высушенной гранулёмы.

Зарегистрировано подавление экссудативной реакции по сравнению с контролем: в 1 группе – на 34,5%, во 2 группе – на 39,2%, в 3 группе – на 34,7%. В группе препарата срав-

нения (группа 4, диклофенак) экссудативная реакция подавлялась на 41%.

Пролиферативная реакция подавлялась (по сравнению с контролем) на 43% в первой группе, на 51% – во второй и на 43,8% – в третьей. В группе препарата сравнения (группа 4, диклофенак) пролиферативная реакция подавлялась на 53%.

В исследовании установлен выраженный противовоспалительный эффект панавира на модели хронического пролиферативного воспаления, сравнимый с аналогичным действием диклофенака. Максимальный противовоспалительный эффект панавира в отношении экссудативного и пролиферативного компонентов хронического воспаления достигнут при ежедневном внутримышечном введении панавира в дозе 0,02 мг/кг.

Выводы

Проведённые эксперименты убедительно доказали наличие у Панавира ярко выраженного собственного противовоспалительного действия, обусловленного, вероятно, не

подавлением активности циклооксигеназы, а общим регуляторным оптимизирующим влиянием на воспалительный процесс.

Полученные результаты, с учётом известной безопасности препарата Панавир, позволяют рекомендовать его к проведению клинических исследований как противовоспалительного препарата.

Практическому же врачу полученные данные позволят более осмысленно и целенаправленно назначать Панавир в комбинации с другими лекарственными средствами.

ЛИТЕРАТУРА:

1. Регистр лекарственных средств России, РЛС Энциклопедия лекарств. Вып. 17 Вып./гл.ред. Вышковский Г.Л. Москва, 2009.
2. Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ/под ред. Р.Ю. Хабриева. Москва. 2005.
3. Freireich E.J., Gehan E.A., Rall D.P., et al. Quantitative comparison of toxicity of anticancer agents in mouse, rat, guinea pig, rabbit, cat, dog, monkey and man. CancerChemother. Res., 1966. Vol. 50. No. 4.

УДК 577.1:577.41

Слободскова В.В., Солодова Е.Е., Челомин В.П.
Тихоокеанский океанологический институт им. В.И. Ильичева
Дальневосточного отделения РАН (г. Владивосток)

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ МОЛЛЮСКА *CORBICULA JAPONICA* (BIVALVIA) ДЛЯ ОЦЕНКИ ГЕНОТОКСИЧНОСТИ ЭСТУАРНЫХ ВОД

V. Slobodskova, E. Solodova, V. Chelomin
V.I.Ilichev Pacific Oceanological Institute of the Far Eastern Branch of RAS (Vladivostok)

USE OF THE MOLLUSC *CORBICULA JAPONICA* (BIVALVIA) TO ESTIMATE GENOTOXICITY OF ESTUARINE WATERS

Аннотация. В работе представлены результаты исследования по выявлению генотоксичности среды обитания *Corbicula japonica* населяющей разные районы залива Петра Великого. Для выявления генотоксических эффектов был использован метод ДНК - комет. Выяснено, что моллюски, обитающие в акватории р. Раздольная, находятся под влиянием антропогенного загрязнения, так как 1/3 молекулы ДНК жабренных клеток *C. japonica* имеет ярко выраженные деструктивные изменения. Отмечена положительная зависимость между степенью повреждения молекулы ДНК и уровнем накопления продуктов перекисного окисления липидов. Это свидетельствует о том, что моллюски, обитающие в местах с антропогенной нагрузкой, находятся в состоянии окислительного стресса, который является ключевым механизмом при деградации молекулы ДНК.

Ключевые слова: окислительный стресс, малоновый диальдегид, двустворчатые моллюски, *Corbicula japonica*, метод ДНК-комет, повреждение ДНК.

Abstract: The paper presents the results of the study to identify genotoxicity of the environment of *Corbicula japonica* inhabiting different sites of Peter the Great Bay. To reveal the genotoxic effects we have used the comet assay. It has been found out that the molluscs inhabiting the Razdolnaya river are under the influence of anthropogenic pollution, as 1/3 of the genome of *C. japonica* gill cells has a pronounced destructive changes. The positive correlation between the degree of DNA damage and the level of accumulation of lipid peroxidation products has been detected. This indicates that the molluscs that live in areas with anthropogenic influence are in a state of oxidative stress, which is a key mechanism for the degradation of DNA molecule.

Key words: oxidative stress, malondialdehyde, Bivalves, *Corbicula japonica*, genotoxicity, Comet Assay, DNA damage.

Растущие масштабы производства и использования широкого спектра химических соединений в различных областях народного хозяйства приводят к хроническому загрязнению прибрежных морских акваторий.

Наиболее ощутимые последствия антропогенной деятельности выявляются в экосистемах морских лагун и эстуариев крупных рек. В последние годы с речным стоком в эти области поступают воды, сильно загрязненные различными химическими соединениями, включая тяжелые металлы, пестициды и нефтеуглеводороды. Часть этих загрязнений накапливается в донных отложениях и усваивается различными гидробионтами. Кроме того, для водных масс этих районов характерны резкие изменения многих гидрохимических факторов – температуры, солености, концентрации кислорода, мутности и других, которые

непосредственно оказывают существенное влияние на жизнедеятельность обитающих в этом месте живых организмов. В свою очередь, вариабельность физико-химических факторов может изменять биодоступность и, соответственно, токсичность загрязнителей. Поэтому в таких зонах с нестабильной экологической обстановкой возникает множество комбинаций синергических, антагонистических и маскирующих эффектов антропогенных факторов, что в значительной степени затрудняет использование традиционных гидробиологических методов оценки негативных изменений в экосистемах. Более того, они не позволяют оперативно оценить экотоксикологическую ситуацию в акваториях, и нередко информация, собранная с их помощью, может быть проанализирована тогда, когда результаты воздействия проявятся на экосистемном уровне и приобретут необратимый характер.

В этой связи представляется целесообразным применение подходов, основанных на анализе отдельных ключевых биохимических параметров (молекулярных маркеров), отражающих общее изменение физиологического состояния организма в ответ на воздействие неблагоприятных факторов среды. Основное преимущество использования неспецифических молекулярных маркеров заключается не только в высокой чувствительности, точности и экспрессности определения, но и в установлении причинно-следственных связей при взаимодействии организма и среды, что открывает возможность предсказывать изменения в популяциях и сообществах в загрязненных районах. Оценка опасности развития отдаленных эффектов может быть более эффективной, если основывается на данных изучения генотоксичности [5, 109]. Подобного рода исследования в экотоксикологии только начинаются [8, 348; 17, 303]. Но именно в этом направлении следует ожидать появления интересных научных публикаций, учитывая широкое распространение в медико-биологических исследованиях метода-ДНК-комет, позволяющего оценивать состояние генома индивидуальной клетки [7,

207].

Наиболее доступными и удобными объектами биомаркерных исследований в экосистемах побережья Японского моря являются двустворчатые моллюски-фильтраторы *Corbicula japonica* – доминанты эстуарных донных сообществ [20]. Они характеризуются относительно крупными размерами и высокой численностью, легко доступны для отбора, что позволяет использовать их как для химического анализа загрязнений, так и для изучения биологических реакций на них.

Основная задача настоящей работы заключалась в том, чтобы с помощью метода ДНК-комет показать (выявить) уровень повреждения ДНК в клетках жабр моллюсков *Corbicula japonica*, испытывающих воздействие комплексного загрязнения водной среды. Для исследований были выбраны эстуарии рек Раздольная (Амурский залив) и Артемовка (Уссурийский залив), а также лагуна Лебяжья залива Петра Великого, характеризующихся различной степенью загрязнения [15, 595].

Материал и методы

В работе использовали половозрелых особей (размер 30 – 34 мм) эстуарного двустворчатого моллюска *Corbicula japonica*.

Отбор моллюсков проводился в весеннее время, при температуре воды примерно 15 – 16 °С, в устье реки Артемовка (Уссурийский залив), в устье реки Раздольная (Амурский залив) и в лагуне Лебяжья (Славянский залив) водолазным способом. Выловленных моллюсков доставляли в лабораторию в течение 2-х часов.

После 2-дневной адаптации при температуре 16 – 18 °С проводили исследование уровня накопления МДА и степени повреждения молекулы ДНК жаберных клеток *C. japonica*, обитающей в разных районах залива Петра Великого.

В работе использовали щелочной вариант кометного анализа, адаптированного к морским организмам [17, 303].

Содержание малонового диальдегида (МДА) определяли непосредственно в жа-

берной ткани [1, 302] по цветной реакции с 2-тиобарбитуровой кислотой (ТБК).

Результаты и обсуждение

При визуальном анализе было видно, что после электрофореза молекула ДНК клеток жабр *C. jaronica*, собранной в устье реки Артемовка и лагуне Лебяжья, образует симметричное яркое ядро (полость в агарозе, заполненную ДНК) и окружающее его «гало», представленное вышедшими в агарозу петлями высокополимерной ДНК. В то же время в клетках жабр моллюсков, отобранных в устье реки Раздольная, молекула ДНК образует хорошо выраженные кометы, что, очевидно, обусловлено деградацией генома и миграцией низкополимерных фрагментов ДНК. Исходя из классификации, предложенной Коллинзом с коллегами [3, 69], клетки жабр моллюсков, обитающих в устье реки Артемовка и лагуне Лебяжья, образуют кометы, которые можно отнести к двум классам C0 и C1. Нередко бывает трудно визуально обнаружить разницу между кометами этих двух классов, поэтому они объединяются в одну группу (C0/C1)-комет, характерных для неповрежденных и жизнеспособных клеток [19, 115]. При этом было отмечено, что в группе клеток у моллюсков из лагуны Лебяжьей преобладали кометы, принадлежащие к классу C1, а также наблюдались клетки класса C2, но в малом количестве. Кометы, формируемые клетками жабр корбикулы, населяющей устье реки Раздольная, можно

отнести преимущественно к классу C3, что свидетельствует о высоком уровне фрагментации молекулы ДНК.

В таблице приведены рассчитанные параметры полученных комет (доля ДНК в хвосте кометы - % DNAt, длина хвоста кометы - Lt), отражающие степень повреждения ДНК клеток жабр моллюска, а также содержание МДА, указывающее на активность перекисного окисления липидов, протекающего в жабрах (см. табл.). Анализ этих данных показывает, что в клетках жабр корбикулы, отобранных в устье реки Раздольной, значения указанных параметров существенно выше, чем в других группах моллюсков.

Для наглядности полученные экспериментальные данные, из которых были рассчитаны усредненные значения полученных ДНК-комет (табл.), были представлены на рис. 1 в виде зависимости % ДНК в хвосте и длиной «хвоста» кометы. Этот вид бивариантного распределения обычно используется для характеристики популяций и наглядно демонстрирует пределы значений параметров, характеризующих кометы и их взаимосвязь. Из представленных результатов (рис. 1) особенно отчетливо видна высокая гетерогенность структуры ДНК клеток жабр моллюсков, подвергшихся неблагоприятному воздействию факторов среды (р. Раздольная). При этом доля ДНК, мигрирующей из ядра кометы, в клетках моллюсков, обитающих в устье реки Артемовка и лагуне Лебяжья, не превышает 10 и 12% соответственно, тогда как

Таблица

Основные параметры ДНК-комет клеток жабр и концентрация МДА жаберной ткани моллюсков *C. jaronica*, собранных в разных районах залива Петра Великого

Показатель Места сбора моллюсков	МДА (нмоль/г сырой ткани)	Повреждение ДНК	
		Lt	% DNAt
р. Артемовка	3,46±0,89	7,56±3,4	4,33±2,1
р. Раздольная	15,32±1,13	91,18±38,1	40,90±12,05
лагуна Лебяжья	8,51±0,77	36,25±14,92	20,79±8,40

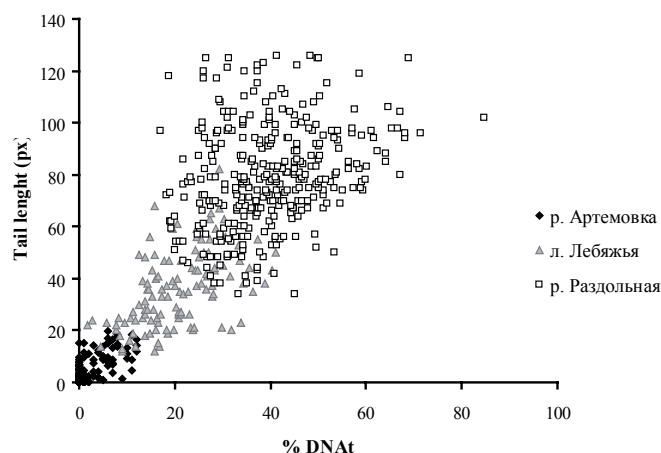


Рис. 1. Корреляция между процентом мигрированной ДНК (%DNAt) и длиной хвоста (Lt) комет, формируемых клетками жабр *C. japonica*, собранной в разных районах залива Петра Великого.

в клетках моллюсков, полученных из устья реки Раздольной, этот показатель для основной массы комет составляет 40–45%.

Подобная вариабельность данных параметров (рис. 1) была отмечена авторами в экспериментальных условиях, при исследовании генотоксичности кадмия в клетках жабр *C. japonica* и *Mizuhopecten yessoensis* [17, 303; 13, 63].

Наши результаты подтверждают тот факт, что эффект стрессового воздействия, вызванного загрязнением среды обитания, инициирует в первую очередь ответную реакцию клеточных систем. Увеличение количества повреждений молекулы ДНК, вызванных неблагоприятной средой обитания, отмечено разными авторами у моллюсков [4, 246; 12, 133; 6, 471; 11, 167; 18, 272], ракообразных [9, 553], рыб [10, 345], амфибий [2, 227]. Повышение уровня ПОЛ (МДА) в тканях гидробионтов также свидетельствует о негативном воздействии факторов среды [14, 358].

Нами было отмечено, что в жабрах моллюсков из трех исследованных районов показатели уровня накопления продуктов ПОЛ (МДА) и повреждений молекулы ДНК значительно отличались друг от друга. Так, например, содержание малонового диальдегида в жабрах моллюсков, обитающих в устье р. Раздольной, выше, чем у моллюсков, отобранных в лагуне Лебяжьей и устье р.

Артемовка, в 2 и 4 раза соответственно. По уровню повреждения ДНК жаберных клеток корбикулы наблюдается схожая картина, где максимальная деградация ДНК обнаружена у животных, собранных в эстуарии р. Раздольная.

На рис. 2 представлена зависимость таких показателей, как повреждение ДНК клеток жабр (%DNAt) и уровень МДА жаберной ткани *C. Japonica*, обитающей на разных акваториях залива Петра Великого. Прослеживается четкая зависимость между этими двумя характеристиками. Показано, что чем выше уровень МДА, тем больше процент поврежденности клеточной ДНК. Полученные данные наглядно демонстрируют, что у моллюсков, обитающих в устье р. Раздольная, уровень МДА жаберной ткани и % поврежденной ДНК жаберных клеток значительно выше, чем у корбикул, отобранных в устье реки Артемовки и лагуне Лебяжьей.

Положительная корреляция между этими двумя маркерами (повреждение ДНК и количество продуктов ПОЛ (МДА)) подтверждает тот факт, что именно окислительный стресс является ключевым механизмом деградации генома.

Анализ литературы и результаты нашего исследования позволяют сделать вывод об уровне антропогенной нагрузки исследованных акваторий. Так, например, река Раздоль-

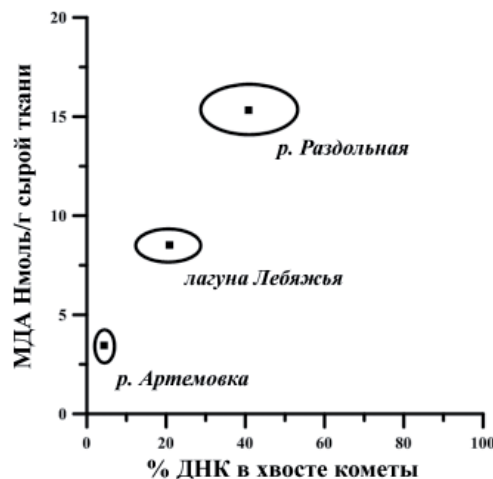


Рис. 2. Корреляция между процентом мигрированной ДНК (%DNA) жаберных клеток и содержанием малонового диальдегида (МДА) в жабрах *C. japonica*, собранной в разных районах залива Петра Великого.

ная на сегодняшний день является одной из самых загрязненных рек в Приморском крае [18, 272]. Среднее течение реки находится в зоне достаточно интенсивного сельскохозяйственного возделывания земель, а нижнее подвергается мощному антропогенному прессингу: именно здесь расположены стоки коллекторов г. Уссурийска, железнодорожных предприятий, мясокомбината, сахарного завода, картонной фабрики и кожевенного комбината. Оказывает негативное влияние на состав вод реки Раздольной и интенсивно развивающееся хозяйство северных провинций Китая, расположенных в ее верховье. Такое комплексное антропогенное воздействие отражается на состоянии гидробионтов, что наглядно демонстрируют наши результаты. На рис. 2 видно, что моллюски, населяющие реку Раздольную, имеют максимальное количество повреждений ДНК и самый высокий уровень содержания МДА в жабрах.

Лагуна Лебяжья находится в отдаленном районе залива Петра Великого, данный регион характеризуется отсутствием промышленности и считается одним из самых незагрязненных районов залива Петра Великого. Но отрицательную роль в водных экосистемах играет не только загрязнение водной среды, но и строительство дамб, мостов, карьеров, водохранилищ и т. д. Так, строительство дамбы и моста через лагуну Лебяжью привели к

нарушению гидрологического режима в этом водоеме. Прежде всего, нарушился водообмен и солевой режим, изменился тепловой баланс. Все это приводит к эвтрофикации, накоплению на дне илистых отложений, что в свою очередь сильно отражается на состоянии гидробионтов [16, 276]. Наши результаты свидетельствуют о том, что *C. japonica*, населяющая данную акваторию, действительно подвергается негативному влиянию (рис. 2).

На прилегающей территории р. Артемовка в последние годы наблюдается спад производства, в связи с чем уровень загрязнения в реке снизился. И, по нашим результатам, можно сделать вывод, что состояние вод р. Артемовки улучшилось, т. к., по данным кометного анализа, генотоксических эффектов не наблюдается (рис. 1), а также отмечается минимальная концентрация МДА в жаберной ткани моллюсков (табл.).

В заключение можно отметить, что в ходе проведенного эксперимента нами выявлена четкая взаимосвязь между количеством повреждений молекулы ДНК и уровнем продуктов перекисного окисления (МДА) в жабрах двусторчатого моллюска *C. japonica*, собранного из мест с различной степенью антропогенной нагрузки. В результате этого можно с уверенностью говорить о том, что моллюски, обитающие в загрязненной акватории, находятся в состоянии хронического окислитель-

ного стресса, который является основной причиной деградации генома клетки.

ЛИТЕРАТУРА:

1. Buege J.A., Aust S.D. Microsomal lipid peroxidation // In: Methods in Enzymology. Academic Press. N.Y., 1978. V. 52.
2. Clements C., Ralph S., Petras M. Genotoxicity of select herbicides in *Rana catesbeiana* tadpoles using the alkaline single-cell gel DNA electrophoresis (comet) assay // Environ. Mol. Mutagen. 1997. V. 29.
3. Collins A.R., Ma A.G., Duthie S.J. The kinetics of repair of oxidative DNA damage (strand breaks and oxidized pyrimidine) in human cells // Mutat. Res. 1995. V. 336.
4. Cotellet S., Ferand J.F. Comet assay in genetic ecotoxicology: a review // Environ. Mol. Mutagen. 1999. V. 34.
5. Depledge M.H. The ecotoxicological significance of genotoxicity in marine invertebrates // Mutat. Res. 1998. V. 399.
6. Hamoutene D., Payne J.F., Rahimtula A., Lee K. Use of the comet assay to assess DNA damage in hemocytes and digestive gland cells of mussels and clams exposed to water contaminated with petroleum hydrocarbons // Mar. Environ. Res. 2002. V. 54.
7. Jha A.N. Ecotoxicological applications and significance of the comet assay // Mutagen. 2008. V. 23. № 3.
8. Lam P. Use of biomarkers in environmental monitoring // Ocean & Coastal Management 2009. V. 52.
9. Lee R., Kim G.B., Maruya K.A., Steinert S.A., Oshima Y. DNA strand breaks (comet assay) and embryo development effects in grass shrimp (*Palaemonetes pugio*) embryos after exposure to genotoxins // Mar. Environ. Res. 2000. V. 50.
10. Pandrangi R., Petras M., Ralph S., Vizoc M. Alkaline single cell gel (comet) assay and genotoxicity monitoring using bullheads and carp // Environ. Mol. Mutagen. 1995. V. 26.
11. Regoli F., Frenzili G., Bocchetti R., Annarumma F., Scarcelli V., Fattorini D., Nigro M. Time-course variations of oxyradical metabolism, DNA integrity and lysosomal stability in mussels, *Mytilus galloprovincialis*, during a field translocation experiment // Aquat. Toxicol. 2004. V. 68.
12. Sasaki U.F., Izumiyama F., Nishidate E., Ishibashi S., Tsuda N., Matsusaka N., Asano N., Saotome K., Sofumi T., Hayashi M. Detection of genotoxicity of polluted sea water using shellfish and the alkaline single cell gel electrophoresis (SCE) assay: a preliminary study // Mutat. Res. 1997. V. 393.
13. Slobodskova V.V., Solodova E.E., Chelomin V.P. DNA damage (Comet assay) as biomarker of Cd exposure in marine seed scallops *Mizuhopecten yessoensis* age 1 year // Journal of Environmental Science And Engineering. 2010. V. 4. № 10.
14. Довженко Н.В., Куриленко А.В., Бельчева Н.Н., Челомин В.П. Окислительный стресс, индуцируемый кадмием, в тканях двустворчатого моллюска *Modiolus modiolus* // Биология моря. 2005. Т. 31. № 5.
15. Нигматулина Л.В. Сравнительная оценка поступления загрязняющих веществ со сточными водами на акваторию Амурского и Уссурийского заливов (Японское море) // Современное состояние водных биоресурсов: материалы научной конференции, посвященной 70-летию С.М. Коновалова. Владивосток 25-27 марта 2008 г. В.: ТИНРО-центр, 2008.
16. Раков В.А. Современное состояние, перспективы использования и сохранения экосистем морских лагун и эстуариев юга Дальнего Востока // Природа без границ: Материалы I Международного экологического форума. Ч. 1. Вл-к., 2006.
17. Слободская В.В., Солодова Е.Е., Слинько Е.Н., Челомин В.П. Оценка генотоксичности кадмия в клетках жабр двустворчатого моллюска *Corbicula japonica* с помощью метода ДНК-комет // Биология моря, 2010. Т. 36. № 4.
18. Слободская В.В., Солодова Е.Е., Челомин В.П. Применение генотоксического анализа для мониторинга прибрежной зоны залива Петра Великого // Современные проблемы физиологии и биохимии водных организмов. Т. 1. Экологическая физиология и биохимия водных организмов. Сборник научных статей – Петрозаводск: Карельский научный центр РАН, 2010.
19. Тронов В.А., Терещенко Д.Г., Конопляников М.А. Механизм радиационной гибели лимфоцитов периферической крови человека, оцениваемая методом ДНК-комет // Биофизика. 1998. Т. 43, № 1.
20. Явнов С.В., Раков В.А. Корбикула. В.: ТИНРО-центр, 2002.

УДК 539.6

Стовбун С.В., Михайлов А.И., Занин А.М., Костяновский Р.Г.
Институт химической физики им. Н.Н. Семенова РАН (г. Москва)

ХИРАЛЬНОСТЬ ПРИ САМООРГАНИЗАЦИИ СТРУН В ЖИДКОЙ ФАЗЕ И ПРИНЦИПЫ ЭКОНОМИИ В ПРИРОДЕ

S. Stovbun, A. Mikhailov, A. Zanin, R. Kostyanovsky
N.N. Semenov Institute of Chemical Physics of RAS (Moscow)

CHIRALITY BY SELFORDERING OF STRINGS IN LIQUID PHASE AND LEXPARSIMONIAE IN NATURE

Аннотация. Рассмотрены физико-химические механизмы формирования струн в «модельных» предбиологических системах, в том числе и водном растворе фенилаланина. Обсуждается биологическое значение струн как элементов межклеточной коммутации, цитоскелета и других анизометрических конструкций. Оцененная энергия активации струн из условия кинетического равновесия при наблюдаемых порогах образования составляет ~ 0.5 эв.

Показана существенная роль хиральности молекул гелатора при образовании струн, а также конкурирование межмолекулярных «слабых» взаимодействий в процессах формирования супрамолекулярной структуры, что позволяет рассматривать струны как элементы управления в биологических системах.

Ключевые слова: струны, анизометрические структуры, предбиологические системы, межклеточная коммутация, цитоскелет.

Abstract. We have studied the physical and chemical mechanisms of strings formation in the “model” prebiotic systems including aqueous solutions of phenylalanine. We discuss the biological significance of the strings, as elements of intercellular commutation, cytoskeleton and other anisometric structures.

