

УЧЕНЫЕ ЗАПИСКИ

**КРЫМСКОГО ФЕДЕРАЛЬНОГО
УНИВЕРСИТЕТА имени В. И. ВЕРНАДСКОГО.
БИОЛОГИЯ. ХИМИЯ**

Научный журнал

Том 5 (71), № 3

Журнал «Ученые записки Крымского федерального
университета имени В. И. Вернадского. Биология. Химия»
является историческим правопреемником журнала «Ученые записки
Таврического университета», который издается с 1918 г.

**Крымский федеральный университет имени В. И. Вернадского
Симферополь, 2019**

Свидетельство о регистрации СМИ – ПИ № ФС77-61791 от 18 мая 2015 года.
Выдано Федеральной службой по надзору в сфере связи,
информационных технологий и массовых коммуникаций.

**Учредитель – ФГАОУ ВО «Крымский федеральный университет имени В. И. Вернадского»
Печатается по решению Научно-технического совета Крымского федерального
университета имени В. И. Вернадского, протокол № 7 от 13 сентября 2019 г.**

Журнал включен в Перечень рецензируемых научных изданий, в которых должны быть опубликованы
основные научные результаты диссертаций на соискание ученой степени кандидата наук, на соискание
ученой степени доктора наук, отрасль науки 03.02.00 – общая биология, 03.03.00 – физиология,
02.00.00 – химические науки, дата включения – 12.07.2017, а также в систему «Российский индекс
научного цитирования» (РИНЦ)

**Редакционная коллегия журнала «Ученые записки Крымского федерального
университета имени В. И. Вернадского. Биология. Химия»:**

Главный редактор – Чуян Елена Николаевна, д. б. н., проф.

Ответственный секретарь – Туманянц К. Н., к. б. н., доц.

Технический редактор – Ярмлюк Н. С., к. б. н., доц.

Раздел «Биология»:

1. Диатроптов Михаил Евгеньевич, д. б. н., с. н. с.
2. Ивашов Анатолий Васильевич, д. б. н., проф.
3. Колесников Сергей Ильич, д. с-х. н., проф.
4. Коношенко Светлана Владимировна, д. б. н., проф.
5. Коренюк Иван Иванович, д. б. н., проф.
6. Котов Сергей Федорович, к. б. н., доц.
7. Лебедева Наталья Николаевна, д. б. н., проф.
8. Новоселов Владимир Иванович, д. б. н., проф.
9. Павленко Владимир Борисович, д. б. н., проф. (редактор раздела «Биология»)
10. Перов Сергей Юрьевич, д. б. н., в. н. с.
11. Плугатарь Юрий Владимирович, д. б. н., член-корр. РАН
12. Рубцова Нина Борисовна, д. б. н., проф.
13. Рябинина Зинаида Николаевна, д. б. н., проф.

Раздел «Химия»:

14. Гришковец Владимир Иванович, д. х. н., проф. (редактор раздела «Химия»)
15. Гусев Алексей Николаевич, д. х. н., проф.
16. Еременко Игорь Леонидович, академик РАН
17. Земляков Александр Евгеньевич, д. х. н., проф.
18. Кукушкин Вадим Юрьевич, член-корр. РАН
19. Новоторцев Владимир Михайлович, академик РАН
20. Панюшкин Виктор Терентьевич, д. х. н., проф.
21. Шульгин Виктор Федорович, д. х. н., проф.

Подписано в печать 16.09.2019. Формат 70x100 1/16.

Заказ № НП/126. Тираж 50. Индекс, цена.

Дата выхода в свет «__» _____ 2019 г.

Отпечатано в управлении редакционно-издательской деятельности

ФГАОУ ВО «КФУ имени В. И. Вернадского»

Адрес редакции, издательства и типографии:

295051, г. Симферополь, бул. Ленина, 5/7

<http://sn-biolchem.cfuv.ru>

БИОЛОГИЧЕСКИЕ НАУКИ

Ученые записки Крымского федерального университета имени В. И. Вернадского

Биология. Химия. Том 5 (71). 2019. № 3. С. 3–11.

УДК 581.8:577

ГИСТОХИМИЧЕСКОЕ ВЫЯВЛЕНИЕ ЭФИРНЫХ МАСЕЛ В ЛИСТЬЯХ ЛАВАНДИНА И КАЧЕСТВО ВЫДЕЛЕННОЙ ДНК В СВЯЗИ С АНАТОМИЧЕСКИМИ ОСОБЕННОСТЯМИ

Булавин И. В., Браилко В. А., Митрофанова И. В.

*ФГБУН «Ордена Трудового Красного Знамени Никитский ботанический сад –
Национальный научный центр РАН», Ялта, Российская Федерация
E-mail: labgennbs@yandex.ru*

Исследовано накопление включений с эфирными маслами в тканях листовых пластинок лавандина сорта Рабат, культивируемого *in vitro* и *ex situ*. Осуществлено выделение ДНК из листьев микропобегов *in vitro* и растений *ex situ* при помощи двух коммерческих наборов: PureLink® Plant Total DNA Purification Kit (Thermo Scientific™, USA) и NucleoSpin® Plant II Midi kit (Macherey Nagel, Germany). При помощи спектрофотометрического анализа и автоматизированной системы для электрофореза произведена оценка качества и количества ДНК. На основе полученных данных сделаны выводы о предпочтительном методе выделения ДНК из листьев лавандина для молекулярных исследований.

Ключевые слова: лавандин *in vitro* и *ex situ*, листья, эфирное масло, судан III, выделение ДНК.

ВВЕДЕНИЕ

Эфиромасличные растения являются возобновляемым источником сырья, которое используется в медицине и производстве парфюмерно-косметических средств [1]. Общее число эфирномасличных растений мировой флоры оценивается в 2500–3000 видов. Основными семейства, включающими большее число эфирномасличных растений, являются Lamiaceae, Apiaceae, Asteraceae [2]. В Крыму среди представителей эфиромасличных культур из семейства Lamiaceae лаванда входит в число наиболее культивируемых растений [3]. В селекции ароматических культур отбор растений происходит по качественному и количественному выходу эфирных масел [4]. Важным направлением селекции является создание и внедрение высокопродуктивных сортов путем межсортовой и межлинейной гибридизации [5]. Перспективным межвидовым гибридом лаванды является лавандин (лаванда гибридная, *Lavandula × intermedia* Emeric ex Loisel) [6]. По урожаю цветочного сырья и содержанию эфирного масла лучшие клоны лавандина превосходят лаванду в 1,5–2,0, а по сбору эфирного масла с гектара – в 4 раза [5]. Для мультипликации элитных клонов лавандина используются клональное микроразмножение, поскольку

растения являются стерильными [7]. Использование молекулярных методов для генотипирования и секвенирования ДНК наиболее выгодных клонов обуславливает получение высококачественной и чистой ДНК, наряду с ее количественным выходом. Чистота ДНК определяется отсутствием белков, полисахаридов и вторичных метаболитов, которые зачастую препятствуют выделению высокомолекулярной нуклеиновой кислоты (НК) [8, 9] и могут снижать эффективность проведения ПЦР, а также получение качественных библиотек для последующего секвенирования, особенно в случае лекарственных и эфиромасличных культур, которые содержат значительные количества вторичных метаболитов [9, 10]. Поэтому целью данной работы было проведение оценки количества и качества ДНК, выделенной из растительного материала лавандина при помощи коммерческих наборов (китов).

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Исходным материалом служили микропобеги лавандина сорта Рабат, культивируемые *in vitro* в фитокапсулах «БИОТРОНА» и растения, выращиваемые *ex situ* в генофондовой коллекции Никитского ботанического сада.

Для анатомических исследований препараты из листовых пластинок изготавливали согласно общепринятым методам [11]; для выявления локализации эфирных масел в тканях листа срезы окрашивали суданом III и исследовали с помощью светового микроскопа CX41 (Olympus, Japan) и программного обеспечения CellSens Imaging Software version 1.17.

Для выделения ДНК неповрежденные молодые листья отделяли от микропобегов и стеблей. Навески переносили в ступки, замораживали в жидком азоте и гомогенизировали с использованием пестика. Измельченные ткани, не допуская их оттаивания, переносили в пробирки с необходимым лизирующим (экстрагирующим) буфером. Далее проводили процедуру выделения согласно протоколам производителей наборов PureLink® Plant Total DNA Purification Kit (Thermo Scientific™, USA) и NucleoSpin® Plant II Midi kit (Macherey Nagel, Germany). Количество и качество ДНК анализировали спектрофотометрически (Implen NanoPhotometer NP80, Germany) при длинах волн A_{260} , A_{280} и A_{230} . Степень фрагментации ДНК оценивали с использованием автоматизированной системы для электрофореза Agilent 4200 TapeStation (Agilent Technologies, Germany). Эксперименты проводили в трех биологических повторностях, результаты обрабатывали статистически с использованием программного обеспечения PAST [12].

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

В результате анатомо-морфологической оценки состояния изучаемого растительного объекта, на поперечных срезах листовых пластинок лавандина *in vitro* и *ex situ* (рис. 1) различали эпидерму, покрытую кутикулой. Под эпидермой находился дифференцированный мезофилл с губчатой и столбчатой паренхимой. Во внутренних тканях листовой пластинки четко выделялись проводящие пучки от средней и боковых жилок, в которых легко дифференцировали элементы ксилемы и флоэмы. Трихомы и устьица были с двух сторон листовой пластинки.

При окрашивании суданом III установлено накопление эфирного масла в железках, клетках покровной ткани и мезофилле (рис. 2). Визуально в листьях микропобегов лавандина, культивируемого *in vitro*, количество включений с эфирными маслами было меньшим, по сравнению с листьям растений, выращиваемых *ex situ*.

Исходя из вышеизложенного, осуществляли подбор коммерческих наборов для получения "чистой" ДНК из листьев лавандина. Согласно нашим данным, полученным при помощи спектрофотометрического анализа, набор NucleoSpin® Plant II Midi kit давал лучший результат по чистоте и количественному выходу ДНК, по сравнению с PureLink® Plant Total DNA Purification Kit, касательно как листьев от растений *in vitro* так и *ex situ* (таблица). Результаты, полученные спектрофотометрически, подтверждены электрофореграммами (рис. 3). Показатель целостности ДНК (DNA Integrity Number (DIN)) для образцов НК, выделенных из листьев, отделенных от микропобегов *in vitro* и растений *ex situ* при помощи набора PureLink® составлял $8,1 \pm 0,12$ и $8,1 \pm 0,15$, а для NucleoSpin® $9,1 \pm 0,12$ и $9 \pm 0,15$, соответственно.

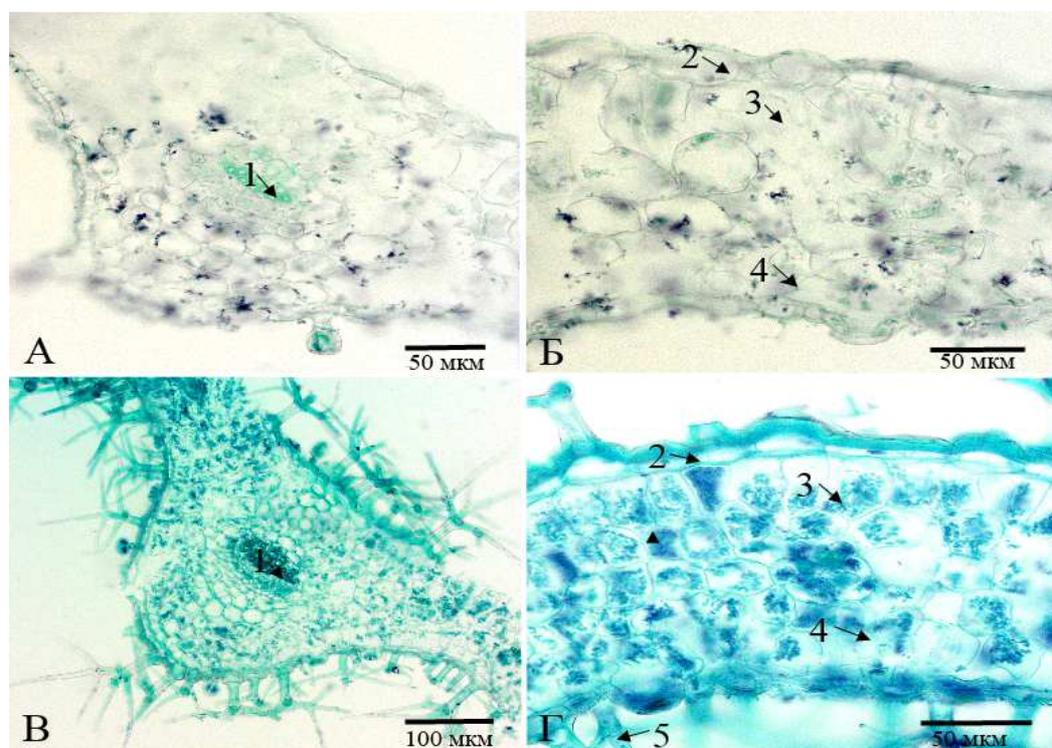


Рис. 1. Анатомия листовой пластинки лавандина сорта Рабат *in vitro* (А, Б) и *ex situ* (В, Г); 1 – проводящий пучок, 2 – эпидерма, 3 – столбчатый мезофилл, 4 – губчатый мезофилл, 5 – трихома.

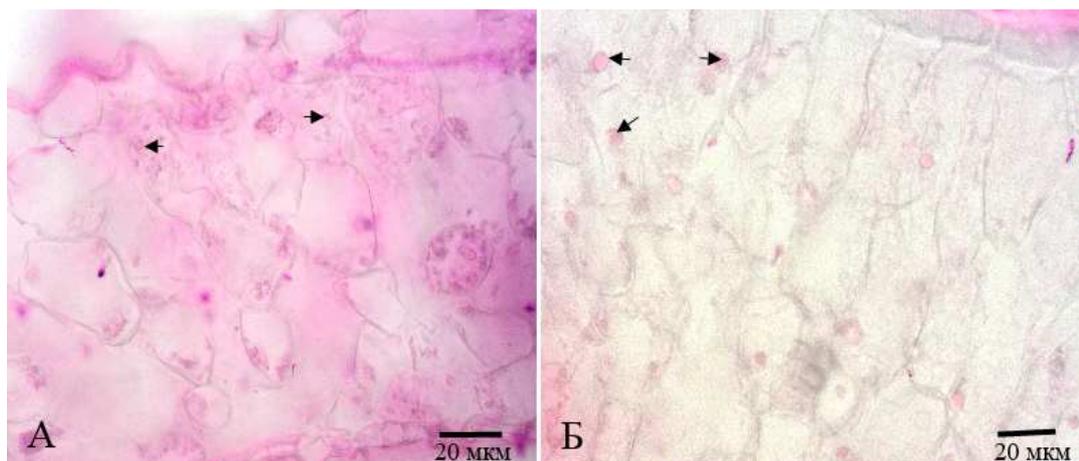


Рис. 2. Гистохимическое окрашивание включений с эфирными маслами (показано стрелками) в листьях лавандина сорта Рабат *in vitro* (А) и *ex situ* (Б).

Таблица

Показатели эффективности выделения ДНК из листьев лавандина, культивируемого *in vitro* и *ex situ*

Культивирование	<i>In vitro</i>		<i>Ex situ</i>	
Набор	Pure Link	Nucleospin	Pure Link	Nucleospin
Показатели				
Вес материала (мг)	101±2	203	102±4,5	206±1
$A_{260/280}$	1,7±0,03	1,9	1,8±0,01	1,8±0,02
$A_{260/230}$	1,6±0,08	2,1	1,2±0,1	2,3±0,11
Концентрация ДНК (нг/мкл)	12,3±1,5	34,6	22,7±1,4	67,5±11,0

При использовании набора PureLink® основная часть 96–98 % и 98–99 % от общей концентрации выделенной ДНК составляли последовательности 18981–21967 и 18338–24766 п.н. с концентрацией 11,1–12,4 и 13,8–18,7 нг/мкл для образцов из листьев, отделенных от микропобегов *in vitro* и растений *ex situ*, соответственно. Для набора NucleoSpin® 98–99 % от общей концентрации составляли последовательности длиной 52836–>60000 и 47477–59252 п.н. с концентрацией 17,2–48,1 и 18,8–25,6 нг/мкл для образцов *in vitro* и *ex situ*.

ГИСТОХИМИЧЕСКОЕ ВЫЯВЛЕНИЕ ЭФИРНЫХ МАСЕЛ В ЛИСТЬЯХ ...

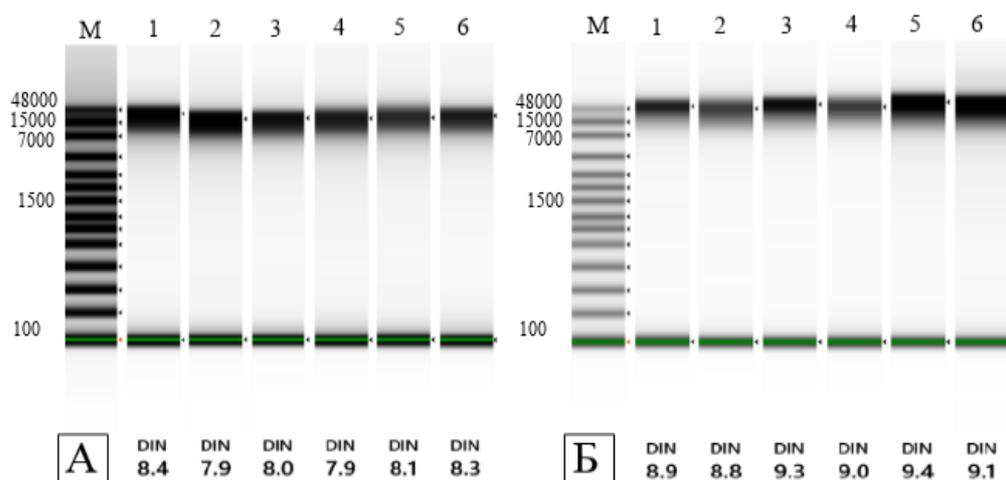


Рис. 3. Электрофореграммы ДНК, выделенной из листьев лавандина: А – набор PureLink® Plant Total DNA Purification Kit, Б – набор NucleoSpin® Plant II Midi kit; М – маркер, 1–3 – образцы ДНК из листьев растений, выращиваемых *ex situ*, 4–6 – образцы ДНК из листьев растений, культивируемых *in vitro*.

Исследования анатомии листьев лавандина сорта Рабат показали накопление эфирных масел в тканях листовых пластинок, что является типичным для данного типа растений. В качестве материала для получения ДНК использовали молодые листья лавандина, поскольку ювенильные органы содержат меньшие количества полисахаридов и других вторичных метаболитов, что способствует получению более качественной ДНК. Спектрофотометрически чистота ДНК определяется при соотношении $A_{260/280}$, характеризующим отсутствие контаминации белками в диапазоне значений 1,8–2,0, и $A_{260/230}$ подтверждающим отсутствие полисахаридов и других вторичных метаболитов в диапазоне значений 2,0–2,2 [9, 13]. Допустимые пороговые значения для $A_{260/230}$ – 1,7, для $A_{260/280}$ – 1,8 [14]. Наши результаты показали, что при использовании набора PureLink® Plant Total DNA Purification Kit значения $A_{260/280}$ находились в допустимых пределах, в то время как $A_{260/230}$ были снижены для листьев растений *ex situ* в 1,33 раза, сравнительно с листьями от микропобегов *in vitro*. NucleoSpin® Plant II Midi kit демонстрировал более стабильные показатели для материала, полученного как *in vitro* так и *ex situ*. Расхождения в чистоте полученной ДНК, возможно, связаны с отличным компонентным составом лизирующих/экстрагирующих буферов. Буфер набора PureLink® содержит SDS/ДСН (додецилсульфат натрия), а NucleoSpin® – СТАВ/ЦТАБ (цетилтриметиламмоний бромид). СТАВ является неионогенным детергентом, способным осаждать НК и кислые полисахариды из растворов [13, 15]. Детергент образует стабильные, но растворимые комплексы при высоких концентрациях солей (0,7М NaCl). При низких концентрациях соли (4М NaCl) формирует комплекс СТАВ/НК в виде осадка, при этом большая часть

полисахаридов остается в растворе [16, 17]. SDS, в отличие от СТАВ, осаждает белки и полисахариды как нерастворимый комплекс [18]. Наши данные также показали, что использование набора NucleoSpin® позволило получить больший количественный выход высокомолекулярной ДНК, что крайне важно в процессе секвенирования.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

1. В результате анатомических исследований отмечено большее количество включений с эфирными маслами в тканях листьев лавандина сорта Рабат, культивируемого *ex situ*.
2. Чистота ДНК, выделенной из листьев лавандина, отделенных от микропобегов *in vitro* и растений *ex situ*, находится в зависимости от накопления эфирных масел в листовой пластике.
3. Для получения стабильного качественного и количественного выхода высокомолекулярной ДНК из листьев лавандина сорта Рабат предпочтительнее использовать коммерческие наборы в состав которых входит СТАВ.

Исследования выполнены на базе Уникальной научной установки «Научный центр биотехнологии, геномики и депонирования растений» (УНУ «ФИТОБИОГЕН») в рамках госзадания № 0829-2019-0038 ФГБУН «НБС-ННЦ».

БЛАГОДАРНОСТЬ

Авторский коллектив благодарит куратора генофондовой коллекции лаванды н.с. лаборатории эфиромасличных растений ФГБУН «НБС-ННЦ» Хохлова Ю. С. за предоставленные для исследования растения, выращиваемые в открытом грунте, и м.н.с. лаборатории биотехнологии и вирусологии растений Челомбит С. В. и Жданову И. В. за предоставленные для исследований микропобеги лавандина *in vitro*.

Список литературы

1. Аббасова З. Г. Интродукция некоторых перспективных лекарственных и эфиромасличных растений в Мардакянском дендрарии / З. Г. Аббасова, З. А. Мамедова, Р. М. Мамедов // Химия растительного сырья. – 2009. – №1. – С. 121–124.
2. Ткаченко К. Г. Эфирномасличные растения и эфирные масла: достижения и перспективы, современные тенденции изучения и применения / К. Г. Ткаченко // Вестник удмуртского университета. – 2011. – Вып. 1 Биология. Науки о земле. – С. 88–100.
3. Пегушина А. А. Исследование факторов развития предприятий эфиромасличной отрасли Республики Крым / А. А. Пегушина // КАНТ. – 2017. – С. 198–201.
4. Невкрытая Н. В. Актуальные направления биохимических исследований эфиромасличных растений (Обзор. Часть I) / Н. В. Невкрытая, А. В. Мишнев // Таврический вестник аграрной науки. – 2018. – № 4(16). – С. 102–124.
5. Работягов В. Д. Селекция лаванды и классификация ее межвидовых гибридов / В. Д. Работягов, Л. В. Свиденко // Труды никитского ботанического сада. – 2011. – Т. 133. – С. 197–208.
6. Палий А. Е. Биологически активные вещества *Lavandula × intermedia* Emeric ex Loisel (Lamiaceae) / А. Е. Палий, В. Д. Работягов // Фармация и фармакология. – 2016. – №4. – С. 46–54.

7. Panizza M. Clonal propagation, callus formation and plant regeneration of lavandin / M. Panizza, F. Tognoni // *Scientia Horticulturae*. – 1988. – Vol. 37, Issue 1-2. – P. 157–163.
8. Ghaffariyan S. DNA isolation protocol for the medicinal plant lemon balm (*Melissa officinalis*, Lamiaceae) / S. Ghaffariyan, S. A. Mohammadi, S. Aharizad // *Genet. Mol. Res.* – 2012. – Vol. 11. – P. 1049–1057.
9. Vega-Vela N. E. Isolation of high-quality DNA in 16 aromatic and medicinal Colombian species using silica-based extraction columns / N. E. Vega-Vela, M. I. Chacon-Sanchez // *Agronomia Colombiana*. – 2011. – Vol. 23, No 3. – P. 349–357.
10. Sharma P. Isolation of genomic DNA from medicinal plants without liquid nitrogen / P. Sharma, N. Joshi, A. Sharma // *Indian Journal of Experimental Biology*. – 2010. – Vol. 48, No 6. – P. 610–614.
11. Паушева З. П. Практикум по цитологии растений / З. П. Паушева – М.: Колос, 1980. – 304 с.
12. Hammer Ø. PAST: Paleontological statistics software package for education and data analysis / Ø. Hammer, D. A. T. Harper, P. D. Ryan // *Palaeontologia Electronica*. – 2001. – Vol. 4, No 1. – 9 p.
13. Sambrook J. Molecular Cloning: A Laboratory Manual, vol. 1 / J. Sambrook, D. Russel – 3rd edition – NY: Cold Spring Harbor Laboratory Press, 2001. – 2100 p.
14. Tiwari S. Modified Protocol for Plant Genomic DNA Isolation / S. Tiwari, R. S. Tomar, M. K. Tripathi, A. Ahuja. // *Indian Res. J. Genet. & Biotech.* – 2017 – V. 9, No 4. – P. 478–485.
15. Tan S. C. DNA, RNA, and protein extraction: the past and the present / S. C. Tan, B. C. Yiap. // *Journal of Biomedicine and Biotechnology*. – 2009. – Vol. 2009. – Article ID 574398. – 7 p.
16. Poms R. E. Increased sensitivity for detection of specific target DNA in milk by concentration in milk fat / R. E. Poms, J. Glossl, H. Foissy // *European Food Research and Technology*. – 2001. – Vol. 213. – P. 361–365.
17. Остроумов Л. А. Метод выделения растительной ДНК из растений и продуктов питания на их основе / Л. А. Остроумов, А. Ю. Просеков, А. Н. Архипов, О. В. Мудрикова // *Известия Самарского научного центра Российской академии наук*. – 2010. – Т. 12, №4(3). – С. 722–724.
18. Рябушкина Н. А. Специфика выделения ДНК из растительных объектов / Н. А. Рябушкина, М. Е. Омашева, Н. Н. Галиакпаров // *Биотехнология. Теория и практика*. – 2012. – № 2. – С. 9–26.

ESSENTIAL OIL HISTOCHEMICAL STAINING IN THE LAVANDIN LEAVES AND ISOLATED DNA QUALITY REGARD TO ANATOMY

Bulavin I. V., Brailko V. A., Mitrofanova I. V.

*FSBSI "Nikita Botanical Gardens – National Scientific Center" Yalta, Russian Federation
E-mail: labgennbs@yandex.ru*

The use of molecular methods for genotyping and DNA sequencing leads to the production of high-quality and pure DNA, along with its quantitative yield. DNA purity is determined by the absence of proteins, polysaccharides and secondary metabolites, which often impede the release of a high molecular weight nucleic acid and can reduce the efficiency of PCR, as well as obtaining high-quality libraries for subsequent sequencing, especially in the case of medicinal and essential oil plants that contain significant amounts of secondary metabolites. Therefore, the objective of this work was to assess the quantity and quality of DNA, isolated from lavandin plant material, using commercial kits.

In our investigation we used the leaves of lavandin 'Rabat' cultivars, growing *in vitro* in BIOTRON phytocapsules and *ex situ* from the collection of the Nikita Botanical Gardens. For anatomical observations, the samples from leaf blades were made according to generally accepted methods. To identify the localization of essential oils in leaf tissues,

the sections were stained with Sudan III and examined, using a CX41 light microscope (Olympus, Japon) equipped with CellSens Imaging Software version 1.17.

For DNA isolation, intact young leaves were cut off from microshoots *in vitro* and plants *ex situ*. The samples were transferred to mortars, frozen in a liquid nitrogen, and homogenized using a pestle. Obtained powder, preventing their thawing, was transferred to tubes with the necessary lysing (extracting) buffer. Then, the isolation procedure was carried out according to the protocols of PureLink[®] Plant Total DNA Purification Kit (Thermo Scientific[™], USA) and NucleoSpin[®] Plant II Midi kit (Macherey Nagel, Germany). The quantity and quality of DNA was evaluated with using nanophotometer (Implen NanoPhotometer NP80, Germany) at wavelengths A_{260} , A_{280} and A_{230} . The degree of DNA fragmentation was evaluated using an Agilent 4200 TapeStation automated electrophoresis system (Agilent Technologies, Germany). The experiments were performed in three biological replicates, the results were statistically processed using PAST software.

According to an anatomical observation, the cuticle, coated epidermis, was distinguished in cross sections of lavandin leaf blades *in vitro* and *ex situ*. Under the epidermis differentiated mesophyll was revealed. In the internal tissues of the leaf blade, the bundles from the middle and lateral veins were clearly distinguished, in which the elements of xylem and phloem were easily differentiated. Trichomes and stomata revealed on both sides of the leaf blade. Accumulation of essential oil was established in the glands, epidermis cells and mesophyll with Sudan III staining. Visually, the number of inclusions with essential oils was lower in the leaves of the microshoots *in vitro*, compared to the same *ex situ*.

Based on the data described above, we performed the selection of commercial kits to obtain "pure" DNA from lavandin leaves. It was shown by spectrophotometrically that NucleoSpin[®] Plant II Midi kit gave the best results for the purity and quantitative DNA yield compared to the PureLink[®] Plant Total DNA Purification Kit, for both for *in vitro* and *ex situ* leaves. The obtained results were confirmed by electrophoregrams. DNA Integrity Number (DIN) for NA samples isolated from leaves cut off from *in vitro* microshoots and *ex situ* plants using the PureLink[®] kit was $8,1 \pm 0,12$ and $8,1 \pm 0,15$, and for NucleoSpin[®] $9,1 \pm 0,12$ and $9 \pm 0,15$, respectively.

When PureLink[®] kit was used, 96–98 % and 98–99 % sequences from the total extracted DNA were in range 18,981–21,967 and 18,338–24,766 bp with a concentration of 11,1–12,4 and 13,8–18,7 ng/ μ l for samples *in vitro* and *ex situ*, respectively. For the NucleoSpin[®] kit, 98–99 % sequences of the total DNA were in range 52,836–>60,000 and 47,477–59,252 bp with a concentration of 17,2–48,1 and 18,8–25,6 ng/ μ l for samples *in vitro* and *ex situ*.

Our data have demonstrated that for DNA isolation from leaves of the 'Rabat' cultivars, it is preferable to use commercial kits that include CTAB, which provide a stable qualitative and quantitative yield of high molecular weight DNA.

Keywords: lavandin *in vitro* and *ex situ*, leaves, essential oil, Sudan III, DNA isolation.

References

1. Abbasova Z. G., Mamedova Z. A., Mamedov R. M., Introdukciya nekotoryh perspektivnyh lekarstvennyh i efiromaslichnyh rastenij v Mardakjanskom dendrarii, *Himija rastitel'nogo syr'ja*, **1**, 121 (2009).
2. Tkachenko K. G., Essential oils plants and essential oils: progress and perspectives, modern tendencies of research and application, *Bulletin of Udmurt University. Series Biology. Earth Sciences*, **1**, 88 (2011).
3. Pegushina A. A., Investigation of factors of enterprise development of enterprises of the ethical industry of the Republic of Crimea, *KANT*, 198 (2017).
4. Nevkrytaya N. V., Mishnev A. V., Actual and contemporary directions of biochemical research of oil-bearing plants (Review, Part I), *Taurida herald of the agrarian sciences*, **4(16)**, 102 (2018).
5. Rabotyagov V. D., Svydenko L. V., Selection of *Lavandula L.* is the classification of its interspecific hybrids, *Works Nikit. Botan. Gard.*, **133**, 197 (2011).
6. Paliy A. E., Rabotyagov V. D., Biologically active substances of *Lavandula × intermedia* Emeric ex Loisel (Lamiaceae), *Pharmacy & pharmacology*, **4(1)**, 46 (2016).
7. Panizza M., Tognoni F., Clonal propagation, callus formation and plant regeneration of lavandin, *Scientia Horticulturae*, **37(1-2)**, 157 (1988).
8. Ghaffariyan S., Mohammadi S. A., Aharizad S., DNA isolation protocol for the medicinal plant lemon balm (*Melissa officinalis*, Lamiaceae), *Genet. Mol. Res*, **11**, 1049 (2012).
9. Vega-Vela N. E., Chacon-Sanchez M. I., Isolation of high-quality DNA in 16 aromatic and medicinal Colombian species using silica-based extraction columns, *Agronomía Colombiana*, **23(3)**, 349 (2011).
10. Sharma P., Joshi N., Sharma A., Isolation of genomic DNA from medicinal plants without liquid nitrogen, *Indian Journal of Experimental Biology*, **48(6)**, 610 (2010).
11. Pausheva Z. P., *Praktikum po citologii rastenij*, 304 p., (Kolos, Moscow, 1980).
12. Hammer O., Harper D. A. T., Ryan P. D., PAST: Paleontological statistics software package for education and data analysis, *Palaeontologia Electronica*, **4(1)**, 1 (2001).
13. Sambrook J., Russel D., *Molecular Cloning: A Laboratory Manual, vol. 1*, 2100 p., (Cold Spring Harbor Laboratory Press, NY, 2001).
14. Tiwari S., Tomar R. S., Tripathi M. K., Ahuja A., Modified Protocol for Plant Genomic DNA Isolation, *Indian Res. J. Genet. & Biotech.*, **9(4)**, 478 (2017).
15. Tan S. C., Yip B. C., DNA, RNA, and protein extraction: the past and the present, *Journal of Biomedicine and Biotechnology*, Article ID 574398, **2009**, 7 (2009).
16. Poms R. E., Glossl J., Foissy H., Increased sensitivity for detection of specific target DNA in milk by concentration in milk fat, *European Food Reseach and Technology*, **213**, 361 (2001).
17. Ostroumov L. A., Prosekov A. Yu., Arhipov A. N., Mudrikova O. V., Method of vegetative DNA isolation from plants and food stuffs on their basis, *Izvestiya Samarskogo nauchnogo tsentra Rossiyskoy akademii nauk*, **12, 4(3)**, 722 (2010).
18. Ryabushkina N. A., Omasheva M. E., Galiakparov N. N., Specifika vydeleniya DNK iz rastitel'nyh ob'ektov, *Biotehnologiya. Teoriya i praktika*, **2**, 9 (2012).

УДК 612.821

ОСОБЕННОСТИ ЭЭГ У ДЕТЕЙ С ЗАДЕРЖКАМИ РЕЧЕВОГО РАЗВИТИЯ

Кайда А. И.¹, Михайлова А. А.¹, Эйсмонт Е. В.¹, Орехова Л. С.¹, Шепитько Л. С.²

¹Таврическая академия (структурное подразделение) ФГАОУ ВО «Крымский федеральный университет имени В. И. Вернадского», Симферополь, Республика Крым, Россия

*²ГБУЗ РК Крымская республиканская клиническая психиатрическая больница № 1 им. Н. И. Балабана, Симферополь, Республика Крым, Россия
E-mail: kaydaanna@gmail.com*

Целью настоящего исследования явилось выявление и анализ особенностей ЭЭГ у детей с задержками речевого развития. В исследовании приняли участие 17 детей в возрасте 1–3 года, из них 7 детей с ЗРР и 10 детей, развивающихся нормально, 28 детей в возрасте 4–8 лет, из них 14 детей с ЗРР и 14 детей, развивающихся нормально. Регистрировали ЭЭГ при открытых глазах в состоянии двигательного покоя. У детей 1–3-х лет с ЗРР выявлена большая относительная мощность тета-ритма ЭЭГ в лобных и затылочных отведениях по сравнению с нормально развивающимися сверстниками, а также меньшая относительная мощность альфа-ритма в локусе Cz и бета-ритма в отведении F4. У детей 4–8 лет с ЗРР также была выявлена меньшая относительная мощность альфа-ритма в отведениях Pz и O2.

Ключевые слова: ЭЭГ, относительная мощность, тета-ритм, альфа-ритм, бета-ритм, дети.

ВВЕДЕНИЕ

В настоящее время задержки речевого развития (ЗРР) у детей представляют одну из наиболее актуальных проблем, а частота встречаемости подобных нарушений среди детей составляет около 5–20 % [1]. По результатам, полученным Институтом возрастной физиологии Российской академии образования, более 60 % детей, которые испытывают трудности при обучении в школе, имеют нарушения речевого развития [2]. На поведенческом уровне фонологический дефицит является основной характеристикой большинства расстройств речи. Задержка развития речи у детей часто является не единственной проблемой и может сопровождаться задержкой развития невербальных функций [3, 4], внимания [5–7] и рабочей памяти [8].

В первые шесть лет жизни дети демонстрируют значительный скачок в развитии разговорной речи, переходя от первых слов к сочетанию нескольких слов и построению предложений одновременно с освоением грамматики [9]. В этот период наиболее часто диагностируют различные речевые расстройства и нарушения нервно-психического развития [4].

В настоящее время проводятся исследования нарушений речевого развития с помощью таких электрофизиологических методов, как электроэнцефалография (ЭЭГ) и регистрация связанных с событием потенциалов (ERP) [10–13]. Метод регистрации связанных с событием потенциалов позволил выявить атипичную семантическую обработку на уровне предложений у детей дошкольного возраста с

задержками речевого развития [14]. В работе Schiavone et al. были найдены два маркера ЭЭГ: относительные амплитуды в дельта- и альфа-диапазонах частот, связанные с риском дислексии [15]. Было установлено, что тета-ритм ЭЭГ чувствителен к семантической составляющей речи, а бета-ритм играет важную роль в синтаксической интеграции [16].

Нейрофизиологические механизмы, обуславливающие развитие устной речи, все еще исследуются с целью выявления объективного ЭЭГ-маркера задержек речевого развития. Лучшее понимание задержек в развитии речи может помочь разработать эффективные методы коррекции. В связи с вышеизложенным, целью настоящего исследования явилось выявление и анализ относительной мощности (ОМ) ритмов ЭЭГ при открытых глазах в состоянии двигательного покоя у детей с ЗРР.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В исследовании приняли участие 45 детей 1–8 лет. В дальнейшем дети были разделены на две возрастные группы: 17 детей в возрасте 1–3 года, из них 7 детей с ЗРР (основная группа) и 10 детей, развивающихся нормально (контрольная группа) и 28 детей в возрасте 4–8 лет, из них 14 детей с ЗРР (основная группа) и 14 детей, развивающихся нормально (контрольная группа). Поскольку испытуемые не достигли пубертатного периода, то показатели ЭЭГ рассматривались для объединенной группы мальчиков и девочек. Регистрация, обработка и анализ ЭЭГ осуществлялись по общепринятой методике с помощью автоматизированного комплекса, состоящего из электроэнцефалографа «Нейрон-Спектр-5» (фирма «Нейрософт») и персонального компьютера. Для обработки данных использовалась компьютерная программа «EEG Mapping 3». ЭЭГ-потенциалы отводили монополярно от фронтальных (F3, F4, Fz), центральных (C3, C4, Cz), теменных (P3, P4, Pz), височных (T3, T4) и затылочных (O1, O2) локусов по системе 10–20. Референтным электродом служили объединенные контакты, закрепленные на мочках ушей. Частоты среза фильтров высоких и низких частот составляли, соответственно, 1,5 и 35 Гц, частота оцифровки ЭЭГ-сигналов – 250 Гц. Сигналы обрабатывались с помощью быстрого преобразования Фурье.

У детей регистрировали ЭЭГ при открытых глазах в состоянии двигательного покоя. Для обработки брали безартефактные отрезки ЭЭГ, которые разбивали на эпохи по 2,56 с. В выборку включали записи, содержащие ряд отрезков общей длительностью не менее 30 секунд.

Известно, что у детей раннего возраста частотные диапазоны ритмов ЭЭГ отличаются от частотных диапазонов ЭЭГ взрослых. Поэтому, исходя из данных литературы у детей раннего возраста определяли значения ОМ ЭЭГ в следующих частотных диапазонах: тета- (3–5 Гц), альфа- (6–9 Гц), бета- (10–25 Гц) ритмы [17–19]. Для детей 4–8 лет определяли значения ОМ ЭЭГ в следующих частотных диапазонах: тета- (4–7 Гц), альфа- (8–13 Гц) и бета- (14–20 Гц) ритмы. ОМ для каждого ритма ЭЭГ рассчитывалась как отношение мощности отдельного ритма к сумме мощностей всех исследованных ритмов в каждом отведении. Указанный показатель отражает относительный вклад конкретного ритма в общую электрическую активность в определенном отведении ЭЭГ. Считается, что использование показателей ОМ минимизирует индивидуальные различия

абсолютной мощности, связанные с возрастом, толщиной черепа и другими анатомическими факторами.

Различия в ОМ детей с ЗРП и детей, развивающихся нормально, оценивались с помощью дисперсионного анализа с повторными измерениями (repeated measures ANOVA). Оценивали влияние факторов «Группа» (дети с ЗРП по сравнению с детьми, развивающимися нормально), «Возраст» (дети в возрасте 1–3 года и 4–8 лет) и «Локус» (11 отведений ЭЭГ). Далее, для расчета статистической значимости различий в ОМ ЭЭГ у детей с ЗРП по сравнению с детьми, развивающимися нормально, в привязке отдельно к каждому из одиннадцати отведений ЭЭГ, в рамках каждой возрастной группы использовался метод априорных контрастов (оценка F-распределения).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Дисперсионный анализ относительной мощности тета-ритма у детей с ЗРП и нормально развивающихся детей с учетом локуса отведения ЭЭГ показал значимое влияние факторов «Группа» ($F(1;41) = 4,44$; $p = 0,041$) и «Локус» ($F(10;410) = 4,58$; $p < 0,001$). Статистической значимости достигало взаимодействие факторов «Локус» × «Возраст» ($F(10;410) = 7,58$; $p < 0,001$) и «Локус» × «Возраст» × «Группа» ($F(10;410) = 2,42$; $p = 0,008$). Для оценки различий в ОМ тета-ритма у детей с ЗРП по сравнению с детьми, развивающимися нормально, рассчитывались априорные контрасты на основе F-статистики в каждом из одиннадцати локусов ЭЭГ отдельно для каждой возрастной группы. Ниже представлены гистограммы ОМ тета-ритма у детей 1–3 лет с ЗРП по сравнению с детьми данного возраста, развивающимися нормально (рис. 1).