The estimated energy of the strings activation from kinetic balance condition under the observed formation thresholds made ~ 0.5 ev.

We have shown the considerable importance of chirality of gelator molecules when strings are formed as well as competitiveness of “weak” intermolecular interactions in production of the supramolecular structure which allows of considering strings, as control elements in the biological systems.

Key words: strings, anisometric structures, prebiotic systems, intercellular commutation, cytoskeleton.

Зачем нужна хиральность многим биомолекулам? Это одна из старых нерешенных загадок молекулярной биологии 20-го века. [1, 1-50; 4, 5-86; 5, 59-111]. В настоящей работе для более яркого проявления эффекта было исследовано действие хиральности при гелеобразовании сильно полярных, «небиологических» фтор производных аминокислот в органических растворителях (циклогексан, бензол и др.). Ранее авторами [3] были обнаружены эффекты обратимого гелеобразования ($T=320-330\text{K}$) при концентрациях гелаторов $c=10^{-3}-10^{-2}$ моль. литр⁻¹ в ряду N-трифторацетатных производных хиральных β -аминокислот (Табл.1, рис.1), с молекулярными массами 170-260 Дальтон (т. е. самыми малыми из описанных в литературе).

Как известно, порог гелеобразования или формирования непрерывного кластера «3d-связей» в системах, содержащих низкомолекулярные и потому изометрические компоненты с хорошей точностью дает теория протекания, учитывающая топологию узлов решеток и геометрию их связей [2]. В объемных долях это $n=(0,1-0,2)$ при самых раз-

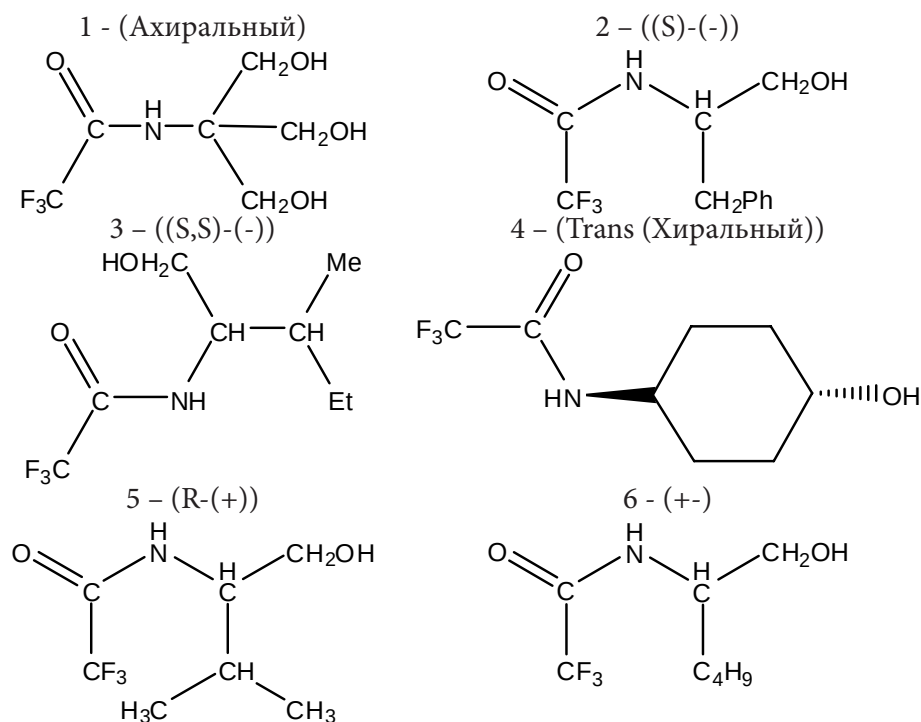


Рис.1. Органогелаторы (1-5) и гидрогелатор (6)

Таблица 1

Пороги отверждения растворов и воды для гелаторов 1-6 при T=305K

Гелатор	Растворитель	Порог гелеобразования ммоль/дм ³
1-5	бензол, толуол, хлорбензол, хлороформ бензол, толуол гексан, гептан, высококипящие фракции нефти	≈1-100
6	вода	≈ 0.05-0.10

личных параметрах дизайна молекулярной изометрии, а в эксперименте их соотношение составляет 10^{-3} - 10^{-2} , что означает невозможность появления классического изотропного (на масштабах, больших чем 10E) геля в этих сильно разбавленных растворах, и указывает на образование масштабных (по сравнению с размерами молекулы гелатора) анизометрических структур, таких как иглы, волокна, скелеты, струны и др. Действительно, данные оптической микроскопии подтверждают образование

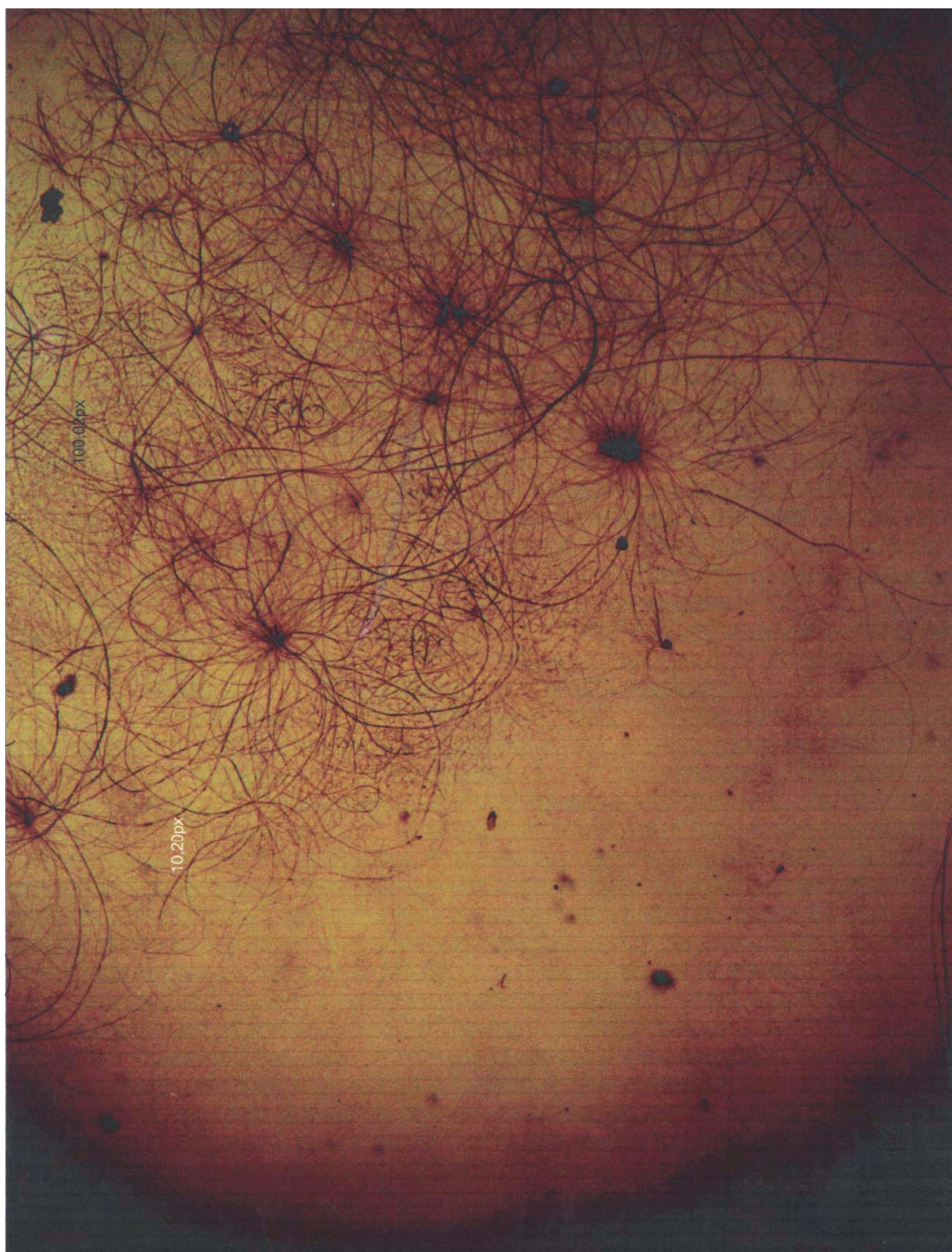
в этих системах струн с постоянным на длине до 0,5 см диаметром D около 1 мкм, имеющих прямолинейные участки $L \sim 0,1$ -0,3 см. Таким образом, наблюдаемое ранее отверждение жидких низкомолекулярных хиральных систем при концентрации гелатора 10^{-3} - 10^{-2} моль.литр⁻¹ принципиально связано с образованием супрамолекулярных анизометрических 1d-фазово обособленных структур.

Типичная для различных растворителей и гелаторов картина проявляющихся при

высыхании растворителя струн приведена на рис. 2. Радиус корреляции даже для жесткоцепных полимеров не более 100. А это означает, что механизм межмолекулярного связывания в «бесконечно» длинных струнах характеризуется значительно меньшей «шарнирностью» (например, упаковки в стопки с поворотом для компенсации отталкивания полярных групп), нежели связывание мономерных звеньев в полимерах, а величина отношения L к D свидетельствует о значительно более высокой скорости диффузионно-контролируемого аксиального роста струны (более чем в $\sim 10^3 \times 10^4$ раз) по сравнению со скоростью ее диффузионно-контролируемого радиального роста.

Оба этих обстоятельства определяются стереоспецифичностью молекул и многоцентровостью их слабых межмолекулярных взаимодействий и, понятно, могут усиливаться за счет хиральности. При этом специфические межмолекулярные контакты асимметричных хиральных молекул обеспечивают устойчивость низкоразмерных структур по принципу «стопочной модели тарелок», объединенных в своеобразно свитые жгуты-струны, о чем свидетельствуют данные атомно-силовой микроскопии и КД-спектроскопии. Топологические особенности таких анизометрических структур (струн, скелетов, дендритов и др.),

наблюдаемых (рис.3) для систем (табл.1) позволяют предположить при их образовании существенную роль конкуренции растворителя за образование водородных, полярных и других «слабых» связей. Наблюдаемые эффекты «растворения» струн в H_2O и других сильно полярных растворителях могут быть использованы для регулирования геометрии и динамических характеристик струнных конструкций. При этом полученное из порога отверждения значение энергии активации $E \sim 0,3 \times 10^5$ эв характерно для обратимых процессов с Н-связями. Как видно из рис.3, для полярного хлороформа и бензола эффективного Н-акцептора наблюдаемые анизометрические структуры представляют собой дендриты и скелеты или их смесь с короткими (оборванными) струнами (рис.3). Представляется важным, что молекулярная хиральность в образовании струн имеет, по-видимому, ключевую роль, так как для ахирального гелатера (табл.1), даже в не конкурирующих растворителях, циклогексане и четыреххлористом углероде, наблюдаются только дендритные структуры. Здесь явления коллективных межмолекулярных взаимодействий и направляющей роли «слабых» водородных связей проявились наиболее ярко.



100 мкм

Рис.2. Рост струн из изометрической фазы (микрокристаллов) в растворе
N-3фторфцетил-(R) - (+)-валинол в циклогексане.
Концентрация $\sim 1,8 \cdot 10^{-2}$ моль, масштаб в 1 см – 100мкм



40 мкм

Рис.3. Кристаллиты, дендриты в хлороформе.
Масштаб в 1 см 40 мкм Концентрация $3 \cdot 10^{-3}$ моль. Соединение 5. Микрофотография ксерогеля.

Следует отметить, что обнаруженное нами образование струн в хиральных низкомолекулярных жидких системах может иметь общие молекулярно-динамические механизмы с образованием анизометрических структур в клетке, таких, как цитоскелет, элементы межклеточной коммутации и др., и, вообще говоря, может объяснить требование хиральности биологических молекул обязательным в природе принципом экономии, позволяющим в сильно разбавленных растворах формировать самоорганизующиеся микро- и даже макроскопические структуры. По-видимому, на этом направлении может быть решен обсуждавшийся выше вопрос о роли хиральности молекул при формировании и эволюции биологических молекулярных систем. Действительно, в самое последнее время нами обнаружено формирование струн и других высоко анизометрических структур в водных растворах канонической аминокислоты – фенилаланина.

Таким образом, в работе из низкомолекулярных хиральных гелаторов при низких концентрациях (10^{-3} - 10^{-2} моль.литр⁻¹) в неполярных растворителях получены анизометрические струнные структуры одинакового диаметра (около 1 мкм) по всей длине, до-

стигающей до 0,1 см и более. Показана определяющая роль хиральности молекул гелатора при формировании низкоразмерных 1-d анизометрических структур. На примере фенилаланина впервые обнаружено существование анизометрических структур типа струн в водных растворах аминокислот. Это, возможно, указывает на природу и необходимость хиральности при функционировании и эволюции биомолекул.

ЛИТЕРАТУРА:

1. Гольдманский В.И., Кузьмин В.В. Спонтанное нарушение зеркальной симметрии в природе и происхождение жизни // Усп. физич. наук. 1989. Т. 157. № 1.
2. Де Жен П. Идеи скейлинга в физике полимеров / Пер. с англ. под ред. И.М. Лифшица. М.: Мир. 1982.
3. Стовбун С.В., Крутиус О.Н., Занин А.М., Ско-робогатко Д.С., Костяновский Р.Г. Экспериментальное наблюдение анизометрических структур в растворах с низким содержанием гелатора. М., Химическая физика, в печати
4. Шредингер Э. Что такое жизнь? С точки зрения физика. М., 1972.
5. Bonner William A., Origin and amplification of biomolecular chirality, Origins of Life and Evolution of Biospheres. V. 21. N. 2.

УДК 611.013.16

Тимченко Л.Д., Черников С.В., Блажнова Г.Н.
Ставропольский государственный университет

Арешидзе Д.А.
Московский государственный областной университет

ПОКАЗАТЕЛИ ФИЗИЧЕСКОГО РАЗВИТИЯ КУРИНОГО ЭМБРИОНА

L. Timchenko, S. Chernikov, G. Blazhnova
Stavropol Stste University

D. Areshidze
Moscow State Regional University

INDEXES OF THE PHYSICAL DEVELOPMENT OF THE CHICK EMBRYO

Аннотация. Установлены показатели физического развития куриного эмбриона на каждые сутки развития и в динамике на протяжении всего эмбриогенеза. Полученные данные могут быть использованы в качестве нормативных в процессе исследований на куриных эмбрионах, в том числе при изучении влияния на них различных факторов.

Ключевые слова: куриный эмбрион, эмбриогенез, индексы физического развития.

Abstract. The study has made a list of daily and all-embryogenetic development indexes of the chick embryo. The obtained data can be used as standard ones in other researches of chick embryos, including the study of various factors influencing them.

Key words: a chick embryo, embryogenesis, indexes of physical development.

В настоящее время интерес биологов и медиков всё больше повышается к углубленному изучению эмбриональной ткани, отличающейся высоким энергетическим потенциалом и выраженной биологической активностью [4]. Это обусловлено не только биологическими особенностями эмбриона, связанными с наличием в нём эксклюзивных биологически активных веществ и клеточных структур, но и его морфофункциональной полноценностью на всех этапах развития.

Благодаря существенному прогрессу методов исследований в биологии, в том числе молекулярной биологии, генетике и морфологии, получены новые сведения о стволовых клетках и их потенциях, роли апоптоза в эмбриональном развитии, раскрыты биологические особенности АФП, гормонов и низкомолекулярных веществ, являющихся регуляторами многочисленных взаимодействий и процессов, обуславливающих рост и развитие [17; 11, 15-23].

Однако наряду с тонкими регуляторными механизмами эмбриогенеза остается актуальным познание закономерностей физического развития эмбриона, которое является наиболее объективным критерием, отражающими полноценность и взаимообусловленность всех структурно-функциональных взаимодействий на любых уровнях организации, обуславливающих гомеостаз в процессе развития эмбриона.

Классической моделью для изучения эмбриогенеза живой системы является куриный

эмбрион [3; 12]. Это обусловлено не только фундаментальным интересом в рамках биологии развития и эмбриологии, но и все нарастающим прикладным, поскольку именно куриный зародыш может рассматриваться как достаточно дешевая, доступная, легко управляемая в процессе развития и экологически чистая сырьевая субстанция [10; 13, 100]. Так, например, в гомогенате и нервной ткани куриного эмбриона обнаружен АФП [14; 15, 165-167], что, по-нашему мнению, обуславливает перспективы его использования в технологии получения эффективных АФП-содержащих препаратов для борьбы с онкологическими, инфекционными, дистрофическими и другими заболеваниями.

В свете вышеизложенного важнейшим направлением исследований является попытка целенаправленного повышения содержания необходимых БАВ в развивающемся эмбрионе путем факторной регуляции соматического эмбриогенеза, что невозможно без знания многочисленных показателей физического развития, представляющих собой диалектическое единство и сопровождающихся постоянным переходом количественных изменений в качественные.

Большинством исследователей для оценки физического развития куриного эмбриона в основном используются такие параметры, как масса и длина тела, суточный прирост [5; 16], которые, к сожалению, не объективно отражают физическое развитие эмбриона.

Вместе с тем существует большое количество показателей, по которым производят оценку развития организма, и чем их больше применено к одному объекту, тем полноценнее исследователь может дать его характеристику. В настоящее время для оценки физического развития млекопитающих используют широко распространённый метод индексов [6, 191-205], который даёт основание судить о пропорциональности развития организма. Тем не менее из всего предложенного многообразия индексов только некоторые используются для оценки морфологической полноценности новорожден-

ных и для оценки эмбрионального развития [8]. Существуют разноречивые мнения об адекватности использования тех или иных индексов или их совокупности в различные возрастные периоды [9]. Мы посчитали возможным провести такую оценку с помощью формул, предложенных для новорожденных и подросткового возраста, так как эти периоды развития, так же как и эмбриональный, характеризуются выраженным десинхронизмом на фоне масштабного роста.

Так, индексы Кетле I и Кетле II характеризуют аллометрический рост, который описывает зависимость массы от линейных размеров тела, что позволяет судить об образовании видоспецифичных форм и пропорций тела. Индекс Рорера характеризует физическую организацию тела. Индекс Борнгардта позволяет судить о крепости телосложения организма. Индекс Эрисмана позволяет судить о пропорциональности развития грудной клетки, а индекс Вервека характеризует рост. Индекс гармоничного морфологического развития (ИГМР) является надёжным и удобным инструментом для оценки структурной полноценности организма, так как в нём используется коэффициент, рассчитанный для исследуемой группы, который делает связь между антропометрическими признаками, соответствующую действительности [18; 2; 9; 7].

Измерения проводили у 300 эмбрионов с пятых по девятнадцатые сутки развития (по 20 – на каждые сутки). Для вычисления индексов физического развития использовали общепринятые формулы для млекопитающих [7]. В связи с особенностями объекта исследования предложенные методики адаптированы. Длину тела (L) и окружность грудной клетки (Т) измеряли в сантиметрах, причём за критерий длины тела принимали линейный краниокаудальный размер, измеряемый от верхушки черепа до конца хвоста. Массу тела эмбриона (Р) в граммах определяли с помощью электронных весов «ВЛТЭ-150» с точностью до 0,01 мг (Россия).

Для индексов, при расчете которых ис-

Таблица

**Средние показатели индексов физического развития
куриного эмбриона**

Сутки развития	Кетле I	Кетле II	Ливи	Рорера	Борнгардта	ИГМР	Эрисмана	Вервека
5	0,1795	0,0897	-	18,47	17,95	-	-	-
6	0,1995	0,0998	-	9,587	19,96	-	-	-
7	0,2651	0,1325	0,0418	8,611	26,51	100,84	1,213	0,5807
8	0,3165	0,1583	0,0467	5,775	31,65	100,52	1,064	0,6298
9	0,4483	0,2241	0,0506	6,578	44,83	99,846	1,616	0,4962
10	0,6222	0,3111	0,0673	7,042	62,22	99,867	1,563	0,4404
11	0,7966	0,3983	0,0811	5,970	79,66	99,953	1,413	0,4032
12	1,0489	0,5245	0,0874	5,551	104,9	100,14	1,791	0,3323
13	1,3350	0,6675	0,1098	5,132	133,5	97,470	1,459	0,2893
14	1,5918	0,7951	0,1246	4,621	159,1	100,07	1,276	0,2565
15	1,8364	0,9182	0,1436	4,283	183,6	100,07	0,942	0,2316
16	2,1070	1,0535	0,1371	4,149	210,7	100,13	1,507	0,2030
17	2,4681	1,2344	0,1314	4,469	246,9	100,13	2,483	0,1732
18	2,8939	1,4469	0,1471	4,892	289,3	100,09	2,644	0,1508
19	3,3536	1,6768	0,1649	5,383	335,4	100,08	2,764	0,1323

пользовались показатели окружности грудной клетки, измерения проводили начиная с седьмых суток. Вследствие низкой степени дифференцировки элементов тканей в этот период развития нами условно установлены границы измерения окружности грудной клетки, проходящие под тканевыми зачатками крыльев эмбриона, которые, по мнению Б.Ф. Бессарабова, в это время достаточно чётко сформированы [1].

Результаты физического развития куриного зародыша представлены ниже (см. табл.)

Представленные в таблице данные отражают уровень физического развития куриного эмбриона на каждые сутки, а также динамику всех его показателей на протяжении всего эмбриогенеза. По нашему мнению, полученные данные могут быть использованы в качестве нормативных при широком перечне исследований куриных эмбрионов, в том числе при изучении влияния на них различных факторов.

ЛИТЕРАТУРА:

1. Бессарабов, Б.Ф. Инкубация яиц с основами эмбриологии сельскохозяйственной птицы / Б.Ф. Бессарабов. М.: КолосС, 2006. 240 с.

2. Борисенко, Е.Я. Практикум по разведению сельскохозяйственных животных / Е.Я. Борисенко, К.В. Баранова, А.П. Лисицын. М.: Колос, 1984. 124 с.
3. Бэр, К.М. История развития животных / К.М. Бэр. М.: Изд-во АН СССР, 1953. Ч. 1. 466 с.
4. Владимирская, Е.Б. Биологические основы и перспективы терапии стволовыми клетками / Е.Б. Владимирская, О.А. Майорова, С.А. Румянцев [и др]. М.: Изд-во Мед. Пр. М, 2005. 392 с.
5. Задарновская, Г.Ф. Сравнительные материалы по эмбриогенезу домашних птиц: дис. ... д-ра биол. наук / Г.Ф. Задарновская. Ставрополь, 1966. 425 с.
6. Изаак, С.И. Проявление типа конституции в физическом и моторном развитии детей дошкольного возраста / С.И. Изаак, В.Д. Сонькин // Методы исследования физического развития детей и подростков в популяционном мониторинге. М., 1999.
7. Изаак, С.И. Физическое развитие и биоэнергетика мышечной деятельности школьников / С.И. Изаак, Т.В. Панасюк, Р.В. Тамбовцева. Москва - Орел: ОРАГС, 2005. 224 с.
8. Каузова, А.С. Морфофункциональные особенности эмбрионов крыс, получавших в период беременности новый биологически активный препарат на основе эмбрионально-яичной массы и растительного сырья: дис. ... к-та биол. наук: 03.00.30 / А.С. Каузова. Ставрополь, 2009. 186 с.

9. Красота, В.Ф. Разведение сельскохозяйственных животных / В.Ф. Красота, В.Т. Лобанов, Т.Г. Джапаридзе. М.: Колос, 1983. 414 с.
10. Ржепаковский, И.В. Разработка биостимулятора эмбрионального и оценка его эффективности при иммунодефицитных состояниях у животных раннего возраста: дис. ... к-та биол. наук: 03.00.23;16.00.02 / И.В. Ржепаковский. Ставрополь, 2003. 157 с.
11. Светлаков, А.В. Апоптоз в преимплантационном эмбриогенезе (обзор литературы) / А.В. Светлаков, М.В. Яманов, А.Б. Салмина // Проблемы репродукции. № 5. 2002.
12. Третьяков, Н.П. Инкубация с основами эмбриологии / Н.П. Третьяков, Г.С. Крок. М.: Изд-во КОЛОС, 1968. 248 с.
13. Трунова, А.П. Куриный эмбрион как экспериментальный и сырьевой объект для биологии, медицины и биотехнологии / А.П. Трунова // Естествознание и гуманизм: Сб. научн. работ. Томск, 2005. Т. 2. № 4. 116 с.
14. Черешнев В.А. Альфа фетопротеин / В.А. Черешнев, С.Ю. Родионов, В.А. Черкасов [и др]. Екатеринбург: УрО РАН, 2004. 376 с.
15. Черников, С.В. Содержание АФП в гомогенате куриного эмбриона в процессе развития / С.В. Черников // Сборник трудов молодых учёных Мат-лы 54 науч.-метод. конф. «Университетская наука – региону» Ставрополь: Изд-во СГУ, 2009.
16. Хохлов, Р.Ю. Функциональная морфология органов размножения кур в онтогенезе: автореф. дис. ... д. биол. наук / Р.Ю. Хохлов. Уфа, 2009. 36 с.
17. Шмагель, К.В. Иммуитет беременной женщины / К.В. Шмагель, В.А. Черешнев. М.: Медицинская книга, 2003. 226 с.
18. Шмальгаузен, И.И. Рост и дифференцировка / И.И. Шмальгаузен. Киев: Наукова думка, 1984. Т. 1. 176 с.