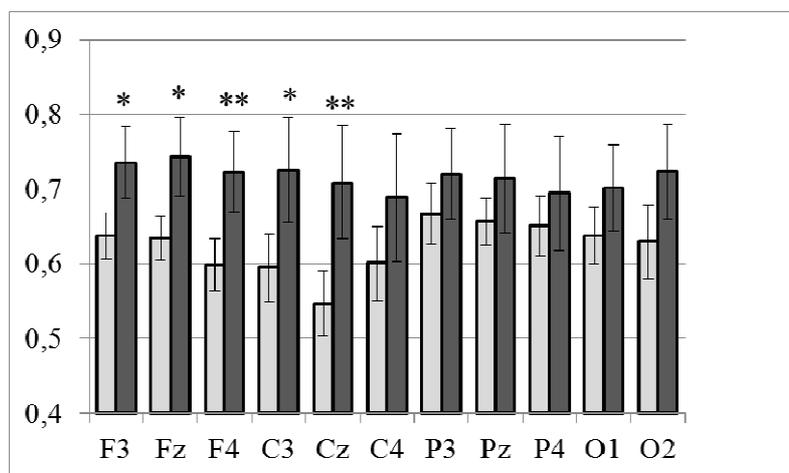


Рис. 1. Значения относительной мощности тета-ритма ЭЭГ при открытых глазах в состоянии покоя у детей 1–3 лет с ЗРП (темные столбцы) и детей, развивающихся нормально (светлые столбцы). По горизонтали – локусы отведений ЭЭГ, по вертикали – значения относительной мощности. Звездочками отмечены случаи достоверных различий между показателями (* – $p \leq 0.05$, ** – $p \leq 0.01$).

У детей 1–3-х лет с ЗРР выявлена бóльшая ОМ тета-ритма по сравнению со сверстниками, развивающимися нормально. Данные различия достигали уровня статистической значимости во фронтальных (Fz: $F = 5,89$, $p = 0,019$; F3: $F = 4,78$, $p = 0,034$; F4: $F = 7,08$, $p = 0,011$) и центральных (Cz: $F = 8,16$; $p = 0,006$; C3: $F = 4,77$, $p = 0,034$) локусах. Выраженность среднелобного тета-ритма связывают с синдромом нарушения внимания и гиперактивности [20]. Можно предположить, что более высокая мощность тета-ритма у детей с ЗРР может свидетельствовать о сниженном уровне внимания по сравнению с детьми контрольной группы.

В ЭЭГ детей 4–8 лет с ЗРР была выявлена на уровне тенденции бóльшая ОМ тета-ритма в париетальном локусе по сравнению с аналогичным ЭЭГ-параметром в группе нормально развивающихся детей (Pz: $F = 3,56$, $p = 0,066$) (рис. 2).

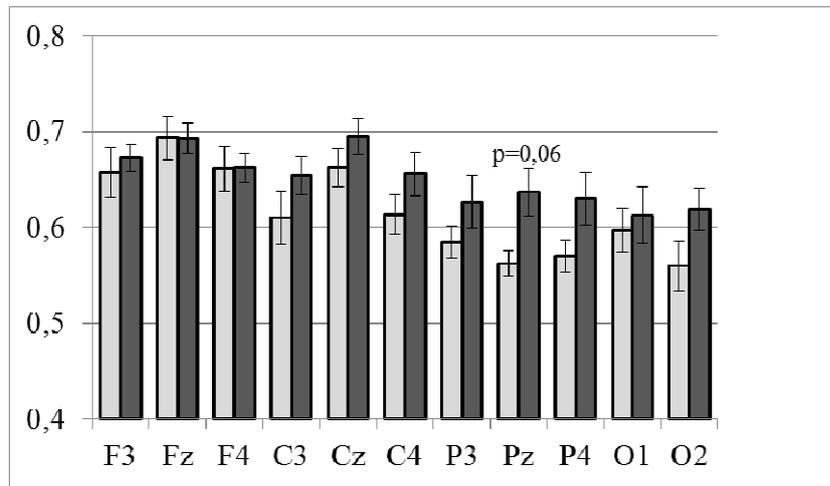


Рис. 2. Значения относительной мощности тета-ритма ЭЭГ при открытых глазах в состоянии покоя у детей 4–8 лет с ЗРР (темные столбцы) и детей, развивающихся нормально (светлые столбцы). По горизонтали – локусы отведений ЭЭГ, по вертикали – значения относительной мощности.

Дисперсионный анализ ОМ альфа-ритма показал значимое влияние факторов «Группа» ($F(1;41) = 5,67$; $p = 0,022$) и «Локус» ($F(10;410) = 3,33$; $p < 0,001$). Статистической значимости достигало взаимодействие факторов «Локус» × «Возраст» ($F(10;410) = 8,83$; $p < 0,001$) и «Локус» × «Возраст» × «Группа» ($F(10;410) = 1,92$; $p = 0,041$).

У детей 1–3-х лет с ЗРР выявлена меньшая ОМ альфа-ритма по сравнению с детьми контрольной группы (рис. 3). Данные различия достигали уровня статистической значимости в отведениях Cz: $F = 8,41$; $p = 0,005$, Fz ($F = 3,98$, $p = 0,05$) и F4 ($F = 4,02$, $p = 0,05$). Ранее установлено, что альфа-индекс с возрастом увеличивается, а индекс медленных волн снижается. Это связано с тем, что наряду с созреванием и миелинизацией коры, усиливаются влияния глубинных синхронизирующих структур и совершенствуются корково-подкорковые

функциональные нейронные связи [21–23]. Таким образом меньшая мощность альфа-ритма ЭЭГ у детей с ЗРР может свидетельствовать о сниженном уровне созревания коры в целом. Обращает внимание, что значимо меньшая мощность альфа-ритма у детей 1–3 лет с ЗРР выявлена в центральном и фронтальных локусах. Известно, что над сенсомоторными участками коры локализован мю-ритм [20], частотный диапазон которого совпадает с частотным диапазоном альфа-ритма [19, 24]. Показатели мю-ритма связывают с развитием двигательных и речевых навыков [25]. Сниженная мощность мю-ритма у детей с ЗРР может свидетельствовать о неоптимальном развитии сенсомоторных областей коры.

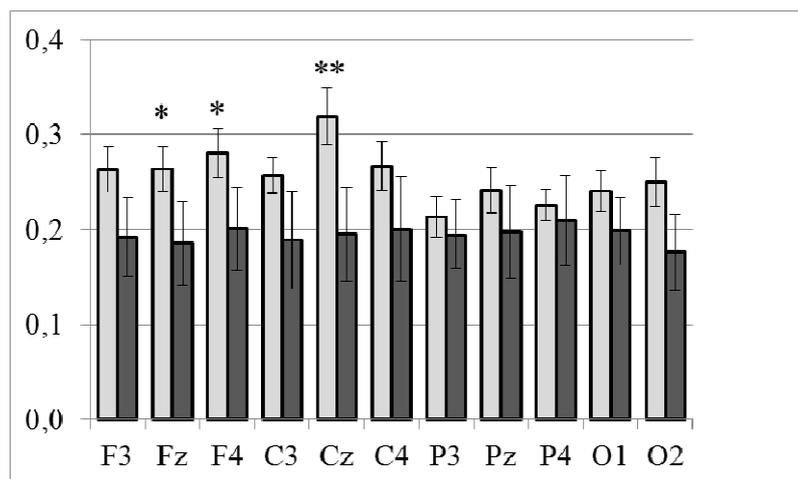


Рис. 3. Значения относительной мощности альфа-ритма ЭЭГ при открытых глазах в состоянии покоя у детей 1–3 лет с ЗРР (темные столбцы) и детей, развивающихся нормально (светлые столбцы). По горизонтали – локусы отведений ЭЭГ, по вертикали – значения относительной мощности. Остальные обозначения те же, что на рис. 1.

У детей 4–8 лет с ЗРР выявлена меньшая ОМ альфа-ритма по сравнению с нормально развивающимися сверстниками (рис. 4). Данные различия достигали уровня статистической значимости в отведениях Pz ($F = 6,53$, $p = 0,01$), O2 ($F = 4,4$; $p = 0,042$) и находились на уровне тенденции в локусе P4 ($F = 3,71$; $p = 0,06$). Чутко Л. С. и соавторы отмечали увеличение представленности альфа-ритма и уменьшение медленно-волновой активности на ЭЭГ после медикаментозной терапии речевых расстройств у детей 5–7 лет [11]. Можно предположить, что сниженная мощность альфа-ритма может быть одним из индикаторов задержки речевого развития у детей.

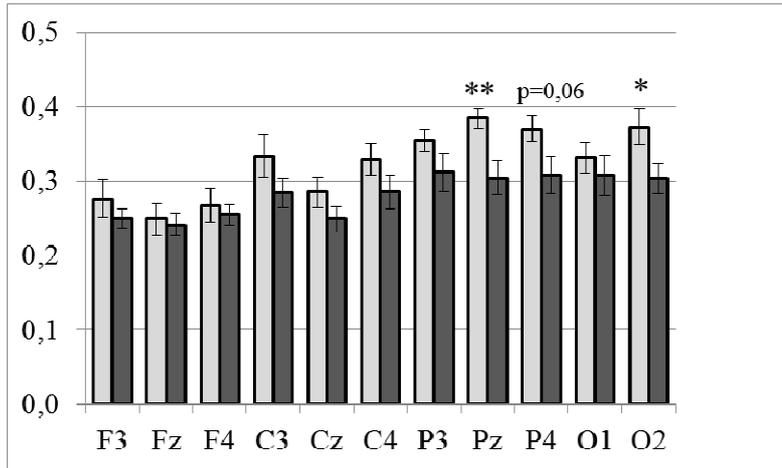


Рис. 4. Значения относительной мощности альфа-ритма ЭЭГ при открытых глазах в состоянии покоя у детей 4–8 лет с ЗРР (темные столбцы) и детей, развивающихся нормально (светлые столбцы). По горизонтали – локусы отведений ЭЭГ, по вертикали – значения относительной мощности. Остальные обозначения те же, что на рис. 1.

Дисперсионный анализ ОМ бета-ритма показал значимое влияние факторов «Возраст» ($F(1;41) = 6,49; p = 0,015$) и «Локус» ($F(10;410) = 2,11; p = 0,023$). Статистической значимости достигало взаимодействие факторов «Локус» × «Возраст» ($F(10;410) = 3,54; p < 0,001$). Гистограммы ОМ бета-ритма у детей 1–3 лет с ЗРР по сравнению с нормально развивающимися детьми представлены на рисунке 5.

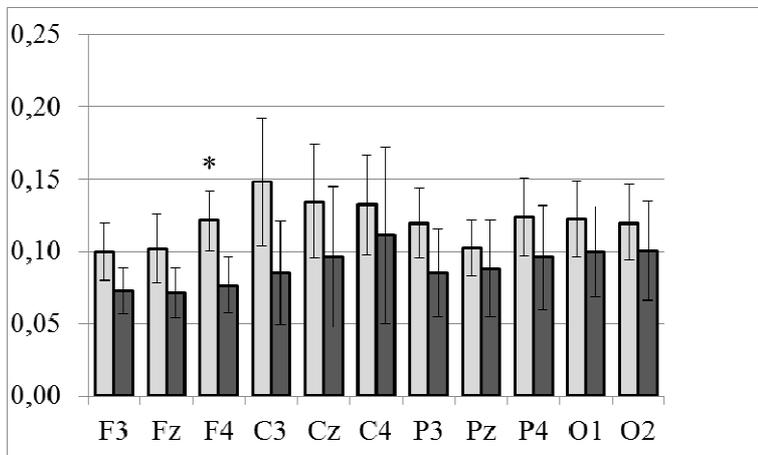


Рис. 5. Значения относительной мощности бета-ритма ЭЭГ при открытых глазах в состоянии покоя у детей 1–3 лет с ЗРР (темные столбцы) и детей, развивающихся нормально (светлые столбцы). По горизонтали – локусы отведений ЭЭГ, по вертикали – значения относительной мощности. Остальные обозначения те же, что на рис. 1.

У детей 1–3-х лет с ЗПРР выявлена меньшая ОМ бета-ритма по сравнению с детьми контрольной группы. Данные различия достигали уровня статистической значимости в отведении F4: $F = 5,13$; $p = 0,02$. В группе детей 4–8 лет статистически значимых различий в ОМ бета-ритма у детей с ЗРР по сравнению с детьми, развивающимися нормально, обнаружено не было.

Ранее было показано, что лобный бета-ритм повышается при решении когнитивных задач, связанных с оценкой стимула и принятием решения [20]. Также установлено, что бета-ритм играет важную роль в синтаксической обработке предложений: наблюдается синхронизация данного ритма при предъявлении грамматически правильных предложений и десинхронизация в момент синтаксической ошибки в предложении [26]. Возможно для детей раннего возраста, развивающихся нормально, задействуется больше когнитивных ресурсов при следовании инструкции – оставаться неподвижным, по сравнению с их сверстниками с ЗРР.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Результаты настоящего исследования свидетельствуют о том, что в ЭЭГ детей с ЗРР обеих возрастных групп наблюдаются повышенные значения ОМ тета-ритма и сниженные ОМ альфа-ритма по сравнению с ЭЭГ нормально развивающихся детей. У детей 1-3 лет с ЗРР также наблюдаются сниженные ОМ бета-ритма.

Исследование выполнено в рамках поддержанного федеральным государственным автономным образовательным учреждением высшего образования «Крымский федеральный университет имени В. И. Вернадского» гранта № ВГ12/2018».

Работа выполнена на оборудовании ЦКП научным оборудованием «Экспериментальная физиология и биофизика» ФГАОУ ВО «КФУ им. В. И. Вернадского».

Список литературы

1. Заваденко Н. Н. Трудности школьного обучения: гиперактивное расстройство с дефицитом внимания и дислексия / Н. Н. Заваденко, Н. Ю. Суворинова, М. В. Румянцева // Педиатрия (приложение к Consilium medicum). – 2006. – Т. 8, № 2. – С.47–52.
2. Безруких М. М. Особенности речевого развития и трудности обучения письму и чтению у школьников 1-х и 3-х классов / М. М. Безруких, О. Ю. Крещенко // Нов. исследования. – 2003. – № 1. – С. 68–77.
3. Sokolova L. V. Functional maturity of brain structures in children aged 7-8 with differing levels of speech development / L. V. Sokolova, T. V. Yemelianova // The Spanish Journal of Psychology. – 2011. – Vol. 14, No 1. – P. 509–518.
4. Leonard L. B. Children with specific language impairment (2nd ed.). / L. B. Leonard. – Cambridge, MA: The MIT press, 2014. – 472 p. |
5. Spaulding T. J. Sustained selective attention skills of preschool children with specific language impairment: Evidence for separate attentional capacities / T. J. Spaulding, E. Plante, R. Vance // Journal of Speech, Language and Hearing Research. – 2008. – Vol. 51. – P. 16–34.

6. Markovska-Simoska S. Quantitative EEG in children and adults with Attention Deficit Hyperactivity Disorder: comparison of absolute and relative power spectra and theta/beta ratio / S. Markovska-Simoska, N. Pop-Jordanova // *Clin EEG Neurosci.* – 2017. – Vol. 48(1). – P. 20–32.
7. Clarke A. R. EEG development in Attention Deficit Hyperactivity Disorder: from child to adult / A. R. Clarke, R. J. Barry, S. J. Johnstone // *Clin Neurophysiol.* – 2019. – Vol. 130(8). – P. 1256–1262.
8. Vugs B. Working memory performance and executive function behaviors in young children with SLI / B. Vugs, M. Hendriks, J. Cuperus [et al.] // *Research in Developmental Disabilities.* – 2014. – Vol. 35. – P. 62–74.
9. Paul R. Assessment of developing language, in: lang. disord. From infancy through adolesc. List. Speak. Reading, Writing, Commun., 4th Ed. / R. Paul, C. Norbury // Elsevier Health Sciences. – 2012. – P. 286–346.
10. Levy-Rueff M. Abnormal electroencephalography results and specific language impairment: towards a theoretical neurodevelopmental model? / M. Levy-Rueff, M. Bourgeois, A. Assous [et al.] // *Encephale.* – 2012. – Vol. 38(4). – P. 318–28.
11. Чутко Л. С. Клинические и электроэнцефалографические особенности специфических расстройств речевого развития у детей и оценка эффективности применения Церебролизина / Л. С. Чутко, С. Ю. Сурушкина, Е. А. Яковенко [и др.] // *Журнал неврологии и психиатрии им. С. С. Корсакова.* – 2015. – Т. 115, № 7. – С. 98–102.
12. Cantiani C. Auditory discrimination predicts linguistic outcome in Italian infants with and without familial risk for language learning impairment / C. Cantiani, V. Riva, C. Piazza [et al.] // *Dev Cogn Neurosci.* – 2016. – Vol. 20. – P. 23–34.
13. Kwok E. Y L. Dynamics of spontaneous alpha activity correlate with language ability in young children / E. Y L. Kwok, J. O. Cardy, B. L. Allman [et al.] // *Behavioural Brain Research.* – 2019. – Vol. 359, No 1. – P. 56–65.
14. Pijnacker J. Semantic processing of sentences in preschoolers with specific language impairment: evidence from the N400 effect / J. Pijnacker, N. Davids, M. van Weerdenburg [et al.] // *J Speech Lang Hear Res.* – 2017. – No 60(3). – P. 627–639.
15. Schiavone G. Preliteracy signatures of poor-reading abilities in resting-state EEG / G. Schiavone, K. Linkenkaer-Hansen, N. M. Maurits [et al.] // *Front Hum Neurosci.* – 2014. – Vol. 19, No 8. – P. 735.
16. Maguire M. J. What changes in neural oscillations can reveal about developmental cognitive neuroscience: language development as a case in point / M. J. Maguire, A. D. Abel // *Dev Cogn Neurosci.* – 2013. – Vol. 6. – P. 125–36.
17. Stroganova T. A. EEG alpha rhythm in infants / T. A. Stroganova, E. V. Orekhova, I. N. Posikera // *Clin. Neurophysiol.* – 1999. – V. 110. – P. 997–1012.
18. Cuevas K. A frequency band analysis of two year olds` memory processes / K. Cuevas, V. Raj, M. A. Bell // *Int. J. Psychophysiol.* – 2012. – V. 83, № 3. – P. 315–322.
19. Marshall P. J. Development of the EEG from 5 months to 4 years of age / P. J. Marshall, Y. Bar-Haim, N. A. Fox // *Clin. Neurophysiol.* – 2002. – V. 113. – P. 1199–1208.
20. Кропотов Ю. Д. Количественная ЭЭГ, когнитивные вызванные потенциалы мозга человека и нейротерапия / Ю. Д. Кропотов. – Донецк: Издатель Заславкий Ю. А., 2010. – 506 с.
21. Королева Н. В. Ведущие показатели зрелости биоэлектрической активности головного мозга у детей в возрасте от 1 до 7 лет / Н. В. Королева, С. А. Небера, И. Н. Гутник // *Физиология человека.* – 2002. – Т. 28, № 6. – С. 57–63.
22. Семенова О. А. Формирование произвольной регуляции деятельности и ее мозговых механизмов в онтогенезе / О. А. Семенова // *Физиология человека.* – 2007. – Т. 33, № 3. – С. 115–127.
23. Marshall P. J. The Bucharest Early Intervention Project core group. A comparison of the electroencephalogram between institutionalized and community children in Romania / P. J. Marshall, N. A. Fox // *J. Cognitive Neurosci.* – 2004. – V. 16, № 8. – P. 1327–1338.
24. Xiao R. Characterization of infant mu rhythm immediately before crawling / R. Xiao, X. Qi, A. Patino [et al.] // *NeuroImage.* – 2016. – V. 146. – P. 47–57.
25. Saltuklaroglu T. EEG mu rhythms: Rich sources of sensorimotor information in speech processing / T. Saltuklaroglu, A. Bowers, A. W. Harkrider [et al.] // *Brain Lang.* – 2018. – V. 187. – P. 41–61.
26. Schneider J. M. Developmental differences in beta and theta power during sentence processing / J. M. Schneider, A. D. Abel, D. A. Ogiela // *Dev Cogn Neurosci.* – 2016. – Vol. 19. – P. 19–30.

EEG FEATURES IN CHILDREN WITH DELAYED SPEECH DEVELOPMENT

Kaida A. I.¹, Mikhailova A. A.¹, Eismont E. V.¹, Orekhova L. S.¹, Shepitko L. S.²

¹V. I. Vernadsky Crimean Federal University, Simferopol, Crimea, Russia

²N. I. Balabana Crimean Republican Clinical Psychiatric Hospital No. 1, Crimea, Russia

E-mail: kaydaanna@gmail.com

The aim of the present study was to identify and analyze the EEG features in children with speech delays. A total of 45 children aged 1–8 years participated in this study. Subsequently, the children were divided into two age groups: 17 children aged 1–3 years (7 children with speech delays (main group) and 10 normally developing children (control group)) and 28 children aged 4–8 years (14 children with speech delays (main group) and 14 normally developing children (control group)). The EEG parameters were recorded, processed, and analyzed according to the standard technique using an automatic complex consisting of an electroencephalograph (Neuron Spectrum-5) and a personal computer. The EEG was recorded in a state of motor rest; the children were asked to relax for 30 s with eyes opened. The values of the EEG relative power were measured in the following frequency ranges: theta- (4–7 Hz), alpha- (8–13 Hz) and beta-rhythms (14–20 Hz). The differences in the EEG rhythms power were analyzed under the electrodes Fz, F3, F4, Cz, C3, C4, Pz, P3, P4, and O1, O2. In children aged 1–3 years with speech delays, a greater EEG relative power of the theta rhythm in the frontal and occipital leads was revealed compared to normally developing peers. Moreover, under this condition a lower relative power of the EEG alpha-rhythm at the lead Cz and the beta-rhythm at the lead F4 was found. In the group of children aged 4–8 years with speech delays, a lower relative power of the EEG alpha-rhythm in leads Pz and O2 was also revealed. For children aged 4–8 years with speech delays, there were no statistically significant differences in the beta-rhythm relative power compared with normally developing children.

Keywords: electroencephalogram, relative power, theta-rhythm, alpha-rhythm, beta-rhythm, children.

References

1. Zavadenko N. N., Suvorinova N. YU. and Romyanceva M. V., The difficulties at school: hyperactive disorder with attention deficit and dyslexia, *Pediatrics* (Annex to Consilium medicum), **8(2)**, 47 (2006).
2. Bezrukih M. M. and Kreshchenko O. YU., Features of speech development and the difficulty of learning to write and read in students of the 1st and 3rd grades, *New research*, **1**, 68 (2003).
3. Sokolova L. V. and Yemelianova T. V., Functional Maturity of Brain Structures in Children Aged 7–8 with Differing Levels of Speech Development, *The Spanish Journal of Psychology*, **14(1)**, 509 (2011).
4. Leonard L. B. *Children with specific language impairment* (2nd ed.), 472 p. (Cambridge, MA: The MIT press, 2014).
5. Spaulding T. J., Plante E., and Vance R., Sustained selective attention skills of preschool children with specific language impairment: Evidence for separate attentional capacities, *Journal of Speech, Language, and Hearing Research*, **51**, 16 (2008).

6. Markovska-Simoska S. and Pop-Jordanova N., Quantitative EEG in children and adults with Attention Deficit Hyperactivity disorder: Comparison of absolute and relative power spectra and theta/beta ratio, *Clin EEG Neurosci.*, **48(1)**, 20 (2017).
7. Clarke A. R., Barry R. J., Johnstone S. J., McCarthy R. and Selikowitz M., EEG development in Attention Deficit Hyperactivity Disorder: From child to adult, *Clin Neurophysiol.*, **130(8)**, 1256 (2019).
8. Vugs B., Hendriks M., Cuperus J. and Verhoeven L., Working memory performance and executive function behaviors in young children with SLI, *Research in Developmental Disabilities*, **35**, 62 (2014).
9. Paul R. and Norbury C., Assessment of developing language, in: lang. disord. from Infancy through adolesc. List. Speak. Reading, writing, commun., *Elsevier Health Sciences*, 286 (2012).
10. Levy-Rueff M., Bourgeois M., Assous A., Beauquier-Maccota B., Boucheron E., Clouard C., Donde S., Fostini O., Pinot P., Mosser A., Rittori G., Soufflet C., Vaivre-Douret L., Golse B. and Robel L., Abnormal electroencephalography results and specific language impairment: towards a theoretical neurodevelopmental model?, *Encephale.*, **38(4)**, 318 (2012).
11. Chutko L. S., Surushkina S. Yu., Yakovenko E. A., Sergeev A. V., Rozhkova A. V., Anosova I. V. and Chistyakova N. P., Clinical and electroencephalographic characteristics of specific language impairment in children and an evaluation of the efficacy of cerebrolysin, *Zhurnal Nevrologii i Psikiatrii imeni S.S. Korsakova*, **115(7)**, 98 (2015).
12. Cantiani C., Riva V., Piazza C., Bettoni R., Molteni M., Choudhury N., Marino C. and Benasich A. A., Auditory discrimination predicts linguistic outcome in Italian infants with and without familial risk for language learning impairment, *Dev Cogn Neurosci.*, **20**, 23 (2016).
13. Kwok E. Y. L., Cardy J. O., Allman B. L., Allen P. and Herrmann B., Dynamics of spontaneous alpha activity correlate with language ability in young children, *Behavioural Brain Research*, **359(1)**, 56 (2019).
14. Pijnacker J., Davids N., van Weerdenburg M., Verhoeven L., Knoors H. and van Alphen P., Semantic processing of sentences in preschoolers with specific language impairment: Evidence from the N400 effect, *J Speech Lang Hear Res*, **60(3)**, 627 (2017).
15. Schiavone G., Linkenkaer-Hansen K., Maurits N. M., Plakas A., Maassen B. A., Mansvelde H. D., van der Leij A., and van Zuijlen T. L., Preliteracy signatures of poor-reading abilities in resting-state EEG, *Front Hum Neurosci.*, **19(8)**, 735 (2014).
16. Maguire M. J. and Abel A. D., What changes in neural oscillations can reveal about developmental cognitive neuroscience: language development as a case in point, *Dev Cogn Neurosci.*, **6**, 125 (2013).
17. Stroganova T. A., Orekhova E. V. and Posikera I. N. EEG alpha rhythm in infants, *Clin. Neurophysiol.*, **110**, 997 (1999).
18. Cuevas K., Raj V., and Bell M. A. A frequency band analysis of two year olds` memory processes, *Int. J. Psychophysiol.*, **83(3)**, 315 (2012).
19. Marshall P. J. Development of the EEG from 5 months to 4 years of age, *Clin. Neurophysiol.*, **113**, 1199 (2002).
20. Kropotov Y. D., Quantitative EEG, cognitive evoked potentials of the human brain and neurotherapy, *Donetsk: Publisher Zaslavkiy Y. A.*, 506 (2010)
21. Koroleva N. V., Nebera S. A., Gutnik I. N. Leading indicators of brain bioelectric activity maturity in children aged 1 to 7 years, *Fiziologiya cheloveka*, **28(6)**, 57 (2002).
22. Semenova O. A. The formation of voluntary regulation of activity and its brain mechanisms in ontogenesis, *Fiziologiya cheloveka*, **33(3)**, 115 (2007).
23. Marshall P. J. and Fox N. A. The Bucharest Early Intervention Project core group. A comparison of the electroencephalogram between institutionalized and community children in Romania, *J. Cognitive Neurosci*, **16(8)**, 1327 (2004).
24. Xiao R., Qi X., Patino A., Fagg A. H., Kolobe T. H. A., Miller D. P. and Ding L. Characterization of infant mu rhythm immediately before crawling, *NeuroImage.*, **146**, 47 (2016).
25. Saltuklaroglu T., Bowers A., Harkrider A. W., Casenhiser D., Reilly K. J., Jenson D. E. and Thornton D. EEG mu rhythms: Rich sources of sensorimotor information in speech processing, *Brain Lang.*, **187**, 41 (2018).
26. Schneider J. M., Abel A. D., Ogiela D. A., Middleton A. E. and Maguire M. J., Developmental differences in beta and theta power during sentence processing, *Dev Cogn Neurosci.*, **19**, 19 (2016).

УДК 582.916.16:581.3:582.4

ХАРАКТЕРИСТИКА И ВСХОЖЕСТЬ СЕМЯН *JASMINUM FRUTICANS* L. (OLEACEAE)

Кузьмина Т. Н.

*ФГБУН «Никитский ботанический сад – Национальный научный центр РАН»,
Ялта, Республика Крым, Россия
E-mail: tnkuzmina@rambler.ru*

В статье представлены результаты исследования жизнеспособности семян гетеростильного кустарника флоры Крыма *Jasminum fruticans* L. (Oleaceae). Показано, что семя *Jasminum fruticans* содержит крупный зародыш, который дифференцирован на две семядоли, апикальную меристему, гипокотиль–корневую ось и корешок. Клетки эндосперма несколькими слоями окружают зародыш. Семенная кожура образована сочной оболочкой (саркотестой) и склеротестой, создающей механическую защиту зародыша. Показано, что семена обладают высокой всхожестью (50–70 %) в период с ноября по январь. Наилучшие показатели жизнеспособности отмечены у семян, собранных в декабре. Флоральная форма материнского растения не оказывает статистически значимого влияния на всхожесть семян. Установлено, что удаление саркотесты повышает шансы образования всходов в 10,36 раз (95 % ДИ: 5,70–18,92). Лабораторная всхожесть повышается в условиях естественного освещения, по сравнению вариантом, когда семена проращивают в темноте. В статье обсуждается влияние факторов, стимулирующих или тормозящих прорастание семян, а также адаптивное значение периода покоя семян в репродуктивной стратегии вида.

Ключевые слова: семя, всхожесть, период покоя, семенная кожура, саркотеста, гетеростилия, *Jasminum*, *Oleaceae*.

ВВЕДЕНИЕ

Jasminum fruticans L. – гетеростильный кустарник из семейства Oleaceae Hoffmanns & Link, который распространен в естественной флоре Средиземноморья, Средней и Атлантической Европе, Средней Азии и Кавказе. В Крыму вид произрастает в горных районах на высоте 100 до 500 м н. у. м., предпочитая светлые леса и сухие склоны [1, 2]. Для *J. fruticans*, как и других представителей данного рода, типична гетеростилия, выражающаяся в диморфизме цветков [3, 4]. Семенное возобновление для этого вида является основным [1]. Известно, что всхожесть семян *J. fruticans* после трехмесячной стратификации при низких положительных температурах (+2...4 °С) составляет около 86 % [5–7], что типично при физиологическом типе покоя. В ряде случаев физиологический покой прерывается не только стратификацией, но и скарификацией или полным удалением семенной кожуры [8]. Однако в литературных источниках отсутствуют данные о влиянии семенной кожуры у *J. fruticans* на всхожесть семян. Кроме того, нет достоверных сведений о влиянии флоральных форм материнского растения на всхожесть семян гетеростильных видов, в том числе и *J. fruticans*. А учитывая, что плоды у этого

растения сохраняются на материнском растении в течение всей зимы, остается открытым вопрос о периоде их физиологической зрелости.

Таким образом, целью данного исследования было определение жизнеспособности семян различных сроков сбора, а также влияния семенной кожуры и освещения на всхожесть семян *J. fruticans* с учетом флоральной формы материнского растения.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Плоды со зрелыми семенами *J. fruticans* собирали ежемесячно с растений длинно- и короткостолбчатой форм в период с сентября по март в 2018–2019 гг. Постоянные препараты семян *J. fruticans* выполнены по общепринятой методике гистологических исследований [9]. Материал фиксировали в смеси FAA (formalin : acetic acid : alcohol 70 % – 7:7:100). Последующее обезвоживание материала проводили изопропиловым спиртом [10]. Инфильтрация объектов парафином занимала 7 суток. Парафиновые срезы делали на микротоме RMD-3000 (Россия). Постоянные препараты окрашивали гематоксилином с подкраской алциановым синим [11]. Для анализа гистологических препаратов использовали микроскопы Jeneval (Carl Zeiss, Германия) и AxioScop A1. (Carl Zeiss, Германия). Микрофотографии получены с помощью системы анализа изображения AxioCamERc5s (Carl Zeiss, Германия) и программного приложения AxioVision Rel. 4.8.2.

Для определения периода физиологической зрелости семян *J. fruticans* собирали и закладывали на проращивание ежемесячно в период с сентября по март. У части семян удаляли саркотесту. Семена помещали в чашки Петри на фильтровальную бумагу по 20 штук в трехкратной повторности, с учетом флоральной формы материнского растения. Для определения влияния освещения чашки Петри с высеянными семенами помещали в темные ящики, другая часть высеянных семян оставалась на свету в лабораторных условиях. Семена считали проросшими, если проросток имел семядольные листья и корешок, равный или превышающий размер семени. Количество проросших семян регистрировали еженедельно в течение 3 месяцев. Расчет 95 % доверительных интервалов для долей по методу Уилсона проводили с помощью онлайн-калькулятора (<http://vassarstats.net/prop1.html>). Выявления межгрупповых различий всхожести семян длинно- и короткостолбчатых растений, а также влияния саркотесты и освещения на всхожесть осуществляли с помощью критерия χ^2 Пирсона, используя программное приложение Statistica 10.0 (StatSoft. Ins., США). Для оценки связи между факторами использовали логлинейный анализ [12]. Статически значимыми приняты различия при $p < 0,05$. Продолжительность светового дня определяли на основании данных сайта <http://dateandtime.info>.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Зрелые плоды у *J. fruticans*, как правило, димерные, но встречаются и мономерные в случае, если развитие получают семязачатки только в одной карпелли. В каждой карпелли развивается не более 2 семян. К концу лета семена содержат

зрелый зародыш, дифференцированный на корешок, семядоли и укороченную гипокотиллярную область (рис. 1, А), который окружен слоями уплощенных клеток эндосперма, непосредственно примыкающих к семенной кожуре (рис. 1, Б). Семенная кожура представлена сочной саркотестой, клеточный сок которых имеет розовую окраску. Внутренние слои семенной оболочки сформированы клетками склеротесты (рис. 1, Б). Начиная с сентября, плоды *J. fruticans* приобретают характерную для видов рода *Jasminum* L. черную окраску за счет накопления в клетках экзокарпия темного пигмента [13]. В течение всей зимы плоды сохраняются на растении. Массовая диссеминация происходит в феврале. К этому моменту перикарпий и семенная оболочка, как правило, высыхают.

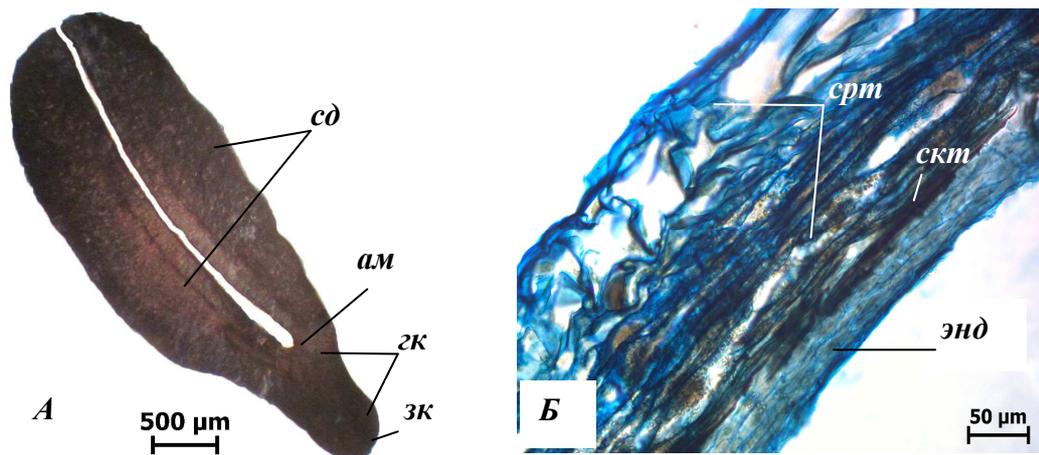


Рис. 1. Продольный срез зрелого зародыша *J. fruticans* (А) и фрагмент семенной кожуры (Б) (ам – апикальная меристема; зк – зародышевый корень; гк – гипокотиль – корневая ось; сд – семядоли; скт – склеротеста; срт – саркотеста; энд – эндосперм).

В целом, всхожесть семян *J. fruticans*, собранных в период с ноября по январь, не превышает 20 %. При удалении саркотесты в зависимости от времени сбора семян всхожесть повышается до 50–70 %. Наилучшие показатели жизнеспособности были отмечены при сборе и посеве семян в декабре, когда всходы дали 70 % семян (95 % ДИ: 58–80 %) (табл. 1). При этом не выявлено статистически значимой разницы между жизнеспособностью семян длинно- и короткостолбчатых растений ($\chi^2=0,13$, $df=1$, $p=0,7187$).

Образование всходов при высевании семян, собранных в декабре года их генерации, при удалении саркотесты, как в условиях освещенности, так и в темноте, отмечалось через 21 сутки после закладки опыта, но максимального значения он достигал, как правило, на 35 сутки. В то же время, при проращивании семян в темноте максимальная всхожесть отмечена на 63 сутки (9 неделя). При этом семена с саркотестой на свету начинали прорастать на 28 сутки, а в темноте они не прорастали (рис. 2).

Таблица 1
Всхожесть семян растений длинно- (L-форма) и короткостолбчатой (S-форма) флоральных форм *J. fruticans* 2018 года генерации в зависимости от периода сбора/посева, наличия саркотесты и освещения (n=60)

Месяц сбора и закладки опыта	Наличие саркотесты	Освещение	L-форма			S-форма		
			Всхожесть, %	Нижний предел 95% ДИ	Верхний предел 95% ДИ	Всхожесть, %	Нижний предел 95% ДИ	Верхний предел 95% ДИ
Сентябрь	1	1	0			0		
		2	0			0		
	2	1	3,33	0,92	1,14	0		
		2	1,67	0,30	8,86	0		
Октябрь	1	1	0			0		
		2	0			0		
	2	1	20,00	11,83	31,78	20,00	11,83	31,78
		2	20,00	11,83	31,78	18,33	10,56	29,92
Ноябрь	1	1	0			0		
		2	0			0		
	2	1	35,00	24,17	47,64	36,67	25,62	49,32
		2	25,00	15,78	37,23	28,33	18,5	40,76
Декабрь	1	1	20,00	11,83	31,78	17,00	9,32	28,04
		2	0			0		
	2	1	70,00	57,49	80,10	70,00	57,49	80,10
		2	40,00	28,57	52,63	50,00	37,74	62,26
Январь	1	1	20,00	11,83	31,78	20,00	11,83	31,78
		2	0			0		
	2	1	60,00	47,37	71,43	20,00	11,83	31,78
		2	20,00	11,83	31,78	30,00	19,9	42,51
Февраль	1	1	0			0		
		2	0			0		
	2	1	38,33	27,09	50,98	41,67	30,07	54,28
		2	5,00	1,71	13,70	15,00	8,1	26,11
Март	1	1	0			0		
		2	0			0		
	2	1	0			0		
		2	0			0		

Примечание: в столбце «Наличие саркотесты»: 1 – семена с саркотестой; 2 – семена без саркотесты; в графе «Освещение»: 1 – проращивание при естественном освещении; 2 – проращивание в темноте.

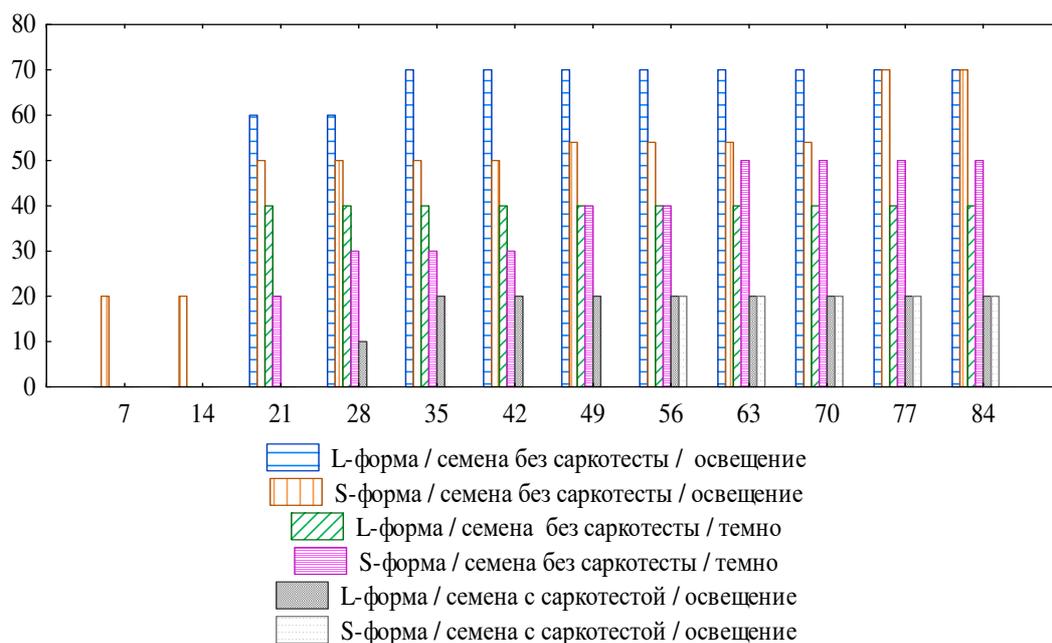


Рис. 2. Динамика всхожести семян, собранных в декабре 2018 года, у длинно- (L-форма) и короткостолбчатых (S-форма) растений *J. fruticans* при различных условиях проращивания. По оси абсцисс – сутки после закладки опыты; по оси ординат – всхожесть, %.

Показано, что у семян, собранных в декабре, в случае удаления саркотесты при проращивании их на свету статистически повышаются шансы образования всходов в 10,36 раза (95 % ДИ: 5,70–18,92) по сравнению с семенами с полноценной семенной кожурой. В темноте общая доля проросших семян без саркотесты составила 40–50 %.

В целом, проращивание семян *J. fruticans* в условиях естественного освещения статистически ($\chi^2=15,35$, $df=1$, $p=0,0001$) повышает шансы их прорастания в 2,8 раза (95 % ДИ: 1,64–4,76), чем в темноте.