УДК 582. 931

Филоненко А.В.

Московский педагогический государственный университет

ГИСТОГЕНЕЗ ПЕРИКАРПИЯ И СТРУКТУРА ПЛОДОВ *FONTANESIA* (*OLEACEAE*) В СВЯЗИ С СИТЕМАТИЧЕСКИМ ПОЛОЖЕНИЕМ РОДА

A. Filonenko

Moscow State Pedagogical University

PERICARP HYSTOGENESIS AND FRUIT STRUCTURE OF *FONTANESIA* (*OLEACEAE*) IN RELATION WITH ITS SYSTEMATIC POSITION

Аннотация. В рамках карпологического исследования представителей семейства *Oleaceae* нами изучены плоды представителей рода *Fontanesia*. Впервые описан гистогенез перикарпия *F. phillyraeoides*. Установлено, что склеренхима мезокарпия развивается из самого внутреннего слоя мезофилла карпеллы, что характерно и для других представителей семейства. В структуре перикарпия *Fontanesia*, *Abeliophyllum* и *Fraxinus* выявлены признаки, характерные для всех представителей *Oleaceae* (например, немногослойный паренхимный эндокарпий). На основании полученных нами данных определен морфогенетический тип плода *Fontanesia* – пиренарий *Olea*-типа. Протестированы возможные филогенетические связи *Fontanesia*, *Abeliophyllum* и *Fraxinus* с привлечением карпологических данных.

Ключевые слова: перикарпий, морфогенез плодов, систематика, филогения, *Fontanesia*, *Oleaceae*.

Abstract: Within our carpological study of the family *Oleaceae*, we have examined the fruits of the genus *Fontanesia*. For the first time we have described the pericarp hystogenesis of *F. phillyraeoides*. We have found that sclerenchyma of the mesocarp develops from the internal layer of the ovary wall's mesophyll, which is typical for other members of the family. The pericarp structure of *Fontanesia* and *Abeliophyllum* shows characteristic features of all members of the *Oleaceae* (e.g. the parenchymatous endocarp). The obtained results allow us to define a morphogenetic type of fruit *Fontanesia* as *Olea*-type pyrenarium. We have also checked possible phylogenetic relationships of *Fontanesia* with *Abeliophyllum* and *Fraxinus* based on carpological data.

Key words: pericarp, fruit morphogenesis, systematics, phylogeny, *Fontanesia*, *Oleaceae*.

Род *Fontanesia* включает два вида: *F. phillyraeoides* Labill. (распространенный в Западной Азии) и *F. fortunei* Carrière (произрастающий в Китае); последний рассматривают иногда в ранге подвида *F. phillyraeoides* subsp. *fortunei* (Carrière) Hegi. На протяжении всей истории изучения *Oleaceae* род *Fontanesia* занимает довольно обособленное положение в системе семейства. Так, G. Benthams [7, 672-670] поместил *Fontanesia* совместно с родом *Fraxinus* в трибу *Fraxineae*, основываясь на том, что плоды у представителей этих родов снабжены крылом. E. Knoblauch [11] принял предложенное Benthams деление *Oleaceae* на трибы, отнеся *Fraxineae* к подсемейству *Oleoideae*, ссылаясь на тот факт, что плоды *Fontanesia* цельные, в то время как у родов, относимых к подсемейству *Jasminoideae*, плоды явственно двулопастные. Напротив, H. Taylor [14, 337-367], основываясь на результатах изучения хромосомных чисел представителей семейства *Oleaceae*, поместил *Fontanesia* ($n = 13$) и *Abeliophyllum* ($n = 14$) в трибу *Fontaneseae* подсемейства *Jasminoideae*, которое характеризуется хромосомными числами $n = 11, 13, 14$, в то время как подсемейство *Oleoideae* характеризуется $n = 23$. Позднее L. Johnson [10, 396-418] вывел род *Abeliophyllum* из состава трибы *Fontaneseae*, таким образом сделав ее

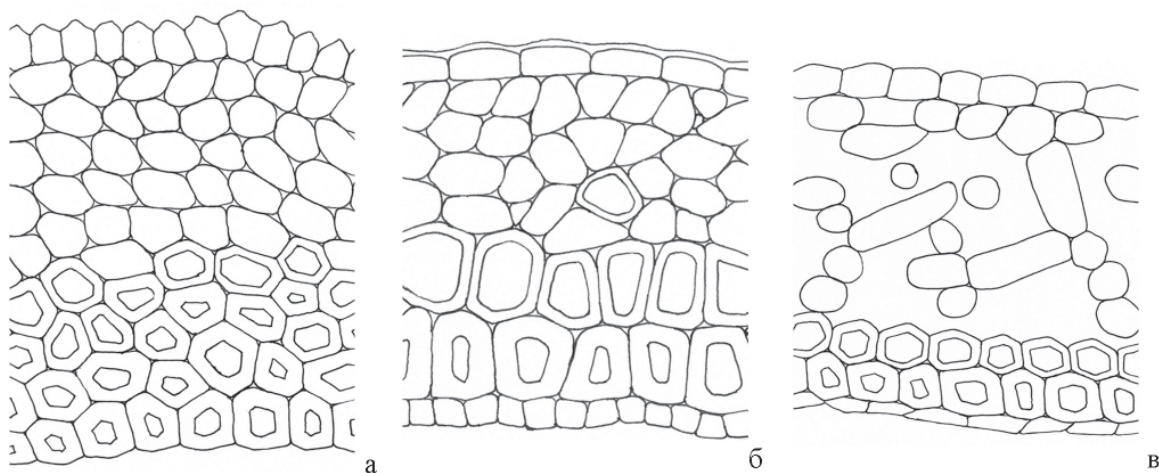


Рис. 1. Анатомия перикарпия представителей родов *Fontanesia*, *Abeliophyllum* и *Fraxinus*: а – *Fontanesia phillyraeoides*; б – *Abeliophyllum distichum*; в – *Fraxinus excelsior*.

монотипной. Впоследствии эту точку зрения принимали и другие исследователи, основываясь на данных секвенс нуклеотидных последовательностей [8, 296-306; 15, 1827-1841].

Морфологические признаки плодов *Fontanesia* неоднократно привлекали внимание в качестве источника систематически значимой информации и использовались для решения систематических задач. Структура перикарпия *Fontanesia* ранее уже становилась предметом исследований [13], однако нами, в рамках изучения плодов представителей семейства *Oleaceae*, исследована структура плодов обоих видов *Fontanesia* на различных стадиях развития. Мы убеждены, что только изучение плодов в онтогенезе позволяет достоверно определить гистогенетические зоны перикарпия зрелого плода, выявить закономерности его развития и установить филогенетически значимые признаки [1].

Материал для исследования был собран в Субтропическом ботаническом саду Кубани, кроме того, ряд образцов был любезно предоставлен сотрудниками Карпологии коллекции Ботанического музея БИН РАН и Гербария БИН РАН (LE). Перед проведением анатомического исследования сухие плоды выдерживали в смеси Страсбургера (90 % этиловый спирт – глицерин – дистиллированная вода = 1:1:1) в течение 10-20 суток (в зависимости от размеров). Свежий материал

фиксируют в 70 % этиловом спирте. Затем плоды заключали в парафин без проводки. С помощью салазочного микротомы получали поперечные срезы плодов толщиной 7–15 мкм. Для определения степени одревеснения клеточных стенок в различных гистогенетических зонах перикарпия проводили реакцию на одревеснение с флороглюцином и соляной кислотой; гистохимические реакции проводили по стандартным методикам [12].

Плоды *Fontanesia* развиваются из верхнего димерного синкарпного гинецея, типичного для представителей семейства *Oleaceae* [2, 131-134; 3, 82-84; 5, 263-264; 3]. Завязь двугнездная, с одним анатропным семязачатком в каждом гнезде; зрелые плоды содержат два (реже одно) развитых семени (рис. 2 б, в, г). Зрелые плоды сухие, уплощенные с латеральных сторон, округлые в очертаниях (рис. 2 а).

Перикарпий *Fontanesia* дифференцирован на три гистогенетические зоны; под гистогенетическими зонами (экзо-, мезо- и эндокарпий) мы понимаем те зоны перикарпия, которые развиваются из наружной эпидермы, мезофилла и внутренней эпидермы карпеллы соответственно [1]. Под топографическими зонами перикарпия мы понимаем гистологически разнородные зоны перикарпия, фактически – различные ткани, например, паренхима и склеренхима мезокарпия [1]. В

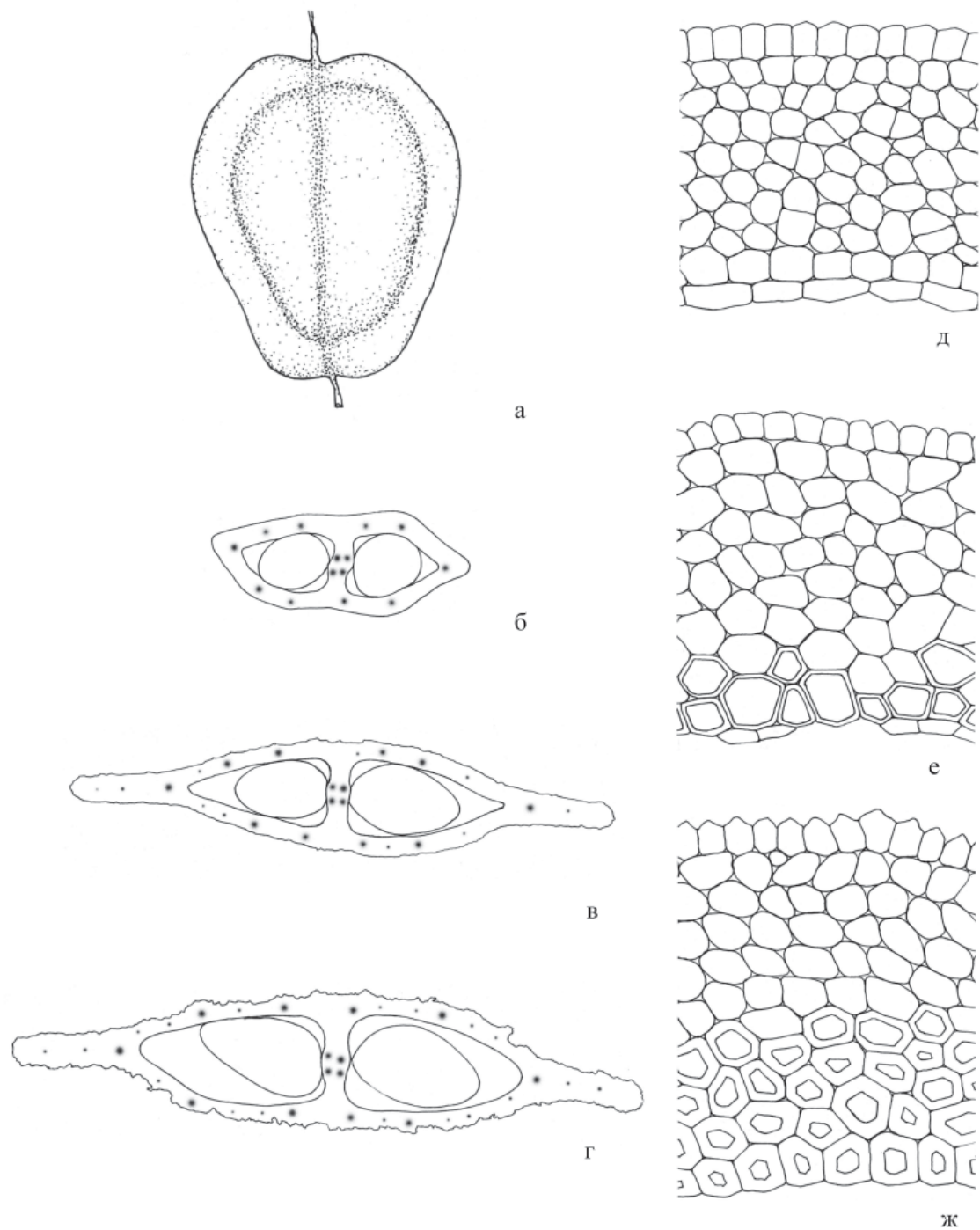


Рис. 2. Морфология плодов и анатомия перикарпия *Fontanesia phillyraeoides* на разных стадиях развития: а – зрелый плод (вид сбоку); б, в, г – схемы поперечных срезов плодов на разных стадиях развития; д, е, ж – схемы анатомического строения перикарпия на последовательных стадиях созревания.

целом перикарпий *Fontanesia* немногослойный, насчитывает не более 15 слоев клеток, что характерно для анемохорных диаспор разных таксонов [4; 6; 9].

Экзокарпий *Fontanesia* представлен однослойной эпидермой, сложенной из тонкостенных кубических клеток, внешняя стенка которых иногда выпячивается наружу в не-

значительной мере (рис. 2 д, е, ж). У *F. fortunei*, по сравнению с *F. phillyraeoides*, клетки экзокарпия более мелкие, кроме того, у *F. fortunei* на поверхности экзокарпия обнаруживаются более многочисленные устьица. На поверхности незрелых плодов присутствует довольно мощная кутикула, которая почти полностью утрачивается к моменту созревания и высыхания плодов.

Мезокарпий обоих видов *Fontanesia* дифференцирован на две топографические зоны. Внешняя зона мезокарпия образована довольно крупными паренхимными клетками (рис. 2 д, е, ж). В клетках паренхимы зрелых плодов *F. phillyraeoides* изредка обнаруживаются игольчатые кристаллы. Внутренняя зона мезокарпия сложена склеренхимными клетками (рис. 2 е, ж), вытянутыми в тангентальном направлении (на поперечном срезе имеющими округлые очертания). Склеренхима мезокарпия развивается из самого внутреннего слоя мезофилла карпеллы (рис. 2 д) несколько позднее паренхимы мезокарпия. Лигнификация клеток внутренней зоны мезокарпия начинается во внутренних слоях, внешние слои клеток лигнифицируются позднее (рис. 2 е). На границе внешней и внутренней зон мезокарпия проходят многочисленные мелкие проводящие пучки, придающие прочность крыловидным выростам. Мощность как внешней, так и внутренней зон мезокарпия варьирует от 3 до 10 слоев клеток; наиболее многослойный мезокарпий обнаруживается в центральной части плода, в районе септы, наименее мощный мезокарпий наблюдается в дистальных частях – крыловидных выростах (рис. 2 в, г).

Эндокарпий *Fontanesia* представлен одним слоем сильно уплощенных клеток (рис. 2 д, е). На поздних стадиях созревания, после того, как сформирована склеренхима мезокарпия, эндокарпий дегенерирует и перестает выявляться (рис. 2 ж).

На основании полученных нами результатов, в соответствии с принятой нами классификацией морфогенетических типов плодов [1], плоды *Fontanesia* нами определены как сухие пиренарии *Olea*-типа. Пиренарий

Olea-типа – наиболее многообразный и часто встречающийся тип плодов в семействе *Oleaceae*. Так, например, у *Olea*, *Chionanthus*, *Noronia* и ряда других родов формируются крупные зоохорные плоды, с паренхимной (сочной) наружной зоной мезокарпия и склеренхимной внутренней зоной (образующей очень мощную косточку). Также сочные плоды развиваются у представителей рода *Ligustrum*, однако они содержат не одну косточку, а две; перикарпий *Ligustrum*, тем не менее, также имеет внешнюю паренхимную (сочную) зону и склеренхимную внутреннюю (образующую две мощные косточки). Анемохорные плоды *Fraxinus*, занимающего обособленное положение в семействе, также характеризуются паренхимной (хотя и сухой) наружной зоной мезокарпия и склеренхимной внутренней [2, 131-134; 5, 263-264]. Таким образом, видно, что пиренарий *Olea*-типа характеризуется наличием склеренхимы во внутренней зоне мезокарпия и полным отсутствием склеренхимных элементов в эндокарпии. Присутствие в склеренхимной зоне мезокарпия паренхимных тяжей (проходящих по дорзальным сторонам карпелл) у всех указанных выше родов, а также наличие переходных типов плодов в пределах рода *Ligustrum* позволяет предположить, что пиренарии *Olea*-типа являются производным типом от коробочек *Forsythia*-типа, которые характерны для наименее специализированных таксонов, возможно, являющихся анцестральными в данной группе [1].

По структуре плодов *Fontanesia* довольно сильно отличается от *Abeliophyllum* и *Fraxinus*, с которыми некоторые авторы сближали этот род. У *Abeliophyllum*, так же как и у *Fontanesia*, закладывается по одному семезачатку в каждом гнезде завязи, плоды сплюснуты и снабжены крылом, однако внешняя зона мезокарпия представлена очень рыхлой аэренхимой, образованной трабекулярными клетками (рис. 2 а, б, в). В завязи *Fraxinus* закладывается по два семезачатка в каждом гнезде, но, как правило, развитие получает только один [3, 82-84]. Выявленные различия подтверждают правомерность выделе-

ния *Fontanesia* в самостоятельную трибу [15, 1827-1841]. Вместе с тем такой признак, как наличие паренхимного эндокарпия, хотя и эфемерного, свидетельствует о правомерности включения рода *Fontanesia* в семейство *Oleaceae*, так как все изученные представители семейства характеризуются паренхимным эндокарпием [2, 131-134; 5, 263-264].

Реконструкция морфогенеза плодов представителей семейства *Oleaceae* представляет большой интерес для выявления филогенетических связей между различными таксонами семейства.

ЛИТЕРАТУРА:

1. Бобров А.В., Меликян А.П., Романов М.С. Морфогенез плодов Magnoliophyta. М., 2009.
2. Меликян А.П., Филоненко А.В. Морфология и анатомия плодов представителей рода *Olea* L. (*Oleaceae*) // Матер. Межд. науч. конф. "Актуальные проблемы ботаники в Армении". Ереван, 2008.
3. Филоненко А.В. Морфология и анатомия плодов представителей рода *Fraxinus* L. (*Oleaceae*) // Матер. Межд. науч. конф. "Биоразнообразие: проблемы и перспективы сохранения". Пенза, 2008.
4. Филоненко А.В., Бобров А.В. Анатомия и морфология анемохорных диаспор представителей семейства *Malpighiaceae* // Матер. Межд. науч. конф. "Современные проблемы морфологии и репродуктивной биологии семенных растений". Ульяновск, 2008.
5. Филоненко А.В., Меликян А.П. Морфология плодов и анатомия перикарпия *Jasminum azoricum* L. (*Oleaceae*) // Материалы Международной научной конференции "Актуальные проблемы ботаники и экологии". Каменец-Подольский, 2008.
6. Филоненко А.В., Меликян А.П., Пескова И.М. К вопросу об изменчивости анатомической структуры плодов (на примере *Hiptage benghalensis* (L.) Kurz., *Malpighiaceae*) // Матер. IV Межд. науч. конф. "Биологическое разнообразие. Интродукция растений". СПб., 2007.
7. Bentham G. *Oleaceae* // *Genera plantarum* 2 / Eds. G. Bentham, J.D. Hooker. London, 1876.
8. Green P.S. *Oleaceae* // *The families and genera of vascular plants* / Eds. K. Kubitzki. Vol. VII. Heidelberg, 2004.
9. Filonenko A.V., Bobrov A.V., F. Ch., Romanov M. S. Comparative carpology in the genus *Tetrapteryx* (*Malpighiaceae*) // Proc. IV Intern. Conf. "Plants in Monsoon Climate". Vladivostok, 2007.
10. Johnson L.A.S. A review of the family *Oleaceae* // Contr. New South Wales Natl. Herb. 1957. Vol. 2.
11. Knoblauch E. *Oleaceae* // *Die natürlichen Pflanzenfamilien* / Eds. A. Engler, K. Prantl. Leipzig, 1895. IV, 2. P.
12. O'Brien T.P., McCully M.E. The study of plant structure: principles and selected methods. Melbourne, 1981.
13. Rohwer J.G. Die frucht- und samenstrukturen der *Oleaceae*. Stuttgart, 1996.
14. Taylor H. Cyto-taxonomy and phylogeny of the *Oleaceae* // *Brittonia*. 1945. № 5.
15. Wallander E., Albert V.A. phylogeny and classification of *Oleaceae* based on rps16 and trnL-F sequence data // *Am. J. Bot.* 2000. Vol. 87. № 12.

УДК 582. 931

Филоненко А.В.

Московский педагогический государственный университет

СТРУКТУРА И РАЗВИТИЕ ТРИХОМ НА ПЛОДАХ ПРЕДСТАВИТЕЛЕЙ РОДА *FRAXINUS* (*OLEACEAE*)

A. Filonenko

Moscow State Pedagogical University

STRUCTURE AND DEVELOPMENT OF TRICHOMES ON FRUITS OF GENUS *FRAXINUS* (*OLEACEAE*)

Аннотация. В рамках карпологического исследования представителей семейства *Oleaceae* нами впервые детально изучено развитие пельтатных трихом у ряда видов рода *Fraxinus*. Выявлены скопления инициальных клеток в основании гинецея еще на стадии несформированного цветка. Прослежены последовательные периклинальные и антиклинальные деления инициальных клеток и их производных, приводящие к формированию пельтатных трихом. На основании полученных данных подтверждено представление о *Fraxinus*, как о весьма сильно специализированном и изолированном таксоне в рамках семейства *Oleaceae*.

Ключевые слова: перикарпий, морфогенез плодов, пельтатные трихомы, *Fraxinus*, *Oleaceae*.

Abstract. Within our carpological study of the family *Oleaceae* for the first time we have conducted a detailed study of the development of trichomes for genus *Fraxinus*. We have found the clusters of initial cells in the basement of gynoecium even for undeveloped flowers. We have traced consecutive periclinal and anticlinal divisions of initial cells leading to formation of trichomes. Basing on the results obtained we have confirmed genus *Fraxinus* to be a highly specialized and isolated genus within *Oleaceae* family.

Key words: pericarp, fruit morphogenesis, trichomes, *Fraxinus*, *Oleaceae*.

Род *Fraxinus* по праву можно считать наиболее всесторонне изученным в семействе *Oleaceae*, что вполне объяснимо, учитывая широкое распространение видов данного рода в умеренных, субтропических и тропических областях Северного полушария (только *F. griffithii* G. B. Clarke выходит за пределы Северного полушария, достигая о. Ява). Кроме того, интенсивному изучению рода способствовала практическая значимость большинства видов *Fraxinus*, которые широко культивируются в качестве источника древесины (преимущественно для изготовления музыкальных инструментов) и как декоративные растения [8, 296-306; 14, 25-49]. Название рода *Fraxinus* происходит от греческого слова “*phrasso*” – частокол, острая палка, отражая, с одной стороны, тот факт, что из древесины *F. angustifolia* Vahl. часто изготавливали копья, а с другой – габитуальное сходство плодов *Fraxinus* и наконечников копий.

Однако, несмотря на достаточную изученность *Fraxinus*, вопрос о числе видов принимаемых в рамках данного рода остается открытым. Так, A. Lingelsheim в своей обработке рода приводит 59 видов [11, 185-223], Е. В. Николаев указывает 65 видов [3, 419-431], а Е. Wallander принимает в составе *Fraxinus* 43 вида [14, 25-49]. Кроме того, ряд видов неоднократно предлагалось рассматривать в составе самостоятельных родов; так, например, *F. laciniata* Raf. и *F. macrophylla* Raf. – в составе рода *Aplilia* Raf., а виды, относимые к sect. *Ornus* – в качестве самостоятельного рода *Ornus* Boehm. Вне зависимости от числа видов, принимаемых в рамках

рода *Fraxinus*, система внутриродовых таксонов за минувшее столетие принципиальных изменений не претерпевала. Первая наиболее проработанная система была предложена A. Lingelsheim, согласно которой род *Fraxinus* объединяет две секции и пять подсекций: sect. *Ornus* включает более примитивные виды с хорошо развитым околоцветником (subsect. *Ornus*, subsect. *Ornaster*), а sect. *Fraxinaster* объединяет эволюционно более подвинутые виды с редуцированным в различной мере околоцветником (subsect. *Dipetalae*, subsect. *Sciadhanthus*, subsect. *Bumelioides*) [4, 82-84; 12, 1-125]. В более дробной системе, предложенной E. Wallander, также основанной на таких признаках цветка, как наличие или отсутствие чашечки и венчика, род *Fraxinus* подразделяется на семь секций: sect. *Ornus* – виды Старого Света с хорошо выраженной чашечкой, sect. *Dipetalae* – виды, распространенные в Новом Свете и имеющие только одну пару лепестков (*F. anomala* Torr. ex S. Wats., *F. dipetala* Hook. et Arn., *F. quadrangulata* Michx.), sect. *Pauciflorae*, включающая виды Нового Света, полностью лишенные лепестков (*F. dubia* (Willd. ex Schult et Schult f.) P. S. Green et M. Nee, *F. gooddingii* Little, *F. greggii* A. Gray, *F. purpusii* Brandege, *F. rufescens* Lingelsh.), sect. *Sciadhanthus*, объединяющая виды, лишенные лепестков, из Старого Света (*F. hubeiensis* S. Z. Qu, C. B. Shang et P. L. Su, *F. xanthoxyloides* (G. Don) DC.), sect. *Fraxinus*, объединяющая двудомные виды Старого и Нового Света, sect. *Melioides* – виды Нового Света с хорошо развитой чашечкой [14, 25-49].

По совокупности признаков, таких, как древесная жизненная форма, частичная или полная редукция околоцветника, односемянные сухие крылатые плоды, *Fraxinus* можно рассматривать как весьма специализированный и эволюционно подвинутый род в семействе *Oleaceae*. Наличие такого примитивного признака, как непарно перистосложные листья (характерного также для представителей родов *Jasminum*, *Syringa* и *Schrebera*), Н. Н. Цвелев объясняет мозаичной эволюцией, с чем вполне можно согласиться [6, 138-150].

У представителей рода *Fraxinus* плоды, как

уже было отмечено выше, весьма своеобразны и достаточно сильно специализированы в рамках семейства *Oleaceae* [4, 82-84]. Плоды *Fraxinus* развиваются из верхнего димерного синкарпного гинецея. В каждом гнезде завязи закладывается по два семязачатка; развитие получает обычно один семязачаток. При созревании плодов формируется терминальное симметричное крыло, часто низбегающее по дорзальным сторонам завязи. На поперечном срезе плоды большинства видов эллиптические или округлые. Экзокарпий у всех исследованных видов *Fraxinus* представлен однослойной эпидермой, сложенной обычно из незначительно уплощенных, как правило, тонкостенных клеток. Кроме того, на поверхности плодов довольно часто встречаются многоклеточные пельтатные трихомы. Мезокарпий у представителей рода *Fraxinus* дифференцирован на две топографические зоны. Внешняя зона мезокарпия образована паренхимными клетками, часто уплощенными в радиальном направлении. Внутренняя зона мезокарпия представлена крупными склереидами, расположенными упорядоченными рядами. Клетки внутренней зоны мезокарпия – изодиаметрические или незначительно вытянутые в радиальном направлении, как правило, с утолщенными одревесневшими стенками. Число слоев клеток внутренней зоны мезокарпия в большинстве случаев константно для каждого вида (наименее константен данный признак у представителей sect. *Dipetalae* и sect. *Pauciflorae*). Эндокарпий представлен одним (часто прерывистым) слоем тонкостенных кубических клеток [4, 82-84].

Кроме рода *Fraxinus*, сухие крылатые плоды в пределах данного семейства отмечены у представителей родов *Abeliophyllum* и *Fontanisia*, однако по морфо-анатомическим признакам плоды данных родов весьма сильно отличаются от таковых у *Fraxinus* [5, 298-300]. Так, плоды весьма примитивного монотипного рода *Abeliophyllum*, распространенного в Корее, заключают обычно два семени, и имеют слабо выраженное крыло, обладающее весьма сомнительными аэродинамичес-

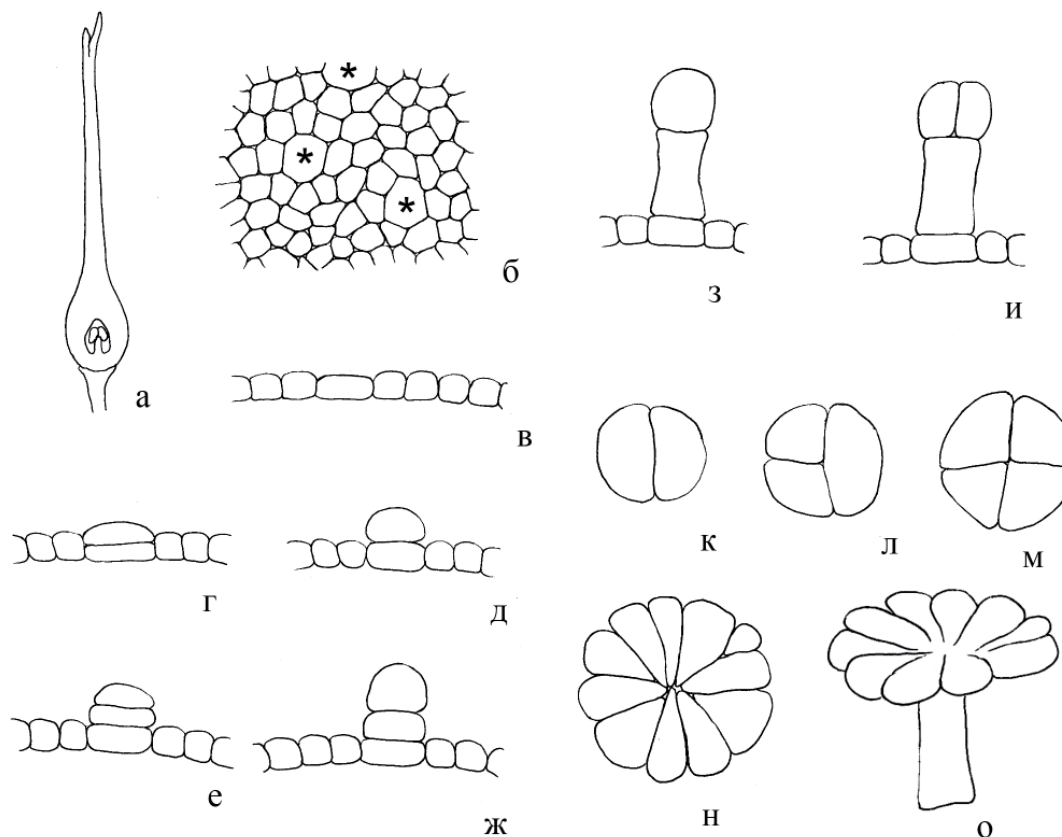


Рис. 1. Структура трихом на *Fraxinus*: а – продольный разрез гинцея; б – эпидерма базальной части гинцея (звездочкой отмечены инициальные клетки трихом); в-и – последовательные стадии развития трихом (вид сбоку); к-н – последовательные стадии развития трихом (вид сверху); о – сформированная трихома.

кими качествами; кроме того, в структуре перикарпия не обнаруживается регулярности расположения слоев склеренхимы, как у *Fraxinus*. Плоды средиземноморского рода *Fontanesia*, включающего всего два вида, также несут обычно по два семени и имеют еще менее выраженное крыло; структура перикарпия *Fontanesia* также, как и у *Abeliophyllum*, весьма хаотична [5, 298-300]. В соответствии с принятой нами классификацией [1] плоды *Fraxinus* мы рассматриваем как верхние синкарпные сухие крылатые односемянные пиренарии.

Представители семейства *Oleaceae* характеризуются различными типами трихом на поверхности вегетативных и репродуктивных органов, однако многоклеточные пельтатные трихомы характерны только для пред-

ставителей рода *Fraxinus*. У некоторых видов *Olea* и *Chionanthus* на плодах выявляются единичные трихомы, сходные с таковыми у *Fraxinus* [2, 134-134], однако, в подавляющем большинстве случаев они нерегулярную структуру и, вероятно, представляют собой аномально развитые простые или железистые волоски.

Наиболее многочисленные и характерные трихомы у *Fraxinus* обнаруживаются на поверхности гинцея и развивающихся плодов; на зрелых плодах такие трихомы практически не выявляются. На наличие данных структур у представителей рода *Fraxinus* обращали внимание многие исследователи [7, 161-172; 8, 296-306; 11, 185-223; 12, 1-125; 13; 14, 25-49], однако детальному изучению трихомы ранее не подвергались. Нами изучены в

развитии плоды *F. angustifolia* Vahl, *F. excelsior* L. и *F. pennsylvanica* Marshall. и прослежены основные этапы формирования многоклеточных трихом. Материал для исследования был собран в дендрарии ГБС РАН. Фиксация материала и последующее анатомическое изучение выполнялись по стандартным анатомическим методикам.

У всех изученных видов *Fraxinus* онтогенез трихом проходит сходным образом. Впервые клетки, дающие начало многоклеточным трихомам, обнаруживаются на поверхности гинецея еще не сформированного цветка. Как правило, инициальные клетки трихом закладываются группами в базальной части гинецея, однако нередко обнаруживаются единичные инициальные клетки на уровне столбика. Инициальные клетки несколько крупнее соседних клеток эпидермы гинецея и обычно несколько заглублены по отношению к соседним клеткам (рис. 1 а, б, в). Еще до окончания формирования цветка инициальные клетки претерпевают периклиналиное деление, в результате которого на поверхности эпидермы карпелл появляются одноклеточные сферические трихомы (рис. 1 г, д), которые впоследствии также подвергаются периклиналильному делению (рис. 1 е, ж). Результатом данного деления является формирование клетки-ножки, которая в ряде случаев со временем удлиняется, и клетки-головки, которая со временем претерпевает многочисленные деления (рис. 1 з). У незначительной части трихом к моменту цветения (начало-середина мая) клетка-головка подвергается нескольким последовательным антиклиналильным делениям (рис. 1 и, к, л, м), которые продолжаются во время цветения и после начала формирования плода. У большинства же трихом антиклиналильные деления клетки-головки начинаются во время цветения или вскоре после него и продолжают до конца мая – начала июня (когда плоды достигают примерно 1 см в длину). Результатом последовательных антиклиналильных делений клетки-головки является формирование компактного щитка (часто с вогнутым центром), насчитывающего до 26 радиально

ориентированных клеток (рис. 1 н, о). В дальнейшем появление новых трихом и развитие старых останавливается. По мере созревания плодов трихомы разрушаются, в первую очередь из-за механического воздействия плодов друг на друга. На зрелых плодах выявляются единичные трихомы, сохраняющиеся, как правило, под защитой чашечки.

У других представителей семейства *Oleaceae* (*Chionanthus*, *Jasminum*, *Olea*) многоклеточные пельтатные трихомы развиваются аналогичным образом, однако структура их менее регулярна, и нередко клетка-ножка претерпевает несколько дополнительных периклиналильных делений перед началом формирования щитка [9, 164-177; 10, 157-164]. Кроме того, у *Jasminum* пельтатные трихомы, как правило, являются железистыми; J.A. Inamdar рассматривает пельтатные трихомы *Jasminum* как производные булавовидных железистых трихом, характерных для многих представителей семейства *Oleaceae* [9, 164-177]. Трихомы *Fraxinus*, вероятно, выполняют защитную функцию на ранних этапах развития плода, однако, рассматривать их как секреторные структуры у нас нет оснований.

Наличие пельтатных трихом на плодах у представителей рода *Fraxinus* является признаком ранга рода и свидетельствует в пользу той точки зрения, что данный род представляет собой весьма обособленный и специализированный таксон. Это также подтверждается наличием у *Fraxinus* таких подвинутых признаков, как древесная жизненная форма, частичная или полная редукция околоцветника и односемянные сухие крылатые плоды, на что указывалось ранее [8, 296-306; 6, 138-150].

ЛИТЕРАТУРА:

1. Бобров А.В., Меликян А.П., Романов М.С. Морфогенез плодов Magnoliophyta. М., 2009.
2. Меликян А.П., Филоненко А.В. Морфология и анатомия плодов представителей рода *Olea* L. (*Oleaceae*) // Мат. междунар. конф. "Актуальные проблемы ботаники в Армении". Ереван, 2008.
3. Николаев Е.В. Морфогенез и эволюция рода *Fraxinus* (*Oleaceae*) // Бот. журн. 1982. Т. 67, № 4.

4. Филоненко А.В. Морфология и анатомия плодов представителей рода *Fraxinus* L. (Oleaceae) // Мат. междунар. конф. "Биоразнообразие: проблемы и перспективы сохранения". Пенза, 2008.
5. Филоненко А.В., Бобров А.В. Морфология и анатомия крылатых плодов представителей семейства Oleaceae // Мат. междунар. конф. "Растения в муссонном климате". Владивосток, 2009.
6. Цвелев Н.Н. К систематике семейства Oleaceae в Восточной Европе // Нов. сист. высш. раст. 2002. Т. 34.
7. Copeland H.F. The reproductive structures of *Fraxinus velutina* (Oleaceae) // Madrono. 1960. Vol. 15.
8. Green P.S. Oleaceae // The families and genera of vascular plants / Ed. Kubitzki K. Vol. VII. Heidelberg, 2004.
9. Inamdar J. A. Studies on the trichomes of some Oleaceae, structure and ontogeny // Proc. Ind. Acad. Sci. 1967. Vol. 66. P. 164–177.
10. Inamdar J.A. Ontogeny of stomata in some Oleaceae // Proc. Ind. Acad. Sci. 1968. Vol. 67.
11. Lingelsheim A. Vorarbeiten zu einer monographie der gattung *Fraxinus* // Bot. Jahrb. Syst. 1907. Vol. 40.
12. Lingelsheim A. Oleaceae-Oleoideae-Fraxineae // Das pflanzenreich / Ed. Engler A. Vol. IV. Leipzig, 1920.
13. Rohwer J.G. Die frucht- und samenstrukturen der Oleaceae. Stuttgart, 1996.
14. Wallander E. Systematics of *Fraxinus* (Oleaceae) and evolution of dioecy // Plant Syst. Evol. 2008. Vol. 273.

РАЗДЕЛ II ГЕОГРАФИЯ

УДК 502.51(470.332)

Зверькова Ю.С.

*Военная академия войсковой противовоздушной обороны ВС РФ
им. Маршала Советского Союза А.М. Василевского (г. Смоленск)*

СОВРЕМЕННОЕ СОСТОЯНИЕ РЕКИ ДНЕПР НА ТЕРРИТОРИИ СМОЛЕНСКОЙ ОБЛАСТИ В УСЛОВИЯХ АНТРОПОГЕННОГО ВОЗДЕЙСТВИЯ

Yu. Zver'kova

*The Military Academy of Air Defense AM RF named after Marshall
of the Soviet Union A.M. Vassilevsky (Smolensk)*

THE CONTEMPORARY STATE OF THE RIVER DNIEPER ON THE TERRITORY OF THE SMOLENSK REGION UNDER THE CONDITION OF ANTHROPOGENIC INFLUENCE

Аннотация. В данной статье приводятся результаты гидрохимических и гидробиологических исследований воды, донных отложений и макрозообентоса на разных участках р. Днепр на территории Смоленской области. Установлено, что химический состав воды и донных отложений р. Днепр отражает всю сложность геоморфолого-гидрологических условий ее бассейна и результата воздействия хозяйственной деятельности, роль которой достаточно велика, что привело к возникновению зон чрезвычайной экологической ситуации и экологического бедствия на отдельных участках реки.

Ключевые слова: экологическое состояние, антропогенное воздействие, вода, донные отложения, макрозообентос, тяжелые металлы.

Abstract. The article gives information about the results of hydro chemical and hydro biological analyses of water, bottom-dwelling sediments and macrozoobenthos in different parts of the river Dnieper on the territory of the Smolensk region. It is stated that the chemical composition of the Dnieper's water and bottom-dwelling sediments reveals all the complexity of the geomorphological-hydrological state of its basin and the result of the economic activity influence, which is great enough and has caused the formation of zones of extreme ecological state and ecological disaster in some of the river stretches.

Key words: ecological state, anthropogenic influence, water, bottom-dwelling sediments, macrozoobenthos, heavy metals.

Анализ качества поверхностных вод на территории России показывает, что они загрязнены различными химическими веществами, поступающими со сточными водами промышленных предприятий, сельского и коммунального хозяйства, а также с поверхностным стоком с водосборов и с городской дорожной сети [1; 8; 12]. Загрязнение водных экосистем может приводить к снижению их самоочищающей способности, понижению уровня разнообразия сообществ водных организмов и упрощению их структуры с преобладанием видов с широким экологическим спектром. Таким образом, на сегодняшний день в России существует угроза сохранению биоресурсов и биоразнообразия под воздействием антропогенных факторов, важнейшим из которых является загрязнение. Большинство водных объектов в настоящее

время в той или иной степени трансформированы, что обусловлено в значительной степени их эвтрофированием и загрязнением [11].

Одна из крупнейших европейских рек – Днепр, является трансграничным водным объектом, находящимся в совместном международном пользовании Российской Федерацией, Республикой Беларусь и Украиной, что накладывает особую ответственность за загрязнение ее вод [7; 13, 25-33]. Значимость реки не ограничивается тремя прибрежными странами, поскольку она впадает в ограниченный международный водоем Черное море и влияет на экологическую обстановку в Болгарии, Грузии, Румынии, Турции [12].

Длина р. Днепр от истока до устья составляет около 2,145 тыс. км. Бассейн простирается с севера на юг почти на 1000 км, с запада на восток – на 600 км. Российская часть р. Днепр находится на территории Смоленской области, составляет 1/5 часть из 509 тыс. км² общей площади бассейна Днепра и имеет протяженность от истока до границы с Республикой Беларусь 503 км. Площадь водосбора основного русла р. Днепр в Смоленской области – 16,8 тыс. км² (16,5 % территории бассейна Верхнего Днепра).

Воды Верхнего Днепра характеризуются как гидрокарбонатно-кальциевые с повышенным природным содержанием железа, марганца, меди.

Антропогенная нагрузка на водную экосистему р. Днепр в пределах Смоленской области формируется под воздействием предприятий машиностроения (г. Смоленск, г. Вязьма, г. Ярцево, п. Верхнеднепровский), химической промышленности (г. Сафоново, п. Верхнеднепровский), легкой и пищевой промышленности, топливно-энергетической (г. Дорогобуж, г. Сафоново, г. Смоленск), а также объектов ЖКХ.

В условиях кризиса в административных районах бассейна Верхнего Днепра прогрессирует экологическая деградация хозяйственной структуры. В промышленном комплексе исследуемого района заметно увеличилась роль энергоемких и материалоемких отраслей (топливной промышленности,

электроэнергетики) и уменьшилась доля легкой промышленности, машиностроения [4, 18]. Однако за последние 10 лет спад производства во всех отраслях хозяйства бассейна Верхнего Днепра, так же как и в России в целом, не привел к заметному улучшению качества окружающей среды [3].

Цель работы – комплексная оценка экологического состояния р. Днепр на территории Смоленской области в условиях антропогенного воздействия.

Гидрохимические и гидробиологические исследования воды, донных отложений (ДО) и макрозообентоса проводились в период с 2005 по 2008 гг. на 12 станциях (ст. 1-12) р. Днепр, испытывающих различную антропогенную нагрузку на участке от с. Болшево (ст. 1) до границы с Республикой Беларусь (ст. 12), включая станции: ниже впадения р. Вязьма (ст. 2), п. Верхнеднепровский (ст. 3, 4), г. Дорогобуж (ст. 5, 6), с. Соловьево (ст. 7), база отдыха Соколя гора (ст. 8), очистные сооружения г. Смоленска (ст. 9, 10) и п. Гнездово (ст. 11).

Пробы воды отбирали в летний период согласно ГОСТ 17.1.3.07-82 в прибрежной зоне на глубине 0,5 – 1 м в стеклянные емкости объемом 1 л (трехкратная повторность). Донные отложения верхнего 5-см слоя отбирали согласно ГОСТ 17.1.5.01-80 (трехкратная повторность). Отобранные пробы обрабатывали по общепринятым методикам [10]. Отбор образцов макрозообентоса осуществляли на этих же станциях р. Днепр на мелководных участках гидробиологическим скребком с длиной ножа 20 см и с помощью рамки Герда площадью 0,25 м². Промывку образцов грунта производили через капроновый газ № 23. Всего было отобрано 720 количественных и 80 качественных проб.

Нами установлено, что по основному ионообразующему составу, водородному показателю среды pH, жесткости и содержанию растворенного кислорода воды р. Днепр на территории Смоленской области соответствуют рыбохозяйственным нормативам. Биохимическое потребление кислорода БПК₅ превышает предельно допустимое значение (ПДК) на всех станциях, достигая мак-

симальных значений (от 2,5 до 8 ПДК) ниже очистных сооружений г. Смоленска (ст.10), что свидетельствует о значительной загрязненности вод р. Днепр легко окисляемыми органическими веществами.

Гидрохимические исследования позволили нам выявить устойчивое, обусловленное как геохимическими особенностями, так и техногенным воздействием, загрязнение вод тяжелыми металлами (ТМ): Fe, Mn, Cu, Zn, Pb, Cd, Ni и Co. Содержание Cu, Zn, Fe и Mn превышает ПДК на всем протяжении водотока. Максимальные концентрации Cu (до 60 ПДК) отмечены на ст. 4 ниже сброса сточных вод Заводом азотных удобрений, а также на ст. 6 ниже г. Дорогобуж (до 18 ПДК) и на ст. 10 ниже очистных сооружений г. Смоленска (до 2,4 ПДК). Содержание в воде Zn достигает максимальных значений (до 87 ПДК) в районе Дорогобужского промузла (ст. 5, 6). Нами зафиксировано техногенное поступление в воды р. Днепр Pb, содержание которого в разные годы со 100 % повторяемостью превышает ПДК в районе Дорогобужского промузла, очистных сооружений г. Смоленска и п. Гнездово. Содержание в воде Cd и Ni не превышает рыбохозяйственных нормативов, однако устойчиво превышает фоновые показатели на антропогенно нагруженных участках.

Анализ ДО на содержание ТМ показал, что наибольшие концентрации Zn, Pb, Cd, Cu, Ni и Co характерны для станций 1, 3, 5, 6, 8, 9, 10, 12 с высокой концентрацией Fe, оксидные формы которого, с примесью оксидов и гидроксидов Mn, способны активно накапливать другие ТМ. Максимальные концентрации всех ТМ зафиксированы на ст. 10 (ниже очистных сооружений г. Смоленска), что объясняется сосредоточенным сбросом в р. Днепр сточных вод, среди которых отсутствует категория «нормативно чистых», а также илистым характером дна с достаточно высоким содержанием оксидных форм Fe и Mn.

Для адекватного сравнения уровня загрязненности ТМ различных участков водотока мы провели нормирование содержания ТМ в

ДО по железу, нивелирующее разницу между сорбцией их различными фракциями ДО [9]. Сравнение нормированных по железу значений ТМ с величинами отношений кларков металлов для глин показало загрязнение ДО с превышением критерия по Zn, Pb, Mn и Cd по всему водотоку; по Cu – на ст. 6, 9, 10, 12; по Ni – на ст. 2, 4, 6, 10 (в отдельные годы); по Co – на ст. 2, 4, 6 (в отдельные годы). Наибольшую нагрузку ТМ испытывают участки ниже п. Верхнеднепровский (ст. 4), ниже г. Дорогобуж (ст. 6) и в районе очистных сооружений г. Смоленска (ст. 9, 10), что хорошо согласуется с антропогенным воздействием на эти участки.

В составе макрозообентоса за период исследований установлено 97 видов и таксономических групп гидробионтов. Ведущей по видовому составу группой организмов являются хирономиды – 34 вида, представлены моллюски – 21, олигохеты – 11, личинки стрекоз – 7, ракообразные – 5, по 4 вида клопов и личинок ручейников, по 3 вида пиявок и личинок поденок, единичными были личинки жуков, вислоккрылок и прочих двукрылых.

Частоту встречаемости более 50 % имеют следующие таксоны: олигохеты *Limnodrilus* sp., *L. hoffmeisteri* Claparede, 1862, *L. udekemianus* Claparede, 1862, *Tubifex tubifex* (O.F. Møller, 1773), *Potamothenis hammoniensis* (Michaelsen, 1901), личинки хирономид *Procladius ferrugineus* Kieffer, 1919, *Cricotopus* gr. *sylvestris*, *Chironomus plumosus* (Linnaeus, 1758), *Dicortendipes nervosus* (Staeger, 1839), *Microchironomus tener* (Kieffer, 1918), *Polypedilum nubeculosum* (Meigen, 1804), моллюски *Viviparus viviparus* (Linnaeus, 1758), *Tumidiana muelleri* (Rossmassler, 1836), *Pseudanodonta nordenskioldi* Bourguignat, 1881, *Pisidium amnicum* (O.F. Møller, 1774), *Sphaeriastrum rivicola* (Lamarck, 1818), *Rivicoliana morini* (Servain, 1882).

Численность донных организмов в среднем за период исследований составила 438 экз./м² при общей биомассе 410,67 г/м². По количеству организмов в бентосе преобладали моллюски (34,1 %-53,9 %) и олигохеты (12,4 %-33,2 %), а из всех видов насекомых

Таблица 1

Значения индекса ИИЭС для исследуемых участков р. Днепр на территории Смоленской области

Номер станции	Значение индекса ИИЭС	Зона экологического состояния
1	3,16	Относительного экологического благополучия
2	2,81	Напряженной экологической ситуации
3	2,83	Напряженной экологической ситуации
4	2,74	Напряженной экологической ситуации
5	2,93	Напряженной экологической ситуации
6	2,72	Напряженной экологической ситуации
7	3,05	Относительного экологического благополучия
8	2,76	Напряженной экологической ситуации
9	2,15	Экологического кризиса
10	1,63	Экологического бедствия
11	2,41	Напряженной экологической ситуации
12	2,54	Напряженной экологической ситуации

доминировали хирономиды (13,8 %-36,0 %). Основу биомассы составляли моллюски (до 99,8 %), без крупных моллюсков в формировании биомассы бентоса значительна роль олигохет (до 26,2 %) и личинок хирономид (до 47,4 %). В условиях загрязнения реки сточными водами промышленных предприятий г. Смоленска численность и биомасса организмов макрозообентоса снижаются в 3 раза в сравнении с участком верхнего течения реки. Влияние загрязнения наиболее ощутимо сказывается на ст. 10 ниже очистных сооружений г. Смоленска, которая характеризуется полным отсутствием организмов, что является признаком повышенного токсического загрязнения реки стоками промышленных предприятий города.