Таким образом, семена *J. fruticans* независимо от флоральной формы материнского растения обладают всхожестью в период с ноября по январь, при этом оптимальным сроком сбора семян *J. fruticans* являлся декабрь года их генерации. Трехфакторная модель, включающая месяц сбора/посева, наличие саркотесты и характеристику освещения в период проращивания семян, объясняет наблюдаемые частоты и является оптимальной для оценки взаимодействий между переменными (χ^2 максимального правдоподобия = 33,76, $p=0,08907$; χ^2 Пирсона = 32,386, $p=0,11771$). Следовательно, прорастание семян *J. fruticans* связано с факторами, которыми являются месяц их сбора и посева, состояние саркотесты и освещение.

Ингибирующее влияние саркотесты на образование проростков было отмечено для представителей родов *Magnolia* L. [14], *Punica* L. [15, 16] и *Ginkgo biloba* L. [17]. В настоящее время механизмы ингибирующего воздействия семенной кожуры, и в частности саркотесты, точно не установлены. Высказываются предположения, что семенная кожура оказывает тормозящее действие присутствием в ней ингибиторов, а также в результате затруднения вымывания ингибиторов, содержащихся в семени, создания вокруг зародыша неблагоприятного осмотического давления, затруднения поступления воды в семя и сильного ухудшения газообмена зародыша [8]. Известно, что ингибирующим действием обладают фенолы [8]. Высокое содержание фенольных соединений отмечено в саркотесте семян *Punica granatum* L. [18, 19], что может служить причиной их низкой всхожести при отсутствии старатификации и скарификации. Аналогичным ингибирующим действием обладает ариллус ряда видов, в частности у *Carica papaya* L. [20, 21], *Coffea arabica* L. [22] и *Passiflora alata* Curt. [23]. Martins C. M. с соавторами [24] показали, что экстракт веществ, содержащихся в ариллусе *Passiflora edulis* Sims., оказывает ингибирующее влияние на прорастание семян. Поскольку содержащиеся в нем ненасыщенные триглицериды, способны создавать барьер для поглощения воды, а присутствующие стероиды могут подействовать как гормоны и способны нарушать гормональный баланс, блокируя процесс прорастания.

Как правило, для того чтобы устранить задержку прорастания в естественных условиях, достаточно адсорбции ингибирующих веществ почвой. В ряде случаев тормозящее действие околоплодника преодолевается длительной стратификацией, способствующей разрушению семенной кожуры [8, 25]. В этом случае устранение физиологического механизма торможения может быть связано с процессами трансформации веществ, содержащихся в саркотесте, происходящими при низких температурах. Вероятно, именно эти процессы происходят при стратификации семян *J. fruticans* [5–7] и *P. granatum* [19], что приводит к их прорастанию. Учитывая, что плоды *J. fruticans* в течение осени и зимы сохраняются на материнском растении, они естественно в этот период подвергаются низкотемпературным воздействиям, что в конечном итоге приводит к устранению ингибирующего влияния саркотесты, создавая предпосылки для образования всходов в оптимальный по погодным условиям период. Также можно предположить более высокие показатели всхожести (около 86 %) семян *J. fruticans*, при высевании их в почву, отмеченные в работах Olmez Z. с соавторами [5, 6], по сравнению с данными лабораторной всхожести, полученными нами, что обусловлено адсорбционными веществами почвы в первом случае, за счет чего ингибирующее действие веществ, содержащихся в саркотесте, может существенно снижаться.

Реакция семян на свет является важным фактором, способным прервать состояние физиологического покоя семени. Как правило, светочувствительность проявляют семена с неглубоким физиологическим покоем. На этой стадии семена становятся чувствительны спектральному качеству света, его интенсивности и продолжительности светового дня, что в целом может служить сигналом для активизации фитохромов, изменению баланса фитогормонов, приводящим к росту

проростка [26]. При этом действие света может быть заменено холодной стратификацией, стимуляторами или повреждениями покровов [25]. В целом, светочувствительность семян является адаптацией к окружающей среде, свидетельствующей о сезонной приуроченности образования всходов. Для семян *J. fruticans* период оптимальной всхожести семян приурочен месяцам, когда длина светового дня не превышает 10 часов (ноябрь – январь) (<http://dateandtime.info>). Дальнейшее увеличение продолжительности светового дня, вероятно, служит сигналом для перехода семени в состояние вторичного покоя.

Таким образом, покой семян *J. fruticans*, главным образом, определяется физиологическим механизмом торможения, обусловленным свойствами семенной кожуры, оказывающей ингибирующее влияние на ростовые процессы зародыша, что, согласно классификаций Николаевой М. Г. [8] и Baskin J. M., Baskin C. C. [27], характерно для физиологического типа покоя.

Известно, что период покоя семян является адаптивным механизмом выживания вида. В естественной среде период покоя, как правило, сопряжен с определенным сезоном, характеризующимся совокупностью абиотических факторов, под воздействием которых в семени происходят морфологические и физиологические процессы в конечном итоге, оказывающие стимулирующее воздействие и снимающие блок торможения [26, 28]. У *J. fruticans* семена достигают морфологической зрелости к концу лета, а в течение осени происходят процессы их физиологического дозревания. В период с ноября по январь зародыш физиологически зрелый и в случае снятия блока торможения способен к росту и развитию проростка. Основную роль в реализации физиологического механизма торможения прорастания играет саркотеста, предотвращая преждевременное прорастание зародыша. Снятие блока торможения при стратификации может соответствовать естественным процессам трансформации веществ, содержащихся в саркотесте, которые протекают при пониженных температурах в течение осени и зимы, или вымыванием и адсорбцией почвой веществ, ингибирующих прорастание. Весной семена переходят в состояние вторичного покоя, что предотвращает образование проростков в весенне-летний сезон и создает почвенный семенной банк.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Зрелые семена *J. fruticans* содержат зародыш, дифференцированный на две семядоли, апикальную меристему, гипокотиль и корешок. Семенная кожура образована саркотестой, представляющей собой сочный слой семенной кожуры, и слоями склерифицированными клетками склеротесты.

Установлено, что на всхожесть семян *J. fruticans* не влияет флоральная форма материнского растения. Доля проросших семян связана с периодом их сбора и посева, наличием или отсутствием саркотесты и условиями освещения в период их проращивания. Семена, собранные и высеянные в период с длиной светового дня не более 10 часов (с ноября по январь), успешно прорастают при удалении саркотесты и проращивании их на свету. Наибольший процент всходов (70 %) при данных условиях отмечен при сборе семян в декабре. Показано, что удаление саркотесты в 10,36 раза (95 % ДИ: 5,70–18,92) раз повышает шансы прорастания семени.

Проращивание семян *J. fruticans* на свету в указанный период в 2,8 раза (95 % ДИ: 1,64–4,76) повышает шансы образования всходов. Показано, что, как правило, всхожесть достигает своего максимального значения на 35 сутки после посева.

В целом, учитывая, что период покоя семян является адаптивным механизмом для выживания вида, и сопряжен с определенными факторами, оказывающими стимулирующее прорастание семени, то можно предположить, что для семян *J. fruticans* характерен физиологический механизм торможения, имеющий сезонную приуроченность.

Список литературы

1. Голубев В. Н. Биологическая флора Крыма / В. Н. Голубев. – Ялта: НБС-ННЦ, 1996. – 126 с.
2. Дикорастущие полезные растения Крыма (краткий справочник) / ред. Н. И. Рубцов. – Ялта, 1971. – 278 с.
3. Thompson J. D. Morph-specific patterns of variation in stigma height in natural populations of distylous *Jasminum fruticans* / J. D. Thompson, B. Dommée // *New Phytol.* – 2000. – Vol. 148. – P. 303–314.
4. Кузьмина Т. Н. Диморфизм цветков *Jasminum fruticans* L. / Т. Н. Кузьмина // *Вестник Пермского университета. Серия Биология.* – 2017. – Vol. 3. – P. 233–239.
5. Olmez Z. Effects of some pretreatments on seed germination of nine different drought-tolerant shrubs / Z. Olmez, A. Gokturk, F. Temel // *Seed Sci. & Technol.* – 2007. – V. 35. – P. 75–87.
6. Olmez Z. Effect of cold stratification treatments on germination of drought tolerant shrubs seeds / Z. Olmez, F. Temel, A. Gokturk, Z. Yahyaoglu // *Journal of Environmental Biology.* – 2007. – Vol. 28, No 2. – P. 447–453
7. Pipinis E. The effect of stratification on seed germination of *Jasminum fruticans* L. (Oleaceae): a contribution to a better insight on the species germination ecology / E. Pipinis, E. Miliotis, M. Aslanidou, O. Mavrokordopoulou, P. Smiris // *International Journal of Botany.* – 2009 – Vol. 5, No 2. – P. 181–185.
8. Николаева М. Г. Справочник по проращиванию покоящихся семян / М. Г. Николаева, М. В. Разумова, В. Н. Гладкова, М. Ф. Данилова (отв. ред.). – Л. : Наука, 1985. – 347 с.
9. Паушева З. П. Практикум по цитологии растений / З. П. Паушева. – М. : Колос, 1990. – 283 с.
10. Кузьмина Т. Н. Генезис микроспорангия *Jasminum officinale* L. (Oleaceae) / Т. Н. Кузьмина // *Бюлл. Гос. Никит. бот. сада.* – 2017. – Вып. 124. – С. 103–109.
11. Жинкина Н. А. К методике окраски эмбриологических препаратов / Н. А. Жинкина, О. Н. Воронова // *Бот. журн.* – 2000. – Т. 85, № 6. – С. 168–171.
12. Гашев С. Н. Математические методы в биологии. Анализ биологических данных в системе Statistica / С. Н. Гашев., Ф. Х. Бетляева, М. Ю. Лупинос. – М. : Издательство Юрайт, 2018. – 208 с.
13. Филоненко А. В. Морфология плодов и анатомия перикарпия *Jasminum azoricum* L. (Oleaceae) / А. В. Филоненко, А. П. Меликян // *Актуальні проблеми ботаніки та екології. Матеріали міжнародної конференції молодих учених.* – Київ, 2008 – С. 263–264.
14. Палагеча Р. М. Интродукция, размножения, акклиматизация та впровадження магнолій в озеленення / Р. М. Палагеча // *Бюллетень Никитского ботанического сада.* – 2011. – Вып. 102. – С. 80–86.
15. Osipi E. A. F. Sarcotesta removal methods and GA3 treatment on germination of *Punica granatum* L. seeds / E. A. F. Osipi, D. U. de Carvalho, M. A. da Cruz [et al.] // *Biotemas.* – 2018. – Vol. 31, No 2. – P. 1–8.
16. Carvalho D. U. Germination of pomegranate seeds under sarcotesta extraction methods and drying / D. U. de Carvalho, M. A. da Cruz, E. A. F. Osipi [et al.] // *Journal of Agricultural Science.* – 2017. – Vol. 9, No. 10. – P. 198–204.
17. Del Tredici P. The phenology of sexual reproduction in *Ginkgo biloba*: Ecological and evolutionary implications / P. Del Tredici // *The Botanical Review.* – 2007. – Vol. 73, No 4. – P. 267–278.
18. Deepika R. In vitro regeneration of *Punica granatum* L. plants from different juvenile explants / R. Deepika, K. Kanwar // *Journal of Fruit and Ornamental Plant Research, Skierniewice.* – 2010. – Vol. 18, No 1.– P. 5–22.

19. Fernandes L. Physicochemical changes and antioxidant activity of juice, skin, pellicle and seed of pomegranate (cv. Mollar de Elche) at different stages of ripening / L. Fernandes, J. A. C. Pereira, I. López-Cortés, D. M. Salazar, E. C. D. Ramalhosa // Food Technol. Biotechnol. – 2015. – Vol. 53, No 4. – P. 397–406.
20. Gherardi E. Occurrence of promoting and inhibitory substances in the seed arils of *Carica papaya* L. / E. Gherardi, I. F. M. Valio // Journal of Horticultural Science. – 1976. – Vol. 51. – P. 1–14.
21. Jesus V. A. M. Sodium hypochlorite for removal of the sarcotesta from newly extracted and stored papaya seeds / V. A. M. de Jesus, E. F. Araújo, F. L. Santos, L. A. dos Santos Dias, R. F. de Silva // Journal of Seed Science. – 2016. – Vol. 38, No 4. – P. 358–364.
22. Dias M. C. L. L. Avaliação de métodos de remoção da mucilagem de sementes de café (*Coffea arabica* L.). / M. C. L. L. Dias, A. S. R. Barros // Revista Brasileira de Sementes. – 1993. – Vol. 15, No. 2. – P. 191–195.
23. Ferreira G. Efeito de arilo na germinação de sementes de *Passiflora alata* curtis em diferentes substratos e submetidas a tratamentos com giberelina / G. Ferreira, A. de Oliveira, J. D. Rodrigues, G. B. Dias, A. M. Detoni, S. M. Tesser, A. M. Antunes // Revista Brasileira de Fruticultura. – 2005. – Vol. 27, No. 2. – P. 277–280.
24. Martins C. M. Análise fitoquímica do arilo de sementes de maracujá-amarelo e influência em germinação de sementes. / C. M. Martins, M. A. S. Vasconcellos, C. A. V. Rossetto, M. G. Carvalho // Ciência Rural. – 2010. – Vol. 40, No 9. – P. 1934–1940.
25. Николаева М. Г. Покой семян и факторы, его контролирующие / М. Г. Николаева // Физиология и биохимия покоя и прорастания семян. – М. : Колос, 1982. – С. 72–96.
26. Footitt S. Dormancy and Control of Seed Germination / S. Footitt, W. E. Finch-Savage, S. Clemens [eds.] // Plant Physiology and Function. The Plant Sciences. – 2017. – Vol. 6. – P. 1–30.
27. Baskin J. M. A classification system for seed dormancy / J. M. Baskin, C. C. Baskin // Seed Science Research – 2004. – Vol. 14. – P. 1–16.
28. Finch-Savage W. E. Seed dormancy and the control of germination / W. E. Finch-Savage, G. Leubner-Metzger // New Phytologist. – 2006. – Vol. 171. – P. 501–523.

CHARACTERIZATION AND SEED GERMINATION OF *JASMINUM FRUTICANS* L. (OLEACEAE)

Kuzmina T. N.

*Federal State-Funded Institution of Science "The Order of the Red Banner Nikita Botanical Gardens – National Scientific Center of RAS", Yalta, Crimea, Russian Federation
E-mail: tnkuzmina@rambler.ru*

The article presents the results of a study of germination of seeds of *Jasminum fruticans* L. – heterostyled species from the family Oleaceae. The shrub is represented by individuals of two floral forms: long-styled and short-styled. In the Crimea the plant grows in mountainous areas at an altitude of 100 to 500 m ASL. It prefers light forests and dry slopes. Fruits and seeds of *J. fruticans* begin to mature in September. The fruits remain on the plant until the end of winter. Seeds have a differentiated embryo. The embryo is formed by two cotyledons, apical meristem, short hypocotyl-root axis and embryonic root. Cellular endosperm surrounds the embryo. It is represented by several rows of cells. Seed coat consist of juicy sarcotesta and multiple cell layers of sclerotesta. The floral form of the parent plant does not affect the seeds germination of *J. fruticans*. Seeds germinate from November to February. The largest share (70 %) of seedlings was

noted in December. Seeds begin to germinate on 21 days after sowing. The formation of seedling may last for up to 63 days. The maximum value of germination reaches in 35 days. Removal of sarcotesta increases the chances of the formation of seedling by 10.36 time (95 % CI: 5.70–18.92). Germination of seeds under lighting increases the chances of laboratory germination by 2.8 times (95 % CI: 1.64–4.76). Log-linear analysis showed that the main factors involved in the germination of seeds of *J. fruticans*, were the time of harvest and sowing, the presence of sarcotesta and lighting. Dormancy of seeds *J. fruticans* has a seasonal frequency and is determined by the physiological mechanism of inhibition, due to the properties of the seed peel, which has an inhibitory effect on the growth process of the embryo, which is characteristic of the physiological dormancy.

Keywords: seed, germination, dormancy, seed coat, sarcotesta, heterostyly, *Jasminum*, *Oleaceae*.

References

1. Golubev W. N. *Biological flora of the Crimea*, 126 p. (Yalta, 1996).
2. *Wild plants useful Crimea* (quick reference), 278 p. (Yalta, 1971).
3. Thompson J. D. and Dommée B. Morph-specific patterns of variation in stigma height in natural populations of distylous *Jasminum*, *New Phytol.* **148**, 303 (2000).
4. Kuzmina T. N. The dimorphism of flower of *Jasminum fruticans* L. (Oleaceae), *Bulletin of Perm university. Biology*, **3**, 233 (2017).
5. Olmez Z., Gokturk A. and Temel F. Effects of some pretreatments on seed germination of nine different drought-tolerant shrubs, *Seed Sci. & Technol.* **35**, 75 (2007).
6. Olmez Z., Temel F., Gokturk A. and Yahyaoglu Z. Effect of cold stratification treatments on germination of drought tolerant shrubs seeds, *Journal of Environmental Biology*, **28**, 2, 447 (2007).
7. Pipinis E., Milios E., Aslanidou M., Mavrokordopoulou O. and Smiris P. The effect of stratification on seed germination of *Jasminum fruticans* L. (Oleaceae): a contribution to a better insight on the species germination ecology, *International Journal of Botany*, **5**, 2, 181 (2009).
8. Nikolaeva N. G., Razumova N. V., Gladkova V. N. and Danilova M. F. *Guide to germination of dormant seeds*, 347 p. (Science, Leningrad, 1985).
9. Pausheva Z. P. *Practical work on plant cytology*, 283 p. (Kolos, Moscow, 1990).
10. Kuzmina T. N. Genesis of microsporangium of *Jasminum officinale* L. (Oleaceae), *Bull. of the State Nikita Botan. Gard.*, **124**, 103 (2017).
11. Zhinkina N. A. and Voronova O. N. On staining technique of embryological, *Botanical journal*, **85**, 6, 168 (2000).
12. Gashev S. N., Betliaeva F. H. and Lupinos M. Y. *Mathematical methods in biology. Analysis of biological data in Statistica*, 208 p. (Yurayt Publishing House, Moscow, 2018).
13. Filonenko A. V. and Melikyan A. P. Morphology and fruit anatomy pericope *Jasminum azoricum* L. (Oleaceae). *Actual problems of botany and ecology. Proceedings of the international conference of young scientists* (Kiev, 2008), p. 263.
14. Palagecha R. N. Introduction, breeding, acclimatization and introduction of magnolia trees in landscaping, *Bull. of the State Nikita Botan. Gard.*, **102**, 80 (2011).
15. Osipi E. A. F., Carvalho D. U. de, Cruz M. A. da, Osipe J. B., Cossa C. A. and Sorace M. A. Sarcotesta removal methods and GA3 treatment on germination of *Punica granatum* L. seeds, *Biotemas*. **31**, 2, 1 (2018).
16. Carvalho D. U. de, Cruz M. A. da, Osipi E. A. F., Osipe J. B., Colombo R. C., Marinho J. L., Sorace M. A. F. and Cossa C. A. Germination of pomegranate seeds under sarcotesta extraction methods and drying, *Journal of Agricultural Science*, **9**, 10, 198 (2017).
17. Del Tredici P. The phenology of sexual reproduction in *Ginkgo biloba*: Ecological and evolutionary implications, *The Botanical Review*, **73**, 4, 267 (2007).

18. Deepika R. and Kanwar K. In vitro regeneration of *Punica granatum* L. plants from different juvenile explants, *Journal of Fruit and Ornamental Plant Research, Skierniewice*, **18**, 1, 5 (2010).
19. Fernandes L., Pereira J. A. C., López-Cortés I., Salazar D. M. and Ramalhosa E. C. D. Physicochemical changes and antioxidant activity of juice, skin, pellicle and seed of pomegranate (cv. Mollar de Elche) at Different Stages of Ripening, *Food Technol. Biotechnol.*, **53**, 4, 397 (2015).
20. Gherardi E. and Valio I. F. M. Occurrence of promoting and inhibitory substances in the seed arils of *Carica papaya* L., *Journal of Horticultural Science*, **51**, 1 (1976).
21. Jesus V. A. M. de, Araújo E. F., Santos F. L., Santos Dias L. A. dos and Silva R. F. de. Sodium hypochlorite for removal of the sarcotesta from newly extracted and stored papaya seeds, *Journal of Seed Science*. **38**, 4, 358 (2016).
22. Dias M. C. L. L. and Barros A. S. R. Avaliação de métodos de remoção da mucilagem de sementes de café (*Coffea arabica* L.), *Revista Brasileira de Sementes*. **15**, 2, 191 (1993).
23. Ferreira G., Oliveira A. de, Rodrigues J. D., Dias G. B., Detoni A. M., Tesser S. M. and Antunes A. M. Efeito de arilo na germinação de sementes de *Passiflora alata* curtis em diferentes substratos e submetidas a tratamentos com giberelina, *Revista Brasileira de Fruticultura*, **27**, 2, 277 (2005).
24. Martins C. M., Vasconcellos M. A. S., Rossetto C. A. V. and Carvalho M. G. Phytochemical prospecting for aril of yellow passion fruit seeds and influence on seed germination, *ciência Rural*, **40**, 9, 1934 (2010).
25. Nikolaeva M. G. Seed dormancy and factors controlling it, *Physiology and biochemistry of rest and germination of seeds*, 72 (Moscow : Kolos, 1982).
26. Footitt S., Finch-Savage W.E. and Clemens S. Dormancy and Control of Seed Germination, *Plant Physiology and Function. The Plant Sciences*, **6**, 1 (2017).
27. Baskin J. M. and Baskin C. C. A classification system for seed dormancy, *Seed Science Research*, **14**, 1 (2004).
28. Finch-Savage W. E. and Leubner-Metzger G. Seed dormancy and the control of Germination, *New Phytologist.*, **171**, 501 (2006).

УДК 597.553.1 (262.5)

ИНДИВИДУАЛЬНЫЙ РОСТ И ПРОДУКЦИОННЫЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ СТАД СТАВРИДЫ *TRACHURUS MEDITERRANEUS*, ОБИТАЮЩИХ НА ЮГО-ЗАПАДНОМ ШЕЛЬФЕ КРЫМА

Мельникова Е. Б.¹, Кузьминова Н. С.²

¹Институт природно-технических систем ФГБУН, Севастополь, Республика Крым, Россия

²Институт морских биологических исследований имени А. О. Ковалевского РАН,
Севастополь, Республика Крым, Россия

E-mail: helena_melnikova@mail.ru

Проведен расчет прироста массы особей и суточной удельной продукции промысловых стад ставриды, обитающих в прибрежных водах Севастополя, и в акватории Балаклавской бухты, расположенных в двух микроклиматических подзонах Гераклеяского п-ова. Показано, что у ставриды, обитающей в акватории Балаклавской бухты, локальная орография которой обуславливает особые погодные условия, суточный прирост массы больше, чем у ставриды из прибрежных вод Севастополя. Найдены региональные отличия суточной удельной продукции промысловых стад.

Ключевые слова: средиземноморская ставрида, бухты Севастополя, Балаклавская бухта, прирост массы, удельная продукция.

ВВЕДЕНИЕ

Средиземноморская ставрида (*Trachurus mediterraneus* [Steindachner, 1868]) занимает третье место среди самых добываемых в Черном море рыб, уступая по уловам только хамсе и шпроту. Она играет существенную роль в экономике причерноморских государств. Вылов ставриды в Черном море колеблется в широких пределах. Так, в 1985 году он превышал 140,0 тыс. т, затем резко снизился [1]. Факторов, приведших к снижению уловов несколько, однако одним из главных признается высокая эксплуатация промысловых запасов [1], которая проводилась без учета последствий структурно-функциональных изменений черноморской экосистемы и своевременного расчета продукционных характеристик промысловых стад. С 1991 года наметилось восстановление запасов ставриды, и в последнее десятилетие вылов ставриды причерноморскими государствами стабилизировался в пределах 15,0–20,0 тыс. т с тенденцией к увеличению в современный период [2].

Ставрида широко распространена вдоль всего побережья Черного моря [3, 4]. При этом естественно предположить, что ставрида, обитающая в различных условиях, отличается по темпам роста, продукционным и другим характеристикам.

Еще А. П. Амброз (1954) отмечал, что ставрида, обитающая вдоль побережья Черного моря, образует несколько локальных стад с характерными для каждого из них биологическими особенностями [5]. Ю. Г. Алеев [6] также отмечал, что

черноморская ставрида в пределах своего ареала представлена несколькими (четырьмя) локальными стадами. Ареалы трех стад – юго-западного, северного и восточного – в целом взаимно исключают друг друга. Ареал четвертого (южного стада) охватывает анатолийские воды Черного моря и его прибосфорский район и наложен на ареалы других стад. При этом каждое из стад ставриды характеризуется специфическими особенностями.

Авторы более поздних публикаций [7–9] также отмечали существование локальных группировок ставриды, характеризующихся различными размерно-весовыми и другими параметрами, в том числе, в прибрежной зоне Севастополя и Балаклавы [10].

Район проведения исследований расположен на юго-западном шельфе Крыма. При этом от мыса Фиолент по центральной части Гераклеийского п-ова проходит граница двух климатических поясов: умеренного и субтропического. Прибрежные воды Севастополя находятся севернее этой границы, а район Балаклавской бухты – южнее. Вследствие этого район проведения исследований находится в двух микроклиматических подзонах, оказывающих влияние как на особенности экологического состояния прибрежных вод, так и на особенности гидробионтного комплекса, обитающего в этих районах [11, 12]. Акватория Балаклавской бухты, по сравнению с районом прибрежных вод Севастополя, характеризуется более высокой средней многолетней скоростью ветра [12]. При этом наибольшая повторяемость сильных ветров типична для южных и северных направлений, вызывающих сгонные и нагонные явления, приводящие к эвтрофикации вод [12, 13]. Кроме того, в районе Балаклавской бухты и смежных районах залива Мегало-Яло температура воды может резко изменяться во время апвеллингов. Причем длительность температурной аномалии, вызванной апвеллингом, сказывается на видовом составе фито- и зоопланктона, являющихся кормовой базой пелагических видов рыб, а также его распределении по глубине [11, 12, 14, 15].

Бухты Карантинная, Александровская и Стрелецкая находятся в территориальных водах г. Севастополя, что отрицательно сказывается на экологическом состоянии этих бухт [16, 17].

Район Балаклавской бухты и смежные районы залива Мегало-Яло по сравнению с Севастопольскими бухтами относят в экологическом плане к более благополучным районам. Поэтому концентрация кормового зоопланктона и анчоуса, являющихся основной кормовой базой ставриды, в этом районе более высокая [18–20].

Вследствие различий по обеспеченности пищей можно предположить, что ставрида, обитающая в прибрежных водах северного и южного склонов Гераклеийского п-ва, будет отличаться по размерно-весовым характеристикам [21].

Воспроизводство и длительное использование запаса живых ресурсов основываются на расчете продуктивности промысловых стад [22]. Поэтому изучение индивидуального и популяционного роста ставриды, обитающей в районах, характеризующихся климатическими и экологическими особенностями, необходимы для выработки мероприятий по рациональному режиму рыболовства и является важной рыбохозяйственной задачей.

Целью данной работы является определение параметров индивидуального роста и определение региональных отличий удельной продукции промысловых стад ставриды, обитающих в прибрежных водах, расположенных на северном и южном склонах Гераклейского п-ова (юго-западный шельф Крыма).

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Особи ставриды средиземноморской *Trachurus mediterraneus* были отловлены на юго-западном шельфе Крыма в прибрежных водах Севастополя (бухты Александровская, Карантинная, Стрелецкая, открытая часть акватории напротив бухты Песочная), а также в Балаклавской бухте (рис. 1). Пробы были взяты в 2010–2018 годах в весенне-летний период (апрель–август).

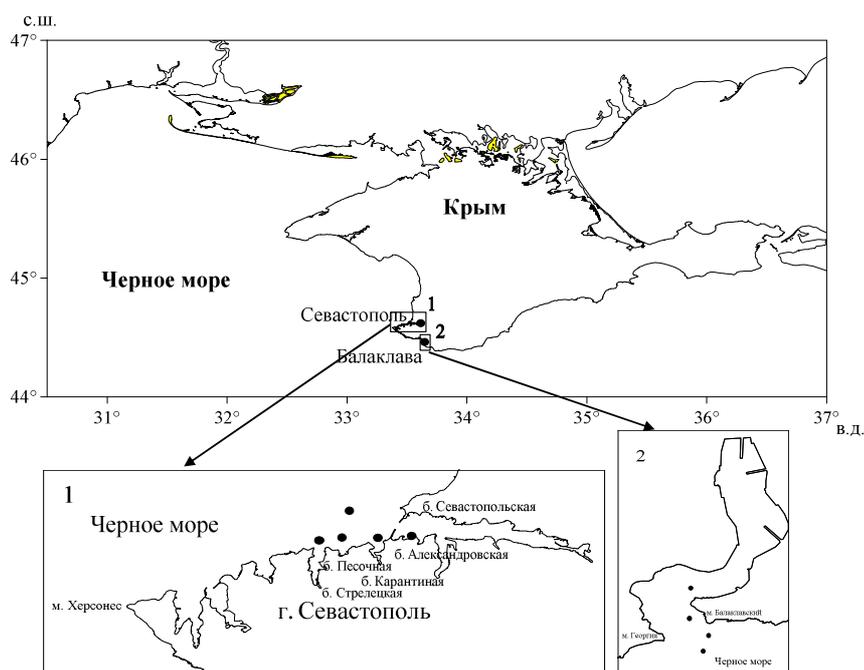


Рис. 1. Схема района исследования и места отбора проб.

Обработку проб проводили отдельно для рыб, выловленных в прибрежных водах Севастополя, и в акватории Балаклавской бухты. Количество исследованных особей в целом составило 1832 экз., из них 1324 экз. выловлены в прибрежных водах Севастополя и 508 экз. – в акватории Балаклавской бухты.

При обработке проб длину тела измеряли с погрешностью до 0,1 см. Выполняли промеры стандартной длины (расстояние от переднего конца рыла до конца позвоночника) с последующим объединением в размерные группы с

интервалом 1 см. Для проведения расчетов продукционных характеристик находили относительную численность в промысловом стаде рыб, относящихся к одной размерной группе по формуле:

$$n_{i \text{ отн}} = \frac{n_i}{\sum_{i=1}^k n_i}, \quad (1)$$

где $n_{i \text{ отн}}$ – относительная численность i -ой размерной группы в промысловом стаде; n_i – количество особей ставриды в i -ой размерной группы; k – количество размерных групп в промысловом стаде.

Во всех расчетах использовали только стандартную длину. Массу тела определяли взвешиванием на электронных весах Sartorius excellence E-20900D с погрешностью, не превышающей сотых долей грамма. Возраст рыб определяли по отолитам, анализ которых проводили под бинокулярным микроскопом МБС-10 с помощью окуляр-микрометра при увеличении 8×2 в проходящем свете после предварительного просветления в глицерине. Пол и стадию зрелости определяли по состоянию гонад по шкале [23].

Для оценки достоверности различий между размерно-весовыми параметрами ставриды, выловленной в прибрежных водах Севастополя и акватории Балаклавской бухты, использовали t – критерий Стьюдента.

Зависимость стандартной длины особей ставриды от возраста находили по формуле линейного роста Берталанфи:

$$L_t = L_{\infty}[1 - e^{-K(t-t_0)}], \quad (2)$$

где L_t – длина рыбы в возрасте t ; L_{∞} – средняя предельно достижимая (асимптотическая) длина рыбы исследуемой популяции; K – константа роста; t_0 – константа, имеющая размерность времени; t – возраст рыбы.

Константы уравнения линейного роста Берталанфи (L_{∞} , K , t_0) находили по методике, изложенной в работе [24].

Размерно-весовые соотношения находили по формуле:

$$W = a \cdot L^b, \quad (3)$$

где W – общая масса тела, г; L – стандартная длина рыбы, см; a и b – константы.

Суточную удельную продукцию особи рассчитывали по формуле:

$$\frac{\Delta W}{W} = \frac{2(W_{t+1} - W_t)}{W_{t+1} + W_t}, \quad (4)$$

где W_t и W_{t+1} – масса рыбы с интервалом в одни сутки.

Относительную суточную удельную продукцию рыб, относящихся к одной размерной группе промыслового стада, находили по удельной продукции особи (см. выражение (4)) и относительной численности размерной группы в промысловом стаде (см. выражение (1)) по формуле:

$$C_i = \left(\frac{\Delta W}{W}\right)_i \cdot n_{i \text{ отн}}, \quad (5)$$

где C_i – относительная суточная удельная продукция рыб i -ой размерной группы промыслового стада; $\left(\frac{\Delta W}{W}\right)_i$ – суточная удельная продукция особи i -ой размерной

группы; $n_{i \text{ отн}}$ – относительная численность i -ой размерной группы в промысловом стаде.

Суточную удельную продукцию промыслового стада находили как сумму относительной удельной продукции всех размерных групп промыслового стада

$$C = \sum_{i=1}^k C_i, \quad (6)$$

где C – суточная удельная продукция промыслового стада; C_i – относительная суточная удельная продукция рыб i -ой размерной группы.

Математическую обработку результатов проводили на персональном компьютере с использованием программ *Microsoft Excel 5.0*, *Statistica 6.0*, *SigmaPlot 11.0*, *Surfer 10.0*.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

В уловах ставриды в 2010–2018 годах встречались годовики, двухгодовики, трехгодовики, четырехгодовики и пятигодовики. При этом в прибрежных водах Севастополя основную долю уловов (более 85 %) составляли годовики и двухгодовики, доля четырех- и пятигодовиков не превышала 2 %. В акватории Балаклавской бухты примерно 50 % уловов составляли двух- и трехгодовики, годовики составляли 2–3 %, а четырех- и пятигодовики – 8–9 % уловов.

Относительное размерное распределение встречающихся в уловах рыб, усредненное за временной интервал с 2010 по 2018 годы, изображено на рис. 2.

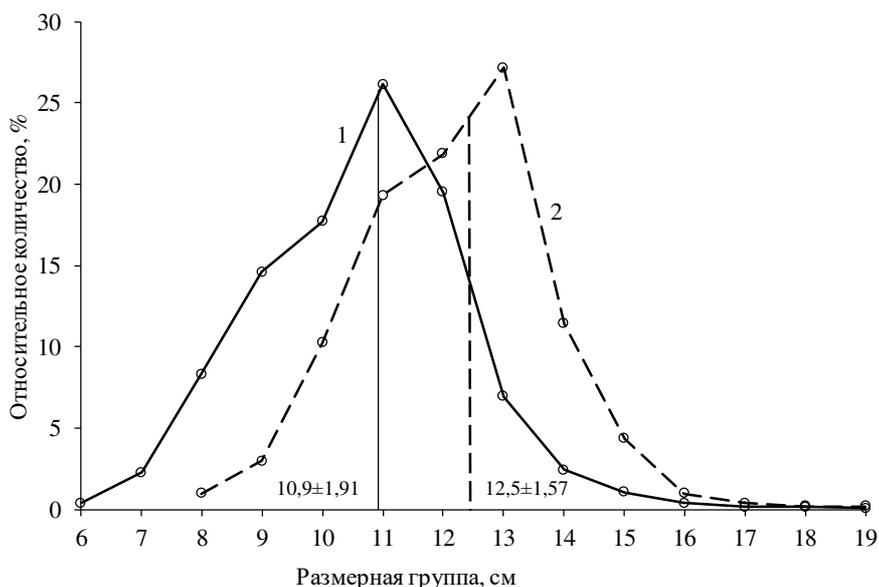


Рис. 2. Относительное размерное распределение ставриды; 1 – прибрежные воды Севастополя; 2 – акватория Балаклавской бухты.

Усредненные кривые размерного распределения ставриды за период проведения исследования (2010–2018 годы) для обоих районов имеют вид унимодальных кривых с острой вершиной. При этом для рыб, обитающих в прибрежных водах Севастополя, вершина кривой размерного распределения практически совпадает со средним значением, а для акватории Балаклавской бухты вершина кривой несколько смещена в правую сторону от среднего значения.

Стандартная длина рыб в прибрежных водах Севастополя варьировала от 6,6 до 19,1 см (при среднем значении $10,9 \pm 1,91$ см). В акватории Балаклавской бухты в основном встречались более крупные особи. Стандартная длина варьировала от 8,1 до 19,0 см (при среднем значении $12,5 \pm 1,57$ см). Анализ половой структуры показал, что доля самцов в прибрежных водах Севастополя превышала долю самок, а в акватории Балаклавской бухты соотношение самцов и самок было практически равным 50 %.

Полученные результаты по размерно-весовым характеристикам и параметрам роста ставриды приведены в табл. 1.

Таблица 1.
Основные усредненные характеристики и параметры роста ставриды, выловленной в 2010–2018 годах

Параметры	Прибрежные воды Севастополя	Акватория Балаклавской бухты
Количество рыб, экз.	1324	508
Средняя стандартная длина, см	$10,9 \pm 1,91$	$12,5 \pm 1,57$
Средняя общая длина, см	$13,5 \pm 2,11$	$15,3 \pm 1,91$
Средняя масса рыбы, г	$16,67 \pm 9,76$	$26,08 \pm 11,59$
Константы уравнения роста Бергаланфи		
Средняя предельно достижимая длина (L_{∞})	23,7	24,9
Константа роста (K)	0,21	0,18
Константа (t_0)	1,20	1,35
Константы зависимости «вес—длина»		
Константа a	0,0070	0,0060
Константа b	3,09	3,15
Коэффициент детерминации, R^2	0,9783	0,9651

В прибрежных водах Севастополя встречаются в основном особи длиной 9–12 см (около 77,9 %), примерно половина (45,6 %) встречающихся особей имеет длину 11–12 см, особи длиной более 17 см встречаются единичными экземплярами.

В акватории Балаклавской бухты примерно половина встречающихся особей имеет длину 12–13 см, почти 90 % встречающихся особей имеет длину 10–14 см. Особи длиной более 17 см встречаются единичными экземплярами.

В. Н. Тихонов и Р. Н. Прокопенко [19] отмечали, что возрастной состав ставриды в промысловых уловах в отдельные годы значительно колеблется. Это

свидетельствует о вступлении в промысел поколений различной урожайности. Далее в этой работе отмечено, что ставрида старших возрастных групп в наибольшем количестве бывает на местах зимовки – в Балаклаве. Это подтверждается и в наших исследованиях. В акватории Балаклавской бухты встречались рыбы более старших возрастных групп – двух- и трехгодовики. В то время как в прибрежных водах Севастополя преобладали более молодые особи – годовики и двухгодовики.

На возрастной состав весенних уловов ставриды сказываются также сроки начала миграции. Следует отметить, что сроки подъема перезимовавшей ставриды в верхние горизонты воды весной зависят от гидрометеорологических условий. В работе [19] отмечено, что из района Балаклавской бухты весенняя миграция ставриды начинается в конце апреля–начале мая, продолжительность весенней миграции на запад в разные годы продолжается от одного до двух месяцев. При этом до начала активной миграции ставрида еще держится в районе мест зимовок и поэтому в весенних уловах ставриды из акватории Балаклавской бухты (с учетом возрастного состава зимующей ставриды) преобладают особи более старших возрастных групп.

Полученный нами массив данных, как правило, включал особей, отловленных в весенне-летний период, то есть период наибольшей миграционной активности. И именно для этого периода мы постоянно (каждый год) получаем результаты, доказывающие наличие отличительных особенностей группировок. В зимний период улов малочисленен, поэтому не был включен в обсуждение. Однако биология вида такова, что в этот период, ставрида, не совершает миграций, а опускается в зимовальные ямы, следовательно, не имеет возможности смешиваться.

В табл. 1 кроме размерно-весовых характеристик приведены также найденные константы уравнения роста Бергаланфи (см. выражение (2)), константы регрессионной зависимости «вес–длина» и коэффициенты детерминации. Получена достаточно высокая оценка качества регрессионных кривых зависимости «вес–длина» как для ставриды из прибрежных вод Севастополя ($R^2 = 0,9783$), так и ставрида из акватории Балаклавской бухты ($R^2 = 0,9651$).

На рис. 3 изображены усредненные за период проведения исследований (с 2010 по 2018 годы) зависимости «вес–длина» для ставриды, выловленной в прибрежных водах на юго-западном шельфе Крыма.

Анализ результатов показывает, что масса особей из прибрежных вод Севастополя варьирует от 3,5 до 100,7 г (при среднем значении $16,67 \pm 9,76$ г), а из акватории Балаклавской бухты – от 7,2 до 93 г при среднем значении $26,08 \pm 11,59$ г. Средняя масса рыб, обитающих в акватории Балаклавской бухты, примерно на 50 % выше, чем у рыб, обитающих в прибрежных водах Севастополя.

В работе К. С. Ткачевой и др. [21] проведены исследования влияния кормовых условий на межгодовые отличия в развитии различных видов рыб. Отмечено, что в различные годы темп роста сеголетков ставриды различен, при этом между их ростом и биомассой зоопланктона существует прямая связь. Отличия в межгодовом росте в зависимости от обеспеченности могут достигать 20–25 % и даже более. Это

же относится и к региональным отличиям в развитии рыб в зависимости от отличий в концентрации и видовом составе фито- и зоопланктона различных акваторий.

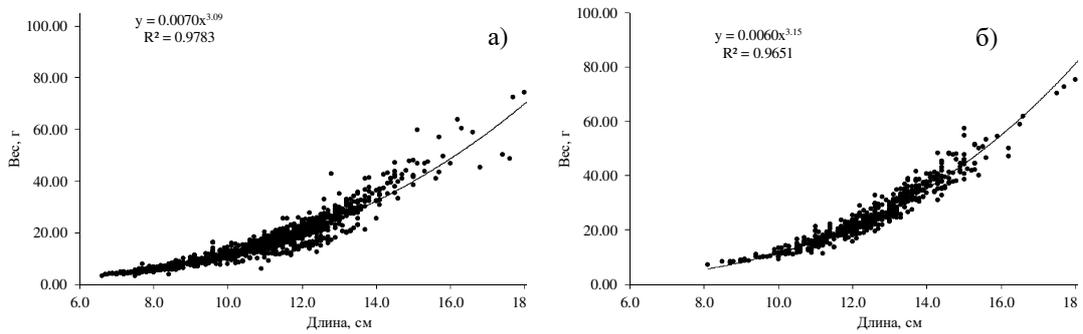


Рис. 3. Усредненные зависимости «вес–длина» для ставриды; а) из прибрежных вод Севастополя; б) из акватории Балаклавской бухты.