Значения индекса видового разнообразия Шеннона колебались в интервале 1,55-3,16. Относительно высокое значение индекса Шеннона (3,16) характерно для участка верхнего течения реки, антропогенное воздействие на который минимальное (поверхностный сток с водосборной территории). Наиболее низкие показатели были определены в районах Дорогобужского промузла (1,75) и г. Смоленска (1,55), что свидетельствует о процессах деградации биоценозов под влиянием токсического загрязнения.

Для оценки экологического состояния водной экосистемы р. Днепр на территории Смоленской области нами рассчитан интегральный индекс экологического состояния ИИЭС [5, 233-243; 6]:

$$ИИЭС = \frac{\sum_{k=1}^K (a_{ijk} B_k + a_{ijk} H_k)}{\sum_{k=1}^K a_{ijk}},$$

где $k = 1 \div K$ – число гидробиологических и гидрохимических показателей; B_i и H_i – балльные классы гидробиологических и гидрохимических показателей, соответственно; a_{ij} – эмпирический весовой коэффициент.

Значения ИИЭС для каждого участка (станции) водотока приведены в табл. 1.

Согласно полученным данным, к зоне относительного экологического благополучия можно отнести участки реки в районах с. Болшево (ст. 1) и с. Соловьево (ст. 7), не подверженные промышленным стокам. Зона экологического кризиса занимает район реки выше очистных сооружений г. Смоленска (ст. 9), где регистрируются максимальные отклонения значений химических и биологических показателей от таковых в других зонах. Участок

реки ниже очистных сооружений г. Смоленска (ст. 10) охватывает зона экологического бедствия, которая характеризуется высокой степенью концентрации ТМ и отсутствием донных организмов. На основном протяжении водотока (ст. 2-6, ст. 8, ст. 11-12) имеет место зона напряженной экологической ситуации.

Таким образом, экологическое состояние водной экосистемы р. Днепр на территории Смоленской области нельзя считать благополучным. Основной причиной является, на наш взгляд, загрязненность вод и донных отложений тяжелыми металлами как природного, связанного с геохимическими особенностями региона, так и техногенного происхождения. Низкая численность бентосных организмов, прежде всего, двусторчатых моллюсков-фильтраторов, а также олигохет, являющихся мощным фактором самоочищения дна водоемов от загрязнений, ограничивает способность экосистемы к самоочищению. При сохранении существующей антропогенной нагрузки на водную экосистему р. Днепр можно прогнозировать ее дальнейшую деградацию.

ЛИТЕРАТУРА:

1. Биоиндикация экологического состояния равнинных рек / под ред. О.В. Бухарина, Г.С. Розенберга. М. : Наука, 2007. 403 с.
2. Выхристюк Л.А., Зинченко Т.Д., Шитиков В.К. Комплексная оценка экологического состояния равнинных рек в условиях антропогенных воздействий // Научные аспекты экологических проблем России. СПб. : Гидрометеиздат, 2001. С. 70.
3. Государственные доклады о состоянии окружающей среды Российской Федерации. Ежегодное издание. М., 2000-2009. 540 с.
4. Государственный доклад о состоянии и об охране окружающей среды Смоленской области в 2002 году. Смоленск : Главное управление природных ресурсов и охраны окружающей среды МПР России по Смоленской области, 2003.
5. Зинченко Т.Д., Выхристюк Л.А., Шитиков В.К. Методологический подход к оценке экологического состояния речных экосистем по гидрохимическим и гидробиологическим показателям // Изв. СамНЦ РАН, 2000. Т. 2, № 2.
6. Карандашова А.А. Интегральная оценка экологического состояния малых рек крупного промышленного центра по структурно-функциональным показателям макрозообентоса (на примере Нижнего Новгорода): дис. ... канд. биол. Наук. Н. Новгород, 2002. 145 с.
7. Лосев К.С., Апапичева М.Д. Экологические проблемы России и сопредельных территорий. М. : Издательский дом «Ноосфера», 2000. 288 с.
8. Моисеенко Т.И., Яковлев В.А. Антропогенные преобразования водных экосистем Кольского Севера. Л. : Наука, 1990. 220 с.
9. Папина Т.С. Эколого-аналитическое исследование распределения тяжелых металлов в водных экосистемах р. Обь: дис. ... д-ра хим. наук. Барнаул, 2004. 270 с.
10. Руководство по химическому анализу поверхностных вод суши / под. ред. А.Д. Семенова. Л. : Гидрометеиздат, 1977. 532 с.
11. Экологическое состояние бассейна реки Чапаевки в условиях антропогенного воздействия (Биологическая индикация) / под ред. Т.Д. Зинченко, Г.С. Розенберга. Тольятти : ИЭВБ РАН, 1997. 337 с.
12. Экология бассейна Верхнего Днепра / Н.Н. Бамбалов [и др.]. Смоленск : МПР России по Смоленской области, 2003. 177 с.
13. Chernogaeva G. Ecological state of the Upper Dnieper and its basin and prospects for the near future / Environmental Health Risk II; WITpres, 2003.

УДК 630*43(470.311)

Лукьянова Т.С., Матвеев Н.П., Ганина Т.Д., Сушкова И.В.
Московский государственный областной университет

СОВРЕМЕННЫЕ ПРОБЛЕМЫ ПОЖАРООПАСНЫХ ТЕРРИТОРИЙ ЗАПАДНОЙ МЕЩЕРЫ

T. Lukyanova, N. Matveyev, T. Ganina, I. Sushkova
Moscow State Regional University

CURRENT ISSUES OF FIRE RISK TERRITORIES OF WEST MESCHERA

Аннотация. Мещера – зандровая песчаная равнина. На ее территории, благодаря леднику, скопились водные ресурсы. Именно ледник, стоявший на севере низменности, был поставщиком накопления воды. Сегодня источником пополнения воды в низменности являются только дождевые и снеговые осадки. Грунтовые воды первого уровня (верховодка), благодаря мелиорации XX в., ушли в мелиоративные каналы. Сегодня горит пересушенный торф. Его толщина в отдельных местах, переработанных торфопредприятиями, может достигать 6-8 метров. Необходимо найти другие методы предохранения торфа от горения, вместо воды Мещеры. Это могут быть, например, суглинки.

Ключевые слова: увлажненные территории; Мещера; торфяники; грунтовые воды; пирогенно-песчаные; пирогенно-торфяные почвы.

Abstract. Meschera is an outwash sandy plain. Due to the glaciers in the north of the region Meschera has accumulated waters. Today the only source of water on the territory is precipitation. The first level of subsoil waters, because of the 20th century meliorating processes, had gone to the irrigational canals or dried up. Today dry peat is burning. Its thickness is nearly forming from 6 to 8 meters. We must find some other methods, besides the Meschera waters, to put out fires. This could be loamy soils, for example.

Key words: wet territories; peat; subsoil waters; pyrogenic and sandy soils; pyrogenic and peat soils.

Мещера – это территория аллювиально - зандровой низменности (высота до 130 м), со смешанными лесами (на песках – сосновые боры, по долинам рек – луга). Запасы воды в Мещере находятся и в малых реках, и в озерах, и в болотах, и в увлажненных территориях. Низина в пределах Шатурского района расположена всего в сотне километров от гигантского мегаполиса Москвы с населением намного более 10 млн. жителей, нуждающихся в чистой воде и чистом воздухе. Мещера находится в центральной части Восточно-Европейской равнины между реками: Клязьмой на севере, рекой Москвой на юго-западе, рекой Окой на юге и рекой Судогой на востоке. Это область, где самой природой были созданы значительные водные и рекреационные богатейшие ресурсы. В первую очередь – запасы чистой питьевой воды, которую уже не одно десятилетие так ценит местное население. Продукт, без которого человек не может ни жить, ни существовать.

Для того чтобы накопились запасы ценнейших водных ресурсов, проходили целые геологические эпохи. Западная Мещера расположена в пределах прогиба кристаллического фундамента Русской платформы Московской синеклизы. Рельеф Мещеры образовался, в основном, в дочетвертичный период. К мощным отложениям относят юрские глины, пески, илы (мощностью 20-40 м), образовавшиеся в условиях теплого моря. Наиболее длительные континентальные периоды наблюдались в пермско-триасовое время (доюрское) и в палеоген-

неогеновое время. Однако окончательно рельеф низины сформировался в ледниковую и послеледниковую эпохи [1, 25-37]. Четвертичное оледенение захватило северную часть Западной Мещеры. Граница ледника проходила по реке Клязьме. Обводнение приледниковой зоны, в которую непосредственно входила рассматриваемая территория, было так велико, что низины заполнились озерами или превратились в мощные долины стока талых ледниковых вод. В них оседали взвеси, образуя зандровые равнины с песчаными и супесчаными отложениями, наиболее распространенными и в настоящее время на Мещере. Высокая обводненность сохранялась и в периоды ледниковый и межледниковый. Неоднократно проявлялись морские и континентальные режимы. При континентальных стадиях местность размывалась, закладывались речные долины и междуречья. Сегодня мощность ледниковых песчаных отложений достигает местами 10-30 м. Крупные ледниковые озера и долины стока преобразовывались в заболоченные территории с сосновыми борами и сосново-еловыми лесами, которыми так богат рассматриваемый край.

Естественных озер на территории Западной Мещеры (Шатурский район) около 50, площадь самого крупного озера Святого составляет 13 км². Вся речная сеть замыкается на приток Волги – реку Оку. Западная Мещера в пределах Шатурского района ограничена тремя крупными реками. На юго-западе протекает река Цна, а на юго-востоке – река Пра. Протяженность каждой из рек в пределах района не превышает 10-15 км, в связи с чем основными считаются притоки – реки Поля и Ялма. Длина реки Поля – 50 км. Ялма вытекает из Туголесских болот и имеет длину 20 км. Их ширина редко превышает несколько метров. Река Поля имеет глубину от 4 до 7 м., у Ялмы глубины еще меньше. В межень реки теряются в болотах, блуждая среди увлажненных территорий. Питание рек за счет атмосферных осадков, болот и грунтовых вод. Сегодня гидрографическая сеть за счет многочисленных мелиораций сильно изме-

нена человеком.

В районах флювиогляциальных песчаных отложений, в областях водоразделов и склонов долин, возникали в Мещере верховые болота. Низинные же болота располагаются на первой или второй террасах в речных долинах. Причиной тяготения верховых болот к водоразделам, а низинных – к речным долинам является происходящее, все время в одном направлении, обеднение области водоразделов растворимыми минеральными соединениями, с одной стороны, и обогащение речных долин – с другой. Большую роль в обеднении водораздела играет почвообразовательный процесс. Именно он ведет в лесной зоне к оподзоливанию почв водоразделов. Уносимые при оподзоливании элементы, такие, как калий, кальций, фосфор и железо, подхватываются грунтовыми водами и скапливаются в местах их выхода в речных долинах. Основным фактором, определяющим тип болота, является степень распределения минеральных веществ. Играет роль и положение верхового болота на плоской песчаной террасе или склоне водораздела. Велика дренажная роль песчаных террас, и вследствие этого высока степень разложения торфяников.

Основным фактором, способствующим созданию на верховом болоте «динамических центров», является режим болота, который связан с рельефом подстилающей материнской породы, с водами окружающей среды, с дном торфяного болота. Условия насыщения почвы водой создаются под влиянием косвенных факторов болотообразования – климата, рельефа и состава грунтов, то есть основных элементов, определяющих ландшафт территории. Климат может изменять условия образования торфяных болот. В настоящее время климат уменьшает образование торфяных болот. Связанное с климатом начало отложения торфа и, следовательно, образование болота происходит в случаях избыточной влажности. Может возникать высокий уровень грунтовых вод, вызывавший в послеледниковую эпоху начало отложения торфа. Притеррасные болота, ключевые болота

возникают из-за выходов ключей. Делювиальные воды поверхностного стока, поступающие со склонов, являются дополнительным источником водного питания для болот, расположенных в водораздельных котловинах местности. Нарастание зыбуна (сплавины) из мхов и осок на поверхности озера также может служить образованию болота.

Как указывает в своей работе Сидорова М.В., с годами «максимальные снегозапасы на Восточно-Европейской равнине будут повсеместно снижаться в 2 раза, снижение весеннего половодья возможно в 3-5 раз. При неблагоприятном варианте потепления, здесь весеннее половодье может исчезнуть как фаза водного режима, а холодный период года будет представлять собой последовательность снегодождевых паводков» [7, 25]. При таких условиях общий режим водных ресурсов Мещеры значительно усложнится, а их запасы значительно уменьшатся.

В связи с биохимическим разложением, при недостатке кислорода на заболоченных местностях происходит постоянный прирост торфа за счет отмирающих деревьев, кустарников, мхов.

Болота Мещеры – особый тип наземных водных экосистем. В результате движения воды по болотам ил и связанные с ним биогены оседают, а вода очищается по мере просачивания в грунтовые воды. То есть наиболее важной ролью болот является фильтрация воды перед тем, как она оказывается в озерах, реках, грунтовых водах. Таким образом, увлажненные такими водами местности гораздо выгоднее использовать для местобитания многочисленных птиц и диких животных, применять их как заказники или рекреационные ресурсы, а не превращать их в «бросовые» бедленды, каковыми сегодня являются переработанные торфопредприятия территории Шатурского района.

Рассматриваемый регион еще в 20-е 30-е гг. XX в. стал привлекать энергетиков и торфодобытчиков. Начинаясь добыча торфа с ручной резки. К восьмидесятым годам XX в. 90% объема промышленно добытого торфа производилось и производится по

технологии фрезерного торфа [5, 179-180]. Однако в результате длительного антропогенного вмешательства в экосистемы болот изменился гидрологический и химический режимы, видоизменилась структура растительного покрова, произошла полная смена фитоценозов с образованием вторичного, не восстанавливаемого до первичного, растительного покрова. Растительный покров на указанных территориях чахлый: береза повислая не более 3 м., вейник, иван-чай, осока. Но, что наиболее опасно для всей Мещеры, стали возникать ежегодные пожары именно на выработанных торфяниках. Как указывал еще Герасимов А.Д. [1, 35], «в пограничном слое» сохранились пни, которые не выкорчевывались с тридцатых годов XX столетия. В последующие десятилетия пни накапливали в себе болотное железо и стали плотным, водонепроницаемым слоем для дождевых и снеговых осадков. Под ними возникли «карманы» с накопленным болотным газом и лежащими остатками пересушенного торфа. При этом при мелиорации тридцатых годов XX в. верховодка (первый уровень грунтовых вод) была спущена в прорытые каналы. Как предполагают известные исследователи Косов В.И. и другие в работе «Торф»: «К недостаткам технологии добычи торфа фрезерным способом следует, в первую очередь, отнести изменение гидрологического режима за счет снижения уровня грунтовых вод на прилегающих к торфяному месторождению территориях; крайне низкий коэффициент использования торфозапасов;...загрязнение атмосферного воздуха, что конечным образом изменяет установившееся биологическое, гидрологическое, геологическое, микроклиматическое равновесие на данной территории; резкое возрастание риска пожароопасности, как на полях добычи торфа, так и на местах складирования пней и штабелей торфа; смещение водного и углеродного циклов в сторону снижения и, как следствие, повышение температуры приземного воздуха» [4, 26]. Кроме того, благоприятны условия накопления болотного газа в понижениях рельефа материнской подстилающей

породы. При этом торфяники горят и летом, и зимой. Причины самовозгорания, ведущие к низовым и верховым пожарам, привели к полной смене экосистемы. Известные исследователи почв Зейдельман Ф.Р., Шваров А.П. указывают, что «на таких территориях сформировались совершенно новые, непригодные для развития растительного покрова, почвы: пирогенно-песчаные и песчаные (или супесчаные), пирогенно-торфяные на песках, супесях, пирогенно-древесно-песчаные или супесчаные» [3, 138-139].

Самовозгорание является постоянной угрозой распространения задымления в ряде регионов: Московском, Владимирском, Рязанском и др. Наиболее сильные пожары происходили в 1972, 2002, 2004 гг., наиболее тяжелыми пожары были в 2010 г. Сегодня многие мелиораторы [2] предлагают заливать Мещеру ее же водами по старой технологии мелиорации. Однако такой способ избавления от пожаров не только малоэффективен, он порочен, так как поверхностные воды рек (Оки, Клязьмы, Пры и других рек, из которых предполагается перебрасывать воды) уйдут в пески зандровых равнин, из которых сформирован рельеф Мещеры. Мещера будет иметь вид пустынный с речными руслами, напоминающими вادي в пустыне Сахара. Таким образом, к факторам низовых и верховых пожаров в Мещере следует отнести:

1/ отсутствие научных представлений о функционировании болотных экосистем Мещеры;

2/ необдуманную мелиорацию тридцатых годов XX в.;

3/ недостатки технологии добычи торфа фрезерным способом.

Кстати, фрезерный способ добычи торфа оставался доминирующим до конца XX столетия, то есть 90% объема добычи торфа производилась по технологии фрезерного торфа.

Однако возможное избавление от горящих бедлендов в Мещере все же имеется. Прежде всего, необходим научный подход к изучению современных бедлендов Мещеры. То есть необходимо составить ряд специали-

зированных карт, в том числе по вертикальному электроразведыванию, радиоэлектроманнитному профилированию территории; провести тепловую съемку и полевые работы территорий, преобразованных торфопредприятиями. Необходимо также точно представлять себе масштаб и последовательность методики и работ по тушению территории. В современной литературе рядом известных авторов предлагаются методы тушения, альтернативные мелиоративным работам XX в. По представлению академика Маслова Б.С., «при пожарах земля выступает на стороне воды против огня, препятствуя его распространению. Не зря издавна используют для борьбы с огнем опашивание, окапывание заболоченных земель, включая окрайки болот, создавая заслон продвижению огня. В земледелии на торфяных почвах эффективен прием землевания торфа путем внесения в пахотный слой торфяной почвы» [6; 2]. Зейдельман Ф.Р. и Шваров А.П. предлагают ряд мероприятий по рекультивации пирогенных образований при пятнистом и сплошном выгорании осушенных почв: а) дренаж; б) планировку; в) внесение на поверхность увеличенных масс суглинистого грунта (400-500т/га) в пирогенно-песчаные и песчано-пирогенные (или супесчаные) образования» [3, 139].

По мнению авторов данной статьи, требуется окапывание, внесение суглинистого грунта в горящие торфяные залежи при ворошении с оставшимся торфом. Удельный вес торфа равен 0,75 г/см³, в качестве породы используется суглинок, вес которого равен в среднем 2,6 г/см³. Суглинка потребуется в 3,5 раза меньше, чем выработанного торфа. Породы суглинка (можно с песком) при ворошении и продавливают торф, и потушат горящий торф [5, 120]. Такой процесс остановит горение. Следующим этапом станет посадка луговых семян. В отдельных точках требуется бурение скважин для освобождения болотного газа. На отдельных, в основном центральных, пирогенных образованиях можно использовать водные ресурсы из вырытых еще в 30-е гг. мелиоративных канав, глубина

которых иногда достигает 6-8 метров.

Мещеру еще можно сохранить в отдельных ее частях. Нужно только сначала полностью затушить торфяники, на следующем этапе постоянно вести мониторинг низменности. Использовать в дальнейшем Мещеру можно только как кладезь чистейших водных и рекреационных ресурсов с полным исключением промышленной эксплуатации.

ЛИТЕРАТУРА:

1. Герасимов Д.А. Торф. Его происхождение, залегание и распространение.. М.-Л.: Гос.науч.-техн. горное дело, 1932. 66 с.
2. Губер К.В. и др. Мелиорация земель в Нечерноземной зоне. / К.В. Губер, В.Г. Круцко, Е.П. Панов.-М: Россельхозиздат, 1986. 221 с.
3. Зейдельман Ф.Р., Шваров А.П. Пирогенная и гидротермическая деградация торфяных почв, их агроэкология, песчаные культуры земледелия, рекультивация. М.: МГУ, 2002. 155 с.
4. Косов В.И., Беляков А.С., Белозеров О.В., Гогин Д.Ю. Торф: Ресурсы, технологии, геоэкология. СПб., 2007. 450 с.
5. Лукьянова Т.С. Целесообразность и возможности дальнейшего существования увлажненных территорий западной части Мещеры // Экологические проблемы Московской области / Мин-во экологии и природопользования МО. М.: МГОУ, 2010.
6. Маслов Б.С. Не надо топить болота! Хрупкий мир природы. // Советская Россия. 11 нояб.
7. Сидорова М.В. Оценка возможных изменений речного стока в XXI веке на территории Восточно-Европейской равнины. Автореферат дисс. ... к.г.н. М.: МГУ, 2010. 25 с.

УДК 550.423

Никитина М.В., Попова Л.Ф.

Поморский государственный университет имени М.В. Ломоносова (г. Архангельск)

ТРАНСФОРМАЦИЯ ПОДВИЖНЫХ ФОРМ МЕТАЛЛОВ В ПОЧВАХ ГОРОДСКИХ ЛАНДШАФТОВ

M. Nikitina, L. Popova

Pomor State University Named After M. Lomonosov (Arkhangelsk)

TRANSFORMATION OF MOBILE FORMS OF METALS IN THE SOILS OF URBAN LANDSCAPES

Аннотация. В статье анализируется содержание трансформационных (обменных, комплексных и специфически сорбированных) форм тяжёлых металлов на примере меди, цинка и свинца в почвах урболандшафтов (промышленном, селитебном, лесном и луговом) г. Архангельска. Производится оценка состояния загрязнённых почв по выявлению не столько увеличения в них общего содержания металлов, сколько установлению изменений их подвижности, которая оценивалась путем определения доли каждой трансформационной формы, полученной с использованием селективных вытяжек, от общего количества потенциально подвижных форм. Выявлены общие закономерности в распределении и миграции тяжёлых металлов (свинца, цинка и меди) в почвах урболандшафтов.

Ключевые слова: тяжёлые металлы, подвижные формы, урболандшафты, почва.

Abstract. The article analyzes the content of the forms (exchange, complex, and specifically sorbed) of heavy metals by the example of copper, zinc and lead in the urban soils of Arkhangelsk. It assesses the state of contaminated soils to identify not only the increase the total metal content, but the changes in their mobility. Evaluation has been made by determining the proportion of each form of transformation obtained by selective extracts from the total number of potentially mobile forms. General regularities in the distribution and migration of heavy metals (lead, zinc and copper) in the soils have been identified.

Key words: heavy metals, mobile forms, urban landscapes, soil.

Одним из наиболее характерных и экологически значимых процессов антропогенного преобразования городских ландшафтов является изменение их микроэлементного состава [3, 124]. При этом городские почвы рассматриваются как депонирующая среда, аккумулирующая техногенные загрязнения за многолетний период и позволяющая оценить степень загрязнения территории города, например, тяжёлыми металлами (ТМ). Однако оценка экологического состояния загрязнённых почв должна сводиться к выявлению не столько увеличения в них общего содержания металлов, сколько установлению изменений их подвижности [5, 99].

Направление миграции металлов и степень их токсичности определяется в первую очередь химической формой, в которой они присутствуют в почве, и прочностью связи с почвенными компонентами. В понятие «подвижные формы» входят разные как по доступности, так и по подвижности соединения, поэтому необходимо разделение этой группы форм на более мелкие. Выделяют три основные трансформационные формы соединений: обменные, комплексные и специфически сорбированные. Степень их доступности для растений уменьшается в ряду: *обменные > комплексные > специфически сорбированные*. Для извлечения этих

форм используется схема фракционирования, представленная в табл. 1.

Фракционный состав подвижных форм ТМ на примере цинка, меди и свинца оценивался путем определения доли каждой формы, полученной с использованием селективных вытяжек, от общего количества потенциально подвижных форм, которые извлекаются 1N HNO₃. Исследования проводились в почвах основных урболандшафтах г. Архангельска: промышленном, селитебном, лесном и луговом. В *промышленном* ландшафте преобладают пустыри и территории заводов, АЗС, АТП, которые располагаются пятнами в селитебном ландшафте. Преобладающие почвы – реплантозёмы, встречаются урбанозёмы и урбоестественные почвы. В их почвенных профилях часто присутствует верхний горизонт, состоящий из пыли, песка, соли с дорог, частичек шин и осадка от выхлопных газов автотранспорта. Крупные блоки *селитебных* ландшафтов сконцентрированы в центральной части города, мелкие – достаточно линейно вдоль реки Северная Двина, приурочены к транспортным магистралям. Наиболее распространены здесь неокультуренные газоны. В селитебном ландшафте часто встречаются почвы старых огородов во дворах одноэтажных частных домов, а на пустырях, ближе к территории промышленного ландшафта, во дворах ма-

лоэтажной деревянной застройки, – урбоестественные почвы. В отличие от почв промышленного ландшафта, здесь отсутствует поверхностный слой пыли с дорог. *Луговые агроландшафты* в основном представлены сенокосами (как правило, с подсевом трав) и выгонами, реже – пашнями и дачными огородами. Основные площади луговых ландшафтов находятся в ведении сельскохозяйственных предприятий, мелиорированы открытым дренажом и используются как база кормовых угодий для животноводства. На сеяных и естественных кормовых угодьях ранее вносили известковые и минеральные удобрения, проводили боронование, фрезерование, что могло несколько изменить естественные свойства почв. *Лесные* ландшафты хаотично разбросаны островками во всех частях города. Почвы лесного ландшафта представлены в основном высокозольным торфом. Антропогенное воздействие проявляется, как правило, в захламлении, на некоторых территориях наблюдается несанкционированная вырубка. Определение металлов проводилось атомно-адсорбционным методом на приборе «Спектр-5» в 2 – 5 повторностях на наиболее типичных для данных ландшафтов пробных площадях.

Доля потенциально подвижных форм металлов от их валового содержания показана на рис. 1.

Таблица 1

Методика выполнения параллельной схемы фракционирования (разработанная Т.М. Минкиной, Г.В. Мотузовой и др.[6, 811])

Фракция	Экстрагент	Соотношение почва : раствор	Условия экстрагирования
Общий запас ионов, способных к обмену	1 N CH ₃ COONH ₄ , pH =4,8	1 : 5	1 мин. взбалтывать, оставить на 18ч.
Связанная с органическим веществом почвы в форме комплексов	1% раствор ЭДТА в CH ₃ COONH ₄ , pH =4,8	1 : 5	1 мин. взбалтывать, оставить на 18 ч.
Обменные формы и специфически сорбированные соединения с гидроксидами и оксидами Fe, Mn, Al	1 н. HCl	1 : 10	Взбалтывать 1 ч.

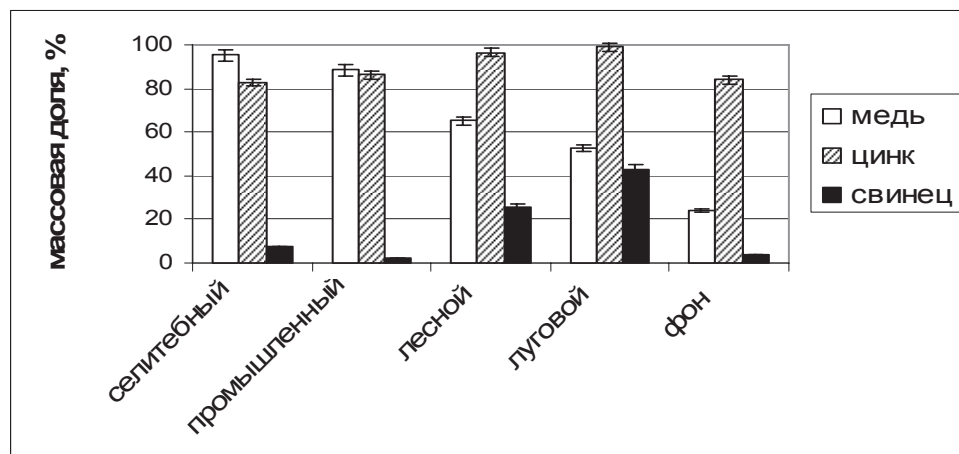


Рис.1. Массовая доля (%) потенциально доступных форм металлов от их валового содержания в почвах урболандшафтов г. Архангельска

Таблица 2

Содержание подвижных фракций ТМ в почвах урболандшафтов г. Архангельска

Ландшафт	Горизонт	Форма нахождения металла								
		Медь			Свинец			Цинк		
		Обменные	Комплексные	Специфически сорбированные	Обменные	Комплексные	Специфически сорбированные	Обменные	Комплексные	Специфически сорбированные
Фон	Ad	22,3	35,0	50,3	14,3	26,8	64,2	6,1	24,0	72,6
	A1	22,8	40,0	45,2	13,0	34,7	58,7	5,7	34,7	60,9
	B	20,0	31,9	48,8	9,6	23,3	71,2	8,1	60,9	57,4
Сели-тебн	Uha2	2,1	38,1	57,3	6,1	9,7	9,4	25,9	26,9	36,7
	U↑↓a2	2,4	39,8	54,4	26,2	29,0	28,1	19,0	20,2	40,9
	DUa3	0,6	17,4	29,0	80,4	80,6	78,1	10,9	18,2	29,5
Про-мыш	Ad	20,0	50,8	58,0	8,1	26,1	67,1	37,6	51,6	53,7
	Ud	32,9	84,3	74,4	7,2	27,1	67,2	58,1	61,4	75,8
	U↑↓	44,6	50,1	84,7	5,1	26,0	70,1	51,0	72,3	65,7
Лесной	A1	35,1	44,9	49,4	13,0	18,5	72,8	20,9	22,8	41,6
	B2	37,4	41,5	41,5	22,1	32,0	54,0	22,1	27,1	49,6
	BC	18,6	23,6	23,6	14,0	32,5	60,5	17,7	33,3	41,1
	C	55,8	21,9	21,9	9,2	14,9	83,7	20,8	24,2	41,1
Луго-вой	A	54,1	20,5	41,1	5,2	5,6	8,1	39,4	41,4	45,5
	B	36,8	39,1	43,8	27,6	30,4	40,7	47,5	55,9	60,8
	C	41,1	44,9	54,7	68,4	63,9	53,3	47,5	51,5	68,5

В техногенно-антропогенных ландшафтах – промышленном и селитебном, в отношении потенциальных запасов металлов наиболее подвижным является медь, тогда как в природно-антропогенных ландшафтах и почве фоновой территории, которая находится в 30 км от Архангельска и не испытывает антропогенного воздействия, наиболее подвижен цинк.

В почвах фоновой территории наибольшее количество меди (> 48%) присутствует в малоподвижной специфически сорбированной форме (табл.2), что объясняется исследованиями, опубликованными в работе Н.С. Касимова [2, 280] и Ю.А. Мажайского [4, 127]. Так как в фоновых районах содержание Си в среднем составляет $7,4 \pm 1,0$ мг/кг, она находится в необменно-зафиксированной форме в связи с низкой концентрацией в почвенном растворе. В почвах лугового, промышленного и лесного ландшафтов валовое содержание этого металла увеличивается, и доля обменных форм также увеличивается. Однако для селитебного ландшафта, где содержание меди в почвах максимально ($31,9 \pm 12,8$ мг/кг), доля обменных форм крайне низка (по всему профилю не превышает 3%). В этом ландшафте медь в большей степени находится в специфически сорбированном состоянии, что обусловлено прочным связыванием её с почвенно-поглощающим комплексом (ППК). Особенно высока подвижность меди в торфяных почвах лесного ландшафта. В связи с низким содержанием глины отсутствует поглощение этого элемента за счёт ППК, а слабая степень разложенности торфа не позволяет сорбировать металл органическим веществом.

Аналогичное распределение трансформационных форм характерно и для свинца. По данным Ю.А. Мажайского [5, 140], медь и свинец близки по химическим свойствам и тяготеют к образованию специфических связей с компонентами ППК.

Миграция этих элементов в почвенном профиле фоновой территории показывает относительно равномерное распределение трансформационных форм. В луговом ландшафте

с глубиной содержание обменных форм в почвах уменьшается, и происходит фиксация металлов как за счёт образования комплексных соединений с органическим веществом, так и за счёт сорбции их на оксидах и гидроксидах железа, алюминия, марганца. Такая же тенденция характерна и для торфяных почв лесного ландшафта, что объясняется увеличением доли глинистых компонентов вниз по профилю и, соответственно, их сорбционной способности. В подзолистых почвах лесного ландшафта происходит снижение обменных форм металлов вплоть до материнской горной породы и увеличение специфически сорбированных форм, что, по всей видимости, объясняется увеличением доли соединений железа, алюминия и марганца, которые вымываются в нижние горизонты в условиях промывного водного режима почв.

В промышленном ландшафте для данных металлов характерно увеличение доли специфически сорбированных форм вниз по профилю, но не за счёт фиксации обменных, а за счёт уменьшения доли комплексных соединений.

Распределение цинка по почвенному профилю лугового и лесного ландшафтов относительно равномерно, и наибольший процент форм в данных ландшафтах представлен специфически сорбированными. Вниз по профилю фоновой территории происходит фиксация цинка за счёт образования органо-минеральных комплексов, а в селитебном ландшафте – за счёт специфической сорбции почв.

Таким образом, рассматриваемые элементы по степени подвижности в отношении актуальных запасов на фоновом участке располагаются в ряд $Pb \approx Zn > Cu$. Несмотря на то, что ряд селективности связывания ТМ поглощающим комплексом почвы имеет вид: $Pb > Cu > Zn$, из-за низкого содержания обменных форм меди ведущую роль в подвижности занимает свинец. Для почв селитебного ландшафта, где отмечается достаточное содержание валовых форм меди, данный ряд соблюдается: $Pb > Cu > Zn$. В лесном и луговом ландшафтах ряд подвижности составляет Pb

> Zn > Cu. Свинец также является наиболее подвижным, что, по мнению Ю.А. Алексеева [1, 119], связано с особенностями строения его иона: из-за большого радиуса ($R_{Pb} = 0,126$ нм, $R_{Cu} = 0,080$ нм, $R_{Zn} = 0,060$ нм) связывание его ионов с ППК наименее эффективно. В промышленном ландшафте наиболее подвижна медь: $Cu > Pb > Zn$, что может быть объяснено высокой опесчаненностью почв и, как следствие – низким содержанием глинистых частиц, способных к сорбции.

Выявленные закономерности имеют экологическое значение, т. к. позволяют прогнозировать процессы трансформации почвенных компонентов, ответственных за закрепление металла в почве, и возможность их вторичной мобилизации, а следовательно, и количество его поступления в растительный покров.

ЛИТЕРАТУРА:

1. Алексеев В.А., Суворинов А.В., Власова Е.В. Металлы в окружающей среде. Лесные ландшафты Северо-Западного Кавказа. М.: Университетская книга, 2008. 264 с.
2. Касимов Н.С., Королёва Т.В., Проскуряков Ю.В. Биогеохимия городских ландшафтов (на примере г. Тольятти) // Экогеохимия городских ландшафтов. М.: МГУ, 1995.
3. Клименьев А.И. Геоэкологическая оценка почвенного покрова урбанизированных территорий (на примере г. Оренбурга). Екатеринбург: УрО РАН, 2006. 181 с.
4. Мажайский Ю.А. Агроэкология техногенно загрязнённых ландшафтов. Смоленск: Маджета, 2003. 384 с.
5. Минкина Т.М. Соединения тяжелых металлов в почвах Нижнего Дона, их трансформация под влиянием природных и антропогенных факторов: дис. ...докт. биол. наук. Ростов-на-Дону, 2008. 172 с.
6. Минкина Т.М., Мотузова Г.В., Назаренко О.Г., Крыщенко В.С., Манджиева С.С. Формы соединений тяжёлых металлов в почвах степной зоны // Почвоведение. 2008. №7.

УДК 338.46+628.4

Панков С.А.

Ставропольский государственный университет

**МОДЕЛИРОВАНИЕ ЭКОЛОГО-ЭКОНОМИЧЕСКИХ АСПЕКТОВ
ЗЕМЛЕПОЛЬЗОВАНИЯ НА МЕСТОРОЖДЕНИИ
ОБЩЕРАСПРОСТРАНЕННЫХ ПОЛЕЗНЫХ ИСКОПАЕМЫХ**

S. Pankov

Stavropol State University

**MODELING ECOLOGICAL AND ECONOMIC ASPECTS
OF LAND-UTILIZATION AT WIDESPREAD MINERALS DEPOSITS**

Аннотация. Проблема экологически рационального и экономически эффективного землепользования стоит особенно остро на предприятиях по добыче полезных ископаемых. В технологические схемы и, соответственно, в технико-экономические показатели не закладываются процессы полномасштабной рекультивации нарушенных земель, а также затраты на них, поскольку все стратегические решения нацелены только на извлечение полезного ископаемого с максимальным финансовым результатом. Предлагаемые в статье модельные подходы и показатели позволяют решить проблему стратегического проектирования процесса рациональной рекультивации нарушенных горными выработками земель, а также выполнить анализ степени оптимальности землепользования горнодобывающим предприятием. Модельные расчёты проиллюстрированы результатами более чем полувековой эксплуатации Пелагиадского месторождения известняка-ракушечника, обследованного автором.

Ключевые слова: модель процесса рекультивации; эколого-экономическая оптимальность землепользования; экологическая устойчивость территории; горные выемки; отвалы вскрышных пород; экологический ущерб.

Abstract. Mining enterprises have to deal with the acute problem of ecologically rational and economically efficient land-utilization. As their strategies are aimed merely at minerals extraction with the highest possible financial result the procedure of full-scale exhausted land reclamation and expenses for it are not included into technological schemes and thereafter into technological and economic indicators of the enterprises. The model approaches and indicators proposed in this article allow to solve the problem of corporate planning of the procedure of rational reclamation of lands destroyed by mine working, and also to carry out the analysis of land-utilization optimality extent of a mining enterprise. The model calculations are based on the results of the author's study of Pelegiada chalkstone deposit which have been exploited for more than fifty years.

Key words: reclamation procedure model, ecological and economic land-utilization optimality, ecological stability of region, mine excavation, uncovering rock piles, ecological harm.

Современная макроэкономическая ситуация в области защиты и восстановления земельных ресурсов складывается таким образом, что затраты на этот вид деятельности в структуре природоохранных затрат в 2003 - 2008 гг. не превышали 7,5%, в том числе на рекультивацию земель – 2,5 – 3,5%, причем от 68 до 76% в структуре источников финансирования занимали место собственные средства предприятий [5, 25-30]. Доля природоохранных инвестиций в ВВП не превышала 0,3%, хотя в экономически развитых странах на решение этих вопросов выделяется от 2 до 5% ВВП [5]. Как отмечается в докладе Государственного совета Российской Федерации [2, 76], система экономического стимулирования в области природоохран-

ных инвестиций и экологического контроля не эффективна и предприятия экономят на природоохранных инвестициях.

В связи с этим проблема рекультивации и восстановления земель – одна из наиболее актуальных на разрабатываемых месторождениях общераспространённых полезных ископаемых. Одним из важных аспектов решения этой проблемы является предлагаемый нами модельный подход к оценке возможной величины рекультивированной площади, получаемой без привлечения дополнительных ресурсов, за счёт рациональной технологии размещения собственных пород вскрыши и почв.

Моделируемый объект – Пелагиадское месторождение известняка-ракушечника расположено в Центральном Предкавказье, в равнинной части Ставропольской возвышенности. Более 50% площади горного отвода нарушено и представляет собой карьеры, различные выемки и отвалы вскрышных пород. Автором было выполнено полевое обследование состояния землепользования в районе месторождения. В процессе выполнения исследований привлекались фондовые и архивные материалы. Анализ этих материалов и изучение фактического состояния объекта исследования позволили построить модель влияния хозяйственных процессов на состояние землепользования в пределах месторождения.

Кустарная разработка известняка-ракушечника на месторождении началась в 19 веке. В 1930-х гг. была произведена разведка месторождения, и началась промышленная добыча известняков. Идея комплексного использования месторождения не была реализована, что привело к необходимости организации крупных отвалов пустых пород.

В конце 1980 гг. уже констатировались значительные экологические проблемы использования земельных ресурсов, связанные с неселективной выемкой почв и пород вскрыши, хаотическим их складированием совместно с глыбами известняка-ракушечника, что привело к появлению техногенного рельефа на большей части горного отвода, при этом

выемки карьеров практически не рекультивировались. Как следствие, произошло появление глубоких котлованов и переход данной территории в кризисное состояние.

В последний период производилось раздельное складирование почв и пород вскрыши, более рациональное использование песков вскрыши в строительных целях и для реализации. Предприятия, разрабатывающие месторождение, являются низко рентабельными [4, 111-114], что не позволяет осуществлять рекультивационные работы в полном объёме.

Модель землепользования на Пелагиадском месторождении известняка-ракушечника сводится к следующему. На основании данных геологической разведки и подсчета запасов, а также прогнозного объёма добычи полезного ископаемого рассчитываются объёмы извлекаемых вскрышных пород и объём складироваемых в бурты почв. На основании плана горного отвода и участков разработки полезного ископаемого определяется оптимальное место размещения отвалов и порядок проведения всех этапов рекультивации земель на отработанной части месторождения. Такой прогноз по площадям рекультивации и объёмам необходимых работ имеет смысл выполнять на несколько лет вперёд. Важными факторами прогнозирования являются устойчивость условий внешней среды, деятельности предприятия и гарантия стабильности использования его производственного потенциала.

Помимо модельных расчетов, предлагаемых нами, необходимо рассчитывать ряд эколого-экономических показателей, отражающих результативность природоохранных мероприятий: экологический ущерб, наносимый землям, и ряд относительных показателей экологической устойчивости горного отвода.

Расчёты по предложенной модели опираются на показатели разработки месторождения и выполняются в нижеизложенном порядке. Зная объёмы годовой добычи полезного ископаемого, изменение его запасов и изменение площади земель, нарушенных

горными выработками, рассчитываются интервальные величины объемов добычи известняка-ракушечника по периодам освоения месторождения. Эти величины определяют объемы вскрышных работ и площади нарушенных, а также рекультивируемых земель.

При построении модели, отражающей взаимосвязь процесса добычи известняка-ракушечника и процесса рекультивации горных выработок, необходимо исходить из следующих ограничений: во-первых, объем добычи полезного ископаемого определяет необходимый объем и площадь вскрышных работ; во-вторых, при выполнении вскрышных и рекультивационных работ необходимо минимизировать переэкскавацию пустых пород; в-третьих, до начала рекультивационных работ должна иметься выемка для отсыпки вскрышных пород и последующей её рекультивации путем засыпки почвенным слоем; в-четвертых, выемка по высоте должна засыпаться полностью с учетом последующей усадки вскрышных пород и засыпки их почвенным слоем. Выполнение этих ограничений позволяет аналитически связать объем добычи полезного ископаемого, объем неиспользуемых вскрышных пород и объем формируемых рекультивационных отвалов. Исходя из этих объемов и средних мощностей продуктивного пласта, вскрышных пород и почвенного слоя определяется площадь вскрыши, а исходя из формы отвала, определяется его площадь и высота, которые ограничиваются параметрами имеющейся горной выработки.

Все эти величины напрямую связаны между собой и корректируются лишь на поправочные коэффициенты: разрыхления горных пород, усадки отсыпанного отвала и другие. В модели учитывается то, что первоначальная вскрыша продуктивного пласта требует размещения вскрышных пород за пределами карьера на ненарушенной поверхности и, как следствие, предусматривается некоторый объем переэкскавации, а также отставание процесса рекультивации земель от процесса разработки полезного ископаемого. Следует

учесть тот факт, что при самом оптимальном процессе рекультивации с помощью пород вскрыши объем карьерной выемки будет заполнен не полностью, и будет больше объема выполненной рекультивации на величину извлеченных запасов полезного ископаемого и части использованных пород вскрыши.

Аналитически эту модель можно выразить с помощью взаимосвязанных уравнений и неравенств:

– величина запасов полезного ископаемого на начало и конец i -го периода: $Z1i=x1$; $Z2i=x2$;

– объем добычи полезного ископаемого за i -й период определяется через изменение его запасов и потери – di : $Qi=Z2-Z1-di$;

– площадь вскрыши: $Svi=Qi/hri$,

где: hri – средняя мощность продуктивного (рабочего) пласта;

– объем снимаемых почв: $Qgi=Svi*hgi*krgi$; где: hgi – средняя мощность почвенного слоя, $krgi$ – коэффициент разрыхления почв;

– объем вскрышных пород: $Qvi=Svi*hvi*krvi$; где: hvi – средняя мощность пород вскрыши, $krvi$ – коэффициент их разрыхления;

– объем отвала вскрышных пород: $Qoti=Qvi-Qispi$;

– средняя высота рекультивационного отвала: $hot=(hvl+hrli)*1.1-hgli$; где: hvl , $hrli$, $hgli$ – средняя мощность соответственно пород вскрыши, продуктивного пласта и почв, извлеченных в предшествующем периоде;

– площадь параллелепипеда как части отвала: $Spri=a*b$;

где: $b=0.5*a$ – соотношение его сторон;

– площадь основания трапеций откосов отвала вскрышных пород: $Stri=hot*2*(a+0.5*a)+4*hot^2$;

– вся площадь отвала: $Soti=Spri+0.5*Stri$;

– ограничение по площади, используемой для размещения отвала: $Soti<(DSv1+Svi)$; где: $DSv1$ – площадь нереккультивированной ранее выемки, образовавшейся в предшествующем периоде;

– объем рекультивационного отвала, образующийся за i -й период: $Qoti=Spri*hot+0.5*(0.5*hot^2*2*(a+0.5*a)+4*0.5*hot^3)$;

Таблица 1

Результаты модельных расчётов по Пелагиадскому месторождению

Показатель \ Период (годы)	1954-1962	1962-1987	1987-2001	2001-2008	Итого
Добыча известняка, тыс. м ³	221	398	355	459	1433
Отношение возможной площади рекультивации к площади вскрыши, рассчитанное через коэффициент вскрыши	0,59	0,62	0,62	0,60	0,61 (среднее)
Площадь вскрыши, тыс. м ²	24,56	47,95	45,51	58,1	176,12
Площадь вскрыши нарастающим итогом, тыс. м ²	24,56	72,51	118,02	176,12	176,12
Объём отвала, тыс. м ³	475,39	907,25	825,06	1002,13	3209,83
Площадь отвала, тыс. м ²	18,76	30,68	28,16	35,85	113,46
Нерекультивированная площадь, тыс. м ²	15,02	28,82	27,90	33,85	84,70
Площадь рекультивированная нарастающим итогом, тыс. м ²	9,54	34,82	60,14	91,42	91,42
Отношение модельной площади рекультивации к модельной площади вскрыши, тыс. м ² (оптимальное)	0,39	0,48	0,51	0,52	0,52

Моделируемая функция, выражающая соотношение объёма проектируемого рекультивационного отвала и объёма, размещаемых в нём пород вскрыши, при решении которой находится параметр a , и длинная сторона отвала выглядит следующим образом:

$$F := Spri \cdot hot + 0.5 \cdot (0.5 \cdot hot^2 \cdot 2 \cdot (a + 0.5 \cdot a) + 4 \cdot 0.5 \cdot hot^3) - (Qvi - Qispi).$$

Подставляя значение параметра a , найдём проектируемую площадь отвала:

$$Soti := 0.5 \cdot a^2 + 1.50 \cdot (1.1 \cdot hv1 + 1.1 \cdot hri - hgi) \cdot a + 2.0 \cdot (1.1 \cdot hv1 + 1.1 \cdot hri - hgi)^2.$$

Расчётная площадь рекультивации (в последнем периоде) будет меньше площади отвала на величину площади откосов: $Sreci := Soti - 0.5 \cdot Stri$.

Объём проектируемого отвала вскрышных пород определяется занимаемой площадью, которую с его помощью можно рекультивировать, и средней высотой отвала, ограниченной глубиной выемки, с учетом усадки грунта и засыпки его почвенным слоем.

В нашем случае принята прямоугольная форма отвала. Отвал имеет плоскую вершину, а в сечении – трапецевидную форму, что соответствует его размещению на открытой поверхности и углу естественного

откоса рыхлых пород, который принят в 45 градусов. Сама площадь отвала будет ограничена площадью заранее подготовленной выемки. Для организации предлагаемого рационального землепользования необходимо при составлении проекта вскрышных работ предусмотреть засыпку отработанных карьерных выработок на высоту естественной поверхности.

После выполнения всех рекультивационных работ неизбежно останется нерекультивированный объём, величина которого приблизительно может быть выражена по отношению к рекультивированному объёму через среднюю величину коэффициента вскрыши для месторождения, так как площади добычи полезного ископаемого и вскрыши приблизительно равны. Соответствие этому условию будет отражать наиболее оптимальную организацию процесса рекультивации. Уменьшение величины рекультивируемого объёма может быть вызвано двумя факторами: во-первых, использованием части вскрышных пород в других целях, что является допустимым, во-вторых, формированием отвалов за пределами карьерных выемок либо превышением их высоты по сравнению с ненарушенной естественной

поверхностью, что является недопустимым с точки зрения рекультивации.

Проиллюстрируем использование предлагаемой модели на основе данных об изменении запасов полезного ископаемого и геологической разведки по Пелагиадскому месторождению известняка-ракушечника.

На основании результатов выполненных нами модельных расчётов, представленных в табл. 1, видим, что в случае реализации условий оптимального (модельного) размещения вскрышных пород при 20% использовании вскрышных пород для других целей, возможна рекультивация около 52% площади отработанных горных выработок. Максимально возможное соотношение рекультивируемой площади по отношению к площади вскрыши (без учета площади откосов отвалов), рассчитанное на основе коэффициента вскрыши, могло составить 61%.