В [21] была найдена высокая корреляционная связь между параметрами кормовой базы и линейным ростом молоди промысловых рыб. Так между средней длиной сеголеток ставриды и биомассой планктона получен коэффициент корреляции $r = 0,72$ при уровне значимости $\alpha = 0,05$. Для весового роста коэффициент корреляции еще выше – $r = 0,92$ при уровне значимости $\alpha = 0,001$.

Как было отмечено выше, акватория Балаклавской бухты в экологическом плане является более благополучной по сравнению с прибрежными водами Севастополя, что соответствующим образом отражается на концентрации и видовом составе фито- и зоопланктона, и является одной из причин наблюдаемых различий в размерах и массе особей ставриды из рассматриваемых регионов.

Для сравнительной оценки региональных отличий с помощью t -критерия Стьюдента была проведена оценка статистической значимости достоверности различий ставриды, обитающей в прибрежных водах Севастополя и акватории Балаклавской бухты. Как по средней массе, так и по средней длине была получена достаточно высокая вероятность различий (уровень значимости $\alpha < 0,001$), что подтверждает высказанные предположения о существенности различий у ставриды, обитающей в разных районах на юго-западном шельфе Крыма.

Полученные константы уравнений линейного роста и коэффициенты зависимости «вес–длина» (см. табл. 1) позволили составить уравнение весового роста особей ставриды:

прибрежные воды Севастополя

$$W_t = 123,9 \cdot [1 - e^{-0,21(t-1,2)}]^{3,09}, \quad (n = 1324); \quad (7)$$

акватория Балаклавской бухты

$$W_t = 150,0 \cdot [1 - e^{-0,18(t-1,35)}]^{3,15}, \quad (n = 508). \quad (8)$$

Полученные уравнения (7) и (8) были использованы для расчета суточной удельной продукции особи и относительного годового прироста биомассы промыслового стада.

На рис. 4 изображены зависимости суточного прироста массы особи в миллиграммах для рыб, относящихся к различным размерным группам. Видно, что абсолютный прирост массы ставриды зависит от размеров (возраста) особи и района обитания. Изменения абсолютного ежесуточного прироста массы имеют куполообразный вид. У рыб малых размеров (младших возрастных групп) суточный прирост массы составляет 15–20 мг, затем он растет, достигает максимума и далее у рыб старших возрастных групп абсолютный прирост массы уменьшается. Расчеты показывают, что у ставриды, обитающей в прибрежных водах Севастополя, максимальный суточный прирост массы наблюдается при стандартной длине 15 см и составляет 37 мг.

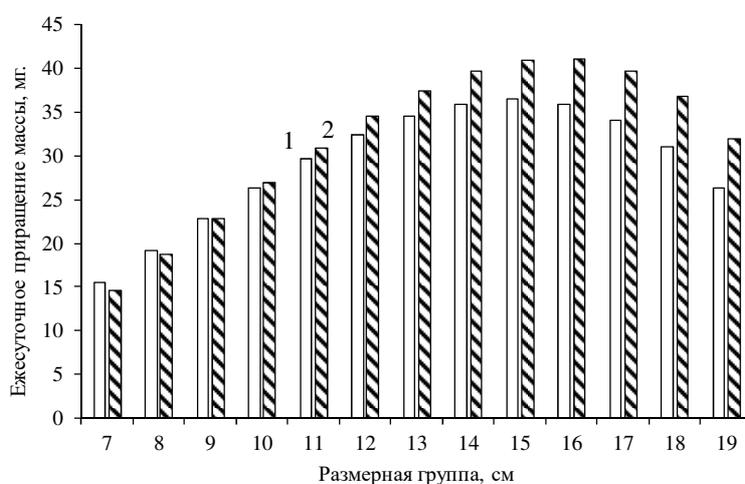


Рис. 4. Суточный прирост массы особей ставриды 1 – прибрежные воды Севастополя; 2 – акватория Балаклавской бухты.

Вес особи такой длины составляет 40 г, а возраст – 3,75 года. Средний максимальный (предельно достижимый) вес ставриды из этого региона составляет 120–130 г. С учетом этого можно установить, что наибольшие абсолютные значения прироста массы ставриды наблюдаются в возрасте, когда рыба в своем росте достигает примерно одной трети своего предельно достижимого веса.

У ставриды, обитающей в акватории Балаклавской бухты, максимальный суточный прирост массы особей наблюдается при стандартной длине около 16 см и составляет 41,3 мг. Вес особей ставриды такой длины составляет 41–42 г, возраст – 4,25 года. Расчеты показывают, что средний максимальный вес ставриды составляет 150 г. С учетом этого можно установить, что наибольшие абсолютные значения прироста массы ставриды из акватории Балаклавской бухты наблюдаются при

массе, составляющей примерно одну четверть от своего предельно достижимого веса.

При сравнительном анализе установлено, что суточный прирост массы ставриды из акватории Балаклавской бухты практически у рыб всех размерных групп промыслового стада превышает суточный прирост массы ставриды из прибрежных вод Севастополя (рис. 5). Причиной этого может быть различная обеспеченность пищей.

Так, при вскрытии желудков у ставриды, отловленной донными ловушками в утреннее время, в обеих акваториях желудки в основном были пустыми. Тем не менее, если у ставриды из прибрежных вод Севастополя мы наблюдали только слизь и наличие слабых остатков пищи в желудках, то у рыб из акватории Балаклавской бухты содержимое пищевых комков было достаточно разнообразным: атерина, хамса, песчанки, реже мизиды. Лучшая обеспеченность пищей и ее высокая калорийность являются, на наш взгляд, причиной более высоких суточных приростов особей ставриды, выловленной в акватории Балаклавской бухты.

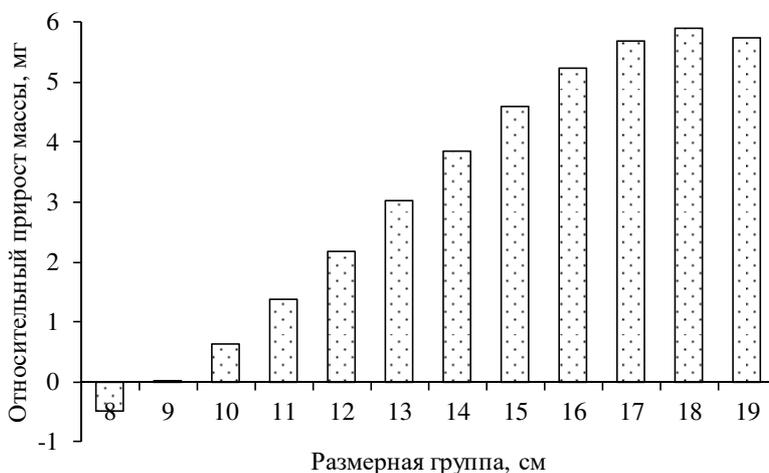


Рис. 5. Превышение суточного прироста массы у ставриды из акватории Балаклавской бухты относительно прибрежных вод Севастополя.

Наращение биомассы популяции определяется индивидуальным весовым ростом рыб разных возрастов и возрастным (размерным) распределением рыб в популяции. В соответствии с этим сумму вкладов особей каждой размерной группы в наращивание биомассы промыслового стада находили как сумму произведений абсолютного суточного прироста массы особей соответствующей размерной группы и относительной численности этой размерной группы.

На рис. 6 изображена зависимость относительного вклада особей каждой размерной группы в прирост биомассы промыслового стада с учетом относительной численности размерной группы.

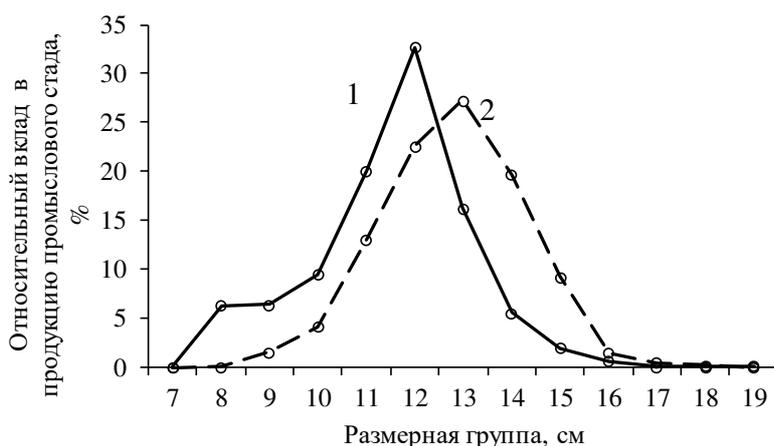


Рис. 6. Относительный вклад особей размерной группы в продукцию промыслового стада 1 – прибрежные воды Севастополя; 2 – акватория Балаклавской бухты.

У ставриды, обитающей в прибрежных водах Севастополя, размерные группы 11, 12 и 13 см совместно вносят 69 % прироста массы промыслового стада. Особи длиной 15 см хотя и характеризуются наибольшим суточным приростом массы (см. рис. 4), но из-за своей малочисленности рыбы размерной группы 15 см вносят лишь 2 % общего прироста промыслового стада. Наибольший вклад в продукцию промыслового стада вносят рыбы, относящиеся к размерной группе 12 см (32,7 %).

У ставриды, обитающей в акватории Балаклавской бухты, рыбы, относящиеся к размерным группам 12, 13 и 14 см, вносят почти 70 % прироста промыслового стада. Особи длиной 16 см хотя и характеризуются наибольшим суточным приростом веса, но из-за своей малочисленности, рыбы этой размерной группы вносят лишь 1,5 % общего прироста промыслового стада. Наибольший вклад в продукцию промыслового стада вносят рыбы, относящиеся к размерной группе 13 см (27,3 %).

Динамика нарастания и убыли вклада особей разных размерных групп в изменение биомассы промыслового стада (см. рис. 6) характеризуется увеличением, достижением максимума и далее следует уменьшение вклада рыб последующих размерных групп в прирост биомассы промыслового стада. Объясняется это тем, что у младших возрастных групп, имеющих размеры меньше средней длины рыб промыслового стада, увеличение вклада в общую продукцию обеспечивает соматический рост особей. У старших возрастных групп, размеры которых превышают среднюю длину, уменьшение вклада объясняется малой относительной численностью рыб, остающихся в стаде.

Расчеты показали, что относительный годовой прирост биомассы промыслового стада, обитающего в прибрежных водах Севастополя, составляет

70 %, а годовой относительный прирост биомассы промыслового стада, обитающего в акватории Балаклавской бухты, несколько меньше и составляет 56 %.

Кажущееся противоречие, связанное с тем, что, с одной стороны, особи ставриды, обитающей в акватории Балаклавской бухты, характеризуются большим абсолютным приростом массы практически для всех размерных групп, но с другой стороны, промысловое стадо, к которому относятся эти рыбы, характеризуется меньшим относительным приростом биомассы, объясняется тем, что средний вес особей из акватории Балаклавской бухты примерно на 50 % выше, чем особей, обитающих в прибрежных водах Севастополя. Это, несмотря на более высокий абсолютный прирост массы особей, приводит к меньшему относительному приросту биомассы промыслового стада.

Полученные результаты по особенностям индивидуального роста и продукционным характеристикам ставриды, обитающей в микроклиматических подзонах прибрежных вод северного и южного склонов Гераклейского п-ова, могут быть использованы при расчете прироста промысловых стад и прогнозировании объемов вылова ставриды на юго-западном шельфе Крыма.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

1. Ставрида, обитающая в прибрежных водах Севастополя, расположенных в микроклиматической подзоне северного склона Гераклейского п-ова, по ряду параметров (размерному составу, суточному приросту массы особей и динамике прироста биомассы промыслового стада) отличается от ставриды, обитающей в акватории Балаклавской бухты, расположенной в климатической подзоне южного склона Гераклейского п-ова.
2. У ставриды, обитающей в акватории Балаклавской бухты, суточный прирост массы больше, чем у ставриды из прибрежных вод Севастополя. При этом отличия в суточном приросте массы особей достигают 6 мг. Максимальный суточный прирост массы у ставриды из прибрежных вод Севастополя наблюдается в возрасте 3,73 года и составляет 37 мг, а у ставриды из акватории Балаклавской бухты максимальный суточный прирост массы особей ставриды наблюдается в возрасте 4,25 года и составляет 41,3 мг.
3. Относительный годовой прирост биомассы промыслового стада, обитающего в прибрежных водах Севастополя, составляет 70 %, а относительный годовой прирост биомассы промыслового стада, обитающего в акватории Балаклавской бухты – 56 %.

Работа выполнена:

– по госбюджетной теме ИПТС 0012-2019-0002 «Фундаментальные исследования процессов в климатической системе, определяющих пространственно-временную изменчивость природной среды глобального и регионального масштабов» руководитель направления – член-корр. РАН А. Б. Полонский;

– по теме "Молисммологические и биогеохимические основы гомеостаза морских экосистем" (№ 0828-2019-0006) (регистрационный номер НИОКТР: АААА-А18-118020890090-2).

Список литературы

1. Зуев Г. В. Рыбные ресурсы Черного моря (состав, состояние запасов и эксплуатация) / Г. В. Зуев, Д. К. Гуцал, Е. Б. Мельникова, В. А. Бондарев, Ю. Л. Мурзин // Гидробиол. журн. – 2010. – Т. 46. – № 4. – С. 16–27.
2. Yankova M. Stock Assessment form Small Pelagics / M. Yankova // <http://www.fao.org/gfcm/data/safs/en/> 2014.
3. Алеев Ю. Г. Ставрида Чёрного моря / Ю. Г. Алеев. – Симферополь: Крымиздат, 1952. – 24 с.
4. Зуев Г. В. Эколого-географическая гипотеза происхождения крупной черноморской ставриды (Carangidae, Pisces) / Г. В. Зуев, Е. Б. Мельникова // Мор. экол. журн. – 2003. – Т. 2, вып. 1. – С. 59–73.
5. Амброз А. П. Распределение и промысел черноморской ставриды / А. П. Амброз // Тр. ВНИРО – 1954. – С. 113–125.
6. Алеев Ю. Г. О размножении черноморской ставриды южного стада в северных районах Черного моря / Ю. Г. Алеев // Труды Севастоп. биол. станции. – 1959 – Т. 12 – С. 271–284.
7. Салехова Л. П. Морфологическая характеристика ставриды *Trachurus mediterraneus* Staindachner, обитающей в прибрежной зоне Крыма / Л. П. Салехова // Рыбне господарство України. – 2007. – № 3–4. – С. 38–43.
8. Юрахно В. М. О существовании возможных локальных группировок черноморской ставриды в прибрежье Севастополя / В. М. Юрахно, Н. С. Кузьминова // Современные рыбохозяйственные и экологические проблемы Азово-Черноморского региона: Материалы VII Междунар. конф. Керчь. 2012. – Т. 1 – С. 100–103.
9. Шляхов В. А. Промыслово-биологические показатели российского рыболовства для важнейших распределенных запасов водных биоресурсов Черного моря в 2015–2016 и в ретроспективном периоде / В. А. Шляхов, О. В. Шляхова, В. П. Надолинский, О. А. Перевалов // Материалы IX Международной научно-практической конференции. Керчь. 6. 10. 2017 г. – 2017. – С.24–38.
10. Кузьминова Н. С. Популяционные, морфофизиологические и морфометрические отличия черноморской ставриды из прибрежной зоны Севастополя и Балаклавы / Н. С. Кузьминова, Ю. Л. Мурзин, Ю. В. Самотой // Ученые записки Крымского федерального университета имени В. И. Вернадского Биология. Химия. – 2018. – Том 4 (70). – С. 97–107.
11. Попов М. А. Геоморфологический очерк залива Мегало-Яло и Балаклавской бухты / М. А. Попов // Экологическая безопасность прибрежной и шельфовой зон и комплексное использование ресурсов шельфа. Севастополь: ЭКОСИ-Гидрофизика. – 2006. – Вып. 14. – С. 209–214.
12. Ломакин П. Д. Современное состояние основных компонентов экосистемы Балаклавской бухты по материалам комплексного мониторинга ИнБЮМ НАН Украины / П. Д. Ломакин, М. А. Попов // Вестник Гидрометцентра Черного и Азовского морей. – 2011. – Вып. 1(12). – С. 83–95.
13. Ациховская Ж. М. Динамика вод Балаклавской бухты и прилегающей акватории Черного моря / Ж. М. Ациховская, А. А. Субботин // Экология моря. – 2000. – № 50. – С. 5–8.
14. Ломакин П. Д. Проявление апвеллинга в полях гидрофизических и гидрохимических элементов на акватории Балаклавской бухты / П. Д. Ломакин, М. А. Попов, Е. А. Куфтаркова, Н. П. Ковригина // Экологическая безопасность прибрежной и шельфовой зон и комплексное использование ресурсов шельфа. Севастополь: ЭКОСИ-Гидрофизика. – 2010. – Вып. 23. – С. 180–192.
15. Мысливец В. И. К геоморфологии дна Севастопольской бухты / В. И. Мысливец, В. Н. Коротаев, А. С. Зверев, М. В. Федин, М. М. Федин // Экологическая безопасность прибрежной и шельфовой зон и комплексное использование ресурсов шельфа. Севастополь: ЭКОСИ-Гидрофизика. – 2011. – Т. 1, вып. 25. – С. 104–111.
16. Миронов О. Г. Санитарно-биологические аспекты экологии севастопольских бухт в XX веке. / О. Г. Миронов, Л. Н. Кирюхина, С. В. Алемов. – Севастополь: ЭКОСИ-Гидрофизика. – 2003. – 185 с.
17. Миронов О. Г. Комплексные экологические исследования Балаклавской бухты / О. Г. Миронов, Л. Н. Кирюхина, С. В. Алемов // Экология моря. – 1999. – № 49. – С. 16–20.

18. Гуров К. И. Факторы формирования и отличительные особенности физико-химических характеристик донных отложений Балаклавской бухты (Черное море) / К. И. Гуров, Е. И. Овсяный, Е. А. Котельянец, С. К. Коновалов // Морской гидрофизический журнал. – 2015. – № 4. – С. 51–58.
19. Тихонов В. Н. Некоторые сведения о ставриде Черного моря / В. Н. Тихонов, Р. Н. Прокопенко // Тр. АзЧерНИРО. – 1950. – Вып. 14. – С. 63–75.
20. Иванов Л. С. Питание и пищевые взаимоотношения / Л. С. Иванов, В. А. Костюченко, И. Каутиш // Основы биологической продуктивности Черного моря. – Киев: Наукова Думка. – 1979. – С. 259–263.
21. Ткачева К. С. О роли зоопланктона в прогнозировании динамики численности планктонных рыб Черного моря / К. С. Ткачева, А. И. Федорина // Труды ВНИРО. – 1973. – Т 091. – С. 61–67.
22. Шульман Г. Е. Продуктивность рыб Чёрного моря / Г. Е. Шульман, С. Ю. Урденко – Киев: Наукова думка. – 1989. – 188 с.
23. Юдкин И. И. Ихтиология / И. И. Юдкин. – М.: Пищепромиздат. – 1955. – 323 с.
24. Мельникова Е. Б. Методика определения коэффициентов уравнения роста Бергаланфи при неравных измерительных интервалах / Е. Б. Мельникова // Риб. госп-во України. – 2008. – № 1(54). – С. 25–26.

INDIVIDUAL GROWTH AND PRODUCTION CHARACTERISTICS OF STOCKS OF HORSE MACKEREL *TRACHURUS MEDITERRANEUS*, LIVING ON THE SOUTHWESTERN SHELF OF CRIMEA

Melnikova E. B.¹, Kuzminova N. S.²

¹*Institute of Natural and Technical Systems, Sevastopol, Crimea, Russia*

²*Institute of Marine Biological Research RAN, Crimea, Russia*

E-mail: helena_melnikova@mail.ru

It was found that the Mediterranean horse mackerel inhabiting the coastal waters of Sevastopol, located in the microclimatic subzone of the Northern slope of the Heracleian Peninsula, differs from the *Trachurus mediterraneus* living in the waters of the Balaklavskaya bay, located in the climatic subzone of the southern slope of the Heracleian Peninsula on a number of parameters (size, daily weight increase of individuals and the dynamics of biomass growth of the commercial herd). In catches of horse mackerel from the coastal waters of Sevastopol, mainly individuals with a length of 9–12 cm (about 78 %) were found, about half (45.6 %) of the individuals found were 11–12 cm length. In the waters of the Balaklava Bay, larger individuals were found. So about half of the individuals found had a length of 12–13 cm, almost 90 % of the individuals found had a length of 10–14 cm. The statistical significance of the trustworthiness of differences in mackerel living in the coastal waters of Sevastopol and the water area of Balaklava Bay was carry out using Student's t-test. A rather high probability of differences was obtained both in average weight and in average length (significance level $\alpha < 0,001$). The reasons for the observed differences in the length and weight characteristics of horse mackerel living in the coastal waters of the northern and southern slopes of the Heracleian Peninsula are discussed. Von Bertalanffi growth equations were determined. The calculation and graphs of daily weight growth of the horse mackerel from different climatic subzones of the study area are given. It was shown that the daily weight increase of fish in the waters of the Balaklavskaya bay is greater than that of the horse mackerel from the coastal

Sevastopol waters. We suggest that this may be due to different food availability and its calorie content. At the same time, the differences in the daily weight increase of individuals reach 6 mg. It was noted that the biomass growth of the commercial herd is determined by the individual weight growth of individuals and the size distribution of fish in the commercial herd. In accordance with this, the calculation of the daily and relative annual growth of the biomass of the commercial herd was carried out. Our analysis showed that the relative annual biomass growth of commercial herd inhabiting the coastal waters of the northern slope of Herakleian Peninsula is 70 %, and the relative annual biomass of horse mackerel caught in the coastal waters of the southern slope of Herakleian Peninsula is 56 %. In addition, in catches from the Balaklavskaya bay, mainly fish of the older age groups, two- and three-year-olds, were, while in the coastal waters of Sevastopol, younger individuals predominated – yearlings and 2 y.o. fish. The results on individual growth characteristics and production characteristics can be used in calculating the growth of fishing herds and predicting the volume of catch of horse mackerel on the south-western shelf of the Crimea.

Keywords: Mediterranean horse mackerel, bays of Sevastopol, Balaklavskaya bay, weight gain, production characteristics.

References

1. Zuev G. V., Gutsal D. K., Melnikova E. B., Bondarev V. A., Murzin Yu. L. Fish resources of the Black Sea (composition, stock status and operation), *Hydrobiol. Journal*. **46**, 4 (2010).
2. Yankova M. Stock Assessment form Small Pelagics // <http://www.fao.org/gfcm/data/safs/en/> (2014).
3. Aleev Yu. G. *Black Sea horse mackerel* (1952).
4. Zuev G. V., Melnikova E. B. Ecological and geographical hypothesis of the origin of large Black Sea horse mackerel (Carangidae, Pisces), *Mor. eco-friendly. Journal*. **2**, 1 (2003).
5. Ambrose A. P. Distribution and fishing of the Black Sea horse mackerel, *Tr. VNIRO* (1954).
6. Aleev Yu. G. About breeding of the Black Sea horse mackerel of the southern herd in the northern regions of the Black Sea, *Tr of Sevastop. biol. station*. **12** (1959).
7. Salekhova L. P. Morphological characteristics of mackerel *Trachurus mediterraneus* Staindachner, living in the coastal zone of Crimea, *Ribne statehood of Ukraine*. **3-4** (2007).
8. Yurahno V. M., Kuzminova N. S. On the existence of possible local groups of the Black Sea horse mackerel in the coast of Sevastopol, *Modern fisheries and environmental problems of the Azov-Black Sea region: Materials of the VII Intern. conf. Kerch*. **1** (2012).
9. Shlyakhov V. A., Shlyakhova O. V., Nadolinsky V. P., Perevalov O. A. Commercial and biological indicators of Russian fisheries for the most important distributed reserves of aquatic biological resources of the Black Sea in 2015–2016 and in the retrospective period, *Materials of the IX International Scientific and Practical Conference. Kerch*. (2017).
10. Kuzminova N. S., Murzin Yu. L., Samotoy Yu. V. Population, morphophysiological and morphometric differences of the Black Sea horse mackerel from the coastal zone of Sevastopol and Balaklava. *Scientific notes of the Crimean Federal University named after V.I. Vernadsky Biology. Chemistry*. **4 (70)** (2018).
11. Popov M. A. Geomorphological sketch of Megalo-Yalo Bay and Balaklava Bay, *Environmental safety of coastal and shelf zones and integrated use of shelf resources. Sevastopol: ECOSI-Hydrophysics*. **14** (2006).
12. Lomakin P. D., Popov M. A. The current state of the main components of the ecosystem of the Balaklava Bay based on the materials of integrated monitoring, InBYUM NAS of Ukraine, *Bulletin of the Hydrometeorological Center of the Black and Azov Seas*. **1, 12**. (2011).
13. Atsikhovskaya Zh. M., Subbotin A. A. Dynamics of the waters of the Balaklava Bay and the adjacent Black Sea *Ecology of the sea*. **50** (2000).

14. Lomakin P. D., Popov M. A., Kuftarkova E. A., Kovrigina N. P. The manifestation of upwelling in the fields of hydrophysical and hydrochemical elements in the waters of the Balaklava Bay, *Environmental safety of coastal and shelf zones and integrated use of shelf resources. Sevastopol: ECOSI-Hydrophysics*. **23** (2010).
15. Myslivets V. I., Korotaev V. N., Zverev A. S., Fedin M. V., Fedin M. M. To the geomorphology of the bottom of the Sevastopol Bay, *Ecological safety of coastal and shelf zones and integrated use of shelf resources. Sevastopol: ECOSI-Hydrophysics*. **1**, 25 (2011).
16. Mironov O. G., Kiryukhina L. N., Alemov S. V. Sanitary and biological aspects of the ecology of Sevastopol bays in the twentieth century. *Sevastopol: ECOSI-Hydrophysics*. (2003).
17. Mironov O. G., Kiryukhina L. N., Alemov S. V. Integrated environmental studies of the Balaklava Bay, *Ecology of the sea*. **49** (1999).
18. Gurov K. I., Ovsyany E. I., Kotelianets E. A., Konovalov S. K. Formation factors and distinguishing features of the physicochemical characteristics of bottom sediments of the Balaklava Bay (Black Sea) *Marine Hydrophysical Journal*. **4** (2015).
19. Tikhonov V. N., Prokopenko R. N. Some information about horse mackerel of the Black Sea, *Tr. AzCHERNIRO*. **14** (1950).
20. Ivanov L. S., Kostyuchenko V. A., Kautish I. Nutrition and nutritional relationships, *Fundamentals of the biological productivity of the Black Sea*. (1979).
21. Tkacheva K. S., Fedorina A. I. On the role of zooplankton in predicting the dynamics of abundance of planktivorous fish in the Black Sea, *Tr. VNIRO*. **091** (1973).
22. Shulman G. E., Urdenko S. Yu. *Productivity of fishes of the Black* (1989).
23. Yudkin I. I. *Ichthyology* (1955).
24. Melnikova E. B. The methodology for determining the coefficients of the Bertalanffy growth equation for unequal measuring intervals, *Fisheries of Ukraine*. **1 (54)**. (2008).

УДК 543.38+551.464.3 (262.5)

**ОРГАНИЧЕСКОЕ ВЕЩЕСТВО И ОКИСЛИТЕЛЬНО-
ВОССТАНОВИТЕЛЬНЫЕ УСЛОВИЯ В ДОННЫХ ОТЛОЖЕНИЯХ
БАЛАКЛАВСКОЙ БУХТЫ**

Орехова Н. А.¹, Овсяный Е. И.¹, Тихонова Е. А.²

¹*ФГБУН ФИЦ «Морской гидрофизический институт РАН», Севастополь,
Республика Крым, Россия*

²*ФГБУН ФИЦ «Институт биологии южных морей имени А. О. Ковалевского РАН»,
Республика Крым, Севастополь, Россия
E-mail: tihonova@mail.ru*

На основе данных, полученных в сентябре 2018 г. в Балаклавской бухте, выполнен комплексный анализ биологического разнообразия и геохимических характеристик донных отложений. Установлено, что в поровых водах преобладающими являются растворенные формы железа, содержание Fe (II) сопоставимо с его концентрацией в наиболее антропогенно нагруженной акватории Севастопольской бухты. При этом отмечено значительно меньшее содержание органического вещества (до 2,5 % сух. масс.) в донных отложениях и преобладание процесса накопления карбонатов над органической составляющей в верхнем слое отложений. Макрозообентос представлен видами, устойчивыми как к загрязнению, так и к дефициту кислорода. Индексы Шеннона по численности и биоразнообразию низкие.

Ключевые слова: донные отложения, геохимические характеристики, макрозообентос, Балаклавская бухта, Чёрное море.

ВВЕДЕНИЕ

Вследствие активной урбанизации прибрежных зон возрос уровень антропогенной нагрузки на их морские экосистемы. В первую очередь это относится к акваториям Крымского побережья, которые в условиях бессистемного подхода к их эксплуатации в течение нескольких десятилетий претерпевают негативные изменения [1, 2], в том числе теряя свою привлекательность в качестве рекреационных и культурных объектов.

Балаклавская бухта является примером такой экосистемы: она подвергалась длительной техногенной нагрузке [2]. В настоящее время экосистема бухты эксплуатируется как объект рекреации, а также является зоной активного хозяйственного использования. Балаклавская бухта относится к полужамкнутой акватории с затрудненным водообменом [3]. Основными источниками загрязняющих веществ, органического углерода и биогенных элементов являются промышленно-бытовые сточные воды и речной сток [4]. Кроме того, бухта используется как яхтенная марина, что не может не отражаться на ее состоянии.

Целью данной работы было комплексное исследование экосистемы Балаклавской бухты, включающее оценку биологического разнообразия бентосного сообщества и геохимических характеристик поровых вод и донных отложений.

Верхний слой донных отложений является зоной активных биогеохимических процессов, значительных вертикальных градиентов и потоков вещества и энергии между отложениями и придонным слоем вод. Наиболее важным компонентом, определяющим условия существования бентосных сообществ, а также процессы окисления органического вещества и окислительно-восстановительные условия среды на поверхности донных отложений и в их толще, является кислород. Существенное снижение содержания кислорода (гипоксия) и особенно появление сероводорода (аноксия) ведут к разрушению экосистем, возникновению источников вторичного загрязнения и эвтрофирования вод, катастрофическому снижению биопродукционного потенциала акватории, рекреационной привлекательности и ухудшению социально-экономических характеристик региона.

В первую очередь кислород расходуется на дыхание биологических сообществ и окисление органического вещества (табл. 1). По мере расходования кислорода преобладающими процессами окисления органического вещества становятся процессы с участием нитратов/нитритов, оксида марганца, оксида железа, сульфатов (табл. 1).

Таблица 1
Реакции окисления органического вещества в донных отложениях

Название процесса	Схема реакции
Аэробное окисление	$C_{106}H_{175}O_{42}N_{16}P + 150 O_2 \rightarrow 106 CO_2 + 16 HNO_3 + H_3PO_4 + 78 H_2O$
Денитрофикация	$C_{106}H_{175}O_{42}N_{16}P + 104 HNO_3 \rightarrow 106 CO_2 + 60 N_2 + H_3PO_4 + 138 H_2O$
Восстановление марганца	$C_{106}H_{175}O_{42}N_{16}P + 260 MnO_2 + 174 H_2O \rightarrow 106 CO_2 + 8 N_2 + H_3PO_4 + 260 Mn(OH)_2$
Восстановление железа	$C_{106}H_{175}O_{42}N_{16}P + 236 Fe_2O_3 + 410 H_2O \rightarrow 106 CO_2 + 16 NH_3 + H_3PO_4 + 472 Fe(OH)_2$
Сульфатредукция	$C_{106}H_{175}O_{42}N_{16}P + 59 H_2SO_4 \rightarrow 106 CO_2 + 16 NH_3 + H_3PO_4 + 59 H_2S + 62 H_2O$

Отсюда следует, что исчерпание кислорода на окисление органического вещества и других восстановленных соединений приводит к смещению процессов, протекающих за счет анаэробного окисления органического вещества ближе к поверхности отложений. Таким образом, в верхнем слое отложений преобладающими становятся восстановленные формы азота, металлов и серы (табл. 1), формируются бескислородные зоны с восстановленными условиями, появляются сульфиды. Увеличение содержания восстановленных соединений, в частности концентрации сульфидов, в поверхностном слое отложений приводит к

увеличению их потока в придонный слой воды. В этом случае анаэробные условия формируются не только в донных отложениях, но и в водной толще [1].

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Работа основана на данных, полученных в ходе отбора колонок донных отложений в сентябре 2018 г. в Балаклавской бухте (рис. 1). Колонки донных отложений отбирались трубками из оргстекла, герметично закрываемыми сверху и снизу. Перемещение колонок выполняли в строго вертикальном положении, что позволило сохранить тонкую структуру донных отложений и придонного слоя (т.е. условия, максимально приближенные к естественным).

Районы отбора проб включали центральную часть (узость) бухты (ст. I, рис. 1), в которой антропогенное гидродинамическое влияние (вследствие интенсивного трафика маломерных судов) превалирует над естественными гидродинамическими процессами, кроме того, в этом районе находятся городской пляж и лодочные стоянки, а так же сказывается влияние сбросов ливневого стока. Второй исследуемый район (ст. II) находится в южной мористой части (рис. 2), вследствие чего подвержен гидродинамическому воздействию, как открытой части моря, так и в результате интенсивного судоходства; источником биогенных элементов и легкоокисляемого органического вещества являются расположенный здесь городской пляж и неочищенные коммунальные стоки. На формирование экологического состояния бухты также, в значительной степени, оказывают влияние морфометрия дна, сгонно-нагонные ситуации и ветровой режим [3, 5]. Например, при северном ветре между центральной частью бухты и узостью происходит опускание струи в нижние слои и вынос вещества в южную часть бухты, а также подъем части примеси в поверхностные слои с последующим перемещением вдоль восточного берега в противоположном направлении, что ускоряет загрязнение северной оконечности бухты. Кроме того, на границе между северной и центральной частями бухты возникает локальная область максимумов концентрации, обусловленная наличием здесь циклонического вихря [3]. При ветре южных румбов формируются западные вдольбереговые течения, нагонные ситуации и компенсационные гравитационные течения после сгонных ситуаций, что приводит к образованию шлейфа трансформированных сточных вод от главного канализационного коллектора, направленного в бухту [6]. С учетом того, что в экосистеме бухты превалируют ветры южного, северного и северо-восточных направлений [3], в районах исследования можно ожидать области повышенного загрязнения, что отражается на структуре донных отложений и видовом разнообразии.

Данные геохимического анализа: гранулометрический состав, содержание органического и неорганического углерода дают основу для понимания протекающих биогеохимических процессов. Неотъемлемой частью донных отложений являются поровые воды [7]. Изучение их характеристик позволяет оценить окислительно-восстановительные и кислотно-основные свойства донных отложений, содержание подвижных форм металлов, возможность их связывания и перехода в твердую форму отложений, либо в водную толщу [7].

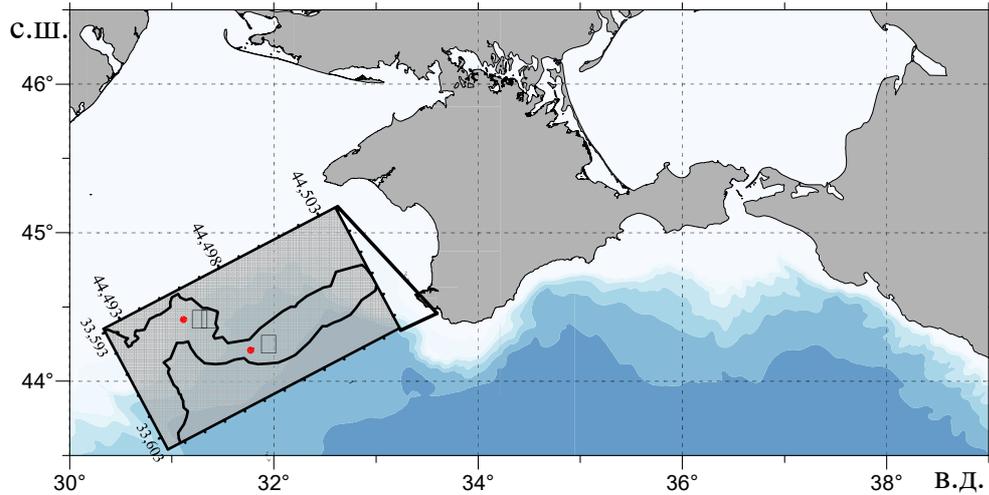


Рис. 1. Схема станций отбора проб

При определении геохимических характеристик использовались стандартные подходы. Анализ гранулометрического состава выполнялся стандартным методом (ГОСТ 12536-2014; введен с 01.07.2015 г.) с учетом рекомендаций работы Петелина для морских донных отложений. [8]. Отделение алеврито-пелитовой фракции ($\leq 0,05-0,001$ мм) выполнялось методом мокрого просеивания. Крупнозернистые фракции – гравийная ($>10-1$ мм), песчаная ($\leq 1-0,1$ мм), крупноалевритовая ($\leq 0,1-0,05$ мм) – разделялись ситовым методом после высушивания. Естественную влажность определяли весовым методом по стандартной методике (ГОСТ Р ИСО 11465-2011; введен с 01.01.2013 г.). Содержание карбонатов (CaCO_3) в пробе находили весообъемным методом после разложения карбонатов соляной кислотой с учетом методических рекомендаций руководства UNEP [9]. Содержание органического углерода ($C_{\text{орг}}$, % сух. масс.) в донных отложениях определялось кулонометрически на экспресс-анализаторе – АН 7529 по методике, адаптированной для морских донных отложений [10].

Для получения химического профиля поровых вод с высоким вертикальным разрешением использовался полярографический метод анализа со стеклянным Au-Hg микроэлектродом [11, 12].

Отбор бентосных проб осуществлялся дночерпателем с площадью захвата $0,025 \text{ м}^2$ в трех повторностях. Для анализа проб бентосного материала использовалась промывка образцов донных отложений через сито с диаметром ячеек 1 мм с последующей фиксацией этиловым спиртом. Обработка фиксированного материала проводилась в лабораторных условиях. Видовой состав определялся по [13–15], изучены численность и сырой вес организмов макрозообентоса (фиксированные). Организмы макрофауны определялись на уровне видов. Взвешивание двустворчатых моллюсков выполнено после их вскрытия и удаления фиксирующего раствора из мантийной полости. Расчет значений индекса

разнообразия Шеннона (H') (при расчете использовался логарифм по основанию 2) произведен в приложении Diverse пакета PRIMER-5.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Литоральные донные отложения на ст. I и II (слой 0–5 см) представлены преимущественно темно-серыми илами алеврито-пелитовой размерности с незначительными долями тонкозернистого детритного песка (3–5 %), а на ст. II и гравием (каменным и ракушечным – 1–2 %). Как обычно для отложений Балаклавской бухты отмечено присутствие техногенных примесей – частиц угля на ст. II, и нефтепродуктов на ст. I. На расположенной в северном бассейне ст. I в условиях более спокойного гидродинамического режима долевое содержание алеврито-пелитовой фракции (>97 %) превышает значения на ст. II. Исходя из концентрационного свойства мелкодисперсных фракций к углероду, здесь следовало ожидать более высокого содержания органического углерода. Однако в донных отложениях на ст. II содержание как органического, так и неорганического (карбонатность) углерода выше (на 20–30 %), чем на ст. I.

По результатам проведенных исследований установлено, что, несмотря на различие гранулометрического и вещественного (химического и минералогического) состава донных отложений на ст. I и II, в придонном (надосадочном, 10–15 см) слое вод наблюдаются аэробные условия, а концентрация кислорода достигала 206 мкМ и 220 мкМ соответственно. Химия поровых вод была схожей в верхнем слое донных отложений обоих районов (рис. 2) и определялась процессами с участием растворенных форм железа (табл. 1): в поровых водах преобладающими были растворенные формы железа (Fe (II, III)). Однако с глубиной характеристики поровых вод различались (рис. 2).

Как было выше показано, в устье бухты на выходе из северного бассейна (ст. I, рис. 1) донные отложения преимущественно алеврито-пелитовой размерности. Подобный фракционный состав ограничивает поток кислорода из водной толщи, что сопровождается накоплением органического вещества. Содержание органического углерода в донных отложениях было практически равномерным по всей глубине исследуемого осадка (0–15 см), его средняя величина составила ~ 2,5 %. Однако поровые воды отличались высоким содержанием Fe (II), концентрация которого увеличивалась с глубиной (рис. 2, а), содержание Fe (II) было сопоставимо с его концентрацией в наиболее антропогенно нагруженной акватории Севастопольской бухты и достигало 2 мМ. По соотношению неорганической (среднее содержание карбонатов составляет ~ 38 %) и органической форм углерода [16] установлено преобладание процесса накопления карбонатов над органической составляющей ($\gamma = 0,65$, т.е. наблюдается образование карбонатов) во всей толще отложений, что, вероятно, обусловлено производственной деятельностью Балаклавского рудоуправления [2].

Таким образом в верхнем слое донных отложений зафиксированы субкислородные условия. В более нижних слоях (ниже 90 мм) химия поровых вод ст. I определялась по-прежнему процессами преимущественно с участием железа (рис. 2, а). Однако с 30 мм было отмечено появление сероводорода в поровых водах,

который является продуктом процесса сульфатредукции (табл. 1). Концентрация сероводорода изменялась в пределах 13–73 мкМ (рис. 2, а).