Сравнение с фактическими величинами площади горных выработок, отвалов вскрышных пород и рекультивируемой площади позволяет сделать выводы, что превышение фактической площади выемок над площадью отвалов в 1,74 раза свидетельствует: во-первых, о большей доли использования вскрышных пород по сравнению с модельной, а во-вторых, о нерациональном складировании, то есть формировании отвалов большей высоты, чем естественная поверхность. Фактическая доля рекультивированной площади на момент обследования составляла около 40% площади горных выработок, что на 12% меньше моделируемой.

С точки зрения моделирования эколого-экономических аспектов также важен расчет величины ущерба, наносимого землям при разработке месторождения, и сравнение его с показателями доходности. Рассчитанный нами годовой ущерб, наносимый землям при современных объёмах добычи строительных материалов по месторождению, составляет около 890 тыс. руб. (коэффициент экологи-

ческой значимости территории – 1,9), что выше суммы дифференциальной горной ренты – 690 тыс. руб., но несколько ниже суммы чистой прибыли, составляющей 1075 тыс. руб. [1, 4].

Эти показатели свидетельствуют о высокой величине экологического ущерба, сопоставимой с прибылью предприятий. Сравнить эти показатели можно на основе применения предложенного В.Е. Домбровской коэффициента риска, рассчитываемого как соотношение ожидаемых величин экономического ущерба и прибыли [3, 182-184]. На исследованном нами месторождении оцениваемое его значение составляет – 0,828, что свидетельствует о критическом уровне экологического риска.

Предложенный нами модельный подход позволяет прогнозировать объём рекультивационных работ и восстанавливаемые площади.

ЛИТЕРАТУРА:

1. Временная методика определения предотвращённого экологического ущерба. М.: Госкомитет РФ по охране окружающей среды, 1999.
2. Доклад Государственного совета Российской Федерации «О совершенствовании системы государственного регулирования в сфере охраны окружающей среды». 2010.
3. Домбровская В.Е. Математическая модель максимизации прибыли с учётом эколого-экономического ущерба, наносимого окружающей среде. // Вестник Тверского государственного университета. Серия: Биология и экология. 2005. № 1.
4. Панков С.А. Анализ доходности горнодобывающих предприятий в процессе оценки месторождений общераспространённых полезных ископаемых // Вестник Московского государственного областного университета. Серия «Экономика». 2009, № 3.
5. Приложения к докладу Государственного совета Российской Федерации «О совершенствовании системы государственного регулирования в сфере охраны окружающей среды». 2010.

РАЗДЕЛ III ХИМИЯ

УДК 631.414-417 + 544.169

**Боголицын К.Г., Бойцова Т.А., Кузнецова И.А.,
Ларионов Н.С., Паламарчук И.А., Аксенов А.С., Бровко О.С.**
Институт экологических проблем Севера Уральского отделения РАН (г. Архангельск)

ОСОБЕННОСТИ КОМПЛЕКСООБРАЗУЮЩИХ И СОРБЦИОННЫХ СВОЙСТВ ГУМИНОВЫХ КИСЛОТ ВЕРХОВОГО ТОРФА АРХАНГЕЛЬСКОЙ ОБЛАСТИ

**K. Bogolitsyn, T. Boitsova, I. Kuznetsova, N. Larionov,
I. Palamarchuk, A. Aksyonov, O. Brovko**
Institute of Ecological Problems of the North, Ural Branch of RAS (Arkhangelsk)

COMPLEXATION AND SORPTION PROPERTIES OF HUMIC ACID EXTRACTED OUT OF ARKHNGELSK PEAT

Аннотация. В работе приведены результаты экспериментальных исследований функционального, элементного состава, молекулярно-массовых характеристик компонентов гуминовых кислот, выделенных из верхового торфа Архангельской области. Обсуждаются вопросы взаимосвязи сорбционных и комплексообразующих свойств гуминовых кислот с их структурно-функциональными особенностями. На основании исследований по сорбции гуминовыми кислотами ионов свинца и кадмия доказана принципиальная возможность использования данных растительных биополимеров в качестве сорбентов тяжелых металлов. Представлены результаты исследований комплексообразующих свойств гуминовых кислот. В целом перспективность проведения систематических исследований в области полимерных комплексов и сорбционных свойств гуминовых кислот определяется для Архангельской области значительными ресурсами торфа, возможностью создания на их основе доступных и эффективных функциональных полимерных материалов разнообразного значения.

Ключевые слова: торф, гуминовые кислоты, сорбция, комплексообразование, полиэлектролит.

Abstract. Data on the experimental studies of functional and ultimate composition, as well as on molecular-mass distribution of humic acids extracted out of oligotrophic peat bog of the Arkhangelsk region are presented in the given paper. Problems of dependence of sorption and complexing properties of humic acids on their structural and functional composition are discussed. Based on the studies of sorption activity of humic acids towards mercury and cadmium ions the possibility of utilization of the humic acids as heavy metals' sorbents has been proved. Data on the studies of complexing properties of humic acids is presented. Globally, prospective of the complex studies of the polymer complexes and sorption properties of humic acids is based on the large distribution of peat bogs in the Arkhangelsk region, which makes it possible to develop effective and functional polymer materials for different purposes on their basis.

Key words: peat, humic acid, sorption, complexation, polyelectrolyte.

© Боголицын К.Г., Бойцова Т.А., Кузнецова И.А., Ларионов Н.С., Паламарчук И.А., Аксенов А.С., Бровко О.С.

Настоящая работа выполнена при финансовой поддержке ФЦП "Научные и научно-педагогические кадры инновационной России" на 2009 - 2013 годы (ГК № 16.740.11.0159).

Гуминовые кислоты (ГК) наряду с фульвовыми относятся к наиболее обширному и реакционноспособному классу природных соединений, входящих в состав органического вещества почв, природных вод и твердых горючих ископаемых. ГК образуются в природных средах в результате химического и биологического разложения растительных и животных остатков под действием микроорганизмов и абиотических факторов среды [7]. В основе этого процесса лежит отбор кинетически устойчивых структур и объединение их в макромолекулы случайным образом. Наличие в молекулах ГК широкого спектра кислородсодержащих функциональных групп, таких, как карбоксильных, фенольных и алифатических гидроксильных, карбонильных и др. в сочетании с присутствием ароматических фрагментов обуславливает их способность вступать в ионные и донорно-акцепторные взаимодействия, образовывать водородные связи. Благодаря этому ГК, с одной стороны, активно участвуют в миграции тяжелых металлов, контролируя их геохимические потоки в окружающей среде. С другой стороны, они являются самоорганизующимися анионными полифункциональными полиэлектролитами (ПЭ), обладают ценными коллоидно-химическими свойствами, в частности выступают в роли природной матрицы для иммобилизации ферментов.

Одной из фундаментальных проблем химии растворов природных многоатомных молекул является установление взаимосвязи между их структурой и физико-химическими свойствами. Поэтому актуальной задачей является изучение макролигандных свойств ГК, благодаря которым они играют важную роль в процессах самоочищения водных и почвенных экосистем, связывая как тяжелые металлы, так и органические экотоксиканты [7].

Широкое распространение торфяных болот в Архангельской области обуславливает необходимость изучения ГК как потенциальных источников получения разнообразных органических соединений и установле-

ния взаимосвязи между функциональным составом, строением ГК и их реакционной способностью.

Цель исследования: изучить зависимость сорбционных и комплексообразующих свойств ГК, выделенных из верхового торфа Архангельской области, от их структурно-функциональных особенностей.

Экспериментальная часть

В качестве объекта исследования выбраны ГК, выделенные из верхового торфа Архангельской области согласно методике, изложенной в работе [6].

Функциональный анализ ГК проведен с использованием общепринятых методик [2; 1]. Элементный анализ ГК проведен на установке Elementar Vario Micro CUBE, а молекулярная масса (ММ) ГК определена методом гель-проникающей хроматографии (ГПХ) на установке Gibson Abimed. Определения проводились в лаборатории химического факультета МГУ им. М.В. Ломоносова. Для сравнения молекулярно-массовых характеристик выделенных препаратов использовался коммерческий образец ГК фирмы Aldrich (ГК-AL), полученный из леонардита.

Исследования сорбции ионов Cd^{2+} и Pb^{2+} (токсичных металлов, относящихся к d- и p-элементам соответственно) из водных растворов их солей проводили в статических условиях в системе сорбент – модельный раствор при соотношении 1:200 при pH 3,0. Диапазон концентраций ионов Cd^{2+} составил 10,9 – 1000,0 мг/л, а ионов Pb^{2+} 9,0 – 907,7 мг/л. Равновесную концентрацию ионов Cd^{2+} и Pb^{2+} в растворах определяли атомно-абсорбционным методом на спектрометре novAA 315 (Analytik Jena AG).

Для изучения поведения макромолекул ГК в растворах навеску ГК растворяли в небольшом количестве 0,1 н NaOH. Полученный раствор гумата натрия (ГNa) доводили дистиллированной водой до значения pH 7.

Потенциометрические измерения проводили на pH-метре 211 производства Hanna instruments с комбинированным стеклянным электродом HI 1131B в качестве измеритель-

Таблица 1

Характеристика ГК, выделенных из верхового торфа

Наименование показателей		Характеристика
Выход, %		38,3
Внешний вид		порошок
Цвет		темно-коричневый
Зольность, %		8,9±0,5
Элементный состав ГК, %	N ± Δ	2,3±0,2
	C ± Δ	51,5±3,9
	H ± Δ	4,7±0,2
	S ± Δ	2,1±0,1
	O ± Δ	39,4±0,2
Н/С		1,09
О/С		0,57

Таблица 2

Содержание функциональных групп ГК верхового торфа

Функциональная группа	Содержание, %
-COOH + -OH	5,98 ± 0,68
-COOH	4,67 ± 0,17
-OH	1,31 ± 0,06
-OCH ₃	6,13 ± 0,07

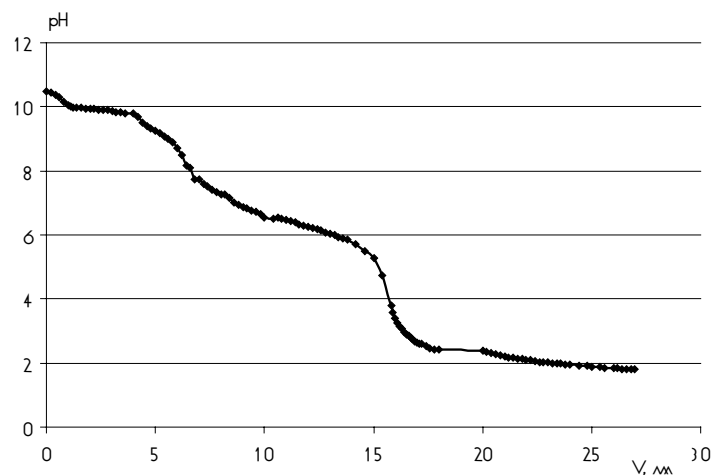


Рис. 2. Кривая потенциометрического титрования раствора ГНa.

Таблица 3

Молекулярно-массовая характеристика ГК

Образец	Mw, кDa	Mn, кDa	Mw/Mn
ГК	36,7	5,4	6,9
ГК-AL	13,6	3,3	4,1

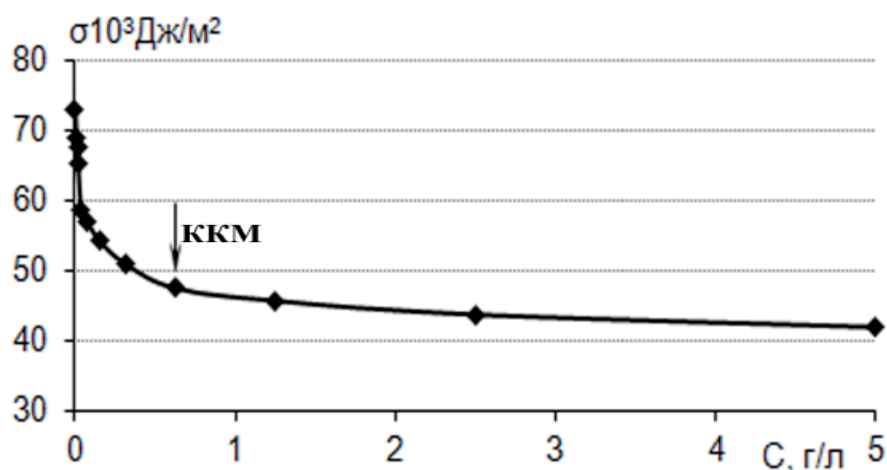


Рис. 3. Зависимость поверхностного натяжения ГНа от концентрации.

ного.

Поверхностное натяжение растворов полимеров и комплексов определяли методом тензиометрии (метод Вильгельми по отрыву пластинки от границы раздела фаз) при температуре 22 °С. Доверительный интервал измерения поверхностного натяжения для растворов составляет $\pm 0,2 \cdot 10^{-3}$ Дж/м².

Обсуждение результатов

Для оценки химических свойств гуминовых кислот, как и любого биополимера, прежде всего необходим анализ элементного и функционального состава. Выделенные препараты содержат 8,9 % минеральных компонентов, в органической части преобладает углерод и кислород (табл. 1). На основании данных по массовому содержанию элементов были рассчитаны атомные соотношения – Н/С, О/С, позволяющие оценить структуру полимера, содержание ненасыщенных фрагментов и кислородсодержащих функциональных групп. В выделенных образцах величина Н/С (1,09) свидетельствует о том, что в структуре гуминовых кислот в равной степени присутствуют как ароматические, так и алифатические фрагменты с линейным строением [5].

Для объяснения и прогнозирования химического поведения ГК и их реакционной способности по отношению к полярным и

ионным соединениям необходима информация о количественном содержании основных функциональных групп. Полученные результаты показывают, что ГК, включающие в свою структуру как ароматические, так и алифатические фрагменты, характеризуются высоким содержанием функциональных групп (табл. 2).

На рис. 2 приведен график обратного потенциометрического титрования раствора ГНа. Наличие двух точек эквивалентности в слабокислой и слабощелочной среде на кривой потенциометрического титрования свидетельствует о присутствии в макромолекуле ГНа различных по природе и по силе функциональных групп (–COOH и –OH). Основные области диссоциации карбоксильных и фенольных гидроксильных групп характеризуются рК 4,4 и 9,2 соответственно (рис. 2), что согласуется с литературными данными [9].

Одной из важных характеристик ГК, определяющих их поведение в растворах, способность к миграции в природной среде, взаимодействие с ферментными системами, является молекулярная масса. В табл. 3 приведены молекулярно-массовые характеристики ГК, полученные методом гель-проникающей хроматографии. В сравнении с препаратом ГК-АЛ, гуминовые кислоты, выделенные из верхового торфа имеют более

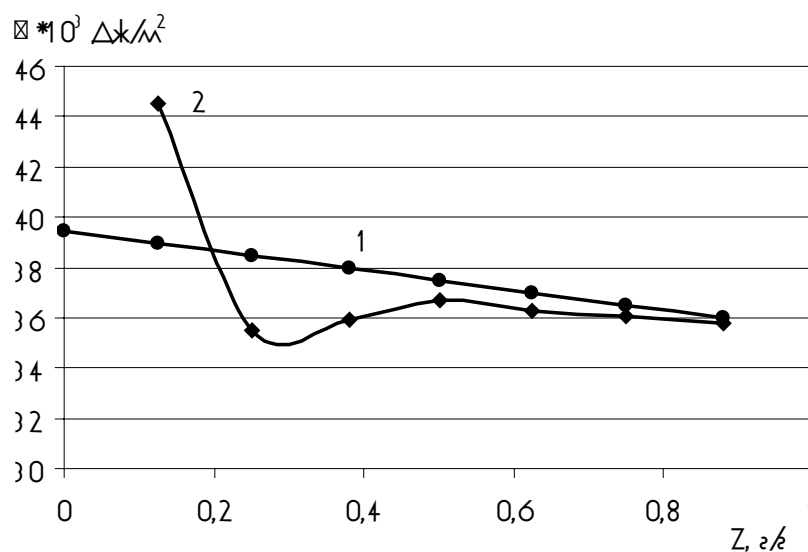


Рис. 4. Зависимость поверхностного натяжения гетерогенной системы ЦПБ– ГНА от состава реакционной смеси (Z): 1 – аддитивная расчетная зависимость; 2 – экспериментально полученная кривая

высокую среднемассовую ММ (M_w) и степень полимолекулярности (M_w/M_n).

Поскольку ГК имеют сложный химический состав, их структурные фрагменты можно условно разделить на гидрофильные (ионогенные функциональные группы) и гидрофобные (незаряженные участки полимерных цепей), что обуславливает их поверхностно-активные свойства. Известно, что соли ГК характеризуются невысокой поверхностной активностью на границе раздела жидкость – газ [10, 12-23]. Методом Вильгельми получена изотерма поверхностного натяжения раствора гумата натрия при pH=7 (рис. 3).

На начальном участке концентрационной кривой поверхностное натяжение монотонно уменьшается по мере увеличения концентрации. Далее характер зависимости при критической концентрации мицеллообразования (ККМ) резко меняется – значения поверхностного натяжения остаются постоянными. ККМ определяли по точке перегиба кривой $\sigma = f(C)$.

При определенной величине критической концентрации ГК в системе формируются мицеллы из макромолекул, не обладающих

поверхностной активностью и не вызывающих дальнейшего снижения поверхностного натяжения растворителя на границе раздела фаз. Амфифильный характер строения ГК способствует формированию супрамолекулярных агрегатов – мицелл при ассоциации относительно малых гетерогенных молекул за счет слабых Ван-дер-Ваальсовых взаимодействий.

Комплексообразующие свойства

Для более глубокого понимания механизмов формирования и функционирования природных поликомплексов целесообразным представляется изучение полиэлектролитных взаимодействий ГНА с поверхностно-активными веществами. Такие соединения являются близкими аналогами биосистем, участвующих в самоорганизации и функционировании. Комплексы биополимеров с ПАВ приобретают новые свойства, в частности могут быть перспективными с точки зрения стабилизации ферментов.

Проведены исследования взаимодействия ГНА с катионным ПАВ – цетилпиридиний бромидом (ЦПБ), который является четвертичным аммониевым основанием, образующим в водном растворе мицеллы. В

Таблица 4

Поверхностная активность ГNa и ЦПБ

Реагент	Молекулярная масса, а. е. м.	Поверхностная актив- ность G, мДж·м/кмоль	Коэффициенты уравнения: $y = a \cdot C + b$		Коэффициент парной корреляции, R ²
			а	в	
ЦПБ	402	3690	-3690	72,5	0,97
ГNa	36700	42,3	-42,3	72,5	0,99

работе изучены тензиометрические характеристики реакционных смесей ЦПБ с ГNa на границе раздела жидкость-газ. При низких концентрациях компонентов доминируют электростатические взаимодействия между поверхностно-активными ионами и противоположно заряженными ионами ПЭ. С увеличением концентрации компонентов возрастает роль гидрофобных взаимодействий между неполярными участками ПЭ и ПАВ. Связывание молекул ионных ПАВ полиэлектролитом при постепенном увеличении концентрации компонентов приводит к образованию комплексов ПАВ/ПЭ и последующему формированию мицеллоподобных структур (рис. 4).

Полученные результаты можно объяснить с позиций представлений образования комплексов ПАВ/ПЭ. Добавление небольших количеств катионного ПАВ приводит к образованию комплексов с преобладанием электростатических взаимодействий. Образующийся комплекс более гидрофобен, чем ПЭ за счет частичного блокирования заряда полианиона ГNa катионом ЦПБ, имеет большую поверхностную активность и в большей мере снижает поверхностное натяжение, чем ГNa.

В системе ЦПБ–ГNa, как показывают данные табл. 4 и рис. 4, ПЭ обладает меньшей поверхностной активностью, чем ПАВ.

В реакционной смеси ЦПБ–ГNa гумат натрия оказывает доминирующее влияние на поверхностное натяжение смеси. Весь ЦПБ связывается с относительно низко поверхностно-активным ГNa и поэтому поверхностное натяжение смеси выше, чем раствора

ЦПБ при той же концентрации. Наблюдается существенное отклонение между расчетной и экспериментальной зависимостью $\sigma = f(C)$. Неаддитивный характер изменения поверхностного натяжения с увеличением Z указывает на взаимодействие макромолекул ГNa и ЦПБ в реакционных смесях.

Таким образом, благодаря наличию карбоксильных и гидроксильных групп макромолекулы ГNa в водных растворах отрицательно заряжены и могут взаимодействовать с положительно заряженными группами ЦПБ, который является катионным ПАВ, с образованием ПАВ – полиэлектролитных (полимер коллоидных) комплексов. Этот вывод подтверждается данными о поверхностных свойствах реакционных смесей ЦПБ–ГNa.

Сорбционные свойства

В настоящее время хорошо известно, что взаимодействие тяжелых металлов с ГК происходит преимущественно по механизму образования комплексных соединений с координационной связью ГК – металл [3]. Координация осуществляется через атом кислорода донорных групп (метоксильных, карбоксильных, фенольных) ГК. Возможен и ионный обмен за счет ионов водорода кислородсодержащих функциональных групп ГК. Кислотные и полиэлектролитные свойства, в конечном итоге, определяют реакционную способность ГК, которые играют важную роль в процессах миграции тяжелых металлов, радионуклидов и органических экотоксикантов, контролируя их геохимические потоки в окружающей среде.

Таблица 5

Параметры сорбции катионов Cd^{2+} и Pb^{2+} ГК в статических условиях при 296 К

Образец	Уравнение Ленгмюра		Уравнение Фрейндлиха		По уравнению теории БЭТ	
	G_{∞} , мг/г	k	β , мг/г	n	A_m , мг/г	k
Pb^{2+}	89,286	0,034	4,988	0,435	54,350	31,600
Cd^{2+}	20,576	0,407	3,592	0,422	23,36	21,4

Выяснение механизма сорбции тяжелых металлов ГК требует предварительной оценки их сорбционной активности, изучения кинетики сорбции, получения равновесных изотерм сорбции и расчета предельной сорбционной емкости по известным моделям моно- и полимолекулярной адсорбции. В результате исследований установлено, что равновесие в изучаемой системе достигается в течение первых 10 мин. контакта фаз. Полученные данные использовали в дальнейшем для планирования и проведения эксперимента по изучению сорбции Pb^{2+} и Cd^{2+} из водных растворов ГК.

Расчет сорбционной способности ГК по отношению к ионам Cd^{2+} и Pb^{2+} проводили с помощью уравнений изотерм Фрейндлиха, Ленгмюра (теории мономолекулярной адсорбции), а также уравнения Брунауэра, Эммета и Теллера (теория БЭТ), описывающего полимолекулярную адсорбцию. Использование для обработки экспериментальных данных разных уравнений обусловлено неоднородностью сорбционных центров ГК, а также характером изотерм сорбции [4, 58-64].

Основные области диссоциации карбоксильных и фенольных гидроксильных групп характеризуются рК 4,4 и 9,2 соответственно. Следовательно, изотерма сорбции вряд ли может быть однородной во всем диапазоне насыщения ГК ионами металла. При этом в реальных условиях возможно наложение зависимостей, характеризующих сорбцию ионов металлов с участием функциональных групп разных типов [8, 71-75]. Предельная сорбция и коэффициенты к уравнениям изотерм сорбции представлены в табл. 5.

Как видно из табл. 2 и 5, для исследованных образцов наблюдается хорошее соответствие

результатов определения карбоксильных групп и сорбционных характеристик ГК, рассчитанных по уравнению Ленгмюра ($R^2 = 0,4634$ – умеренная корреляция) и согласно теории БЭТ ($R^2 = 0,9972$ – значимая корреляция).

Сорбционная способность ионов сильно зависит от радиуса иона и плотности заряда. Из двух ионов одинакового заряда большую сорбционную способность проявляют ионы большего радиуса, т. к. они сильнее поляризованы и лучше притягиваются заряженной поверхностью сорбента, а ионы меньшего радиуса более склоны к гидратации и формированию гидратной оболочки, снижающей такое электростатическое взаимодействие. Радиус иона кадмия составляет 0,099 нм, а радиус иона свинца – 0,126 нм, следовательно, сорбционная емкость сорбентов по отношению к ионам свинца должна быть выше, чем по отношению к ионам кадмия.

Таким образом, количественные характеристики процесса сорбции ионов тяжелых металлов ГК позволяют характеризовать их как высокоактивные природные сорбенты.

Выводы

Экспериментально показано, что сорбционные и комплексообразующие свойства макромолекул ГК в растворах определяются структурно-функциональными особенностями макромолекул и полиэлектролитной природой ГК. На основании экспериментальных данных по сорбции гуминовыми кислотами катионов Pb^{2+} и Cd^{2+} доказана принципиальная возможность применения гуминовых кислот, выделенных из верхового торфа, в качестве сорбентов тяжелых металлов.