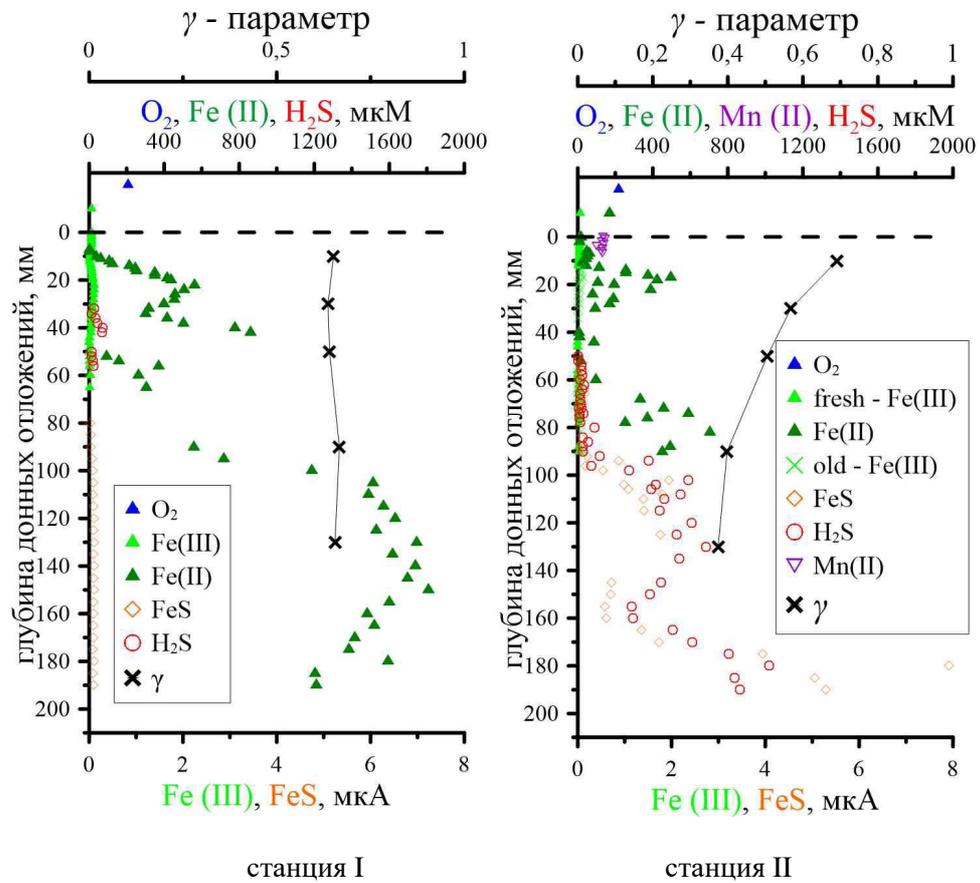


Рис. 2. Вертикальный профиль поровых вод и донных отложений Балаклавской бухты, 26 сентября 2018 г.

Его концентрация снижается с глубиной, достигая минимальных значений на 50 мм. Это, вероятно, является результатом связывания сульфидов восстановленными формами железа с образованием моносulfида железа FeS (уравнение 1), сигнал которого появляется после исчезновения сероводорода (рис. 2, а):



В дальнейшем аморфный моносulfид железа может переходить в пирит в соответствии с уравнением 2, о чем будет свидетельствовать снижение его концентрации в поровых водах.



Мелкодисперсный характер осадков способствовал накоплению органического углерода и снижению потока кислорода, расходуемого на окисление органического вещества. Однако концентрация органического углерода была значительно меньше его концентрации в донных отложениях Севастопольской бухты, что обусловлено, прежде всего, характером и источниками поступления органического вещества, а также особенностями гидродинамики вод в Балаклавской бухте [1–3].

Таким образом, в настоящее время в центральной части бухты отмечены субкислородные условия в донных отложениях, а высокое содержание реакционноспособного железа способствует связыванию сероводорода с дальнейшим его осаждением в донных отложениях в виде пирита и препятствует развитию анаэробных условий в верхнем слое донных отложений и придонном слое вод.

В южном бассейне донный осадок на ст. II представлен мелкодисперсным илом с детритным песком и гравием. Начиная с глубин 90 мм преобладающими становятся процессы сульфатредукции, сопровождающиеся образованием восстановленных форм серы (таблица 1), что видно на полученном профиле (рис. 2, б). Его концентрация достигает 800 мкМ в наиболее глубоких слоях (190 мм), а появление сигнала моносульфида железа свидетельствует о связывании восстановленных форм железа, средняя концентрация которого составляет 200 мкМ, сероводородом в соответствии с уравнением 1.

Мелкодисперсный характер осадков также ограничивал поток кислорода в толщу осадков, который, с другой стороны, расходовался на окисление органического вещества. Содержание органического углерода в верхнем слое отложений (0–10 мм) составило 2,51 % сух. масс., однако с глубиной донных отложений его содержание увеличивалось до 4,21 % сух. масс. (на 130 мм, рис. 2, б), преобладающей в цикле углерода становится органическая составляющая ($\gamma=0,37$). С учетом скорости осадконакопления (5,3 мм/год [17]) установлено, что максимальная нагрузка на воды бухты приходилась на 90-гг. прошлого столетия. Подобное распределение также подтверждается нашими предыдущими исследованиями [2].

Из результатов наблюдений видно, что донные отложения ст. I и II отличаются по гранулометрическому и химическому составу. При этом содержание органического углерода в донных отложениях ст. I более низкое, несмотря на мелкодисперсный (глинистый) характер осадка. Наиболее вероятной причиной дополнительного обогащения донных отложений ст. II органическим веществом является длительное воздействие сброса в устьевую зону бухты неочищенных коммунальных стоков г. Балаклава при отсутствии очистных канализационных сооружений – обогащенные лабильным органическим веществом сточные воды при определенных гидрометеорологических условиях переносятся в южный бассейн [6]. По нашей оценке ежегодно в прибрежную зону этого района с коммунальными стоками поступает более 300 тонн органического вещества. Обогащению донных

отложений органическим веществом в бухте также способствуют высокие скорости осадконакопления и значительная первичная продуктивность.

Макрозообентос является наиболее информативным и надежным биоиндикатором состояния водной среды и ее антропогенных изменений. Состояние донных осадков как среды обитания бентоса определяют характеристики зообентосных сообществ. Органический материал в отложениях – важный источник пищи для многих видов бентосных организмов. Однако его избыток может вызвать сокращение в видовом богатстве, численности и биомассе из-за истощения кислорода на окисление органического вещества, а также увеличением концентраций токсичных побочных продуктов (аммиак и сероводород), связанных с деструкцией этих материалов, и изменением окислительно-восстановительных условий [18]. По шкале органического обогащения донных отложений Балаклавская бухта имеет высокий уровень эвтрофикации – IV. Как ранее было установлено, при превышении порогового уровня обогащения $25\text{--}30 \text{ мг}\cdot\text{г}^{-1} C_{\text{орг}}$ (2,5–3,0 % масс.) отмечается резкое снижение количественных показателей бентосного сообщества в целом и перестройка его видовой структуры [19]. Кроме того, акватории с высоким содержанием органического вещества в донных отложениях в наибольшей степени способны аккумулировать загрязняющие вещества и влиять на процессы вторичного загрязнения. Видовое разнообразие биоты в исследуемых районах не отличалось насыщенностью. Все это указывает на принадлежность данного района к зонам повышенного экологического риска.

По полученным нами данным в верхнем слое донных отложений зафиксированы субкислородные условия в центральной части Балаклавской бухты (ст. I). Данные условия оказывают влияние на распределение и развитие бентосных сообществ. Также, исследованные участки бухты (рис. 1), как указывалось выше, характеризовались идентичными показателями содержания органического углерода в верхнем их слое, химия поровых вод на обеих станциях определялась реакциями с участием реакционноспособных форм железа. Отличие данных полигонов заключалось в различном гранулометрическом составе донных отложений, гидродинамическом воздействии, глубине. Более мелкодисперсные морские грунты отмечены на ст. I, а с примесью ракушечника на ст. II. Мелкодисперсный характер осадков, который, с одной стороны, ограничивал поток кислорода в толщу осадков, с другой, расходовался на окисление органического вещества. Тип донных отложений считается одним из главных абиотических факторов, влияющих на структуру макрозообентосных сообществ. Представители инфауны часто точно реагируют на размер частиц, или «текстуру» грунта. Определив соотношение песок-ил-глина можно предсказать ожидаемые здесь формы животных. На границе песка и ила наблюдаются интересные изменения способа добывания пищи бентосными организмами, в песке и на его поверхности преобладают фильтраторы, тогда как на илистых грунтах наиболее обычны формы, питающиеся осадками.

По данным [20], при равных условиях дефицита кислорода на обеих станциях одним из оказывающих на бентосное сообщество факторов может являться фактор загрязнения. Так, наиболее загрязнена мелководная часть Балаклавской бухты (в наших исследованиях ст. I с глубиной 15 м), принимающая сточные и ливневые

воды. Интенсивная антропогенная нагрузка и ограниченный водообмен способствуют аккумуляции загрязняющих веществ на этом участке. Здесь обнаружено заметное превышение ПДК отдельных гидрохимических показателей. От мелководной части к взморью (ст. II) концентрация биогенных веществ и БПК₅ падает, тогда как содержание растворенного кислорода и pH растет. И, действительно, на ст. I бентосное сообщество бедно и представлено тремя видами полихет (табл. 2). Усугубляет состояние экосистемы в акватории ст. I наличие выхода сточных хозяйственно-бытовых вод у канализационного коллектора г. Балаклавы. Соответственно, при значительных уровнях загрязнения донных отложений отмечается снижение видового состава гидробионтов, его бедность и низкие показатели биомассы и численности.

Одной из отличительной особенностью исследуемых участков является глубина пробоотбора (ст. I – 15 м, ст. II – 26 м). На более глубоководной станции биоразнообразие бентосного сообщества гораздо выше, чем на мелководной. Подобное явление отмечалось и ранее [21] когда, в данной акватории количество видов зообентоса рыхлых грунтов росло с глубиной.

В Балаклавской бухте многими исследователями [22–24] отмечается сильная пятнистость в распределении бентосного сообщества, которая, в первую очередь связана с гидродинамическим режимом и особенностями акватории. Но, в целом [22] отмечается, что в последние годы в акватории бухты улучшилось состояние донных сообществ, выраженное в существенном увеличении биомассы, численности и видового разнообразия бентосных организмов. Вместе с тем большинство наиболее массовых видов бентосных организмов относятся к устойчивым к загрязнению видам, что свидетельствует о значительном загрязнении бухты. Анализ [25] характера кривой доминирования-разнообразия макрозообентоса Балаклавской бухты показал, что в её центральной части условия для развития макрозообентоса хуже, чем на других участках. Аналогичные показатели получены и в нашем исследовании. На ст. I преобладали с одинаковыми показателями по численности два вида полихет *Capitella capitata* (Fabricius, 1780) и *Notomastus profundus* (Eisig, 1887) с численностью 26 экз./м², биомасса составляла 0,003 и 0,001 г/м² соответственно. У третьего обнаруженного вида *Heteromastus filiformis* (Claparède, 1864) – 0,005 г/м² (табл. 2). Тогда как ее численность составила 13 экз.·м².

Все обнаруженные виды полихет являются устойчивыми и могут использоваться в роли видов-индикаторов загрязнения акватории. Так, по мнению многих авторов [26, 27], *Capitella capitata* считается признанным позитивным индикатором органического загрязнения, устойчивым к дефициту кислорода и достигающим максимального обилия при сильном загрязнении среды, а *Heteromastus filiformis* является индикатором эвтрофных вод.

Таблица 2

**Количественные характеристики макрозообентоса исследуемых участков
б. Балаклавская в 2018 г.**

Виды	Станция I		Станция II	
	Численность экз.·м ⁻²	Биомасса г·м ⁻²	Численность экз.·м ⁻²	Биомасса г·м ⁻²
<i>Anadara inaequalis</i> (Bruguière, 1789)	0	0	53	0,113
<i>Mytilaster lineatus</i> (Gmelin, 1791)	0	0	493	0,316
<i>Parvicardium exiguum</i> (Gmelin, 1791)	0	0	53	0,135
<i>Pitar mediterraneus</i> (Aradas & Benoit, 1872)	0	0	13	1,080
<i>Pitar rudis</i> (Poli, 1795)	0	0	306	0,991
<i>Bittium reticulatum</i> (da Costa, 1778)	0	0	5586	83,501
<i>Mangelia costata</i> (Pennant, 1777)	0	0	13	0,032
<i>Rissoa membranacea</i> (J. Adams, 1800)	0	0	26	0,096
<i>Rissoa splendida</i> Eichwald, 1830	0	0	13	0,032
<i>Tricolia pullus</i> (Linnaeus, 1758)	0	0	186	3,629
<i>Tritia neritea</i> (Linnaeus, 1758)	0	0	66	7,599
<i>Tritia pellucida</i> (Risso, 1826)	0	0	26	2,268
<i>Turbonilla acuta</i> (Donovan, 1804)	0	0	106	0,143
<i>Cradosrupocellaria bertholletii</i> (Audouin, 1826)	0	0	13	0,909
<i>Crangon crangon</i> (Linnaeus, 1758)	0	0	13	0,067
<i>Actinia equina</i> (Linnaeus, 1758)	0	0	80	0,027
Oligochaeta	0	0	26	0,001
<i>Capitella capitata</i> (Fabricius, 1780)	26	0,003	26	0,012
<i>Heteromastus filiformis</i> (Claparède, 1864)	13	0,005	0	0
<i>Notomastus profundus</i> (Eisig, 1887)	26	0,001	0	0
<i>Polydora cornuta</i> Bosc, 1802	0	0	13	0,001
<i>Spirorbis</i> sp. Daudin, 1800	0	0	1093	0,088

Примечание: индексы Шеннона составили: на ст. I (3 вида): по численности – 1,52, по биомассе – 1,35. Ст. II (20 видов): по численности – 1,80, по биомассе – 1,10.

Рассчитанные индексы Шеннона (примечание табл. 2) были довольно низкими. В первой пробе низкое видовое богатство, а во второй – значительное доминирование моллюска *Bittium reticulatum* (*da Costa, 1778*) по численности (68,1 %) и биомассе (82,4 %). Ранее также данный вид отмечен как наиболее распространенный (встречаемость 50 %) [22]. При этом для всех обнаруженных видов отмечены довольно низкие значения биомассы. Для большинства видов они не превышали 1–2 г·м⁻². Такие показатели характерны для наиболее загрязненных севастопольских бухт [28].

При анализе изменений основных биотических переменных по градиенту органического обогащения донных отложений по данным [29] при полученных нами концентрациях $C_{орг}$ (в верхнем слое (0–5 см) на ст. I и II значения составляли 2,52 и 2,79, в слое 0–14 см – 2,43 и 3,21 % соответственно) отмечается второй минимум численности и биомассы бентоса. При данных показателях [29] могут происходить заметные перестройки в структуре сообществ, когда постепенно исчезают те индикаторные формы (креветки и равноногие ракообразные, многие моллюски-фильтраторы), для которых эдафические условия и кислородный режим в биотопе при усилении эвтрафирования становятся неприемлемыми. В процессе такой сукцессии сообществ преимущество в развитии получают виды, в том числе доминирующий на ст. II моллюск *Bittium reticulatum*, для которых ограничение условий обитания по кислородному режиму и пространству (светлый окисленный слой грунта без признаков сульфат-редукции уменьшается до 1–3 см) не носят выраженного лимитирующего характера.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В период максимальной антропогенной нагрузки поступление органического вещества в придонный слой вод и донные отложения приводит к активному расходованию кислорода на процессы его окисления, однако, в настоящее время определяющим фактором окислительно-восстановительных условий в донных отложениях бухты, являются реакционноспособные формы железа. Так, в центральной ее части содержание растворенных форм железа достигает 2 мМ и это способствует связыванию всего свободного сероводорода и развитию субкислородных условий. В районе мористой ст. II в верхнем слое донных отложений также отмечено развитие субкислородных условий и преобладание процессов с участием растворенных форм железа, однако, начиная с глубины 90 мм реакционноспособных форм железа не достаточно для связывания образующегося в результате сульфатредукции сероводорода, что указывает на развитие анаэробных условий в нижних слоях отложений. Этому также способствуют повышенные концентрации органического углерода (более 4 % сух. масс.).

Отмеченные в настоящее время субкислородные условия в верхнем слое отложений указывают на дефицит кислорода в верхнем слое отложений и формирование зон экологического риска экосистемы Балаклавской бухты. При отсутствии должного внимания и рационального подхода к эксплуатации ее экосистемы субкислородные условия могут сменятся анаэробными, что, непременно, будет способствовать и появлению безжизненных участков акватории

бухт, где невозможно функционирование бентосных сообществ либо будет наблюдаться снижение его биоразнообразия и численности. Уже отмечено, что представленные виды и их характеристики (биомасса и т.д.) характерны для загрязнённых участков севавтопольского побережья. Наблюдаемое содержание органического вещества в донных отложениях привело к тому, что кислород не является основным его окислителем.

Работа выполнена в рамках государственного задания ФИЦ ИнБЮМ по теме государственного задания «Молисмологические и биогеохимические основы гомеостаза морских экосистем» (№ гос. регистрации АААА-А18-118020890090-2), а также в рамках государственного задания ФГБУН МГИ 0827-2018-0004 выполнен химический анализ донных отложений, проекта РФФИ 18-45-920008 выполнены отбор проб и анализ данных.

БЛАГОДАРНОСТИ

Авторы выражают благодарность м.н.с. отдела морской санитарной гидробиологии ФИЦ ИнБЮМ Витер Т. В. за помощь в определении видового состава бентосных моллюсков в Балаклавской бухте и расчёте основных индексов.

Список литературы

1. Орехова Н. А. Кислород и сульфиды в донных отложениях прибрежных районов Севастопольского региона Крыма / Н. А. Орехова, С. К. Коновалов // Океанология. – 2018. – 58, №5. – С. 739–750.
2. Орехова Н. А. Органическое вещество и гранулометрический состав современных донных отложений Балаклавской бухты (Черное море) / Н. А. Орехова [и др.] // Морской гидрофизический журнал. – 2018. – 34, № 6. – С. 523–533.
3. Фомин В. В. Численное моделирование ветровых течений и распространение примеси в Балаклавской бухте / В. В. Фомин, Л. Н. Репетин // Морской гидрофизический журнал. – 2005. – №4. – С. 43–58.
4. Ломакин П. Д. Океанологическая характеристика и оценка загрязнения вод Балаклавской бухты / П. Д. Ломакин, М. А. Попов. – Севастополь: ЭКОСИ-Гидрофизика, 2011. – 184 с.
5. Гуров К. И. Факторы формирования и отличительные особенности физико-химических характеристик донных отложений Балаклавской бухты (Черное море) / Гуров К. И., Овсяный Е. И., Котельянец Е. А., Коновалов С. К. // Морской гидрофизический журнал. – 2015. – №4. – С. 51–58.
6. Попов М. А. Определение концентраций и пространственного распределения загрязняющих веществ в водах Балаклавской бухты гидрооптическими методами в осенний период / М. А. Попов, А. И. Чепыженко, И. Ю. Еремин // Экологическая безопасность прибрежной и шельфовой зон и комплексное использование ресурсов шельфа: Сб. научных трудов. – Севастополь: ЭКОСИ-Гидрофизика, 2005. – Вып. 12. – С. 202–207.
7. Розанов А. Г. Донные осадки Кандалакшского залива Белого моря: марганцевый феномен / А. Г. Розанов, И. И. Волков // Геохимия. – 2009. – №10. – С. 1067–1085.
8. Петелин В. П. Гранулометрический анализ морских донных осадков / В. П. Петелин. – М.: Наука, 1967. – 128 с.
9. UNEP/IOC/IAEA. Manual for the geochemical analyses of marine sediments and suspended particulate matter // UNEP. – 1995. – № 63. – 74 p.
10. Люцарев С. В. Определение органического углерода в морских донных отложениях методом сухого сжигания / С. В. Люцарев // Океанология. – 1986. – 26, 4. – С. 704–708.

11. Орехова Н. А. Полярография донных осадков Севастопольской бухты / Н. А. Орехова, С. К. Коновалов // *Морской гидрофизический журнал*. – 2009. – №2. – С. 52–66.
12. Brendel P. J. Development of a Gold Amalgam voltammetric microelectrode for determination of dissolved Fe, Mn, O₂, and S (-II) in porewaters of marine and freshwaters sediments / P. J. Brendel, G. W. Luther, III // *Envir. Sci. Technol.* – 1995. – № 29. – P. 751–761.
13. Определитель фауны Чёрного и Азовского морей. Свободноживущие беспозвоночные. Киев: Наукова думка, 1968. – Т. 1. – 437 с.
14. Определитель фауны Чёрного и Азовского морей. Свободноживущие беспозвоночные. Киев: Наукова думка, 1969. – Т. 2. – 536 с.
15. Определитель фауны Чёрного и Азовского морей. Свободноживущие беспозвоночные. Киев: Наукова думка, 1972. – Т. 3. – 340 с.
16. Орехова Н. А. Компоненты цикла углерода экосистемы Севастопольской бухты (Черное море) по данным 2017 г. / Н. А. Орехова // *Экологическая безопасность прибрежной и шельфовой зон и комплексное использование ресурсов шельфа: Сб. научных трудов. – Севастополь: ЭКОСИ-Гидрофизика, 2017. – Вып. 4. – С. 39–46.*
17. Мирзоева Н. Ю. Потоки миграции и депонирования послеаварийных радионуклидов ⁹⁰Sr и ¹³⁷Cs в различных районах Черного моря (элементы биогеохимических циклов) / Н. Ю. Мирзоева [и др.] // *Наукові праці. Техногенна безпека. Миколаїв: Вид-во ЧДУ ім. Петра Могили, 2013. – Т. 210, вип. 198. – С. 45–51.*
18. Nyland J. Organic carbon content of sediments as an indicator of stress in the marine benthos / Nyland J., Balthis L., Karakassis I., Magni P., Petrov A., Shine J., Vestergaard O., Warwick R. // *Mar Ecol Prog Ser.* – 2005. – Vol. 295. – P. 91–103.
19. Петров А. Н. Реакция прибрежных макробентосных сообществ Чёрного моря на органическое обогащение донных отложений / А. Н. Петров // *Экология моря*. – 2000. – Вып. 51. – С. 45–51.
20. Ломакин П. Д. Оценка степени загрязнения и перспектива экологических исследований вод Балаклавской бухты / П. Д. Ломакин, М. А. Попов // *Экологическая безопасность прибрежной и шельфовой зон моря*. – 2014. – № 28. – С. 195–214.
21. Ревков Н. К. Бентос прибрежной зоны Южного берега Крыма (Балаклава – м. Айя): состав и состояние / Н. К. Ревков и др. // *Гидробиологический журнал*. – 2000. – Т. 36, № 4. – С. 3–10.
22. Алёмов С. В. Многолетние изменения макрозообентоса Балаклавской бухты / С. В. Алёмов // *Наук. зап. Терноп. нац. пед. ун-ту*. – 2010. – № 3 (44). – С. 6–9.
23. Ревков Н. К. Таксоцены моллюсков биотопа рыхлых грунтов Балаклавской бухты (Крым, Чёрное море) / Н. К. Ревков // *Экология моря*. – 2006. – Вып. 72. – С. 38–46.
24. Миронов О. Г. Комплексные экологические исследования Балаклавской бухты / О. Г. Миронов, Л. Н. Кирюхина, С. В. Алёмов // *Экология моря*. – 1999. – Вып. 49. – С. 16–21.
25. Алёмов С. В. Макрозообентос прибрежных наносов как показатель экологического состояния акватории / С. В. Алёмов, В. А. Лей // *Збірник наукових праць СНУАЕтаП*. – 2010. – С. 65–71.
26. Belan T. A. Pollution indicator species in the communities of soft bottom macrozoobenthos in Amursky Bay (Peter the Great Bay, Sea of Japan). Volume 2. / Belan T. A., Moshchenko A. V. – Vladivostok: Dalnauka, 2009. – P. 147–172.
27. Лосовская Г. В. Об индикаторных и толерантных видах полихет (на примере Северо-Западной части Черного моря) / Г. В. Лосовская // *Экологическая безопасность прибрежной и шельфовой зон и комплексное использование ресурсов шельфа*. – 2011. – Вып. 25, Т. 1. – С. 327–334.
28. Миронов О. Г. Санитарно-биологические аспекты экологии севастопольских бухт в XX веке / О. Г. Миронов, Л. Н. Кирюхина, С. В. Алёмов. – Севастополь, 2003. – 185 с.
29. Петров А. Н. Реакция прибрежных макробентосных сообществ Черного моря на органическое обогащение донных отложений / А. Н. Петров // *Экология моря*. – 2000. – Вып. 51. – С. 45–51.

ORGANIC CARBON AND REDOX CONDITIONS IN BOTTOM SEDIMENTS OF THE BALAKLAVA BAY

Orekhova N. A., Ovsyany E. I., Tikhonova E. A.

Marine Hydrophysical Institute of RAS, Sevastopol, Russia

A. O. Kovalevsky Institute of Biology of the Southern Seas of RAS, Sevastopol, Russia

E-mail: tihonova@mail.ru

Marine coastal systems are stressed from anthropogenic pressure due to human activity and the level of pressure permanently increases. One of such ecosystem is Balaklava Bay (the Black Sea). It has been established that in the period of maximum anthropogenic influence, organic matter intake down bottom waters and sediments of the bay leads to active oxygen consumption for its oxidation and reactivity iron determines redox conditions in the bottom sediments. In the central part of the bay, concentration of dissolved iron reaches 2 mM and this concentration promotes binding of all free sulfides and appearance of suboxic conditions. In the area of the seaward station II, suboxic conditions and the predominance of processes with dissolved iron are noted in the upper layer of the bottom sediments, however, starting from 90-mm depth, reactive forms of iron are not sufficient to bind all sulfides, resulting from sulfatereduction. This fact reveals anaerobic conditions in the lower layers of sediments. High organic carbon concentrations (more than 4 % dry wt.) promote anaerobic conditions as well.

Analysis of changes in the main biotic variables according to gradient of organic carbon abundance in the bottom sediments, using data of organic carbon concentrations (in the upper 0–5 cm layer at stations I and II, the values were 2.52 and 2.79 % dry wt., and in the 0–14 cm layer they were 2.43 and 3.21 % dry wt. respectively), reveal a second minimum of benthos abundance and biomass. According with these characteristics, noticeable rearrangements can occur in the structure of communities. It manifests in indicator forms, such as shrimps and isopod crustaceans, the most of mollusk filters etc., for which oxygen regime in the biotope become unacceptable when eutrophication is become severe, gradually disappear. During such succession of communities, the main species became types, including the predominant at station II mollusk *Bittium reticulatum*, for which the restriction of oxygen regime and space are not pronounced limited factors.

The current suboxic conditions in the upper sediments layer point out to the oxygen deficiency here and the appearance zones of ecological risk in the ecosystem of Balaklava Bay. In the absence of proper attention and a rational approach to the exploitation of its ecosystem, suboxic conditions can be replaced by anaerobic ones, which will certainly contribute to the appearance of lifeless sections of the bays, where the functioning of benthic communities is impossible or a decrease in its biodiversity and number is observed. It has already been noted that the presented species and their characteristics (biomass, etc.) are characteristic of contaminated sites on the Sevastopol coast. The observed concentration of organic matter in the bottom sediments has led to the fact that oxygen is not its main oxidizing agent.

Keywords: bottom sediments, geochemical characteristics, macrozoobenthos, Balaklava bay, Black Sea.

References

1. Orekhova N.A., Kononov S.K., Oxygen and sulfides in bottom sediments of the coastal Sevastopol region of Crimea, *Journal Oceanology*, **58**(5), 679 (2018).
2. Orekhova N.A., Ovsyany E.I., Gurov K.I., Popov M.A., Organic matter and grain-size distribution of the modern bottom sediments in the Balaklava Bay (the Black Sea), *Physical Oceanography*, **25**(6), 479 (2018).
3. Fomin V.V., Repetin L.N., Numerical simulation of wind currents and propagation of impurities in the Balaklava Bay, *Physical Oceanography*, **15**(4), 232 (2005).
4. Lomakin P.D., Popov M.A. Oceanological characteristic and pollution estimation of waters of the Balaklava Bay, (Sevastopol, ECOSI-Hydrophysica, 2011), p. 184.
5. Gurov K.I., Ovsyany E.I., Kotelyanets E.A., Kononov S.K., Factors of formation and features of physical and chemical characteristics of the bottom sediments in the Balaklava Bay (the Black Sea), *Physical Oceanography*, **4**, 46 (2015).
6. Popov M.A., Chepuzhenko A.I., Eremin I.U. Determination of concentration and spatial distribution of pollution in the Balaklava Bay's waters, *Ecological safety of coastal and shelf zones and complex using of shelf resources: Digest of Scientific Works*, **12**, 202 (2005).
7. Rozanov A.G., Volkov I.I., Bottom sediments of Kandalaksha Bay in the White Sea: the phenomenon of Mn, *Geochem. Int.* **43** (10), 1004 (2009).
8. Petelin V.P. Grain-size analysis of bottom sediments (M.: The Scientific World, 1967).
9. UNEP/IOC/IAEA. Manual for the geochemical analyses of marine sediments and suspended particulate matter // UNEP. – 1995. – № 63. – 74 p.
10. Lutzarev S.V., Organic carbon determination in marine bottom sediments by dry burning method, *Journal of Oceanology*, **26**(4), 704 (1986).
11. Orekhova N.A., Kononov S.K., Polarography of the bottom sediments in the Sevastopol Bay, *Physical Oceanography*, **19**(2), 111 (2009).
12. Brendel P. J., Luther III, G.W., Development of a Gold Amalgam voltammetric microelectrode for determination of dissolved Fe, Mn, O₂, and S (-II) in porewaters of marine and freshwaters sediments, *Envir. Sci. Technol.*, **29**, 751 (1995).
13. The determinant of the fauna of the Black and Azov seas. Free-living invertebrates (Kiev, 1968).
14. The determinant of the fauna of the Black and Azov seas. Free-living invertebrates (Kiev, 1969).
15. The determinant of the fauna of the Black and Azov seas. Free-living invertebrates (Kiev, 1972).
16. Orekhova N.A. Carbonate system components of Sevastopol Bay's ecosystem (the Black Sea) using data of 2017, *Ecological safety of coastal and shelf zones and complex using of shelf resources: Digest of Scientific Works*, **4**, 39 (2017).
17. Mirzoeva N. U., Gulin S. B., Arkhipova C. I., Korkishko N. F., Migal L. V., Moseychenko I. N., Sidorov I. G. Migration fluxes and deposition of post-accident radionuclides of ⁹⁰Sr and ¹³⁷Cs in the different parts of the Black Sea (the elements of biogeochemical cycles), *The Scientific works. Man-made safety. Mikolaev: Iss. Of CDU of Petra Mogilu*, **210**(198), 45 (2013).
18. Hyland J., Balthis L., Karakassis I., Magni P., Petrov A., Shine J., Vestergaard O., Warwick R. Organic carbon content of sediments as an indicator of stress in the marine benthos, *Mar Ecol Prog Ser.*, **295**, 91 (2005).
19. Petrov A. N. The Black Sea coastal macrobenthos community reaction on the organic carbon enrichment in bottom sediments, *Marine ecology*, **51**, 45 (2000).
20. Lomakin P. D., Popov M. A. Estimation of pollution load and perspective of ecological studies of the Balaklava Bay waters, *Ecological safety of coastal and shelf zones and complex using of shelf resources: Digest of Scientific Works*, **28**, 195 (2014).
21. Revkov N. K., Kolesnikova E. A., Valovaya N. A., Mikhaylova T. V., Mazlumyan S. A., Shalyapin V. K. Benthos of the coastal zone of the southern shore of the Crimea (Balaklava – Cape Aya): its composition and state, *Hydrobiological Journal*, **37**(5), 10 (2001)
22. Alyemov S. V. Long-term macrozoobenthos changes in Balaklava Bay, *The scientific notes of Ternopol National Pedagogical University*, **3**(44), 6 (2010).
23. Revkov N. K. Mollusks taxocene of the soft-bottom biotope in Balaklava bay (Crimea, the Black Sea), *Marine ecology*, **72**, 38 (2006).

24. Mironov O. G., Kiryukhina L. N., Alyemov S. V., Complex ecological investigations of Balaklava Bay, *Marine ecology*, **49**, 16 (1999).
25. Alyemov S. V., Ley V. A., Macrozoobenthos of coastal sediments as an indicator of ecosystem's ecological state, *Digest of scientific works SNUNEI*, 65 (2010).
26. Belan T. A., Moshchenko A. V., Pollution indicator species in the communities of soft bottom macrozoobenthos in Amursky Bay (Peter the Great Bay, Sea of Japan). Volume 2, (Vladivostok: Dalnauka, 2009), 147.
27. Losovskaya G. V. About indicator and tolerant species of polychaete (on the example of the North-Western part of the Black Sea), *Ecological safety of coastal and shelf zones and complex using of shelf resources*, **25**(1), 327 (2011).
28. Mironov O. G., Kiryukhina L. N., Alyemov S. V., Sanitary and biological aspects of the ecology of the bays of Sevastopol in the XX century (Sevastopol, 2003)
29. Petrov A. N., The reaction of the coastal macrobenthic communities of the Black Sea to the organic enrichment of sediments, *Marine ecology*, **51**, 45 (2000).

УДК 634.21:577.15:58.032.3

**СРАВНИТЕЛЬНАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ФИЗИОЛОГО-БИОХИМИЧЕСКИХ
ПОКАЗАТЕЛЕЙ РАСТЕНИЙ АБРИКОСА В УСЛОВИЯХ ЛЕТНЕГО
ДЕФИЦИТА ВЛАГИ НА ЮЖНОМ БЕРЕГУ КРЫМА**

Палий И. Н., Пилькевич Р. А., Палий А. Е., Горина В. М.

*ФГБУН «Никитский ботанический сад – Национальный научный центр», Ялта,
Республика Крым, Россия
E-mail: runastep@yandex.ru*

В статье представлены результаты изучения засухоустойчивости 6 сортов *Prunus armeniaca* Lam. интродукции и селекции Никитского ботанического сада в условиях Южного берега Крыма. Экспериментальные исследования позволили выявить характерные особенности показателей водного режима, содержания пролина, ферментативной активности и выделить перспективные генотипы, обладающие повышенной адаптивностью и способностью осуществлять физиолого-биохимические процессы в условиях водного стресса – 'Nagucorosi Ogias' и 'Казачок'.

Ключевые слова: абрикос, водный режим, водный дефицит, водоудерживающая способность, засухоустойчивость, пролин, активность ферментов.

ВВЕДЕНИЕ

Основной задачей селекции плодовых культур является создание новых генотипов, превосходящих по своим биологическим и хозяйственным свойствам существующие и выращиваемые в производственных насаждениях. В результате многолетних исследований генофонда абрикоса в Никитском ботаническом саду на основании гибридологического анализа выявлены более 100 комплексных источников ценных хозяйственно-биологических признаков [1, 2]. В Крыму, относящемуся к зоне недостаточной водообеспеченности, частые засухи сопровождаются суховеями в период вегетации растений, а высокие температуры воздуха и длительное отсутствие осадков приходятся на заключительный этап формирования урожая плодовых культур. Поэтому особое внимание должно уделяться вопросу засухоустойчивости, в котором главную роль играют водоудерживающая сила тканей листьев и способность к репарации физиологических процессов после воздействия засушливых факторов. Окислительно-восстановительные процессы, протекающие в растении, также играют важную роль при воздействии на его организм неблагоприятных условий окружающей среды. Образование активных форм кислорода является одним из ранних ответов растений на действие факторов стресса. Для этого у них существует антиоксидантная система, которая предотвращает нарушения в клетках, вызванные высокими концентрациями активных форм кислорода. Антиоксидантная система растений включает как низкомолекулярные небелковые антиоксиданты (фенольные соединения, пролин, аскорбиновую кислоту и др.), так и

специфические окислительно-восстановительные ферменты (каталазу, супероксиддисмутазу и различные оксидазы, в том числе пероксидазу и полифенолоксидазу) [3, 4]. Активность окислительно-восстановительных ферментов и изменение содержания низкомолекулярных протекторных соединений зависит от стадии развития растений и восприимчивости организма к воздействию стрессовых факторов [5]. Исследование особенностей функционирования различных элементов антиоксидантной системы важно для понимания того, как растения адаптируются к измененным условиям среды.

Цель работы – на основе физиолого-биохимических показателей засухоустойчивости выделить перспективные сорта абрикоса для успешного возделывания в регионах с засушливым климатом, и дальнейшего использования в селекции.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Объектами исследования в 2017–2018 гг. послужили 12 генотипов *Prunus armeniaca* Lam. из коллекционных насаждений Никитского Ботанического сада.

Обводнённость тканей листьев определяли весовым методом (высушиванием навесок в термостате при 105 °С до постоянного веса); водный дефицит, водоудерживающую способность и стойкость к обезвоживанию – по классическим методикам [6–8].

Биохимические параметры в листьях изучали при следующих условиях: 1. Полевая обводнённость. 2. Полное обводнение. 3. Увядание в течение 20 часов (май) и 24 часов (июль). 4. Восстановление тургора тканей. Определение содержания пролина проводили по модифицированной методике Чинарда с использованием нингидринового реактива [9]. Активность пероксидазы определяли спектрофотометрически по скорости реакции окисления бензидина [10], полифенолоксидазы – в присутствии пирокатехина и п-фенилендиамина [11]. Повторность опытов трёхкратная. Полученные данные обрабатывали с использованием программы Microsoft Excel.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

На основании проведённых в 2017 г. исследований особенностей водного режима листьев 7 сортов абрикоса селекции Никитского ботанического сада (Алупкинский, Боярин, Казачок, Крымский Амур, Любимец Рихтера, Олимп, Профессор Смыков) и 3 интродуцированных (Колобок Голубева, Bergarouge, Lorna) получена предварительная оценка их адаптивного потенциала (табл. 1). Объекты ранжированы по устойчивости к экстремально высоким температурам и недостаточной водообеспеченности [12]. Для более детального изучения механизмов приспособления к водному стрессу, созданному метеорологическими факторами летнего периода 2018 г., для физиолого-биохимического исследования из них были отобраны 3 генотипа с контрастной степенью устойчивости к летней засухе: 'Алупкинский', 'Казачок', 'Профессор Смыков'.

'Казачок' проявлял признаки сравнительно повышенной засухоустойчивости, демонстрируя высокие водоудерживающие характеристики (экономно расходуя влагу в процессе увядания), и достаточную для нормального протекания физиологических процессов репарационную способность тканей листьев. У сорта Алушкинский в течение вегетационного периода 2017 г. показатели параметров водного режима оставались на среднем уровне. После умеренной потери влаги листьями (до 30 %) репарация листовой площади была практически полной, при более глубоком обезвоживании (40 %) восстанавливалось не более 80% тканей. Сорт Профессор Смыков показывал относительно изученных сортов самую низкую устойчивость и нестабильность показателей водного режима. Дополнительно в эксперимент были привлечены два интродукта – 'Nagucorosi Orias', 'Хурмаи', а районированный и широко распространённый 'Крымский Амур' использован в качестве контроля. Для сравнительной оценки устойчивости изучаемых сортов к засушливым условиям произрастания отбор проб листьев проводили до наступления засухи (в мае, при наличии преимущественно благоприятных метеофакторов), и в засушливые периоды июля, когда для растений складываются экстремальные климатические условия, способствующие гидротермическому стрессу [13, 14]. У абрикоса в это время начинаются наиболее важные физиологические процессы: созревание плодов и формирование генеративных почек под урожай следующего года.

Таблица 1

**Стойкость к обезвоживанию и восстановительная способность
листьев абрикоса (август 2017 г.)**

Генотип	Содержание воды в листьях, % на сырую массу	Водный дефицит в листьях, %	Время потери листьями 30 % воды	Листья, восстан. тургор, %	Время потери листьями 40 % воды	Листья, восстан. тургор, %
Алушкинский	61,0±1,8	26,2	11 ч 35 мин	100	17 ч 45 мин	78
Bergarouge	61,0±3,1	20,7	11 ч 00 мин	97	21 ч 40 мин	83
Боярин	62,7±1,2	18,3	26 ч 05 мин	99	18 ч 10 мин	75
Казачок	60,9±3,6	28,6	12 ч 20 мин	100	18 ч 35 мин	99
Колобок Голубева	65,7±1,1	20,3	12 ч 15 мин	100	16 ч 45 мин	97
Логна	62,5±3,2	25,4	8 ч 15 мин	65	21 ч 00 мин	20-25
Любимец Рихтера	58,5±0,9	26,8	6 ч 10 мин	100	12 ч 50 мин	100
Олимп	60,9±0,7	18,7	22 ч 10 мин	76	26 ч 55 мин	55
Профессор Смыков	69,0±5,7	20,6	7 ч 25 мин	40	10 ч 20 мин	35

С первой декады мая по третью декаду июля 2018 г. с усилением проявления засухи показатели водного дефицита в листьях изучаемых сортов возрастали на

фоне снижения их обводнённости. Содержание общей воды в тканях листьев в мае находилось в пределах 64–70 %, наиболее близкие к состоянию оптимальной обводнённости показатели отмечены у сорта Nagycorosi Orias (табл. 2).

Уровень водного дефицита в листьях варьировал от 9 % ('Хурмаи') до 15 % ('Казачок'). В процессе искусственного увядания наиболее высокие водоудерживающие силы продемонстрировали ткани листьев сортов Nagycorosi Orias, Хурмаи, Казачок. Стратегия экономного расходования влаги позволяет избегать резкого обезвоживания тканей и образования необратимых повреждений, благодаря чему тургор листьев восстанавливается на достаточном уровне (90–100 %).

Листья 'Nagycorosi Orias' способны к полному восстановлению тургора даже после отдачи 50–52 % влаги, тогда как для остальных сортов потеря 30–35 % воды уже может являться критической, когда восстановление уровня репарации, достаточного для нормального протекания физиологических процессов, становится невозможным.

Таблица 2
Водоудерживающая способность и восстановление тургора листьев абрикоса (май 2018 г.)

Сорт	Содержание воды в листьях, % на сырую массу	Содержание воды в листьях, полное обводнение, % на сырую массу	Водный дефицит в листьях, %	Утрачено воды в процессе увядания, %			Листья, восстан. тургор, %
				3 часа	7 часов	20 часов	
Nagycorosi Orias	64,1±1,1	69,7±1,5	13,8	10,0	15,2	30,5	100
Алупкинский	66,3±2,4	73,5±2,8	12,1	16,2	25,2	56,4	48
Крымский Амур	66,5±1,9	74,0±2,6	11,4	16,1	24,9	50,3	50
Казачок	64,6±1,2	71,7±1,4	15,0	15,8	23,5	40,7	90
Профессор Смыков	65,2±1,6	77,2±1,9	10,3	13,7	21,4	45,0	82
Хурмаи	69,6±1,3	79,7±1,7	9,2	14,4	24,8	36,6	94

В июле на фоне усиления действия засушливых факторов обводнённость тканей листьев исследуемых растений снизилась, и составляла 58,5–65,5% (табл. 3). Показатели водного дефицита возросли, достигнув максимальной за весь период исследований величины в листьях сорта Крымский Амур (27 %). Относительно пониженный дефицит влаги сохранялся у сортов Казачок и Хурмаи.

Обезвоживание листьев показало наибольшую потерю воды и невысокий уровень восстановления тургора тканей у сортов Крымский Амур, Алупкинский и

Профессор Смыков. С максимальной полнотой репарация листовой площади осуществилась у 'Nagycorosi Orias', 'Хурмаи', 'Казачок' (96–100 %).

Таблица 3

Водоудерживающая способность и восстановление тургора листьев абрикоса (июль 2018 г.)

Сорт	Содержание воды в листьях, % на сырую массу	Полное обводнение, % на сырую массу	Водный дефицит в листьях, %	Утрачено воды в процессе увядания, %			Листья, восстан. тургор, %
				4 часа	17 часов	24 часа	
Nagycorosi Orias	62,4	65,9	16,7	12,5	28,4	30,2	100
Алупкинский	60,3	66,7	19,5	19,8	33,6	47,0	67
Крымский Амур	58,4	74,0	26,9	22,6	43,5	51,4	55
Казачок	61,5	66,9	15,5	19,8	36,3	38,8	96
Профессор Смыков	64,5	68,8	20,2	16,3	33,5	46,5	72
Хурмаи	65,6	69,6	10,6	10,7	29,9	37,3	98,5

Изучение биохимических параметров листьев абрикоса в оптимальных условиях и при действии гидротермического стресса показало, что содержание пролина и ферментативная активность обусловлены сортовыми различиями.

В оптимальный период вегетации активность пероксидазы у сортов Крымский Амур, Казачок и Хурмаи снижалась при полном обводнении листьев, у остальных сортов – возрастала (табл. 4). В процессе увядания в листьях сортов Nagycorosi Orias, Крымский Амур и Профессор Смыков происходило дальнейшее снижение активности этого фермента, у сорта Хурмаи она незначительно возрастала, у сорта Казачок наблюдали её рост более чем на 50 %. При восстановлении тургора листьев отмечено значительное увеличение активности пероксидазы у всех исследуемых сортов, за исключением Nagycorosi Orias.

Активность полифенолоксидазы у сортов Nagycorosi Orias, Крымский Амур и Казачок возрастала во время полного обводнения и последующего увядания листьев. При восстановлении тургора тканей активность данного фермента снижалась у 'Крымского Амура' и 'Казачка' до первоначального уровня. У сортов Профессор Смыков и Хурмаи на всех этапах эксперимента происходило постепенное снижение полифенолоксидазной активности, без последующего восстановления.

Содержание пролина возрастало в полностью обводнённых листьях всех сортов на 20–50 %, далее при увядании листьев в них наблюдали значительное увеличение (в 7–12 раз) концентрации аминокислоты, и при повторном насыщении листьев водой снижение в 2–4 раза.

Таблица 4
Биохимические параметры листьев абрикоса в оптимальный период
вегетации (май, 2018 г.)

Сорт	Вариант опыта	Активность пероксидазы, усл. ед/г·с	Активность полифенолоксидазы, усл. ед/г·с	Содержание пролина, мкг/г
Nagycorosi Orias	1	0,88±0,02	0,117±0,003	32,10±0,96
	2	1,67±0,05	0,142±0,004	51,38±1,55
	3	1,33±0,03	0,283±0,009	599,20±17,86
	4	1,26±0,03	0,267±0,008	285,60±12,57
Алупкинский	1	6,25±0,18	0,159±0,004	51,36±1,61
	2	25,00±0,75	0,200±0,007	42,80±1,07
	3	13,00±0,38	0,172±0,005	513,60±15,60
	4	30,00±0,73	0,188±0,006	556,40±16,52
Крымский Амур	1	4,50±0,11	0,362±0,010	36,38±0,91
	2	3,67±0,09	0,472±0,012	47,08±1,40
	3	1,50±0,04	0,510±0,013	556,40±15,02
	4	3,33±0,08	0,388±0,011	179,76±4,50
Казачок	1	1,08±0,03	0,443±0,011	25,68±0,64
	2	0,75±0,02	0,492±0,013	51,36±1,28
	3	1,25±0,04	0,515±0,014	556,38±16,01
	4	4,00±0,10	0,462±0,013	128,4±3,85
ПрофессорСмыков	1	0,92±0,03	0,290±0,010	34,24±0,85
	2	1,67±0,05	0,275±0,009	51,36±1,23
	3	1,08±0,03	0,234±0,006	372,41±10,05
	4	4,58±0,12	0,195±0,004	124,12±3,6
Хурмаи	1	5,33±0,14	0,234±0,006	38,52±1,16
	2	3,33±0,10	0,295±0,008	25,68±0,78
	3	3,49±0,09	0,184±0,005	363,80±10,52
	4	25,00±0,68	0,174±0,004	89,88±2,65

В период действия гидротермического стресса полевая активность пероксидазы в листьях всех сортов абрикоса была значительно ниже, чем в оптимальных условиях вегетации, активность полифенолоксидазы и пролина оставались на том же уровне. При полном обводнении листьев у сорта Профессор Смыков активность пероксидазы отсутствовала, у 'Nagycorosi Orias' и 'Хурмаи' она не изменялась, у 'Казачка' и 'Крымского Амура' – снижалась, а у 'Алупкинского' – возрастала. При увядании и дальнейшем восстановлении тургора происходил рост пероксидазной активности у всех сортов, кроме 'Алупкинского'.

СРАВНИТЕЛЬНАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ФИЗИОЛОГО-БИОХИМИЧЕСКИХ ...

Активность полифенолоксидазы у сортов Nagycorosi Orias, Крымский Амур и Казачок значительно возрастала при полном обводнении и продолжала увеличиваться при последующем увядании. При восстановлении тургора у 'Крымского Амура' и 'Nagycorosi Orias' она была выше первоначального уровня, у сорта Казачок – значительно ниже. В листьях сортов Алушкинский и Хурмаи происходили волнообразные изменения ферментативной активности. У сорта Профессор Смыков активность полифенолоксидазы снижалась на всех этапах эксперимента, причём интенсивнее, чем в оптимальный период вегетации.

Таблица 5

Биохимические параметры листьев абрикоса в условиях гидротермического стресса (июль, 2018 г.)

Сорт	Вариант опыта	Активность пероксидазы, усл. ед/г·с	Активность полифенолоксидазы, усл. ед/г·с	Содержание пролина, мкг/г
Nagycorosi Orias	1	0,167±0,005	0,267±0,008	31,20±0,94
	2	0,169±0,005	0,468±0,014	59,92±1,77
	3	0,250±0,008	0,534±0,016	385,2±11,56
	4	0,332±0,010	0,517±0,014-	321,00±9,60
Алушкинский	1	0,208±0,007	0,418±0,011	47,08±1,39
	2	0,333±0,011	0,535±0,019	72,76±2,18
	3	0,165±0,005	0,490±0,013	513,60±14,38
	4	0,168±0,006	0,645±0,020	346,68±10,40
Крымский Амур	1	0,250±0,006	0,351±0,010	32,10±0,81
	2	0,125±0,003	0,585±0,015	27,82±0,72
	3	0,420±0,010	0,618±0,017	470,80±12,71
	4	0,460±0,011	0,518±0,014	342,40±8,62
Казачок	1	0,125±0,003	0,434±0,011	29,96±0,79
	2	0,098±0,003	0,551±0,014	38,52±0,85
	3	0,290±0,007	0,580±0,016	423,72±12,01
	4	0,380±0,009	0,142±0,004	291,04±7,15
Профессор Смыков	1	0,250±0,005	0,301±0,08	34,24±0,85
	2	0	0,200±0,06	29,15±0,72
	3	0,080±0,001	0,184±0,05	577,80±17,33
	4	0,080±0,001	0,125±0,03	231,12±7,24
Хурмаи	1	0,083±0,002	0,668±0,021	29,96±0,75
	2	0,083±0,002	0,634±0,020	418,20±12,55
	3	0,125±0,003	0,835±0,025	342,40±10,27
	4	0,208±0,006	0,658±0,020	33,84±1,02

В условиях засухи при полном обводнении листьев содержание пролина снижалось у сортов Крымский Амур и Профессор Смыков, и возрастало у остальных сортов. При увядании, как и в оптимальный период, происходило значительное увеличение концентрации пролина (11–20 раз), при восстановлении тургора у всех сортов содержание пролина уменьшалось.

В целом, как в оптимальный период, так и в условиях гидротермического стресса пероксидазная активность при полном насыщении листьев абрикоса изменялась разнонаправленно. Однако, при увядании в оптимальный период у большинства сортов она снижалась, а в условиях стресса – росла с различной степенью интенсивности. Активность полифенолоксидазы в оптимальный период возрастала при полном обводнении листьев изменялась разнонаправленно при увядании, и снижалась при восстановлении тургора. В июле, во время засухи, изменения полифенолоксидазной активности происходили аналогично оптимальному периоду, однако, были более интенсивными. Изменение содержания пролина в период засухи также носило более выраженный характер. 'Алупкинский' отличался от остальных исследуемых сортов волнообразными изменениями активности пероксидазы и полифенолоксидазы. В листьях сорта Профессор Смыков происходило снижение активности полифенолоксидазы на всех этапах эксперимента, а в условиях гидротермического стресса активность пероксидазы была минимальной. Наибольшие колебания концентрации пролина выявлены у сортов Профессор Смыков и Хурмаи. Изменения биохимических параметров в листьях 'Nagycorosi Orias' и 'Казачок' носили менее выраженный характер, что может быть связано с их сравнительно высокой степенью устойчивости к воздействию данного стрессового фактора.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Проведены исследования физиолого-биохимических особенностей листьев 6 сортов абрикоса в связи со способностью адаптироваться к дефициту влаги в периоды наибольшего проявления летней засухи на Южном берегу Крыма. Выявлены генотипы с повышенной засухоустойчивостью в условиях водного стресса, продемонстрировавшие наилучшие водоудерживающие характеристики, сочетающиеся с высокой степенью репарации после критического обезвоживания – 'Nagycorosi Orias', 'Хурмаи', 'Казачок'. Сорта Крымский Амур и Профессор Смыков проявили нестабильность показателей водного режима, а также относительно невысокую способность переносить экстремально высокие температуры и недостаток влаги.

Анализ полученных данных о водоудерживающей способности и изменениях биохимических параметров позволяет предположить, что сорта Nagycorosi Orias и Казачок, обладающие стабильными показателями водного режима, уровня пролина и ферментативной активности, проявляют наиболее высокую адаптационную способность к действию гидротермического стресса.

Список литературы

1. Горина В. М. Перспективы использования генофонда абрикоса Никитского ботанического сада / В. М. Горина. // Плодоводство и виноградарство Юга России. – 2015. – № 36 (6). – С. 43–56.
2. Корзин В. В. Интродуцированные в условиях Крыма сорта и формы абрикоса, перспективные для селекционной работы / В. В. Корзин, В. М. Горина // Бюл. Государственного Никитского ботанического сада. – 2009. – № 99. – С. 72–75.
3. Чиркова Т. В. Физиологические основы устойчивости растений / Т. В. Чиркова. – Санкт-Петербург: Изд-во СПбГУ, 2002. – 244 с.
4. Mittler R. Oxidative stress, antioxidants and stress tolerance / R. Mittler // Trends Plant Sci. – 2002. – Vol. 7. – P. 405–410.
5. Racchi M. L. Antioxidant defenses in plants with attention to Prunus and Citrus spp. / M. L. Racchi // Antioxidants. – 2013. – № 2. – P. 340–369.
6. Еремеев Г. Н. Отбор засухоустойчивых сортов и подвоев плодовых растений: метод. указания / Г. Н. Еремеев, А. И. Лищук. – Ялта, 1974. – 18 с.
7. Кушниренко М. Д. Методы оценки засухоустойчивости плодовых растений / М. Д. Кушниренко, Г. П. Курчатова, Е. В. Крюкова. – Кишинев: Штиинца, 1975. – 20 с.
8. Лищук А. И. Адаптационные особенности абрикоса при различном водообеспечении / А. И. Лищук, О. А. Ильницкий // Труды Никит. ботан. сада. – 1986. – Т. 100. – С. 109–116.
9. Андрищенко В. К. Модификация метода определения пролина для выявления засухоустойчивых форм *Lycopersicon Tomn* / В. К. Андрищенко, В. В. Саянова, А. А. Жученко // Изв. АН МССР. – 1981. – № 4. – С. 55–60.
10. Ермаков А. И. Методы биохимического исследования растений / А. И. Ермаков. – Л.: Агропромиздат, 1987. – С. 43–44.
11. Воскресенская О. Л. Большой практикум по биоэкологии. Ч. 1. / О. Л. Воскресенская, Е. А. Алябышева, М. Г. Половникова. – Йошкар-Ола, 2006. – 107 с.
12. Пилькевич Р. А. Особенности водного режима и потенциальная засухоустойчивость сортов и гибридов абрикоса в условиях летнего дефицита влаги на Южном берегу Крыма / Р. А. Пилькевич // Международная научная конференция «Актуальные вопросы современной селекции плодовых культур» (Самохваловичи, 22–25 августа 2017г.). – РУП «Институт плодоводства», 2017. – 250 с.
13. Метеорологический бюллетень за 2018 г. (Агрометеорологическая станция «Никитский сад»).
14. Плугатарь Ю. В. Экологический мониторинг Южного берега Крыма / Ю. В. Плугатарь, С. П. Корсакова, О. А. Ильницкий. – Симферополь, 2015. – 164 с.

**COMPARATIVE CHARACTERISTICS OF PHYSIOLOGICAL AND
BIOCHEMICAL PARAMETERS OF APRICOT IN THE CONDITIONS OF
SUMMER MOISTURE DEFICIT ON THE SOUTHERN COAST OF CRIMEA**

Paliy I. N., Pilkevich R. A., Paliy A. E., Gorina V. M.

*Federal State-Funded Institution of Science "The Order of the Red Banner Nikita Botanical Gardens
– National Scientific Center of RAS", Yalta, Crimea, Russian Federation
E-mail: runastep@yandex.ru*

There were carried out the studies of the physiological and biochemical characteristics of leaves of 6 apricot varieties in connection with their ability to adapt to moisture deficit during the periods of the greatest manifestation of the summer drought on the Southern coast of Crimea. As a result of the parameters of water regime indicators comparative characteristics have been established the degree of deep water deficit

adaptation ability of the studied plants. There were allocated the genotypes with increased drought tolerance under water stress conditions which have demonstrated the best water-holding characteristics combined with a high degree of reparation after critical dehydration – 'Nagycorosi Orias', 'Hurmai', 'Kazachok'. The varieties Crimskiy Amur and Professor Smykov displayed instability of the water regime parameters and relatively low ability to tolerate extremely high temperatures and lack of moisture.

It is established that peroxidase activity under full leaves watering changed in different directions both in the optimal vegetation season and in hydrothermal stress conditions. In terms of artificial wilt in the optimal period the peroxidase activity of most varieties decreased and increased under stress conditions. In the optimal period the activity of polyphenol oxidase increased with full watering of the leaves, varied in different directions with withering and decreased with recovery. During the drought polyphenol oxidase activity alterations occurred similarly to the optimal period and were more expressed. The greatest changes in the proline content occurred during the drought period. Variety Alupkinskiy differed from other studied ones by wave-like changes in the activity of peroxidase and polyphenol oxidase. The leaves of Professor Smykov variety demonstrated the decrease of polyphenol oxidase activity at all stages of the experiment and inactivation of peroxidase activity under hydrothermal stress conditions. The greatest variations of proline concentration were revealed in the varieties Professor Smykov and Hurmai. Changes in biochemical parameters in the leaves of 'Nagycorosi Orias' and 'Kazachok' were less expressed what can be associated with their degree of drought resistance. Analysis of the water retention capacity data and changes in biochemical parameters allows suggesting the varieties Nagycorosi Orias and Kazachok demonstrating stable indicators of water regime, the level of proline and enzymatic activity display the highest adaptive ability to the hydrothermal stress effects.

Keywords: apricot, water regime, water deficit, water retaining ability, drought resistance, proline, enzyme activity.

References

1. Gorina V. M., Prospects for use of the apricot gene pool of the Nikita Botanical Garden, *Plodovodstvo i vinogradarstvo Yuga Rossii*, **36(6)**, 43 (2015).
2. Korzin V. V. and Gorina V. M., Introduced in the conditions of Crimea varieties and forms of apricot, promising for breeding, *Bull. of the State Nikita Botan. Gard.*, **99**, 71 (2009).
3. Chirkova T. V., *Physiological basis of plant resistance*, 244 p., (Izd. SPbGU, St. Petersburg, 2002)
4. Mittler R., Oxidative stress, antioxidants and stress tolerance, *Trends Plant Sci.*, **7**, 405 (2002).
5. Racchi M. L., Antioxidant defenses in plants with attention to *Prunus* and *Citrus* spp, *Antioxidants*, **2**, 304 (2013).
6. Eremeev G. N. and Lishchuk A. I., *Selection of drought resistance varieties and rootstocks of fruit plants: methodical guidelines*, 18 p., (Yalta, 1974).
7. Kushnirenko M. D., Kurchatova G. P. and Kryukova E. V., *Methods for assessing the drought tolerance of fruit plants*, 21 p., (Shtiintsa, Kishinev, 1976).
8. Lishchuk A. I. and Il'nitskiy O. A., Adaptation features of apricot with different water supply, *Works of the State Nikit. Botan. Gard.*, **100**, 109 (1986).
9. Andriuschenko V. K., Sayanova V. V. and Zhuchenko A. A., Modified method for proline identification in order to select drought-resistant forms of *Lycopersicon* Tourn, *Izvestiya AN MSSR*, **4**, 55 (1981).
10. Ermakov A. I., *Methods of biochemical investigations of plants*, 43 p., (Agropromizdat, Leningrad, 1987).

11. Voskresenskaya O. L., Alyabyshev E. A. and Polovnikova M. G., *Large workbook in bioecology: textbook*, 107 p., (Yoshkar-Ola, 2006).
12. Pilkevich R. A., Peculiarities of the water regime and potential drought ability of varieties and hybrids under the conditions of summer moisture deficiency on the Southern coast of Crimea, *Abstracts of International scientific conference «Actual issues of modern selection of fruit crops»*, (RUP «Institute plodovodstva», Samokhvalovichi, 2017), 250 p.
13. Weather report Agrometeorological station «Nikitskiy sad» (Yalta, 2018).
14. Plugatar Yu. V., Korsakova S. P., and Il'nitskiy O. A., Ecological monitoring of the Southern coast of Crimea, 164 p., (Arial, Simferopol, 2015).

УДК 581.1:633.72

ФОТОСИНТЕТИЧЕСКИЕ ПИГМЕНТЫ, КАК ЭЛЕМЕНТ ФОРМИРОВАНИЯ АДАПТИВНОСТИ РАСТЕНИЙ ЧАЯ

Платонова Н. Б., Белоус О. Г.

*Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Всероссийский научно-исследовательский институт цветоводства и субтропических культур», Сочи, Россия
E-mail: oksana191962@mail.ru*

Цель исследований – определить количественное содержание хлорофиллов и каротиноидов в новых перспективных формах чая, как в динамике, так и в сортовом разрезе. Объекты – 3-х листовые побеги (флеша) чая новых форм; контроль – сорт Колхида. Отмечены закономерности в накоплении пигментов, связанные с особенностями биологии *C. sinensis*. Определена динамика пигментного комплекса, ее зависимость от гидротермических факторов. Практически все новые формы чая являются устойчивыми к гидротермическим стрессорам, в их флешах соотношение суммы хлорофиллов к каротиноидам ниже (2,81 – 3,09 мг/г), чем в контрольном сорте Колхиде (3,15±0,13 мг/г сухого веса).

Ключевые слова: чай; флеша; хлорофилл; каротиноиды; засуха; адаптивность.

ВВЕДЕНИЕ

Родина растений чая (*Camellia sinensis* (L.) Kuntze) – тропические и субтропические горные леса Юго-Восточной Азии (Индокитай) [1]. В настоящее время во влажных субтропиках России, где осадков в среднем выпадает 1534 мм, чай успешно выращивается в промышленных масштабах [2, 3]. Несмотря на оптимальное количество осадков, в период сбора чайного листа (весной и летом) дожди выпадают редко, испарение при высоких температурах происходит энергично, что обуславливает частые и продолжительные засухи. В стрессовых гидротермических условиях у растений включаются адаптационные механизмы, которые в том числе, затрагивают изменения в составе и количестве фотосинтетических пигментов, что влияет на накопление растением биомассы, его продуктивность и качественные показатели. Во Всероссийском научно-исследовательском институте цветоводства и субтропических культур на протяжении многих лет на маточно-коллекционном участке чайной плантации проводятся исследования по изучению продуктивности и качественных показателей перспективных сортов и мутантных форм чая [4–7]. В связи с тем, что в лимитирующих условиях эффективность работы фотосинтетического аппарата, обусловленная особенностями пигментного комплекса является одним из важнейших показателей адаптивного потенциала растений, нами при изучении новых форм чая начаты многоплановые исследования по выявлению закономерностей формирования компонентов его антиоксидантной системы,

немаловажным компонентом которой являются каротиноиды. Цель одного из этапов исследования заключается в определении количественного содержания хлорофиллов и каротиноидов в новых перспективных формах чая, как в динамике, так и в сортовом разрезе, в аспекте изучения формирования ими защитных приспособительных механизмов.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Объекты исследования – 3-х листовые побеги (флешы) растений *C. sinensis* новых форм N 3823, N 582, N 855 и N 2264, выращиваемых на опытном коллекционно-маточном участке института в пос. Уч-Дере (Лазаревский р-он, г. Сочи). Контроль – сорт Колхида. Отбор флешей осуществляли в 3-кратной полевой повторности в период с мая по август 2017–2018 гг. Определение фотосинтетических пигментов проводили в 3-х кратной лабораторной повторности в лаборатории физиологии и биохимии растений ВНИИЦиСК (Сочи). Использовали спектрофотометрический метод определения содержания хлорофилла и каротиноидов с экстракцией пигментов 96 %-м этанолом и использованием расчетных формул Смита и Бенитеза. Оптическую плотность экстрагированных пигментов измеряли на спектрофотометре ПЭ-5400ВИ, производитель – ООО «ЭКРОСХИМ» (Россия) при длине волны для хлорофиллов а и b – 665 и 649 нм, для каротиноидов – 440,5 нм в кюветах с толщиной слоя 10 мм.

Статистическая обработка экспериментальных данных проводилась с использованием пакета ANOVA в STATGRAPHICS Centurion XV (версия 15.1.02, StatPoint Technologies) и MS Excel 2007. Статистический анализ включал одномерный дисперсионный анализ (метод сравнения средних с использованием дисперсионного анализа, t-критерий). Статистически значимой принята значимость различия между средними значениями при $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

В зоне влажных субтропиков России наиболее засушливый период совпадает с периодом активной вегетации – июнь и август. Погодные условия в последние годы существенно отличаются от многолетней нормы, как по уровню выпавших осадков, так и по температуре воздуха. Так, дефицит осадков в мае – августе в среднем составляет 28,5 – 87,0 мм; абсолютный максимум температур находится в пределах 35,5 (в июне) – 32,3 (август) °С, в то время, как среднемесячная температура в среднем $22,3 \pm 1,2$ °С.

Одним из показателей реакции растений на изменение гидротермических условий выращивания является количественное содержание хлорофилла и каротиноидов – главных фоторецепторов фотосинтезирующей клетки [8, 9]. Стрессовые факторы, в том числе, отсутствие осадков и высокие положительные температуры существенно повышают вероятность фотоокислительного повреждения в хлоропластах [10–18]. Только изучив пигментную систему растений можно полностью выявить биологические и адаптивные возможности культуры.

Как показали исследования, проведенные нами ранее, значимым фактором, оказывающим влияние на пигментный комплекс растений чая является количество осадков, в связи с чем, в статье мы приводим данные только по этому фактору.

Динамика накопления суммы хлорофиллов в свежесобранной флешей чая, представлена на рисунке 1. Как видно из рисунка, большее количество зеленых пигментов накапливается в мае, затем в июне в жизни чайного растения наступает затухание ростовых процессов – чайный куст как бы отдыхает после активной вегетации, отмечаемой в мае. Данный период совпадает с началом засухи, которая в отдельные годы может продолжаться около трех – четырех недель. Это характеризуется существенным спадом содержания хлорофиллов (НСР ($p \leq 0,05$) = 0,12).

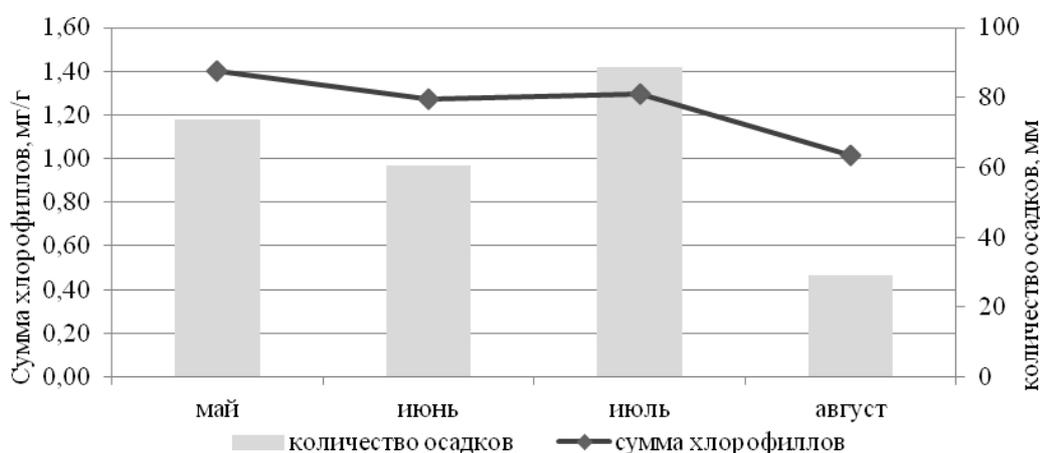


Рис. 1. Динамика накопления хлорофиллов 3-х листной флешью *Camellia sinensis*; (НСР ($p \leq 0,05$) = 0,12)

В июле после непродолжительных дождей ливневого характера, не перекрывающих дефицит воды в почве, ростовые процессы в чае возобновляются, но менее активно, чем в мае. Идет нарастание новых флешей, зеленые пигменты усиленно синтезируются в листовых пластинках, что проявляется в увеличении их количества. В августе засуха усиливается, что сказывается не только на угнетении ростовых процессов, но и на существенно более низком накоплении зеленой группы пигментов (НСР ($p \leq 0,05$) = 0,12).

Участие пигментного аппарата в адаптации чайного растения напрямую связана с каротиноидами (см. рис. 2).

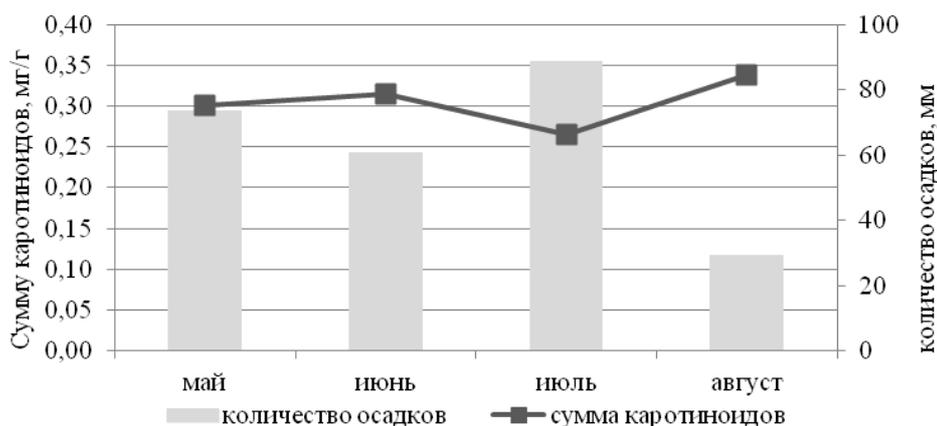


Рис. 2. Динамика накопления каротиноидов 3-х листной флешью *Camellia sinensis*; (НСР ($p \leq 0.05$) = 0.10)

Как видно из рисунка 2, незначительное увеличение количества каротиноидов совпадает с периодом засухи и естественным июньским затуханием ростовых процессов. В августе, при значительном водном дефиците отмечается резкое увеличение синтеза каротиноидов, что связано с продолжением засушливого периода, сопровождаемого повышением температуры воздуха до 30 °С и более градусов, и снижением атмосферной влажности до 50–60 %, что является для чайного растения даже более ощутимым стрессором, чем недостаток влаги почвенной.

Выявленные закономерности являются общими для всех растений чая. Однако в содержании фотосинтетических пигментов проявляются и генотипические особенности (см. табл. 1).

Таблица 1
Содержание пигментов в 3-х листных флешах *Camellia sinensis*, (M±m)

Сорт/форма	Содержание пигментов в мг/г сырого веса				
	Хл. а	Хл. b	Хл.а / Хл.б	Σкар.	Σхлор./Σкар
св. 'Колхида'	0,88±0,15	0,31±0,09	3,15±0,20	0,30±0,06	3,92±0,79
форма № 3823	0,73±0,19	0,28±0,08	2,81±0,23	0,29±0,06	3,55±0,54
форма № 582	0,73±0,26	0,26±0,10	2,96±0,34	0,27±0,09	3,65±0,36
форма № 855	0,69±0,14	0,24±0,08	3,36±0,21	0,26±0,05	3,62±0,48
форма № 2264	0,73±0,11	0,26±0,06	3,09±0,14	0,27±0,04	3,63±0,34
НСР ($p \leq 0,05$)	0,11*	0,05*	0,84	0,04	0,21*

Примечание. M – среднее арифметическое, ± m – стандартная ошибка, *p < 0,05 при сравнении с контролем.

Основным фотосинтезирующим пигментом является хлорофилл а [19–21]. Значительное накопление в листьях хлорофилла а характерно для контрольного сорта Колхида. В то время как изучаемые мутантные формы содержат хлорофилла а существенно ниже (см. табл. 1). Содержание хлорофилла b свидетельствует об уровне приспособленности растений к низкой освещенности [19–21]. Для растений чая это не актуально, так как выращивается культура на открытых пространствах и обрезка шпалеры стимулирует рост листьев на верхней её части. Но часто плотно сомкнутая шпалера ограничивает открытое для солнечных лучей пространство, и многие листья боковых поверхностей оказываются в тени. В данном случае, повышенное содержание хлорофилла b предпочтительно для фотосинтезирующей деятельности листьев данного яруса. Нами отмечена та же закономерность, что и с хлорофиллом а: больше хлорофилла b накапливается контрольным сортом; причем различия существенны или на границе существенности, как в случае с формами № 3823 и 2264. Важным является не только содержание того, или иного пигмента, но и их соотношение. Во всех изученных нами растениях чая соотношение а/б находится в пределах от 2,81 мг/г до 3,36 мг/г, и отличия между формами незначительны (см. табл. 1).

Соотношение суммы хлорофиллов к каротиноидам – более информативный признак, так как указывает на степень приспособленности растений к неблагоприятным условиям [21]. Чем меньше соотношение – тем устойчивость сорта выше. По указанному показателю все новые формы чая можно классифицировать как достаточно устойчивые, в их флешах соотношение суммы хлорофиллов к каротиноидам существенно ниже, чем в сорте Колхиде (см. табл. 1).

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Отмечены закономерности в накоплении пигментов, связанные с особенностями биологии *C. sinensis*. Определена динамика пигментного комплекса, ее зависимость от гидротермических факторов: наибольшее количество зелёных пигментов синтезируется листьями в начале активной вегетации (май), в засушливый период (июнь и август) повышается синтез каротиноидов, приводящий к существенному снижению соотношения суммы хлорофилла к сумме каротиноидов.

В содержании фотосинтетических пигментов проявляются генотипические особенности. Значительное накопление в листьях зеленой группы пигментов характерно для контрольного сорта Колхида (содержание хлорофилла а составляет в среднем 0,88 мг/г, хлорофилла b – 0,31 мг/г).

Практически все новые формы чая являются устойчивыми к гидротермическим стрессорам. В их флешах соотношение суммы хлорофиллов к каротиноидам ниже (2,81 – 3,09 мг/г), чем в контрольном сорте Колхиде (3,92 мг/г).

Список литературы

1. Senderson G. W. The chemistry of tea and tea manufacturing / G. W. Senderson //Structural and functional aspect of Phytochemistry. – Vol. 5. – Academic Press. Inc New York and London. – 1972. – P. 247–316. – <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-612405-7.50015-1>
2. Рындин А. В. 50 лет в субтропиках России: от опытной станции до научно-исследовательского института / А. В. Рындин, О. Г. Белоус, Н. М. Гутиева, З. В. Притула // Субтропическое и декоративное садоводство. – 2017. – № 62. – С. 36–48 – ISSN: 2225-3068
3. Туов М. Т. Итоги изучения перспективных гибридов чая в субтропиках Российской Федерации / М. Т. Туов, А. В. Рындин //Субтропическое и декоративное садоводство. – 2011. – № 44. – С. 101–109. – ISSN: 2225-3068
4. Туов М. Т. Эколого-физиологическая характеристика гибридов чая в условиях влажных субтропиков России / М. Т. Туов, О. Г. Белоус, З. В. Притула // Субтропическое и декоративное садоводство. – 2011. – № 44. – С. 109–114. – ISSN: 2225-3068
5. Belous, O. Physiological foundations of sustainability *Camellia sinensis* (L.) O. Kuntze and *Corylus pontica* C. Koch. in the conditions of humid subtropics of Russia / O. Belous, N. Platonova // American Journal of Plant Sciences. Special Issue on Plants in Extreme Environment. – 2018. – Vol. 09, No. 09. – P. 1771–1780. – <https://doi.org/10.4236/ajps.2018.99129>
6. Белоус О. Г. Устойчивость пигментов листьев чая к дефициту влаги и повышенным температурам / О. Г. Белоус // Вестник РАСХН. . – 2008. – №5– С. 44–46. – ISSN: 0869-3730
7. Белоус О. Г. Влияние микроэлементов на интенсивность фотосинтеза растений чая в зоне влажных субтропиков России / О. Г. Белоус // Современные проблемы науки и образования. – 2011. – №5. – С. 109–115. – ISSN: 2070-7428
8. Титова М.С. Динамика фотосинтезирующей активности хвои *Picea ajanensis* и *Picea Smithiana* в условиях зелёной зоны г. Уссурийска / М. С. Титова, Н.Г. Розломий // Живые и биокосные системы. – 2015. – № 12. – URL: <http://www.jbks.ru/archive/issue-12/article-4> (дата обращения: 27.05.2019)
9. Федотова Ю. К. К вопросу о содержании основных пигментов фотосинтетического аппарата у *Geranium sanguineum* флоры Центрального Предкавказья / Ю. К. Федотова // Вестн. Москов. гос. обл. ун-та. Сер. Естественные науки. – 2009 – № 1 – С. 81–84. – ISSN: 2072-8352
10. Трунов Ю. В. Влияние минерального питания на фотосинтетическую активность листьев яблони в условиях центрального Черноземья / Ю. В. Трунов, А. И. Кузин, Е. М. Цуканова, Н. С. Вязьмикина // Плодоводство и ягодоводство России. – 2012. – Т. 35. – С. 187–193.
11. Еремченко О. З. Содержание пигментов в растениях *Lepidium sativum* в условиях хлоридно-натриевого засоления и ощелачивания / О. З. Еремченко, М. Г. Кусакина, Е. В. Лузина // Вестник ПГУ. Биология. – 2014. – №1. – С. 30–35. – ISSN 1994-9952
12. Николаева М. К. Влияние засухи на содержание хлорофилла и активность ферментов антиоксидантной системы в листьях трех сортов пшеницы, различающихся по продуктивности / М. К. Николаева, С. Н. Маевская, А. Г. Шугаев, Н. Г. Бухов // Физиология растений – 2010 – № 1. – С. 94–102. – ISSN: 0015-3303
13. Foyer C. H. Oxygen processing in photosynthesis: regulation and signaling / C. H. Foyer, G. Noctor // New Phytology. – 2000. – Vol. 146. – P. 359–388. – <https://doi.org/10.1155/2012/217037>
14. Mittler R. Oxidative stress, Antioxidants and Stress Tolerance / R. Mittler // Trends Plant Sci. – 2002. – Vol. 7. – P. 405–410. – [https://doi.org/10.1016/S1360-1385\(02\)02312-9](https://doi.org/10.1016/S1360-1385(02)02312-9)
15. Belous O. Photosynthetic Pigments of Subtropical Plants. In book: Photosynthesis - from its evolution to future improvements in photosynthetic efficiency using nanomaterials. Edit.: Ph.D. Juan Cristobal García-Canedo and Gema Lorena / O. Belous, K. Klemeshova, V. Malyarovskaya – London: IntechOpen Limited, UNITED KINGDOM, 2018. – P. 31–52 (113 p.). – ISBN 978-1-78923-786-3. – <https://doi.org/10.5772/intechopen.75193>.
16. Son K. H. Growth, photosynthetic and antioxidant parameters of two lettuce cultivars as affected by red, green, and blue light-emitting diodes / K. H. Son, M. M. Oh //Horticulture, Environment and Biotechnology. – 2015. – Vol. 56. – P. 639–653. – <http://link.springer.com/article/10.1007%Fs13580-015-1064-3>

17. Kaur G. Molecular responses to drought stress in plants / G. Kaur, B. Asthir // *Biologia Plantarum* – 2017. – Vol. 61 (2). – P. 201–209. <https://doi.org/10.1007/s10535-016-0700-9>
18. Krasensky J. Drought, salt, and temperature stress-induced metabolic rearrangements and regulatory networks / J. Krasensky, C. Jonak // *Journal of Experimental Botany*. – Vol. 63(4). – P. 1593–1608. – <https://doi.org/10.1093/jxb/err460>
19. Bukhov N. G. Energy dissipation in photosynthesis: does the quenching of chlorophyll fluorescence originate from antenna complexes of photosystem II or from the reaction center / N. G. Bukhov, U. Heber, C. Wiese, V. A. Shuvalov // *Planta*. – 2001. – Vol. 212. – P. 749–75. – <https://doi.org/10.1007/s004250000486>
20. Pogson B. J. The roles of carotenoids in photosystem II of higher plants // *Photosystem II: the light-driven water: plastoquinone oxidoreductase* / B. J. Pogson, H. M. Rissler, H. A. Frank – Springer-Verlag. – 2005. – P. 515–537. – https://doi.org/10.1007/1-4020-4254-X_24
21. Ладыгин В. Г. Современные представления о функциональной роли каротиноидов в хлоропластах эукариот / В. Г. Ладыгин, Г. Н. Шишкикова // *Журн. общ. биологии*. – 2006. – Т. 67. – С. 163–189. – ISSN (PRINT): 0044-4596

PHOTOSYNTHETIC PIGMENTS AS AN ELEMENT OF FORMATION OF TEA PLANTS ADAPTABILITY

Platonova N. B., Belous O. G.

*Federal State Budgetary Scientific Institution «Russian Research Institute of Floriculture and Subtropical Crops», Sochi, Russia
E-mail: oksana191962@mail.ru*

Within limiting conditions, the efficiency of the photosynthetic apparatus, due to the peculiarities of the pigment complex is one of the most important indicators of the adaptive potential of plants, so it is important to conduct multi-faceted studies to identify formation patterns of the antioxidant system of new forms of tea, in which carotenoids are an important component. The objective is to determine the quantitative content of chlorophylls and carotenoids in new promising forms of tea, both in dynamics and in varietal section.

Objects of research was 3-leaf shoots (flushes) of new forms of tea; control – Colchida variety. The samples determined the content of chlorophyll and carotenoids with the extraction of pigments by 96 % ethanol; calculation - according to the Smith and Benitez formulas. The optical density of the extracted pigments was measured on a spectrophotometer PE-5400BI, manufacturer – LLC "AKROCHEM" (Russia) at the wavelength for chlorophyll a & b – 665 and 649 nm for carotenoids – 440.5 nm in cuvettes with a layer thickness of 10 mm.

The dynamics of the accumulation of photosynthetic pigments in the freshly collected tea flash was researched. The total amount of chlorophylls in May in the whole culture is 1.40 ± 0.10 mg/g dry weight. The decrease in chlorophyll content in June (1.27 ± 0.15 mg/g) occurs against the background of biologically conditioned attenuation of growth processes coinciding with the onset of drought (in humid subtropics of Russia it is June – August). The drought that continues in August causes an even more significant (LSD ($p \leq 0.05$))

= 0.12) decrease in the amount of green pigments in tea flushes. In the dry period significantly (LSD ($p \leq 0.05$) = 0.10) increases the synthesis of carotenoids (0.32 – 0.34 mg/g), this leads to a decrease in the ratio of chlorophylls to carotenoids, indicating the degree of adaptation of plants to adverse conditions. The revealed regularities are common for the culture; however, in the content of photosynthetic pigments are manifested and genotypic features. Almost all new forms of tea are resistant to hydrothermal stressors. The ratio of chlorophylls to carotenoids in the flushes is lower (2.81 – 3.09 mg/g) than in the control start of Colchida (3.15=0.13 mg/g dry weight).