Установлено, что благодаря наличию карбоксильных и гидроксильных групп макромолекулы ГNa в водных растворах отрицательно заряжены и могут взаимодействовать с положительно заряженными группами цетилпиридиний бромида, с образованием полимер коллоидных комплексов. При создании полимерных матриц для иммобилизации ферментов на основе природных ПЭ и комплексов с их участием в качестве комплексообразователя, могут быть использованы гуминовые кислоты, функциональный состав которых открывает широкие перспективы для их модификации.

Перспективность проведения исследований в области полимерных комплексов и сорбционных свойств ГК определяется для Архангельской области значительными ресурсами торфа, возможностью создания на их основе доступных и эффективных функциональных полимерных материалов различного назначения.

ЛИТЕРАТУРА:

1. Закис Г.Ф. Функциональный анализ лигнинов и их производных Рига: Зинатне, 1987. 230 с.
2. Климова В.А. Основные микрометоды анализа органических соединений. М.: «Химия», 1975. 224 с.
3. Куликова Н.А. Защитное действие гуминовых веществ по отношению к растениям в водных и почвенных средах в условиях абиотических стрессов: Дисс... докт. биол. наук. М.: МГУ, 2008. 302 с.
4. Минкина Т.М., Пинский Д.Л., Самохин А.П., Статовой А.А. Поглощение меди, цинка и свинца черноземом обыкновенным при моноэлементном и полиэлементном загрязнении // *Агрохимия*. 2005. № 8. С. 58-64.
5. Орлов Д.С. Гумусовые кислоты почв. М.: МГУ. 1974. 177 с.
6. Орлов Д.С., Садовникова Л.К., Суханова Н.И. *Химия почв*. М.: «Высшая школа». 2005. 558 с.
7. Перминова И.В. Анализ, классификация и прогноз свойств гумусовых кислот: Автореферат дисс... докт. хим. наук 2000. 50 с.
8. Портнова А.В., Вельхин В.В. Иммобилизация ионов меди (II) гуминовой кислотой, переведенной в малорастворимое состояние // *Вестник НУ им. Н.И. Лобачевского*. 2008. № 4.
9. Стокс Р., Робинсон Р. Растворы полиэлектролитов. М., 1963. 647 с.
10. Хилько С.Л., Титов Е.В. Физико-химические свойства солей гуминовых кислот // *Химия твердого топлива*. 2006. № 3.

УДК 539.6

Стовбун С.В., Михайлов А. И., Скоблин А. А.

Институт химической физики имени Н.Н. Семенова РАН (г. Москва)

ОПРЕДЕЛЕНИЕ ПОНЯТИЯ НАНОРАЗМЕРНОСТИ ЧЕРЕЗ ЭНЕРГЕТИЧЕСКИЙ СПЕКТР ОБЪЕКТОВ

S. Stovbun, A. Mikhailov, A. Skoblin

N.N. Semenov Institute of Chemical Physics of RAS (Moscow)

DEFINITION OF NANOPARTICLES THROUGH THE ENERGY SPECTRUM OF OBJECTS

Аннотация. Предложено физически корректное определение наночастицы как объекта, у которого расстояния между соседними энергетическими уровнями, определяющие его физико-химические свойства, имеют порядок фактически существующей на поверхности Земли температуры. Размер такого объекта оказывается равным нескольким нанометрам, что обосновывает интуитивистское метрическое определение нанобъекта, опирающееся на размер атомов и молекул. Рассмотрена связь спектрального определения нанобъектов и антропного принципа.

Abstract. The article offers physically correct definition of nanostructure as an object for which the distances between adjacent energy levels that determine its physical and chemical properties has the same order of temperature that exists on the Earth surface. The size of such an object is equal to several nanometers, which justifies the definition of nanostructure, based on the size of atoms and molecules. The relationship between nanoobjects and the anisotropic principle based on spectral determination is considered.

Ключевые слова: нанобъект, наноразмерность, энергетический уровень, предбиологические структуры, потенциальная яма

Key words: nanoobject, nanosized, energy level, prebiological structure, potential well

Традиционное определение наночастиц, нанотехнологии и комплекса связанных с ними понятий, обозначаемых термином наноразмерность, восходит к размеру атома, составляющему несколько десятых долей нанометра. Соответственно, объекты, состоящие из актуально конечного количества атомов или молекул, имеют размер от одного до нескольких десятков нанометров. Эти соображения приводят к метрическому определению наноразмерности [5]:

$$L \sim 1 - 100 \text{ нм} = 10^{-9} - 10^{-7} \text{ м.} \quad (1)$$

С нанобъектами связываются большие надежды: овладение манипуляциями с ними должно обеспечить принципиально новые возможности для человечества [7].

Рассмотренное выше «метрическое» определение наноразмерности является интуити-

вистским, так как не опирается на физические значимые основания, объясняющие уникальность свойств нанообъектов. Поставим задачу сформулировать физически обоснованное определение понятия нанообъекта. Для этого прежде всего заметим, что основной частицей, с поведением которой связаны химические, электрические, механические и другие свойства реальных физических тел, является электрон. Любые изменения, происходящие в физических телах, сопровождаются переходами электронов из одного энергетического состояния в другое и связаны с изменением энергии, обыкновенно соответствующей *разности энергий соседних электронных уровней*. Поэтому определение физических свойств тела естественно связать с указанными спектральными понятиями, соответствующими реальным физическим изменениям объектов.

Далее отметим, что существует естественная энергетическая единица, опирающаяся на среднюю температуру, имеющуюся на поверхности Земли:

$$T \sim 300 \text{ К}, \quad kT \sim (1/2) 10^{-20} \text{ Дж}, \quad (2)$$

где k – постоянная Больцмана.

Физические объекты естественно считать:

– существенно квантовыми, если разница ΔE между уровнями энергии соседних состояний объекта существенно больше температуры, выраженной в энергетических единицах:

$$\Delta E \gg kT, \quad (3)$$

так что соседние квантовые состояния объекта термически не перемешиваются и хорошо различимы;

– макроскопическими в противоположной ситуации, то есть когда расстояния между энергетическими уровнями малы в сравнении с температурой:

$$\Delta E \ll kT, \quad (4)$$

так что целые группы соседних состояний объекта практически неразличимы, что обеспечивает равновесное поведение макроскопического тела в виде термически активированного блуждания отвечающей ему фазовой точки по энергетической поверхности в фазовом пространстве и позволяет построить термодинамику макроскопических объектов [2];

– промежуточными, когда две рассматриваемые величины оказываются одного порядка:

$$\Delta E \sim kT. \quad (5)$$

Свойства таких объектов должны значительно отличаться как от свойств существенно квантовых объектов (атомов и молекул), так и от свойств макроскопических тел.

Энергетические уровни реальных физических объектов определяются, как правило, энергиями электронных состояний при заданном положении атомных ядер [3]. Поэтому для оценки энергии объектов воспользуемся простой одноэлектронными моделью. Именно, рассмотрим электрон в бесконечно глубокой сферической потенциальной яме диаметра D . Такая яма моделирует систему из достаточно большого количества атомов, внутри которой электрон связан усредненным потенциалом притяжения к атомам. Рассматривая сферически симметричные решения, получим спектр разрешенных энергий [3]:

$$E_n = (2 \pi^2 \hbar^2 / m \cdot D^2) n^2 \quad (n = 1, 2, 3 \dots), \quad (6)$$

где $\hbar$ – постоянная Планка, m – масса электрона. Характерное расстояние между уровнями составит:

$$\Delta E \sim 2 \pi^2 \hbar^2 / m \cdot D^2. \quad (7)$$

Подставляя (7) в (5), получим значение характерного размера потенциальной ямы, отвечающей объекту, промежуточному между макроскопическим и существенно квантовым:

$$D \sim (2 p^2 h^2 / m \cdot k \cdot T)^{1/2} \sim 7 \cdot 10^{-9} \text{ м} = 7 \text{ нм.} \quad (8)$$

Теперь рассмотрим случай, когда яма диаметра D имеет характерную глубину U , и потенциал не постоянен внутри ямы. Прежде всего отметим, что если яма является достаточно мелкой, а именно, если характерное значение потенциала U удовлетворяет неравенству:

$$U \ll h^2 / m \cdot D^2, \quad (9)$$

то, в соответствии с классическим результатом Пайерлса, такая яма вообще не имеет связанных состояний [3].

Пусть теперь яма является умеренно глубокой, а именно, выполняется соотношение:

$$U \sim h^2 / m \cdot D^2. \quad (10)$$

Электрон в такой яме имеет импульс, все три компоненты которого, в соответствии с соотношением неопределенности, имеют следующий порядок:

$$P_x \sim P_y \sim P_z \sim h / m \cdot D. \quad (11)$$

Соответственно, кинетическая энергия электрона T^* имеет порядок:

$$T^* \sim (P_x^2 + P_y^2 + P_z^2) / 2m \sim 3 h^2 / 2m \cdot D^2. \quad (12)$$

Будем полагать, что движение электрона в яме является квазиклассическим и периодическим во времени (что соответствует связанному состоянию). Тогда средняя за период потенциальная $\langle U^* \rangle$ и кинетическая $\langle T^* \rangle$ энергии электрона совпадают [4]:

$$\langle U^* \rangle \sim \langle T^* \rangle \sim 3 h^2 / 2m \cdot D^2, \quad (13)$$

а потому средняя за период полная энергия $\langle E^* \rangle$ электрона составляет:

$$\langle E^* \rangle \sim 3 h^2 / m \cdot D^2. \quad (14)$$

Расстояния между соседними энергетическими уровнями должны иметь тот же порядок величины, что и значения энергии:

$$\Delta E \sim 3 h^2 / m \cdot D^2. \quad (15)$$

Для того, чтобы объект был промежуточным между существенно квантовыми и классическими объектами, необходимо выполнение соотношения (5). С его учетом получаем из (15) оценку на размер объекта:

$$D \sim (3 h^2 / m \cdot k \cdot T)^{1/2} \sim 2 \cdot 10^{-9} \text{ м} = 2 \text{ нм.} \quad (16)$$

Таким образом, во всех рассмотренных случаях оказывается, что объект, промежуточный между существенно квантовым и макроскопическим в смысле его энергетического спектра, оказывается нанообъектом в метрическом смысле. Полученный результат позволяет придать понятиям «нано-размерность» и «нанообъект» конкретный физический смысл: *нанообъект — это объект, у которого расстояния между соседними энергетическими уровнями сопоставимы с фактически имеющейся на поверхности Земли температурой*. Полученный результат можно сформулировать иначе: для объектов размером в несколько диаметров молекул расстояние между энергетическими уровнями имеет порядок характерной температуры на Земле. Дадим интерпретацию этому факту.

Отметим, что существование нанообъектов – необходимая предпосылка возникновения предбиологических структур. Если температура в какой-либо области много больше разницы между уровнями энергии наносистем, то в этой области наносистемы быстро термически разрушаются. Если где-либо температура много меньше разницы между уровнями энергии наносистем, то

наносистемы там «замерзают», то есть стабилизируются в конкретном состоянии наподобие кристалла. В обоих случаях оказывается невозможным устойчивое движение достаточно стабильных наносистем, то есть существование предбиологических структур с развитой молекулярной динамикой, а с ними и жизнь. Это позволяет сформулировать вывод в духе антропного принципа [1]: *совпадение расстояний между соседними энергетическими уровнями объектов размером в несколько молекулярных диаметров и характерной температуры на поверхности Земли связано с тем, что только при наличии такого совпадения на Земле может су-*

ществовать жизнь.

ЛИТЕРАТУРА:

1. Базь А.И., Зельдович Я.Б., Переломов А.М. Рассеяние, реакции и распады в нерелятивистской квантовой механике. М.: Наука, 1966. 544 с.
2. Ландау Л.Д., Лифшиц Е.М. Теоретическая физика. Статистическая физика. Т. V. Ч. 1. Изд. 3. М.: Наука, 1976. 584 с.
3. Ландау Л.Д., Лифшиц Е.М. Теоретическая физика. Квантовая механика. Т. III., нерелятивистская теория. Изд. 3. М.: Наука, 1974. 752 с.
4. Ландау Л.Д., Лифшиц Е.М. Теоретическая физика. Механика. Т. I.. Изд. 3. М.: Наука, 1973. 208 с.
5. Baraton M.I. Synthesis, Functionalization and Surface Treatment of Nanoparticles. L.A.: Am. Sci., . 2002. 323 p.
6. Barrow J.D., Tipler F.J. The Anthropic Cosmological Principle. Oxford: Oxford University Press, 1986. 706 p.
7. Drexler K.E. Engines of Creation. The Coming Era of Nanotechnology. N.Y.: Anchor Books, 1986. 646 p.

НАШИ АВТОРЫ

Аббасов Вагиф Магеррам оглы, член корреспондент Национальной академии наук Азербайджана, заведующей лабораторией Института нефтехимических процессов им. Ю. Мамедалиева Национальной академии наук Азербайджана; e-mail: azmbi@mail.ru

Абиев Гусейн Азизулла оглы, кандидат биологических наук, доцент, докторант Института радиационных проблем Национальной академии наук Азербайджана; e-mail: Huseyn.Abiyev@mail.ru

Агабекова Рахила Алекбер кызы, кандидат биологических наук, доцент кафедры микробиологии Бакинского государственного университета; e-mail: azmbi@mail.ru

Аксенов Андрей Сергеевич, кандидат технических наук, заведующий лабораторией Института экологических проблем Севера Уральского отделения Российской академии наук (г. Архангельск); e-mail: biopolimer@iepn.ru

Алесина Надежда Валерьевна, аспирант кафедры ботаники Московского государственного областного университета; e-mail: nva2104@mail.ru

Арешидзе Давид Александрович, кандидат биологических наук, доцент кафедры теории и методики физвоспитания и спорта Московского государственного областного университета; e-mail: labim@stavs.ru

Ахмедова Айнур Фаик кызы, аспирант кафедры биохимии и биотехнологии Бакинского государственного университета; e-mail: azmbi@mail.ru

Ахмедова Фараат Рамазан кызы, доктор биологических наук, профессор кафедры микробиологии Бакинского государственного университета; e-mail: mpanah@mail.ru

Бабаев Эльмар Тофик оглы, младший научный сотрудник группы «Токсикология и биохимия животных ядов» Института зоологии Национальной академии наук Азербайджана; e-mail: Doctor.Elmar@mail.ru

Баскаков Владимир Ильич, научный сотрудник Института химической физики им. Н.Н. Семенова Российской академии наук; e-mail: wowa@panavir.ru

Баурин Павел Витальевич, аспирант кафедры ботаники и основ сельского хозяйства Московского государственного областного университета; e-mail: pavelbaurin@gmail.com

Бельчева Нина Николаевна, кандидат биологических наук, ведущий научный сотрудник Тихоокеанского океанологического института им. В. И. Ильичева Дальневосточного отделения Российской академии наук (г. Владивосток); e-mail: belcheva@poi.dvo.ru

Блажнова Галина Николаевна, магистр медико-биолого-химического факультета Ставропольского государственного университета; e-mail: labim@stavs.ru

Бойцова Татьяна Александровна, кандидат химических наук, старший научный сотрудник Института экологических проблем Севера Уральского отделения Российской академии наук (г. Архангельск); e-mail: tboitsova@yandex.ru

Бровко Ольга Степановна, кандидат химических наук, доцент, научный сотрудник Института экологических проблем Севера Уральского отделения Российской академии наук (г. Архангельск); e-mail: brovko-olga@rambler.ru

Гаврилова Светлана Евгеньевна, кандидат биологических наук, ассистент кафедры ботаники и основ сельского хозяйства Московского государственного областного университета; e-mail: s-e-gavrilova@rambler.ru

Ганина Тамара Дмитриевна; аспирант кафедры геологии и геоэкологии Московского государственного областного университета; e-mail: irinda2142@yandex.ru

Гахраманова Фарида Хосров кызы, кандидат биологических наук, ученый секретарь Института микробиологии Национальной академии наук Азербайджана; e-mail: azmbi@mail.ru

Гусейнова Лала Абуали кызы, кандидат биологических наук, старший лаборант Бакинского государственного университета; e-mail: mpanah@mail.ru

Гюльяхмедов Сахиб Гурбан, кандидат биологических наук, доцент кафедры биохимии и биотехнологии Бакинского государственного университета; e-mail: sahib66@rambler.ru

Занин Анатолий Михайлович, кандидат физико-математических наук, старший научный сотрудник Института химической физики им. Н.Н. Семенова Российской академии наук; e-mail: info@panavir.ru Жуковская Авианна Фаязовна, соискатель, младший научный сотрудник лаборатории морской экотоксикологии Тихоокеанского океанологического Института им. В. И. Ильичева Дальневосточного отделения Российской академии наук (г. Владивосток); e-mail: avianna@poi.dvo.ru

Зверькова Юлия Сергеевна, доцент Военной академии войсковой противовоздушной обороны Вооруженных Сил Российской Федерации им. Маршала Советского Союза А. М. Василевского; e-mail: julia-150880@yandex.ru

Катунина Людмила Семеновна, кандидат биологических наук, старший научный сотрудник лаборатории питательных сред Ставропольского научно-исследовательского противочумного института; e-mail: labim@stavsu.ru

Коничев Александр Сергеевич, доктор биологических наук, профессор, почетный работник высшего профессионального образования РФ, директор Естественно-экологического института, научный руководитель научно-исследовательской лаборатории экологической биохимии Московского государственного областного университета; e-mail: pavelbaurin@gmail.com

Костяновский Рэмир Григорьевич, профессор, доктор химических наук, заведующий лабораторией стереохимии Института химической физики им. Н.Н. Семенова Российской академии наук; e-mail: kost@center.chph.ras.ru

Кузнецова Ирина Андреевна, аспирант Института экологических проблем Севера Уральского отделения Российской академии наук (г. Архангельск); e-mail: kia.iepn@gmail.com

Кулиев Акиф Алекбер оглы, доктор биологических наук, профессор, декан биологического факультета Бакинского государственного университета; e-mail: sahib66@rambler.ru

Курчева Светлана Александровна, научный сотрудник научно-производственной лаборатории препаратов для диагностики особо опасных и других инфекций Ставропольского научно-исследовательского противочумного института; e-mail: kurcheva@yandex.ru

Кучеров Владимир Анатольевич, заместитель генерального директора по маркетингу, рекламе и продажам ООО «Био Фарма»; e-mail: kucherov@panavir.ru

Ларионов Николай Сергеевич, кандидат химических наук, научный сотрудник Института экологических проблем Севера Уральского отделения Российской академии наук (г. Архангельск); e-mail: nikolay.larionov@iepn.ru

Ларичев Тимофей Сергеевич, соискатель кафедры биологии животных и растений Московского городского педагогического университета; e-mail: naren@yandex.ru

Лукьянова Татьяна Семеновна, доктор географических наук, профессор кафедры геологии и геоэкологии Московского государственного областного университета; e-mail: dekanat_gef@mail.ru

Марахова Анна Игоревна, кандидат фармацевтических наук, ассистент кафедры фармакогнозии Первого Московского государственного медицинского университета им. И.М. Сеченова; e-mail: pavelbaurin@gmail.com

Матвеев Николай Петрович, кандидат географических наук, профессор кафедры общей физической географии и охраны природы Московского государственного областного уни-

верситета; e-mail: dekanat_gef@mail.ru

Михайлов Альфа Иванович, профессор, доктор химических наук, старший научный сотрудник Института химической физики им. Н.Н. Семенова Российской академии наук; e-mail: alfaim@mail.ru

Мартышов Александр Владимирович, аспирант кафедры безопасности жизнедеятельности Московского городского педагогического университета; e-mail: alex.markus@mail.ru

Мехрабова Метанет Ахмедовна, кандидат физико-математических наук, доцент, ведущий научный сотрудник Института радиационных проблем Национальной академии наук Азербайджана; e-mail: Mehrabova@mail.ru

Мурадов Панах Зулфигар оглы, доктор биологических наук, член-корреспондент Национальной академии наук Азербайджана, заместитель директора Института микробиологии Национальной академии наук Азербайджана; e-mail: mpanah@mail.ru

Никитина Мария Викторовна, аспирант, ассистент кафедры химии Поморского государственного университета им. М.В. Ломоносова (г. Архангельск); e-mail: fc.chemistry@pomorsu.ru

Панков Сергей Александрович, кандидат экономических наук, доцент Ставропольского государственного университета, e-mail: snisarenko_t@rambler.ru

Паламарчук Ирина Анатольевна, кандидат химических наук, старший научный сотрудник Института экологических проблем Севера Уральского отделения Российской академии наук (г. Архангельск); e-mail: IrPalamarchuk@mail.ru

Пенькова Надежда Ивановна, аспирант Ставропольского государственного университета, e-mail: labim@stavs.ru

Поликарпова Людмила Викторовна, научный сотрудник лаборатории экологической биохимии Московского государственного областного университета; e-mail: ljudmilapolikarpova@yandex.ru

Попова Людмила Федоровна, кандидат химических наук, профессор Российской академии естествознания, доцент кафедры химии Поморского государственного университета им. М.В. Ломоносова (г. Архангельск); e-mail: ludap9857@pochta.ru

Снисаренко Татьяна Александровна, доктор биологических наук, профессор Московского государственного областного университета; e-mail: snisarenko_t@rambler.ru

Расулзаде Злата Ислам кызы, диссертант Республиканской противочумной станции им. С. Имамалиева Министерства здравоохранения Республики Азербайджан (г.Баку); e-mail: zlata_r@rambler.ru

Расулова Гюлшан Р., диссертант Института микробиологии Национальной академии наук Азербайджана; e-mail: azmbi@mail.ru

Рачков Игорь Геннадьевич, кандидат биологических наук, ведущий научный сотрудник лаборатории свиноводства Ставропольского научно-исследовательского института животноводства и кормопроизводства; e-mail: RIGEN26@mail.ru

Сафронов Дмитрий Юрьевич, старший научный сотрудник Института химической физики им. Н.Н. Семенова Российской академии наук; e-mail: dy@panavir.ru

Скоблин Алексей Алексеевич, кандидат физико-математических наук, научный сотрудник Института химической физики им. Н.Н. Семенова Российской академии наук; e-mail: info@panavir.ru

Слобдскова Валентина Владимировна, младший научный сотрудник Тихоокеанского океанологического институт им. В.И. Ильичева Дальневосточного отделения Российской академии наук; e-mail: chelomin@poi.dvo.ru

Солодова Евгения Евогеньевна, научный сотрудник Тихоокеанского океанологического института им. В.И. Ильичева Дальневосточного отделения Российской академии наук; e-mail: chelomin@poi.dvo.ru

Старцева Ольга Леонидовна, кандидат биологических наук, старший научный сотрудник лаборатории питательных сред Ставропольского научно-исследовательского противочумного института; e-mail: labim@stavsus.ru

Стовбун Сергей Витальевич, кандидат физико-математических наук, старший научный сотрудник Института химической физики им. Н.Н. Семенова Российской академии наук; e-mail: info@panavir.ru

Сушкова Ирина Владимировна, аспирант кафедры геологии и геоэкологии Московского государственного областного университета; e-mail: irinda2142@yandex.ru

Таран Татьяна Викторовна, доктор медицинских наук, заведующая лабораторией питательных сред Ставропольского научно-исследовательского противочумного института; e-mail: labim@stavsus.ru

Тимченко Людмила Дмитриевна, доктор ветеринарных наук, профессор кафедры общей биологии, академик Российской академии естественных наук, заведующая Проблемной научно-исследовательской лаборатории экспериментальной иммуноморфологии, иммунопатологии и иммунобиотехнологии Ставропольского государственного университета, главный научный сотрудник Южного научного центра Российской академии наук; e-mail: labim@stavsus.ru

Топчиева Шафига Аниваровна, доктор биологических наук, главный научный сотрудник, руководитель группы «Токсикология и биохимия животных ядов» Института зоологии Национальной академии наук Азербайджана; e-mail: Shtopchiyeva@mail.ru

Фарзалиев Талех Надир Оглы, начальник отдела контроля качества ООО «Био Фарма»; e-mail: taleh@panavir.ru

Федоровский Николай Николаевич, кандидат химических наук, профессор кафедры неорганической химии Московского государственного университета технологий и управления им. К.Г. Разумовского; e-mail: pavelbaurin@gmail.com

Филоненко Андрей Владимирович, аспирант кафедры ботаники биолого-химический факультета Московского педагогического государственного университета; e-mail: avfilonenko@yandex.ru

Чекамеева Вера Леонидовна; тренинг-менеджер ООО «Био Фарма»; e-mail: vera@panavir.ru

Челомин Виктор Павлович, доктор биологических наук, старший научный сотрудник Тихоокеанского океанологического института им. В. И. Ильичева Дальневосточного отделения РАН (г. Владивосток); e-mail: chelomin@poi.dvo.ru

Черников Сергей Валерьевич, аспирант кафедры общей биологии Ставропольского государственного университета. E mail: labim@stavsus.ru

Черникова Мария Александровна, студентка фармацевтического факультета Первого Московского государственного медицинского университета им. И.М. Сеченова; e-mail: pavelbaurin@gmail.com

Якубович Любовь Михайловна, кандидат химических наук, доцент кафедры химии медико-профилактического факультета Первого Московского государственного медицинского университета им. И.М. Сеченова; e-mail: pavelbaurin@gmail.com