The regularities in the accumulation of pigments associated with the features of the biology of *C. sinensis* are noted. The dynamics of the pigment complex and its dependence on hydrothermal factors are determined.

Keywords: tea, flushes; chlorophyll; carotenoids; drought; adaptability.

References

1. Senderson G. W. The chemistry of tea and tea manufacturing. Structural and functional aspect of Phytochemistry. *Academic Press. Inc New York and London*, **5**, 247 (1972).
2. Ryndin A. V., Belous O. G., Gutiyeva N. M., Pritula Z. V. 50 years in the Russian subtropics: from functioning as an experimental station till becoming the research institute. *Subtropical and ornamental horticulture*, **62**, 36 (2017)
3. Tuov M. T., Ryndin A. V. Results of the study of promising tea hybrids in the subtropics of the Russian Federation. *Subtropical and ornamental horticulture*, **44**, 101 (2011)
4. Tuov M. T., Belous O. G., Pritula Z. V. Ecological-and-physiological characteristics of the hybrids of tea in the conditions of damp subtropics of Russia. *Subtropical and ornamental horticulture*, **44**, 109 (2011)
5. Belous O., Platonova N. Physiological foundations of sustainability *Camellia sinensis* (L.) O. Kuntze and *Corylus pontica* C. Koch. in the conditions of humid subtropics of Russia. *American Journal of Plant Sciences. Special Issue on Plants in Extreme Environment*, **9(9)**, 1771 (2018).
6. Belous O. G. Resistance of tea leaf pigments to moisture deficiency and high temperatures. *Vestnik RASKhN - Vestnik of the Russian agricultural sciences*, **5**, 44 (2008)
7. Belous O. G. Effect of trace elements on the intensity of tea plants photosynthesis in the humid subtropical zones of Russia. *Modern problems of science and education*, **5**, 109 (2011)
8. Titova M. S., Rozlomi N. G. Dynamics of photosynthetic activity of needles *Picea ajanensis* and *Picea Smithiana* in the green zone of Ussuriysk. *Zhivye i biokosnye sistemy*. e-print jbks.ru/archive/issue-12/article-4 (2015)
9. Fedotova Yu. K. On the question of the main pigments content of the photosynthetic apparatus in *Geranium sanguineum* flory of the Central office. *Bulletin of the Moscow state regional University. Natural Sciences*, **1**, 81 (2009)
10. Trunov Yu. V., Kuzin A. I., Tsukanova E. M., Vyaz'mikina N. S. Influence of mineral nutrition on photosynthetic activity of Apple leaves in Central Chernozem region. *Pomiculture and small fruits culture in Russia*, **35**, 187 (2012)
11. Eremchenko O. Z., Kusakina M. G., Luzina E. V. Pigment content in *Lepidium sativum* plants under conditions of sodium chloride salinization and alkalization. *Bulletin of Perm University. Biology*, **1**, 30 (2014)
12. Nikolaeva M. K., Maevskaya S. N., Shugaev A. G., Bukhov N. G. Effect of drought on chlorophyll content and antioxidant enzyme activities in leaves of three wheat cultivars varying in productivity. *Russian Journal of Plant Physiology*, **1**, (94) 2010
13. Foyer C. H., Noctor G. Oxygen processing in photosynthesis: regulation and signaling. *New Phytology*, **146**, 359 (2000)
14. Mittler R. Oxidative stress, Antioxidants and Stress Tolerance. *Trends Plant Sci*, **7**, 405 (2002)

15. Belous O., Klemeshova K., Malyarovskaya V. Photosynthetic Pigments of Subtropical Plants. In book: *Photosynthesis - from its evolution to future improvements in photosynthetic efficiency using nanomaterials*. 113 p. (London: IntechOpen Limited, UNITED KINGDOM, 2018).
16. Son K. H, Oh M. M. Growth, photosynthetic and antioxidant parameters of two lettuce cultivars as affected by red, green, and blue light-emitting diodes. *Horticulture, Environment and Biotechnology*, **56**, 639 (2015)
17. Kaur G., Asthir B. Molecular responses to drought stress in plants. *Biologia Plantarum*, **61(2)**, 201 (2017).
18. Krasensky J., Jonak C. Drought, salt, and temperature stress-induced metabolic rearrangements and regulatory networks. *Journal of Experimental Botany*, **63(4)**, 1593 (2012)
19. Bukhov N. G., Heber U., and Wiese C., Shuvalov V. A. Energy dissipation in photosynthesis: does the quenching of chlorophyll fluorescence originate from antenna complexes of photosystem II or from the reaction center. *Planta*, **212**, 749 (2001)
20. Pogson B. J., Rissler H. M., Frank H. A. The roles of carotenoids in photosystem II of higher plants // Photosystem II: the light-driven water: plastoquinone oxidoreductase. *Springer-Verlag*, **1**, 515 (2005)
21. Ladygina V. G., Shirshikova G. N. Current understanding of the functional role of carotenoids in eukaryotic chloroplasts. *Journal of General biology*, **67**, 163 (2006)

УДК 612.118.2

**НЕСПЕЦИФИЧЕСКАЯ РЕЗИСТЕНТНОСТЬ ОРГАНИЗМА
ИНОСТРАННЫХ СТУДЕНТОВ ПРИ АДАПТАЦИИ К НОВЫМ
КЛИМАТИЧЕСКИМ УСЛОВИЯМ ВОЛГОГРАДСКОГО РЕГИОНА**

Себрякова Г. А.^{1,2}, Тюменцева Е. В.¹, Себрякова П. Л.¹, Товмасын Л. А.²

¹*ФГБОУ ВО «Волгоградский государственный технический университет», Волгоград, Россия*

²*ФГАОУ ВО «Волгоградский государственный университет», Волгоград, Россия*

E-mail: sevykova2012@yandex.ru

Статья посвящена исследованию состояния неспецифической резистентности организма иностранных студентов в новых климатических условиях Волгоградского региона. Установлено повышенное содержание количества эритроцитов в крови на фоне снижения количества гемоглобина в 1 эритроците, что способствует поддержанию должного уровня общего гемоглобина у иностранных студентов. Основным механизмом неспецифической реакции адаптации у иностранных девушек явилось повышение процентной доли базофилов и моноцитов, у юношей – лимфоцитов. У иностранных юношей в 9,5 % отмечается реакция стресса со средним и высоким уровнями реактивности, в 19,0 % – реакция переактивации. У девушек в 18,5 % выявлена реакция переактивации с низким уровнем реактивности. В группу риска вошли 25 % иностранных студентов. При этом в 27 % случаев отмечалась реакция, соответствующая состоянию «болезни» и в 14 % случаев – «начальной стадии предболезни». Длительное сохранение тенденций функционального перенапряжения может способствовать срыву механизмов адаптации, снижению уровня здоровья, развитию острых и хронических заболеваний у иностранных студентов.

Ключевые слова: неспецифическая резистентность, лейкоцитарная формула, факторы окружающей среды, адаптация, Волгоградский регион.

ВВЕДЕНИЕ

Согласно данным Международного департамента и центра социологических исследований Минобрнауки России увеличивается количество российских вузов, в которых обучаются по очной форме иностранные граждане [1]. Обучение иностранных студентов в российских вузах сопряжено с различными аспектами социально-языковой адаптации и необходимостью проживать в климатогеографических регионах России, резко отличающихся от мест их постоянного проживания. Бесспорно, что воздействие климатогеографического фактора окружающей среды оказывает влияние на организм человека [2–5]. Вместе с тем, предотвращение стационарных сдвигов гомеостаза достигается за счет эволюционно выработанных механизмов адаптации [6], немаловажная роль среди которых отводится периферической крови [7–9]. При наличии относительно постоянного состава периферической крови, её особенность реагировать на сложные нейроэндокринные, иммунные и метаболические изменения имеет первостепенное диагностическое значение и характеризует неспецифическую

резистентность и адаптационные реакции организма, что находит определенное отражение в морфологическом составе «белой» крови [8].

Целью исследования явилась оценка состояния неспецифической резистентности организма иностранных студентов в новых условиях климатогеографической среды (на примере Волгоградского региона).

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В исследовании приняли участие иностранные студенты из стран Ближнего Востока (Ирак – 64 %; Египет – 16 %; Сирия – 12 %; Палестина – 8 %; всего 208 чел. в возрасте $19,3 \pm 1,7$ лет), прибывающие в Россию для получения высшего образования и проходящие в течение года предвузовскую подготовку на факультете подготовки иностранных специалистов Волгоградского государственного технического университета. Поздний заезд обследуемых студентов (ноябрь) совпал с периодом наступления зимних холодов в условиях резко континентального климата Волгоградского региона. Всем обследуемым сообщалась информация об условиях проведения исследований и используемых методиках, гарантиях неразглашения полученной персональной информации, что отвечает принципам информированного согласия.

Оценка состояния неспецифической резистентности организма иностранных студентов при адаптации к новым условиям климатогеографической среды Волгоградского региона проводилась по данным общего клинического анализа крови. Забор крови осуществлялся на базе клиничко-диагностической лаборатории при прохождении обязательного медицинского осмотра спустя 1–1,5 месяца проживания иностранных граждан в новых условиях. Общий анализ крови включал определение: 1) числа эритроцитов (Эр), их среднего объема (MCV), среднего содержания гемоглобина в 1 эритроците (MCH); 2) общего числа лейкоцитов (Лей) и процентного соотношения отдельных видов среди них (лейкоцитарная формула); 3) числа и среднего объема тромбоцитов (Т, MPV); 4) содержания общего гемоглобина в крови (Hb), а также объемную фракцию эритроцитов (гематокрит (Г) и тромбоцитов (тромбокрит (PCT)). Первичные данные общего анализа крови сравнивались с нормативными значениями.

По данным лейкоцитарной формулы определялись тип адаптационной реакции (стресс, тренировка, активация: спокойная, повышенная, переактивация) и уровень реактивности (высокий, средний, низкий) (табл. 1, 2) [8, 10].

Анализ данных проводился с помощью программного статистического пакета «SPSS 17». Значимость различий оценивалась по Т – критерию для независимых выборок. Статистически значимый уровень различий принимался на уровне $p \leq 0,05$.

Таблица 1

Критерии адаптационных реакций по показателям лейкоцитарной формулы

Тип адаптационной реакции	Форменные элементы, %					
	Базофилы (Б)	Эозинофилы (Э)	Нейтрофилы (Н)		Лимфоциты (Л)	Моноциты (М)
			Палочко-ядерные	Сегментоядерные		
Стресс	0 – 1	0 – 4	1 – 7	82 – 62	6 – 19,5	4 – 8
Тренировка	0 – 1	1 – 4	1 – 5	73 – 54	20 – 27	4 – 7
Активация:	0 – 1	1 – 4	1 – 4	65 – 40	28 – 45	4 – 6,5
- спокойная	0 – 1	1 – 4	1 – 4	65 – 49	28 – 33,5	4 – 6,5
- повышенная	0 – 1	1 – 4	1 – 4	49 – 40	34 – 40 (45)	4 – 6
Переактивация	в пределах нормы				>40 (45)	

Таблица 2

Оценка уровней реактивности по выраженности признаков напряженности в лейкоцитарной формуле

Клеточные элементы	Степень напряженности				
	0	графа 1	графа 2	графа 3	графа 4
Моноциты	5 – 6	7,5 – 8,5 4 – 4,5	9,0 – 11,0 3,0 – 3,5	11,5 – 15,0 2,0 – 2,5	> 15 < 2
Эозинофилы	1 – 4,5	5,0 – 6,0 0,5	6,5 – 8,5 0,5	9,0 – 15,0 0	> 15 0
Базофилы	0 – 0,5	1	1,5	2,0 – 3,0	> 3
Палочкоядерные нейтроф.	3 – 5,5	6,0 – 7,0 2,0 – 2,5	7,5 – 9,0 1,0 – 1,5	9,5 – 15,0 0,5	> 15 0
Дополнительные сведения				1 – 2 плазматические клетки	> 2 плазматических клеток или появление незрелых форм
Токсогенная зернистость нейтрофилов	нет	нет	в единичных клетках	в половине клеток	почти во всех клетках

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

По данным сравнительного анализа показателей периферической крови и гематологического профиля, построенного относительно нормативных значений, зависящих от пола обследуемых установлено, что все изучаемые показатели крови у иностранных студентов находятся в пределах нормы (табл. 3). Исключение составили параметры, отражающие среднее содержание гемоглобина в 1 эритроците (юноши $26,5 \pm 0,61$; девушки $26,5 \pm 0,7$ пг/кл) и количество эритроцитов (юноши

5,7 ± 0,12; девушки 5,1 ± 0,14 *10¹²/л). Данный факт можно рассматривать как адаптивную реакцию организма с целью поддержания на должном уровне общего гемоглобина крови (юноши 150,6 ± 2,5; девушки 128,3 ± 3,2 г/л), обеспечивающего кислород-транспортный каскад, т.е. на фоне снижения содержания гемоглобина в 1 эритроците в крови у иностранных студентов отмечается повышение количества эритроцитов. Повышение количества эритроцитов в крови можно объяснить тем, что Страны Ближнего Востока характеризуются сухим, жарким климатом с интенсивным солнечным излучением; территория – горным рельефом (Таврские горы, Эльбрус, Хадрамут, Асир, Хидж), а также наличием пустынной местности. В связи с чем для большинства обследуемых студентов характерен горный или пустынный тип адаптации, при которой имеет место повышение кислородной емкости крови за счет увеличения числа эритроцитов.

Таблица 3
Показатели общего анализа крови иностранных студентов (M_{ср} ± m)

Группа / показатели	Юноши, n = 112		Девушки, n = 96		*Значимость различий, p
	M _{ср}	± m	M _{ср}	± m	
Эритроциты (Эр), 10 ¹² /л	5,7	0,12	5,1	0,14	0,038
Гемоглобин (Hb), г/л	150,6	2,5	128,3	3,2	0,001
Гематокрит (Г), %	47,0	0,32	40,3	0,53	0,001
Средний объем эритроцитов (MCV), фл	82,9	1,6	82,6	1,03	
Среднее содержание гемоглобина в эритроците (MCH), пг/кл	26,5	0,61	26,5	0,7	
Тромбоциты (Т), 10 ⁹ /л	241,9	12,9	303,5	15,8	0,032
Средний объем тромбоцитов (MPV), фл	10,9	0,17	10,5	0,47	
Тромбоцит (PCT), %	0,26	0,01	0,32	0,01	0,025
Лейкоциты (Лей), 10 ⁹ /л	6,09	0,39	7,4	0,38	
Нейтрофилы (Н), 10 ⁹ /л	3,1	0,28	3,7	0,39	
Нейтрофилы, %	50,8	2,3	52,8	3,4	
Эозинофилы (Э), 10 ⁹ /л	0,16	0,02	0,1	0,03	
Эозинофилы, %	2,68	0,4	1,95	0,53	
Базофилы (Б), 10 ⁹ /л	0,02	0,002	0,03	0,005	
Базофилы, %	0,42	0,05	0,51	0,04	
Моноциты (М), 10 ⁹ /л	0,52	0,03	0,59	0,07	
Моноциты, %	8,81	0,54	9,76	1,01	
Лимфоциты (Л), 10 ⁹ /л	2,21	0,16	2,32	0,33	
Лимфоциты, %	37,2	2,06	34,9	3,22	

Примечание: * – использовался Т – критерий для независимых выборок; предполагалось равенство дисперсий по критерию Ливиня

При межгрупповом сравнении установлены значимые различия параметров красной периферической крови, зависящие от половой принадлежности, а именно, у иностранных юношей количество эритроцитов ($p = 0,038$), гемоглобина крови ($p = 0,001$) и значение гематокрита ($p = 0,001$) оказались значимо выше, относительно таковых параметров у иностранных девушек. При этом количество тромбоцитов ($p = 0,032$) и значение тромбокрита ($p = 0,025$) у девушек были выше по сравнению с юношами.

Анализ гематологического профиля позволяет выявить разнонаправленные сдвиги в содержании различных видов лейкоцитов в крови иностранных студентов в зависимости от гендера (рис. 1). Возможно, что механизмом, поддерживающим неспецифическую резистентность организма иностранных девушек при адаптации к измененным условиям климатогеографической среды, является повышение базофилов, участвующих в аллергических и воспалительных реакциях и моноцитов, обеспечивающих фагоцитарные функции. Тогда как у иностранных юношей отмечается повышение процентной доли лимфоцитов, являющихся главными клетками иммунной системы.

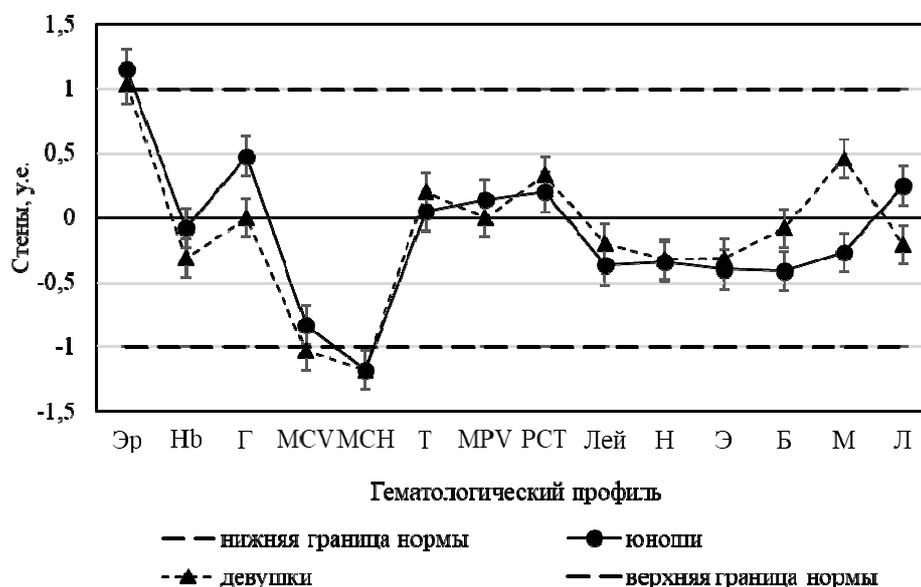


Рис. 1. Гематологический профиль по данным общего клинического анализа крови иностранных студентов (расшифровка сокращений представлена в табл. 3)

На основе метода определения общих неспецифических адаптационных реакций организма иностранных студентов и уровней реактивности по показателям лейкоцитарной формулы [11], а также количественных характеристик остальных форменных элементов периферической крови и общего числа лейкоцитов, отражающих функционирование подсистем организма и степень нарушения, все

обследуемые были распределены на сопряженные группы в зависимости от пола (юноши, девушки), типа адаптационной реакции: стресс, тренировка, активация (спокойная, повышенная), переактивация и уровня реактивности: высокий, средний, низкий (табл. 4).

С позиции теории общих неспецифических адаптационных реакций [10] состоянию болезни соответствуют реакции стресса (все уровни реактивности) и переактивации (в основном низкий и средний уровни). По данным нашего исследования в 9,5 % случаев у иностранных юношей отмечалась реакция стресса со средним и высоким уровнями реактивности. Реакция переактивации в этой группе обследуемых отмечалась в 19,0 % случаев. Тогда как в группе девушек была выявлена реакция переактивации в 18,5 % случаев в большинстве своем с низким уровнем реактивности. Биологический смысл переактивации заключается в активации ответной защитной реакции организма на «возмущающее» воздействие или завышенную нагрузку без срыва или «сброса» в стресс [12]. Таким образом, группу риска составляют до 25 % иностранных студентов с превалированием лиц мужского пола.

Таблица 4

Процентное соотношение иностранных студентов в зависимости от сопряженного соотношения «Пол*Тип адаптационной реакции*Уровень реактивности»

Уровень реактивности		Тип адаптивной реакции				
		Активация		Тренировка	Переактивация	Стресс
		спокойная	повышенная			
Юноши	Низкий	-	-	-	75,0	-
	Средний	50,0	15,0	35,0	25,0	45,0
	Высокий	50,0	85,0	65,0	-	55,0
Итого по группе		47,6	9,6	14,3	19,0	9,5
Девушки	Низкий	10,0	-	10,0	80,0	-
	Средний	60,0	100,0	80,0	20,0	-
	Высокий	30,0	-	10,0	-	-
Итого по группе		49,0	16,0	16,5	18,5	-
					Группа риска	

Анализ комплекса адаптационных изменений позволяет выделить такие реакции организма, при которых сохраняется функционально согласованная активность в действии различных систем, обеспечивающая, с одной стороны, приспособительную реакцию и возможность быстрого восстановления функциональных резервов, с другой – сохранность, минимальные повреждения и

отсутствие признаков перенапряжения. В наших исследованиях реакция «активация» высокого и среднего уровней реактивности отмечалась в 47,6 % случаев в группе юношей и в 49,0 % случаев в группе девушек.

Следует отметить, что на фоне адаптационных изменений к климатогеографическим условиям новой среды (резко континентальному климату Волгоградского региона) иностранным студентам необходимо в кратчайшие сроки адаптироваться и к требованиям российского образовательного процесса в вузе. Поэтому сохранение здоровья иностранных студентов, профилактика заболеваний предполагает донозологическую диагностику, которую также можно сделать на основе общего анализа периферической крови [10, 11]. В 59 % случаев у иностранных студентов отмечалась реакция нормы, соответствующая по данным общей неспецифической реакции состоянию «условного здоровья», в 27 % случаев отмечалась реакция, соответствующая состоянию «болезнь» и в 14 % случаев – «начальной стадии предболезни».

Таким образом, на основе общего клинического анализа крови установлена высокая частота дезадаптационных нарушений у иностранных студентов. Очевидно, что возмущающие факторы окружающей среды, к которым причисляются новые для организма иностранных студентов климатогеографические условия Волгоградского региона, а также необходимость приспособиваться в кратчайшие сроки к особенностям учебной деятельности в вузе, предъявляют высокие требования к адаптационным процессам и снижают общую неспецифическую резистентность.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Проведенное исследование позволило установить, что у иностранных студентов, приезжающих из жаркого, сухого климата с преобладанием теплого периода года (страны Ближнего Востока) в Волгоградский регион с резко континентальным климатом (осенне-зимний период), характеризующимся температурными перепадами, обилием осадков в виде мороси, ледяного дождя, снега, всплеском инфекционных заболеваний, изменяется состояние неспецифической резистентности организма.

Выявлен механизм реализации срочных адаптационных реакций, обуславливающих ответ иммунной системы: у иностранных девушек отмечается повышение процентной доли базофилов, моноцитов в периферической крови, у иностранных студентов-юношей – лимфоцитов.

Выявленные реакции, соответствующие «начальной стадии предболезни» (14 % случаев) и состоянию «болезни» (27 % случаев) являются результатами снижения сопротивляемости организма иностранных студентов к воздействию неблагоприятных факторов внешней среды. Группу повышенного риска составили до 25 % обследуемых иностранных студентов.

Обнаруженное повышение количества эритроцитов до верхних пределов физиологической нормы у иностранных студентов, независимо от половой принадлежности, на фоне уменьшения количества гемоглобина в 1 эритроците является компенсаторной реакцией организма, поддерживающей на должном

уровне количество общего гемоглобина крови.

Неспецифические реакции адаптации направлены на мобилизацию ресурсных возможностей организма иностранных студентов, однако, длительное сохранение тенденций функционального перенапряжения может способствовать срыву механизмов адаптации и, как следствие, – снижению уровня здоровья и развитию острых и хронических заболеваний.

Исследование выполнено при финансовой поддержке гранта Российского фонда фундаментальных исследований (проект № 18-013-00795)

Список литературы

1. Обучение иностранных граждан в высших учебных заведениях Российской Федерации: Статистический сборник. Выпуск 15 / Министерство образования и науки Российской Федерации. – М.: Центр социологических исследований, 2018. – 184 с. URL: https://www.socioprognoz.ru/files/File/2018/Arefiev_Sb_15_2018_001_184_ispr_5.pdf
2. Трубина М. А. Исследование процесса адаптации иногородних студентов к вузовскому обучению / М.А. Трубина, Я.В. Скорик, Е.К. Симова, И.В. Цейтлин // Ученые записки Российского государственного гидрометеорологического университета. – 2016. – № 44. – С. 245–254.
3. Рахманов Р. С. К проблеме оценке риска здоровью населения в природно-климатических условиях Камчатки / Р. С. Рахманов, Н. В. Миханюшина // Здоровье населения и среда обитания. – 2014. – № 3 (252). – С. 7–9.
4. Bashalkhanova L. V. Climatic conditions of the human life in the northern margins of Siberia / L. V. Bashalkhanova, E. V. Maksyutova // Geography and Natural Resources. – 2015. – 36(3). – P. 271–277. DOI: 10.1134/S1875372815030075
5. Błaiejczyk K. The influence of climatic conditions on the heat balance of the human body / K. Błaiejczyk, V. Krawczyk // Int. J. Biometeorol. – 1991. – Vol. 35. – P. 103–106
6. Агаджанян Н. А. Эколого-физиологические и этнические особенности адаптации человека к различным условиям среды обитания: монография / Н. А. Агаджанян, Т. Е. Батоцыренова, Ю. Н. Семенов. – Владимир: Изд-во ВлГУ, 2009. – 168 с.
7. Веремчук Л. В. Влияние эколого-гигиенических характеристик внешней среды на иммунно-метаболические показатели крови населения с заболеваниями органов дыхания / Л. В. Веремчук, П. Ф. Кику, И. Н. Симонова // Сибирский медицинский журнал. – 2012. – Т. 111, № 4. – С. 126–130.
8. Гаркави Л. Х. Адаптационные реакции и резистентность организма / Л. Х. Гаркави, Е. Б. Квакина, М. И. Уколова. – Ростов н/Д: Рост, 1977. – 223 с.
9. Эрлих В. В. Система крови, гомеостаза, метаболизма и функциональные показатели желудка и печени у легкоатлетов-бегуний на средние дистанции после двадцати дней акклиматизации в верхнем среднегорье / В. В. Эрлих, А. П. Исаев, В. В. Корольков, Т. В. Потапова // Вестник Южно-Уральского государственного университета. Серия: Образование, здравоохранение, физическая культура. – 2013. – Т. 13, № 1. – С. 17–21.
10. Быков А. Т. Оздоровление и реабилитация военнослужащих на курортах России / А.Т. Быков. – Сочи: ЧРЦСМ, 1996. – 300 с.
11. Агаджанян Н. А. Адаптация, экология и восстановление здоровья / Н. А. Агаджанян, А. Т. Быков, Г. М. Коновалова. – Москва-Краснодар: «Пилигрим-Парк», 2003. – 260 с.
12. Гаркави Л. Х. Адаптационные реакции и уровни реактивности как эффективные диагностические показатели донологических состояний / Л. Х. Гаркави, Г. Н. Толмачев, Н. Ю. Михайлов // Вестник Южного научного центра РАН. – 2007. – Т. 3, № 1. – С. 61–66.

**NONSPECIFIC RESISTANCE OF THE ORGANISM OF FOREIGN STUDENTS
UNDER ADAPTATION TO NEW CLIMATIC CONDITIONS OF THE
VOLGOGRAD REGION**

Sevriukova G. A.^{1,2}, Tiumentseva E. V.¹, Sevriukova P. L.¹, Tovmasian L. A.²

¹*Volgograd State Technical University, Volgograd, Russian Federation*

²*Volgograd State University, Volgograd, Russian Federation*

E-mail: sevrykova2012@yandex.ru

The article is devoted to the study of the state of nonspecific resistance of the organism of foreign students in the new climatic conditions of the Volgograd region. Foreign students from the countries of the Near East have participated in a research (Iraq – 64 %; Egypt – 16 %; Syria – 12 %; Palestine – 8 %; only 208 people aged 19.3 ± 1.7 years).

Assessment of the state of non-specific resistance of the body of foreign students when adapting to new conditions of the climatogeographic environment of the Volgograd region was carried out according to complete blood count. A complete blood count included the determination of: 1) the number of erythrocytes, their average volume, the average hemoglobin content in 1 erythrocyte; 2) the total number of leukocytes and the percentage of individual species among them (leukocyte formula); 3) the number and average volume of platelets; 4) the content of total hemoglobin in the blood, as well as the volume fraction of erythrocytes and platelets. According to the leukocyte formula, the type of adaptive reaction and the level of reactivity of the body were determined.

An increased number of erythrocytes in the blood was established against the background of a decrease the amount of hemoglobin in 1 erythrocyte. This helps to maintain proper levels of total hemoglobin in international students. The main mechanism of the nonspecific adaptation reaction in foreign girls was an increase in the percentage of basophils and monocytes, and among young men – lymphocytes. Foreign youths in 9.5 % have a stress reaction with medium and high levels of reactivity, and 19.0 % have a reactivation reaction. In 18.5 % of girls, a reactivation reaction with a low level of reactivity was detected. The risk group included 25 % of foreign students. At the same time, in 27.0 % of cases a reaction was observed corresponding to the state of the «disease» and in 14.0 % of cases – «the initial stage of pre-disease». Prolonged persistence of functional tension can contribute to the breakdown of adaptation mechanisms, a decrease in the level of health, and the development of acute and chronic diseases in foreign students.

Keywords: nonspecific resistance, leukocyte formula, environmental factors, adaptation, foreign student, the Volgograd region.

References

1. The Ministry of education and science of the Russian Federation, Center for sociological research, *Education of foreign citizens in the higher educational institutions of the Russian Federation: Statistical collection*. 15, 184 (2018)

2. Trubina M. A., Skorik YA. V., Semova E. K., Ceytlin I. V. Study of adaptation for nonresident students of high school training, *Uchenye zapiski Rossiyskogo gosudarstvennogo gidrometeorologicheskogo universiteta*. **44**, 245 (2016).
3. Rahmanov R. S., Mihanoshina N. V. On problem of evaluation of health risk for population due to natural-climatic conditions of Kamchatka, *Population Health and Life Environment*. **3 (252)**, 7 (2014).
4. Bashalkhanova L.B., Maksyutova E.V. Climatic conditions of the human life in the northern margins of Siberia, *Geography and Natural Resources*, **36(3)**, 271 (2015).
5. Blaejczyk K., Krawczyk B. The influence of climatic conditions on the heat balance of the human body, *International Journal of Biometeorology*, **35**, 103 (1991).
6. Agadzhanyan, N.A. Batocyrenova T.E., Semenov YU.N. *Ecological, physiological and ethnic features of adaptation of the person to various conditions of the environment: monografiya*, 168 (Vladimir, 2009).
7. Veremchuk L. V., Kiku P. F., Simonova I. N. Influence of ecology-hygienic characteristics external environments on immune-metabolic parameters of blood the population with diseases of bodies of breath, *Siberian Medical Journal*. **111 (4)**, 126 (2012).
8. Garkavi L. H., Kvakina E. B., Ukolova M. I. *Adaptation reactions and resistance of an organism: monografiya*, 223 (Rostov n/D, 1977).
9. Erlih V. V., Isaev A. P., Korol'kov V. V., Potapova T. V. The blood system, homeostasis, a metabolism and the functional parameters of the stomach and the liver in track athletes-runners of middle distance after twenty days of acclimatization in the upper mid-altitude areas, *Vestnik YUzhno-Ural'skogo gosudarstvennogo universiteta. Seriya: Obrazovanie, zdravoohranenie, fizicheskaya kul'tura*. **13(1)**, 17 (2013).
10. Bykov A. T. *Health and rehabilitation of the military personnel in the resorts of Russia: monografiya*, 300 (Sochi, 1996).
11. Agadzhanyan N. A., Bykov A. T., Konvalova G. M. *Adaptation, ecology and recovery of health: monografiya*, 260 (Moskva-Krasnodar, 2003).
12. Garkavi L. H., Tolmachev G. N., Mihajlov N. YU. Adaptation reactions and levels of reactivity as effective diagnostic indices of prenosological states, *Southern Scientific Center of Russian Academy of Sciences*. **3(1)**, 61 (2007).

УДК 159.938.3

ФЕНОМЕН НЕЗАВИСИМОСТИ ВРЕМЕНИ ЗРИТЕЛЬНО-МОТОРНОЙ РЕАКЦИИ ПРОСТОГО ВЫБОРА (МОДЕЛЬ «GO / NO-GO») ОТ ЧИСЛА И МОДАЛЬНОСТИ ДИФФЕРЕНЦИРОВОЧНЫХ ТОРМОЗНЫХ СТИМУЛОВ

Соболев В. И.¹, Попов М. Н.¹, Труш В. В.²

¹Гуманитарно-педагогическая академия (филиал) ФГАОУ ВО «Крымский федеральный университет имени В. И. Вернадского», Ялта, Республика Крым, Россия

²Донецкий национальный университет, Донецк

E-mail: v.sobolev@mail.ru

В исследованиях, проведенных с участием девушек, установлено, что латентный период сложной зрительно-моторной реакции простого выбора «Go / No-go»-типа слабо зависит от числа и модальности равновероятно предъявляемых дифференцировочных тормозных стимулов (ДТС), не требующих со стороны испытуемого моторного ответа. При удвоении числа одномодальных ДТС от одного («Red») до двух («Red/Green») время реакции не изменялось (соответственно, $298 \pm 4,3$ и $300 \pm 3,5$ мс) и оставалось в тех же пределах при расширении списка ДТС за счет стимулов иной модальности («Sound» и «Tactile»): «Red/Green/Sound» (308 ± 3 мс) и «Red/Green/Sound/Tactile» ($304 \pm 2,6$ мс).

Вариабельность латентных периодов зрительно-моторной реакции, по данным величины дисперсии, при удвоении числа одномодальных дифференцировочных тормозных стимулов существенно возрастала (в 1,5 раза): с 5090 при «Red»-стимуляции до 7581 при «Red/Green» алгоритме. При увеличении числа дифференцировочных стимулов за счет стимулов другой модальности («Sound» и «Tactile») дисперсии выборов более не увеличивались и оставались неизменными.

Эффект нарастания числа и модальности ДТС, отсутствующий на уровне значений средних арифметических в целостных вариационных рядах, проявляется при анализе параметров модальных интервалов. Показано, что при использовании ДТС-стимулов иной модальности изменяется характер распределения частот встречаемости вариант, в частности за счет смещения границ модального интервала в сторону удлиненных значений латентного периода, различий в относительной плотности частот распределения и более плоской вершины кривой.

Ключевые слова: механизмы сенсомоторной реакции, дифференцировочная реакция простого выбора, время зрительно-моторной реакции, зависимость латентного периода от числа дифференцировочных стимулов.

ВВЕДЕНИЕ

Природа перцепции как психологического феномена является предметом интенсивных исследований в различных областях психологии, прикладной физиологии, психиатрии и педагогики [1–8]. Среди многочисленных аспектов указанной проблемы важное место принадлежит вопросу о механизмах формирования одного из элементов феномена восприятия – ощущения, в частности зрительного [6–12]. В настоящее время ведутся интенсивные исследования в области построения моделей, описывающих основные принципы функционирования нейронных сетей ЦНС при обработке зрительной информации в

центральной части анализатора [6, 11–14], разрабатываются теории формирования ощущения, восприятия и сенсорного осознания, построенных на так называемом принципе "кольца" А. М. Иваницкого [9, 15], "динамического ядра" Дж. Эделмена [16], а также на результатах исследований В. Я. Сергина [17]. Тем не менее, остается все еще не решенным вопрос о временных параметрах формирования сенсорного осознания (время сенсорного осознания). Важные результаты получены в нейрофизиологических исследованиях [9, 18–20] путем измерения латентности пиков вызванных электрических потенциалов в различных участках коры головного мозга (потенциалы, связанные с событием – зрительным стимулом). А. М. Иваницкий и соавторы [15] пришли к выводу, что время формирования осознанного ощущения в ответ на вспышку света находится в пределах 300 мс. При этом обращается внимание, что указанная латентность не включает время, необходимое для принятия решения, как, например, в случае необходимости выполнения того или иного сенсорного ответа. Следовательно, латентный период сенсорной реакции является суммой даже не двух, а более многочисленных компонентов, что усложняет проведение анализа и выяснение механизмов формирования ощущения.

Одним из методических подходов, широко использующихся в физиологии сенсорных систем, является метод психометрии, в частности, измерение латентного периода выполнения зрительно-моторной реакции. Принято считать, что все сенсомоторные реакции, прежде всего, можно разделить на 2 группы: простые и сложные [14, 18, 21–25]. Последние, в свою очередь, подразделяются на несколько типов, в том числе на так называемую сложную дифференцировочную реакцию простого выбора. Согласно этой парадигме (реакция «Go / No-go»-типа), при чередующемся предъявлении двух стимулов испытуемый на один из них (тестовый стимул) должен отвечать моторной реакцией, а на второй (дифференцировочный тормозной стимул – ДТС) – его игнорировать.

Зрительно-моторная реакция «Go / No-go»-типа по сравнению с другими разновидностями сложных сенсомоторных реакций является относительно простой, так как принятие решения осуществляется при меньшем числе промежуточных нейрональных операций. Латентность такой реакции, по данным разных авторов [2, 3, 18, 26, 27], колеблется в рамках 240 – 400 мс и зависит во многом от алгоритма опыта и конструктивных особенностей экспериментальных установок. В качестве дифференцировочного тормозного стимула принято использовать стимулы той же модальности, различающиеся в основном по параметрам силы света, длины волны, длительности и алгоритму стимуляции, особенностям излучателя и стимулируемой области сетчатки. При этом число предъявляемых испытуемому дифференцировочных стимулов в рамках измерения времени реакции не превышает одного. В связи с этим возникает вопрос: зависит ли время сложной сенсомоторной реакции простого выбора от числа тормозных стимулов, т. е. стимулов которые испытуемый обязан игнорировать?

Вопрос о характере влияния числа предъявляемых испытуемому стимулов на время психомоторной реакции подробно изучался на примере сенсомоторных реакций сложного выбора, когда на разные альтернативные тестовые сигналы

испытуемый отвечает разными двигательными или словесными реакциями. В этом случае время реакции от числа альтернативных стимулов описывается логарифмической зависимостью (закон Хика). Что же касается вопроса о характере зависимости между латентностью и числом дифференцировочных тормозных стимулов в модели «Go / No-go»-типа, то он нуждается в дополнительных исследованиях.

В настоящем исследовании в качестве рабочей гипотезы было выдвинуто предположение о том, что латентный период сложной зрительно-моторной реакции модели «Go / No-go»-типа слабо зависит от числа и модальности тормозных дифференцировочных стимулов, не требующих моторной реакции. Выяснение вероятности такого рода предположения и явилось целью нашей работы.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Характеристика контингента испытуемых. Исследования проведены в весенний период 2018 г с участием 10 девушек возрастом 18–19 лет ($M = 18,5$, $SD = 0,41$), обучающихся в Институте педагогики, психологии и инклюзивного образования Крымского федерального университета имени В. И. Вернадского.

Процедура исследования и оборудование. В работе использовали известную модель сложной дифференцировочной реакции простого выбора, обозначаемую как реакция «Go / No-go»-типа. Согласно алгоритму этой модели, при чередующемся предъявлении двух стимулов испытуемый на один из них (тестовый стимул – ТС) должен отвечать моторной реакцией, а на второй (дифференцировочный тормозной стимул – ДТС) – его игнорировать. В ходе исследований были проведены 5 серий опытов (таблица). В первой серии экспериментов (1ЛП) определяли латентный период (ЛП) простой зрительно-моторной реакции (30 попыток) исключительно на тестовый стимул синего цвета («Blue»). В последующих сериях опытов (2ЛП - 5ЛП) измеряли время реакции, используя модель «Go / No-go» (дифференцировочная реакция простого выбора). В качестве тестового стимула использовали вспышку источника синего света («Blue»), а дифференцировочного тормозного стимула, не требующего моторной реакции, – световые вспышки красного («Red») или зеленого («Green») света. Для расширения перечня дифференцировочных стимулов, кроме световых, использовали раздражители других сенсорных модальностей: звуковой («Sound») и тактильный («Tactile»). Учитывая задачи настоящей работы, в каждой последующей серии опытов число используемых ДТС нарастало – от одного («Red») в 2ЛП-серии до четырех («Red/Green/Sound/Tactile») в серии 5ЛП (табл. 1). Тестовый и дифференцировочный стимулы предъявлялись случайным образом, чередуясь с интервалом 4–6 с. Собственно ДТС-стимулы в сериях, в которых их число превышало единицу (от двух до четырех, серии 3ЛП – 5ЛП), чередовались также случайным образом. Перед каждым тестом испытуемый выполнял тренировочный цикл из 15 попыток. Число измерений времени зрительно-моторной реакции в ответ на предъявление ТС в каждой из серий опытов для отдельного испытуемого составляло: 1ЛП ($n=30$), 2ЛП ($n=30$), 3ЛП ($n=60$), 4ЛП ($n=90$) и 5ЛП ($n=120$). Соотношение между числом тестовых и ДТС-стимулов во всех сериях

опытов было равно 1/1. Для исключения эффекта утомления тест 5ЛП проводился через 60 мин после тестов 1ЛП – 4ЛП.

Латентный период (ЛП) простой и дифференцировочной зрительно-моторной реакции соответствовал интервалу времени от момента предъявления тестового стимула до момента отжатия кнопки «СТОП» секундомера, т. е. его остановки. Электронный секундомер, построенный на основе микроконтроллера ATmega 8515-16PU и LED-дисплея CA56-12SRWA, позволял измерять интервал времени с точностью до 0,25 мс/дел. Во время эксперимента пульт с кнопкой фиксировался между большим (сверху) и четырьмя (снизу) пальцами правой руки. Благодаря хорошей эргономике пульта, в процессе выполнения моторной реакции при встречном движении пальцев (имитация хватательного рефлекса) существенно укорачивалось время срабатывания кнопки «СТОП» и, следовательно, уменьшалась ошибка измерения, обусловленная ее механическими свойствами.

В качестве источника света использовали RGB-светодиод (Ultra brightness BL-L515RGBC) с рассеивающей линзой (угол рассеивания 20°), что позволило инициировать вспышку красного (Ultra Orange 630 nm), зеленого (Ultra Pure Green 525 nm) или синего (Blue 430 nm) света. Значение силы света для каждого светового излучателя (красного, зеленого и синего) выбирали одинаковой и предварительно аппаратными средствами устанавливали на приемлемом для глаза уровне 2000 mcd (luminous intensity). Длительность светового импульса была всегда одинаковой и составляла 10 мс.

Источником звукового сигнала служили парные головные телефоны; интенсивность звука составляла 80 дБ при частоте 2000 Гц и длительности стимуляции 10 мс.

Тактильное раздражение осуществлялось путем скрытого, невидимого и неожиданного для испытуемого кратковременного легкого касания его спины.

При статистической обработке данных использовали пакеты прикладных программ Excel и Statistica 7.0. Вариационный ряд строился путем суммирования индивидуальных вариационных рядов всех испытуемых (объединенный, сводный, вариационный ряд) при строгом соблюдении условия: число вариантов, вносимых в сводный вариационный ряд, для каждого испытуемого было одинаковым. Такой подход позволил сохранить в объединенных рядах весь спектр значений индивидуальных эмпирических реакций, что, несмотря на закономерное увеличение дисперсии и коэффициента вариации, улучшает репрезентативность выборок, адекватно отражая реальную вариабельность показателя времени выполнения зрительно-моторной реакции. Статистическую значимость различий между двумя средними арифметическими величинами определяли с помощью двухвыборочного t-теста Стьюдента для выборок с различными дисперсиями при заданном уровне значимости $p < 0,05$. При оценке различий между двумя множествами применяли двухвыборочный F-тест для дисперсий, а также построение графиков частот распределения данных в вариационных рядах. Во всех случаях сравнение анализируемых показателей и статистическая оценка различий проводили на основании проверки нулевой и альтернативной гипотез.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Анализ полученных данных показал, что время простой зрительно-моторной реакции (ПЗМР), измеренное в тесте 1ЛП, составило в среднем $181 \pm 2,3$ мс при соответствующей (1674) дисперсии целостного вариационного ряда (табл. 1). Коэффициент вариации за счет определенного числа (17 вариант из 300) «удлиненных» индивидуальных реакций был значительным, достигая 23 %.

Изменение типа изучаемой зрительно-моторной реакции с ПЗМР на дифференцировочную реакцию простого выбора (2ЛП – 5ЛП) существенно отразилось на всех ее параметрах (табл. 1, Рис.). Во-первых, существенно удлинялся латентный период реакции на предъявление тестового стимула. Так, в тесте 2ЛП он составил $298 \pm 4,3$ мс, что было на 65 % больше ($p < 0,05$), чем в тесте 1ЛП. При усложнении алгоритма дифференцировочной реакции (3ЛП – 5ЛП) степень удлинения ЛП была такого же порядка – от 66 % до 70 %.

Таблица 1

Время зрительно-моторной реакции ($M \pm m$) и некоторые его статистические параметры у испытуемых при разных условиях стимуляции

Условия опыта: характер стимуляции, код серии опыта	Среднее значение (мс), стандартная ошибка и дисперсия выборки	Мода (мс)	Экссесс	Асимметрич- ность
Тестовый стимул «Blue» (1ЛП)	$181 \pm 2,3$ (1674) ** n = 300	174,3	$2,28 \pm 0,28$ p < 0,05	$1,08 \pm 0,14$ p < 0,05
Тестовый стимул «Blue», дифференцировочный тормозной стимул «Red» (2ЛП)	$298 \pm 4,3$ * (5090) n = 300	268,8	$0,78 \pm 0,28$ p < 0,05	$0,57 \pm 0,14$ p < 0,05
Тестовый стимул «Blue», чередующиеся дифференцировочные тормозные стимулы «Red/Green» (3ЛП)	$300 \pm 3,5$ * (7581) ** n = 600	281,5	$-0,21 \pm 0,20$ p > 0,05	$0,35 \pm 0,10$ p < 0,05
Тестовый стимул «Blue», чередующиеся дифференцировочные тормозные стимулы «Red/Green/Sound» (4ЛП)	$308 \pm 3,0$ * (7491) ** n = 900	322,2	$-0,35 \pm 0,16$ p < 0,05	$0,54 \pm 0,08$ p < 0,05
Тестовый стимул «Blue», чередующиеся дифференцировочные тормозные стимулы «Red/Green/Sound/Tactile» (5ЛП)	$304 \pm 2,6$ * (7313) ** n = 1200	322,6	$-0,38 \pm 0,15$ p < 0,05	$0,70 \pm 0,07$ p < 0,05

Примечание: в круглых скобках приведено значение дисперсии; * – латентный период статистически значимо ($p < 0,05$) отличается от соответствующего значения в серии 1ЛП; ** – величина дисперсии статистически значимо ($p < 0,05$) отличается от соответствующего значения в серии 2ЛП (двухвыборочный F-тест для дисперсии); n – общее число измерений в каждой серии опытов у 10 испытуемых.

В-третьих, несмотря на отсутствие различий в средних величинах ЛП при разном числе дифференцировочных тормозных стимулов (от 1 до 4), дисперсии выборок в ряде случаев различались (табл. 1). Наименьшее значение дисперсии (5090) отмечено в вариационном ряде 2ЛП-серии (один ДТС-стимул), которое статистически достоверно ($p < 0,05$) отличалось от значений в других выборках (3ЛП – 5ЛП). Наибольшая дисперсия выявлена в вариационном ряде 3ЛП (7581). При удлинении списка ДС до двух, трех и четырех (серии 3ЛП - 5ЛП), в том числе за счет использования стимулов других модальностей («Sound» и «Tactile»), величина дисперсии по сравнению с серией 3ЛП, как можно было бы ожидать, не увеличивалась ($p > 0,05$), а оставалась в рамках 7313 – 7491 (табл. 1). Следовательно, дисперсия выборок в сводных вариационных рядах прогрессивно нарастала только в случае увеличения числа (от 1 до 2-х) одномодальных дифференцировочных тормозных стимулов («Red» и «Red/Green»). В дальнейшем, при дополнении списка ДТС за счет стимулов другой модальности («Red/Green/Sound» и «Red/Green/Sound/Tactile») вариабельность сенсомоторной реакции более не увеличивалась.

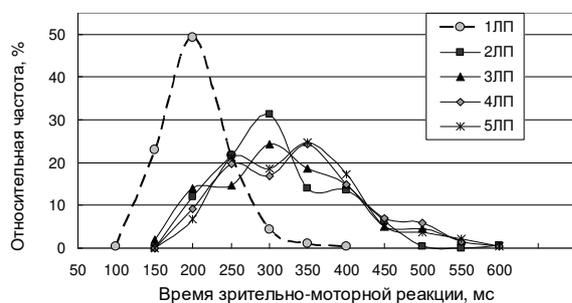


Рисунок. Частота распределения времени простой (1ЛП) и дифференцировочной (2ЛП - 5ЛП) зрительно-моторных реакций в целостных вариационных рядах.

Примечание: частота встречаемости значений времени реакций в целостных вариационных рядах выражена в относительных величинах (%); 1ЛП - 5ЛП - код серии опытов.

вариационных рядах (рис., табл. 1) для разных серий опытов различались. Так, в сериях 3ЛП – 5ЛП величина эксцесса была незначительной и всегда имела отрицательный знак, а в остальных случаях эксцесс был всегда положительным и достаточно высоким ($p < 0,05$). Последнее указывает на высокую кучность расположения вариант возле своих средних арифметических. Имелись различия и в степени асимметричности кривых, которые, тем не менее, всегда были асимметричными (табл. 1).

Во-вторых, что важно подчеркнуть, средние значения ЛП для целостных вариационных рядов статистически значимо не различались при разных модификациях опыта. Так, при использовании алгоритма 2ЛП (один индифферентный стимул – «Red») величина ЛП была равна $298 \pm 4,3$ мс, а в случае применения четырех индифферентных стимулов в серии опытов 5ЛП («Red/Green/Sound/Tactile») латентный период составил $304 \pm 2,6$ мс, т.е. не изменялся ($+6 \pm 5,0$ мс, $p > 0,05$).

В-четвертых, параметры кривых распределения частоты встречаемости вариант в сводных

Таким образом, латентный период дифференцировочной зрительно-моторной реакции, во-первых, был всегда существенно длиннее, чем при ПЗМР и, во-вторых, слабо зависел от числа (от 1 до 4) дифференцировочных тормозных стимулов, в том числе и другой модальности.

Несмотря на отсутствие различий между средними величинами длительности ЛП в зависимости от числа предъявляемых тормозных дифференцировочных стимулов в сводных вариационных рядах 2ЛП – 5ЛП-серий, визуальная оценка характера взаимного расположения кривых частоты распределения (рис.) указывает на вероятность проявления различий на уровне структуры модальных интервалов. Сравнительный анализ показал, что в случае дифференцировочной зрительно-моторной реакции все кривые частот встречаемости значений ЛП в сводных вариационных рядах серий 2ЛП-5ЛП относительно ПЗМР (1ЛП) смещены по оси ординат вправо, т. е. в сторону удлинения времени реакции. Кроме того, пики двух кривых (2ЛП и 3ЛП), с одной стороны, и пики кривых 4ЛП – 5ЛП, с другой, соотносятся с разными значениями параметра «время латентного периода». Эта особенность, легко выявляемая визуально, вызвала необходимость проведения количественной оценки различий в характере распределения исследуемых кривых.

С нашей точки зрения, определенные результаты могут быть получены путем сравнительного анализа статистических параметров соответствующих модальных интервалов. С этой целью первоначально на основании эмпирических данных и частот распределения в каждом вариационном ряду были определены модальные интервалы, характеризующиеся наибольшей частотой встречаемости вариант. Так, по данным табл. 2 видно, что модальный интервал для вариационного ряда 1ЛП составил 150 – 200 мс, для 2ЛП – 3ЛП соответственно 250 – 300 мс, а для 4ЛП и 5ЛП он располагался в диапазоне 300 – 350 мс. На следующем этапе анализа в обозначенных модальных интервалах были вычислены значения моды:

$$M_o = X_o + h \frac{f_{M_o} - f_{M_o-1}}{2f_{M_o} - f_{M_o-1} - f_{M_o+1}},$$

где X_o – нижнее значение модального интервала;
 f_{M_o} – частота в модальном интервале;
 f_{M_o-1} – частота в предыдущем интервале;
 f_{M_o+1} – частота в следующем интервале за модальным;
 h – размах интервала.

Из табл. 1 видно, что наименьшее значение моды отмечено для случая 1ЛП (174,3 мс), а наибольшее – для варианта 5ЛП (322,6 мс). Кроме того, средние арифметические всегда несколько отличались от моды. Рассчитанные численные значения моды в силу природы данного показателя невозможно сравнить между собой с целью определения статистически значимых различий (проверка нулевой и альтернативной гипотез). Однако представляется возможным использовать и другой простой способ сравнительного анализа, основанный на вычислении средней арифметической величины для всех вариант, вошедших в тот или иной модальный интервал. Такие новообразованные вариационные ряды позволяют при

статистическом анализе использовать применяемые в таких случаях стандартные методы описательной статистики: расчет средней величины, ее ошибки, стандартного отклонения, дисперсии выборки и т. д., что позволяет, в частности, использовать при оценке различий двухвыборочный t-тест Стьюдента и двухвыборочный F-тест для дисперсий. Например, модальный интервал для 1ЛП-серии включает 148 эмпирических вариант при рассчитанной средней арифметической $173 \pm 1,2$ мс и дисперсии 204, а для серии 5ЛП при числе вариант в модальном интервале 298 средняя величина и ее ошибка составили $319 \pm 0,8$ мс при дисперсии 197 (табл. 2).

Проведенный анализ показал следующее. Во-первых, число эмпирических вариант (при $h = 50$ мс), вошедших в соответствующий модальный интервал (в % от всего числа вариант в исходном вариационном ряду) наиболее высоким было в 1ЛП-серии (49 % всего ряда из 300 вариант). В других выборках (серии 2ЛП – 5ЛП) этот параметр практически не различался и в относительных величинах находился в пределах 24 % – 25 %.

Таблица 2

Характеристика параметров зрительно-моторной реакции в модальных интервалах вариационных рядов при разных условиях эксперимента

Условия опыта: характер стимуляции, код серии опыта	Модальный интервал (мс)	Частота в модальном интервале (f_{Mo}) и доля (в %) от общего числа вариант (n_1)	Среднее значение латентного периода в модальном интервале (мс) и стандартная ошибка	Дисперсия выборки (s^2) и число вариант (n_2) в модальном интервале
Тестовый стимул «Blue», (1ЛП)	150 - 200	148 (49 %) $n_1 = 300$	$173 \pm 1,2$ * #	$s^2 = 204$ $n_2 = 148$
Тестовый стимул «Blue», дифференцировочный тормозной стимул «Red» (2ЛП)	250 - 300	94 (30 %) $n_1 = 300$	$280 \pm 1,5$ *	$s^2 = 224$ $n_2 = 94$
Тестовый стимул «Blue», чередующиеся дифференцировочные тормозные стимулы «Red/Green» (3ЛП)	250 - 300	146 (24 %) $n_1 = 600$	$281 \pm 1,2$ *	$s^2 = 209$ $n_2 = 146$
Тестовый стимул «Blue», чередующиеся дифференцировочные тормозные стимулы «Red/Green/Sound» (4ЛП)	300 - 350	218 (24 %) $n_1 = 900$	$324 \pm 1,0$ * #	$s^2 = 220$ $n_2 = 218$
Тестовый стимул «Blue», чередующиеся дифференцировочные тормозные стимулы «Red/Green/Sound/Tactile» (5ЛП)	300 - 350	298 (25 %) $n_1 = 1200$	$319 \pm 0,8$ * #	$s^2 = 197$ $n_2 = 298$

Примечание: в круглых скобках приведено число вариант, попавших в указанный модальный интервал и доля в % от общего числа вариант в вариационном ряду; * – латентный период статистически значимо ($p < 0,05$) отличается от соответствующего значения в серии 1ЛП; # – латентный период статистически значимо отличается от значений в сериях 2ЛП – 3ЛП.

Во-вторых, среднее значение ЛП в модальном интервале серии 1ЛП было равным $173 \pm 1,2$ мс. В условиях дифференцировочной зрительно-моторной реакции средние арифметические в новообразованных выборках, представляющих ЛП в исследуемых модальных интервалах, были существенно выше. При этом, при использовании одного («Red») и двух («Red/Green») одномодальных дифференцировочных тормозных стимулов средние значения ЛП статистически значимо не различались ($280 \pm 1,5$ и $281 \pm 1,2$ мс). В случае использования 3-х и 4-х чередующихся ДТС-стимулов (серии 4ЛП – 5ЛП), среди которых присутствовали стимулы другой (не световой) модальности («Sound» и «Tactile»), средние значения в модальных интервалах в сравнении с 2ЛП – 3ЛП-сериями значительно возрасли ($p < 0,05$) на $43 \pm 1,6$ мс (серия 4ЛП) и $38 \pm 1,4$ мс (5ЛП-серия).

В-третьих, несмотря на различия средних величин ЛП в модальных интервалах разных серий опытов, дисперсии выборок были равными (двухвыборочный F-тест для дисперсии) и колебались в диапазоне от 197 до 224.

Таким образом, различия между временем выполнения сложной зрительно-моторной реакции при использовании в качестве тормозных дифференцировочных стимулов одномодальных (2ЛП и 3ЛП-серии) и разномодальных (4ЛП и 5ЛП-серии) алгоритмов опыта выявляются только в случае анализа относительно ограниченных выборок эмпирических данных (24 – 30 %), располагающихся вокруг значения «своей» моды.

Установленный факт независимости времени дифференцировочной реакции простого выбора (ДифРПВ) от числа альтернативных тормозных стимулов (от 1 до 4), в том числе и разных модальностей, с нашей точки зрения, является показательным, и позволяет обсуждать вопрос о психофизиологических механизмах реализации зрительно-моторной реакции модели «Go / No-go»-типа.

Прежде всего, результаты наших исследований подтверждают хорошо известный факт [3, 18, 21, 23, 27] существенного удлинения времени ДифРПВ по сравнению с простой зрительно-моторной реакцией (ПЗМР). По нашим данным (табл. 1), подобная смена модели сопровождалась удлинением латентного периода сенсомоторной реакции с $181 \pm 2,3$ мс (1ЛП-серия) до $298 \pm 4,3$ мс (серия 2ЛП), т. е. на $+117 \pm 4,9$ мс (64 %, $p < 0,05$). Такой эффект обусловлен различиями в структурно-функциональных путях и механизмах реализации сенсорного ответа. С точки зрения психофизиологии, в случае ПЗМР перцептивный акт элементарен, а сенсорный ответ инициируется на основе исключительно факта появления, изменения или прекращения действия раздражителя. Более того, по результатам экспериментов с использованием последовательной обратной световой маскировки [28] для инициации моторной реакции формирование осознанного ощущения и вовсе не требуется (Fehrer-Raab effect), хотя оно всегда проявляется, как психический феномен, но уже после запуска двигательного акта.

При сложных сенсомоторных реакциях, требующих избирательного реагирования на различные стимулы отличных по цвету, размеру, форме и другим признакам, инициация сенсомоторного ответа осуществляется лишь после формирования соответствующего осознанного сенсорного ощущения. Именно с этим связан эффект удлинения латентного периода при дифференцировочной

зрительно-моторной реакции простого выбора (относительно ПЗМР), что мы и наблюдали. Необходимо сказать, что измеренный латентный период при выполнении ДифРПВ не идентичен времени формирования ощущения, так как в качестве составных слагаемых включает еще время принятия решения, а также инициации и выполнения двигательного акта. Определение латентности формирования осознанного ощущения требует специальных исследований и других алгоритмов эксперимента.

В настоящее время психофизиологами предложены многочисленные структурно-функциональные схемы, объясняющие логику выполнения сложных зрительно-моторных реакций [21]. Прежде всего, выделяют три узловых компонента – процесс формирования ощущения, принятие решения о способе действия и его моторное исполнение. Естественно, что каждый из названных компонентов обладает своей большей или меньшей степени сложности внутренней организацией [29]. В случае дифференцировочной зрительно-моторной реакции простого выбора (ДифРПВ) процесс принятия решения несколько упрощается, так нет необходимости в запуске двух или более альтернативных двигательных программ. Именно этим объясняется факт удлинения латентного периода при выполнении реакций сложного выбора (закон Хика) по сравнению с ДРПВ.

Рассматривая структуру показателя «время реакции» в случае выполнения зрительно-моторной реакции простого и сложного выбора, можно предположить, что наиболее переменными компонентами выступают процессы принятия решения и организации собственно двигательного акта. Что же касается компонента «время формирования ощущения», то, скорее всего, при прочих равных условиях он относительно постоянный, что не исключает возможности его модуляции третьими факторами.

В отличие от других типов сложных сенсомоторных реакций, как уже указывалось, при реализации дифференцировочной зрительно-моторной реакции простого выбора в ответ на тестовый стимул («Blue») предполагается запуск только одной, заранее выбранной, моторной программы и игнорирование ее запуска в случае предъявления дифференцировочного стимула. В наших экспериментах число таких дифференцировочных тормозных стимулов нарастало от одного в серии 2ЛП до четырех в серии 5ЛП.

Выявленный факт независимости времени реакции простого выбора от числа дифференцировочных тормозных стимулов, в том числе и разных модальностей позволяет сделать принципиально важный вывод о механизме реализации сенсомоторной реакции простого выбора и роли, которая отводится ДТС: для запуска реакции «Go / No-go»-типа важен лишь факт установления на основе возникающего ощущения идентичности параметров тестового стимула эталону, точно обозначенному в алгоритме опыта. Неизбежность предъявления дифференцировочного тормозного стимула и его ожидание заставляют функциональную систему «не спешить» с решением о запуске моторной реакции, ожидая момент завершения цикла формирования ощущения на тестовый стимул, что естественно требует дополнительного времени. Именно этим обстоятельством можно объяснить удлинение латентного периода при ДифРПВ относительно ПЗМР.

Такой механизм условно можно назвать «пермиссивным», так как предусматривается некое стандартное состояние (формирование осознанного ощущения), по достижении которого «разрешается» дальнейшее выполнение цепочки реакций, необходимых для реализации сенсомоторного ответа. Следовательно, роль ДТС-стимулов сводится лишь к побуждению генерации фазы ожидания, в течение которой должно сформироваться ощущение, и внесение ее в алгоритм работы функциональной системы. С этой точки зрения подобную функцию могут выполнять любые дифференцировочные тормозные стимулы, интенсивность которых не выходит за рамки физиологических значений. Такое предположение о роли и механизме действия дифференцировочных тормозных стимулов в парадигме дифференцировочной реакции «Go / No-go»-типа согласуется с результатами наших исследований и хорошо объясняет установленный факт независимости времени реакции на тестовый стимул от числа и модальности дифференцировочных тормозных стимулов.

Сделанный вывод в части формулировки тезиса о слабой зависимости дифференцировочной зрительно-моторной реакции от числа и модальности тормозных дифференцировочных стимулов во многом является неожиданным. Однако *a priori* мы исходили из предположения о высокой вероятности существования тех или иных различий в характере реализации дифференцировочной зрительно-моторной реакции в случае нарастания числа ДТС-стимулов, в том числе и стимулов другой («Sound» и «Tactile») модальности. Такие различия выявлены на уровне особенностей распределения данных во множествах, представляющих модальные интервалы. Оказалось, что средние арифметические величины латентного периода во множествах, располагающихся в модальных интервалах при использовании одномодальных дифференцировочных тормозных стимулов («Red» и «Red/Green»), на 24 – 30 % меньше, чем для случая с расширением числа ДТС-стимулов за счет стимулов другой модальности («Sound» и «Tactile»). Данный факт свидетельствует, что при использовании стимулов иной модальности изменяется характер распределения частоты встречаемости вариант, в частности за счет смещения границ модального интервала в сторону удлиненных значений латентного периода, различий в относительной плотности частот распределения и более плоской вершины кривой (см. рисунок и значение показателя «Экссесс» в табл. 1). При этом, возрастает число однородных (с точки зрения скорости) реакций, располагающихся вблизи значения средних арифметических величин в модальных интервалах, при сохранении пула очень быстрых и замедленных сенсомоторных ответов.

Таким образом, различия, проявляющиеся на уровне модальных интервалов и плотности частот распределения, не отражаясь на величинах средних арифметических в целостных вариационных рядах, меняют их структуру.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

1. Латентный период сложной зрительно-моторной реакции простого выбора «Go / No-go»-типа («Blue» – тестовый стимул) слабо зависит от числа и модальности равновероятно предъявляемых дифференцировочных тормозных стимулов

- (ДТС), не требующих со стороны испытуемого моторного ответа. При удвоении числа одномодальных тормозных дифференцировочных световых стимулов от одного («Red») до двух («Red/Green») время реакции, по результатам вычисления средних арифметических величин для каждого целостного вариационного ряда, не изменялось (соответственно, $298 \pm 4,3$ и $300 \pm 3,5$ мс) и оставалось в тех же пределах при расширении списка ДТС за счет стимулов иной модальности («Sound» и «Tactile»): «Red/Green/Sound» (308 ± 3 мс) и «Red/Green/Sound/Tactile» ($304 \pm 2,6$ мс).
2. Вариабельность латентных периодов зрительно-моторной реакции, по данным величины дисперсии, при удвоении числа одномодальных дифференцировочных тормозных стимулов существенно возростала (в 1,5 раза): с 5090 при «Red»-стимуляции до 7581 при «Red/Green» алгоритме. При увеличении числа тормозных дифференцировочных стимулов за счет стимулов другой модальности («Sound» и «Tactile») дисперсии выборок более не увеличивались и оставались неизменными.
 3. Эффект нарастания числа и модальности дифференцировочных тормозных стимулов, отсутствующий на уровне значений средних арифметических в целостных вариационных рядах, проявляется при анализе параметров модальных интервалов. Средние арифметические величины времени реакции в вариационных рядах, принадлежащих соответствующим модальным классам, для «Red» и «Red/Green» алгоритмов составили $280 \pm 1,2$ и $281 \pm 1,2$ мс, а для «Red/Green/Sound» и «Red/Green/Sound/Tactile» соответственно $324 \pm 1,0$ и $319 \pm 0,8$ мс, т. е. на $43 \pm 1,6$ мс и $38 \pm 1,4$ мс больше.

Список литературы

1. Даренская Н. Г. Экстраполяция экспериментальных данных на человека: принципы, подходы, обоснование методов и их использование в физиологии и радиобиологии. Руководство / Н. Г. Даренская, И. Б. Ушаков, И. В. Иванов и др. – Воронеж : Истоки, 2004. – 230 с.
2. Коробейникова И. И. Параметры сенсомоторных реакций, психофизиологические характеристики, успеваемость и показатели ЭЭГ человека / И. И. Коробейникова // Психолог. журн. – 2000. – Т. 21, № 3. – С. 132–136.
3. Лизогуб В. С. Возрастная динамика функциональной реорганизации сенсомоторных функций у лиц с депривацией слуха / В. С. Лизогуб, Л. И. Юхименко, Ю. Ф. Зганяйко и др. // Ученые записки Крымского федерального университета имени В. И. Вернадского. Биология, химия. – 2016. – Том 2 (68), № 1. – С. 79–88.
4. Соболев В. И. Особенности психомоторных реакций у детей младшего школьного возраста специальных медицинских групп / В. И. Соболев, М. Н. Попов // Гуманитарные науки. – 2017. – № 2 (38). – С. 42–49.
5. Нехорошкова А. Н. Трансформация структуры зрительно-моторной деятельности при высокой тревожности у детей / А. Н. Нехорошкова, А. В. Грибанов, И. С. Кожевникова и др. // Экология человека. – 2012. – № 5. – С. 20–24.
6. Судаков К. В. Теория функциональных систем. Постулаты и принципы построения организма человека в норме и при патологии / К. В. Судаков // Патолог. физиология и эксперимент. терапия. – 2007. – № 4. – С. 2–11.
7. Kochan N.A. Is intraindividual reaction time variability an independent cognitive predictor of mortality in old age? Findings from the Sydney Memory and Ageing Study / Kochan N. A., Bunce D., Pont S., Crawford J. D, Brodaty H., Sachdev P. S. // PLoS One. 2017 Aug 9. – Vol. 9, No. 8. – e0181719.

8. Woods David L. Factors influencing the latency of simple reaction time / David L. Woods, John M. Wyma, E. William Yund [et al.] // *Front. Hum. Neurosci.* – 2015. – 26 March.
9. Иваницкий А. М. Мозговая основа субъективных переживаний: гипотеза информационного синтеза / А. М. Иваницкий // *Журнал высшей нервной деятельности.* – 1996. – Т. 46, № 2. – С. 241–252.
10. Шиффман Х. Р. Ощущение и восприятие. / Шиффман Х. Р. – 5-е изд. СПб.: Питер, 2003. – 928 с.
11. Heathcote A. Linear deterministic accumulator models of simple choice / A. Heathcote, Jonathon Love // *Front. Psychol.* – 2012. – 23 August.
12. Miller O. F. Motor processes in simple, Go/No-Go, and choice reaction time tasks: A psychophysiological analysis / O. F. Miller, Kathy Low // *Journal of Experimental Psychology: Human Perception and Performance.* – 2001. – Vol. 27, No. 2. – P. 266–289.
13. Бернштейн Н.А. Физиология движений и активность / Н.А. Бернштейн. – М.: Наука (Серия "Классики науки"), 1990. – 497 с.
14. Ильин Е. П. Психомоторная организация человека / Е. П. Ильин. – СПб., 2003. 384 с.
15. Иваницкий А. М. Информационные процессы мозга и психическая деятельность / А. М. Иваницкий, В. Б. Стрелец, И. А. Корсаков. – М.: Наука, 1984. – 190 с.
16. Edelman G. M. Universe of Consciousness / G. M. Edelman, G. A. Tononi. – N. Y.: Basic Books, 2000. – 274 p.
17. Сергин В. Я. Авто-отождествление паттернов нейронной активности как физиологический механизм осознания / В. Я. Сергин // *Журнал высшей нервной деятельности.* – 2016. – Т. 66, № 3. – С. 259–278.
18. Айдаркин Е. К. Исследование особенностей взаимодействия зрительной и слуховой систем / Е. К. Айдаркин // *Валеология.* – 2006. – № 3. – С. 82–93.
19. Sokolov E. N. Conditioned reflex: detector and command neuron / E. N. Sokolov, N. I. Nezhlina // *I. P. Pavlov Journal of Higher Nervous Activity.* – 2007. – Vol. 57, No. 1. – P. 5–22.
20. Strelets V.V. EEG mapping in emotional and cognitive pathology // *Conceptual Advances in Russian Neurosciences: Complex Brain Functions.* R. Miller, A.M. Ivanitsky, P.M. Balaban (Eds.). Harwood Academic Publishers. Reading, UK. 1999. – P. 151–167.
21. Нехорошкова А. Н. Сенсомоторные реакции в психофизиологических исследованиях (Обзор) / А. Н. Нехорошкова, А. В. Грибанов, И. С. Депутат // *Вестник Северного (Арктического) федерального университета. Серия: Медико-биологические науки.* – 2015. – № 1. – С. 38–48.
22. Никандров В. В. Психомоторика / В. В. Никандров. – СПб., 2004. – 104 с.
23. Шутова С. В. Сенсомоторные реакции как характеристика функционального состояния ЦНС / С. В. Шутова, И. В. Муравьева // *Вестник ТГУ.* – 2013. – Т. 18, Вып. 5. – С. 2831–2840.
24. Savion-Lemieux T. Developmental Contributions to Motor Sequence Learning / T. Savion-Lemieux, J. A. Bailey, V. V. Penhune // *Exp. Brain Res.* – 2009. – Vol. 195(2). – P. 293–306.
25. Соболев В. И. Характеристика простых психомоторных реакций при чередующейся разномодальной сенсорной стимуляции (электромиографическое исследование) / В. И. Соболев // *Ученые записки Крымского федерального университета имени В. И. Вернадского Биология. Химия.* – 2019. – Том 5 (71), № 1. – С. 126–138.
26. Благинин А. А. Особенности оценки функционального состояния у операторов с учетом индивидуальных психологических характеристик / А. А. Благинин, С. Н. Синельников, С. В. Смольянинова // *Физиология человека.* – 2017. – Том. 43, № 1. – С. 11–17.
27. Романенко В. А. Психофизиологический базис успешности обучения студенток / В. А. Романенко, Д. А. Кочура // *Вестник Донецкого национального университета. Сер. А: Естественные науки.* – 2016. – № 4. – С. 116–122.
28. Fehrer E. Reaction time to stimuli masked by metacontrast / E. Fehrer, D. Raab // *Journal of Experimental Psychology.* – 1962. – Vol. 63, № 2. – P. 143–147.
29. Анохин П. К. Философские аспекты теории функциональной системы / П. К. Анохин // *Отв. ред. Ф. В. Константинов, Б. Ф. Ломов, В. Б. Швырков.* – М.: Наука, 1978. – 399 с.

THE INDEPENDENCE OF THE LATENT PERIOD OF A COMPLEX VISUAL-MOTOR REACTION ("GO / NO-GO"-MODEL) FROM THE NUMBER AND MODALITY OF DIFFERENTIATING INHIBITORY STIMULUS

Sobolev V. I.¹, Popov M. N.¹, Trush V. V.²

¹*V.I. Vernadsky Crimean Federal University, Simferopol, Crimea, Russia*

²*Donetsk National University, Donetsk*

E-mail: v.sobolev@mail.ru

In the present study, as a working hypothesis, it was suggested that the latent period of a complex visual-motor response of the "Go / No-go"- model does not depend on the number and modality of the differentiating inhibitory stimuli. In studies with participation of girls, it was found that the latent period of a complex visual-motor response of a simple choice of "Go / No-go" type weakly depends on the number and modality of equally probable differentiating inhibitory stimuli that do not require a motor response from the subject.

When doubling the number of inhibitory stimuli from one ("Red") to two ("Red / Green"), the reaction time did not change (respectively, 298 ± 4.3 and 300 ± 3.5 ms) and remained within the same limits during expansion list of stimuli due to stimuli of a different modality ("Sound" and "Tactile"): "Red / Green / Sound" (308 ± 3 ms) and "Red / Green / Sound / Tactile" (304 ± 2.6 ms).

The variability of the latent periods of the visual-motor reaction, according to the variance, with a doubling of the number of single- modal differentiating inhibitory stimuli significantly increased (1.5 times): from 5090 with the "Red" stimulation to 7581 with the "Red / Green" algorithm. With an increase in the number of differentiation stimuli due to stimuli of a different modality ("Sound" and "Tactile"), the variances of the samples no longer increased and remained unchanged.

It is established that the effect of increasing the number of inhibitory stimuli is detected when analyzing the parameters of modal intervals. It is shown that when using inhibitory stimuli of a different modality, the character of the distribution of the frequency of occurrence of the variants in the variation rows changes. This effect is manifested in the displacement of the border of the modal interval towards higher values of the latent period. It is shown that differences appear in the relative frequency density of the distribution, which is manifested in the flat top of the curve.

Keywords: mechanisms of sensorimotor reaction, differentiation reaction of simple choice ("Go / No-go"-model), time of visual-motor reaction, dependence of latent period on the number of inhibitory stimuli.

References

1. Darenskaya N. G., Ushakov I. B., Ivanov I. V. Ekstrapolyatsiya ehksperimental'nykh dannykh na cheloveka: printsipy, podkhody, obosnovanie metodov i ikh ispol'zovanie v fiziologii i radiobiologii. Rukovodstvo, 230 s. (Voronezh, Istoki, 2004).
2. Korobejnikova I. I. Parametry sensomotornykh reaktsij, psikhofiziologicheskie kharakteristiki, uspevaemost' i pokazateli EEG cheloveka, *Psikholog. zhurn.*, **21** (3), 132 (2000).

3. Lizogub V. S., Yukhimenko L. I., Zganyajko YU. F. i dr. Vozrastnaya dinamika funktsional'noj reorganizatsii sensomotornykh funktsij u lits s deprivatsiej slukh, *Uchenye zapiski Krymskogo federal'nogo universiteta imeni V. I. Vernadskogo. Biologiya, khimiya*, **2 (68)**, 79 (2016).
4. Sobolev V. I., Popov M. N. Osobennosti psihomotornykh reakcij u detej mladshogo shkol'nogo vozrasta special'nykh medicinskih grupp, *Gumanitarnye nauki*, **2 (38)**, 482 (2017).
5. Nekhoroshkova A. N., Griбанov A. V., Kozhevnikova I. S. Transformatsiya struktury zritel'no-motornoj deyatel'nosti pri vysokoj trevozhnosti u detej, *Ekologiya cheloveka*, **5**, 20 (2012).
6. Sudakov K. V. Teoriya funktsional'nykh sistem. Postulaty i principy postroeniya organizma cheloveka v norme i pri patologii, *Patologicheskaya Fiziologiya i Eksperimental'naya Terapiya*, **4**, 2 (2007).
7. Kochan N. A., Bunce D., Pont S., Crawford J. D., Brodaty H., Sachdev P. S. Is intraindividual reaction time variability an independent cognitive predictor of mortality in old age? Findings from the Sydney Memory and Ageing Study, *PLoS One*, **9 (8)**, e0181719 (2017).
8. Woods David L., Wyma John M., Yund E. William, Herron Timothy J., Reed B. Factors influencing the latency of simple reaction time, *Front. Hum. Neurosci.*, 26 March (2015).
9. Ivanickij A. M. Mozgovaya osnova sub"ektivnykh perezhivaniy: gipoteza informacionnogo sinteza, *Zhurnal vysshej nervnoj deyatel'nosti*, **46 (2)**, 241 (1966).
10. Shiffman KH. R. *Oshhushhenie i vospriyatie*, 928 s. (SPb.: Piter, 2003).
11. Heathcote A., Love Jonathon. Linear deterministic accumulator models of simple choice, *Front. Psychol.*, 23 August (2012).
12. Miller O. F., Kathy Low Motor processes in simple, Go/No-Go, and choice reaction time tasks: A psychophysiological analysis, *Journal of Experimental Psychology: Human Perception and Performance*, **27 (2)**, 266 (2001).
13. Bernshtejn N. A. *Fiziologiya dvizhenij i aktivnost'* (Moscow: Nauka, 1978).
14. Il'in E. P. *Psihomotornaya organizatsiya cheloveka*, 384 s. (SPb., 2003).
15. Ivanitskij A. M., Strelets V. B., Korsakov I. A. *Informatsionnye protsessy mozga i psikhicheskaia deiatel'nost*, 190 s. (M., Nauka, 1984).
16. Edelman G.M., Tononi G.A. *Universe of Consciousness* (N. Y.: Basic Books, 2000).
17. Sergin V.YA. Avto-otozhdestvlenie patternov neyronnoj aktivnosti kak fiziologicheskij mekhanizm osoznaniya, *Zhurnal vysshej nervnoj deyatel'nosti*, **3**, 259 (2016).
18. Ajdarkin E. K. Issledovanie osobennostej vzaimodejstviya zritel'noj i sluhovoj sistem, *Valeologiya*, **3**, 82 (2006).
19. Sokolov E. N., Nezlina N. I. Conditioned reflex: detector and command neuron, *I.P. Pavlov Journal of Higher Nervous Activity*, **57 (1)**, 5 (2007).
20. Strelets V. B. EEG mapping in emotional and cognitive pathology, *Conceptual Advances in Russian Neurosciences: Complex Brain Functions*, 151 s. (Harwood Academic Publishers. Reading, UK. 1999).
21. Nekhoroshkova A. N., Griбанov A. V., Deputat I. S. Sensomotornye reakcii v psihofiziologicheskikh issledovaniyah (Obzor), *Vestnik Severnogo (Arkticheskogo) federal'nogo universiteta. Seriya: Mediko-biologicheskie nauki*, **1**, 38 (2015).
22. Nikandrov V. V. *Psihomotorika*, 104 s (SPb., 2004).
23. Shutova S. V., Murav'eva I. V. Sensomotornye reakcii kak harakteristika funktsional'nogo sostoyaniya CNS, *Vestnik TGU*, **13 (5)**, 2831 (2013).
24. Savion-Lemieux T., Bailey J. A., Penhune V. B. Developmental Contributions to Motor Sequence Learning, *Exp. Brain Res.*, **195 (2)**, 293 (2009).
25. Sobolev V. I. Kharakteristika prostykh psihomotornykh reaktsij pri chereduyushhejsya raznomodal'noj sensornoj stimulyatsii (ehlektromiograficheskoe issledovanie), *Uchenye zapiski Krymskogo federal'nogo universiteta imeni V. I. Vernadskogo. Biologiya, Himiya*, **5 (71)**, 126 (2019).
26. Blaginin A. A., Sinelnikov S. N., Smolianinova S. V. Osobennosti otsenki funktsional'nogo sostoianiia u operatlorov s uchedom individualnykh psihologicheskikh kharakteristik, *Fiziologiya cheloveka*, **43 (1)**, 11 (2017).
27. Romanenko V. A., Kochura D. A. Psihofiziologicheskij bazis uspehnosti obucheniya studentok, *Vestnik Doneckogo nacional'nogo universiteta. Ser. A: Estestvennye*, **4**, 116 (2016).
28. Fehrer E., Raab D. Reaction time to stimuli masked by metacontrast, *Journal of Experimental Psychology*, **63 (2)**, 143 (1962).
29. Anohin P. K. *Filosofskie aspekty teorii funktsional'noj sistemy*, 399 s. (Moscow: Nauka, 1978).

УДК 57.044; 631.46

ВЛИЯНИЕ ЗАГРЯЗНЕНИЯ ВИСМУТОМ НА ФИТОТОКСИЧНОСТЬ ПОЧВ ЮГА РОССИИ

Судьбина Л. В., Цепина Н. И., Минникова Т. В., Колесников С. И.

*Академия биологии и биотехнологии им Д.И. Ивановского Южного федерального
университета, Ростов-на-Дону, Россия
E-mail: malusik_07@inbox.ru*

В процессе изучения влияния висмута на три типа почв, характерных для южных регионов России, наблюдали снижение фитотоксических показателей. Отмечено угнетение всхожести и роста корневой системы растений редиса при внесении в почвы изучаемых доз элемента. Однако, всхожесть семян редиса на черноземе обыкновенном тяжелосуглинистом при загрязнении дозами 1 и 10 УДК при коротком (10 суток) и продолжительном сроке (90 суток) не отличалась от контроля. 10 УДК и 100 УДК были более токсичными для чернозема легкосуглинистого, чем для чернозема обыкновенного и бурой лесной почвы. По степени устойчивости к загрязнению висмутом образуется следующий ряд: чернозем обыкновенный > бурая лесная > чернозем легкосуглинистый. Вероятно, это обусловлено тем, что чернозем обыкновенный имеет нейтральную реакцию среды (рН), содержит больше гумуса, а бурая лесная почва – имеет кислую среду. Чернозем легкосуглинистый оказался наиболее чувствительным объектом к загрязнению висмутом, поскольку обладает меньшим запасом органического вещества и более легким гранулометрическим составом.

Ключевые слова: висмут, загрязнение, чернозем обыкновенный, чернозем супесчаный, бурая лесная почва, всхожесть, длина корней.

ВВЕДЕНИЕ

Висмут (Ві), на протяжении полувека является одним из наиболее технофильных элементов, уступая только углероду (С), азоту (N) и хлору (Cl) [1]. Несмотря на то, что его содержание в земной коре составляет всего 0,008 мг/кг [2], исследуемый химический элемент широко используется в различных сферах производства: медицине, энергетике, промышленности и сельском хозяйстве [3-6]. Повышенное содержание этого элемента регистрируют во всех компонентах окружающей среды и практически на всех континентах [7-13]. При накоплении висмута в почве происходит его депонирование в органах различных растений [14-22]. Основными источниками загрязнения окружающей среды, в том числе почвенного покрова, висмутом являются металлургическая промышленность [8, 23-28], цементные заводы [29], автотранспорт [30], угольные тепловые электрические станции (ТЭС) [31-33]. Кроме того, сланцевая зола, в состав которой входит данный элемент, используется в качестве удобрения почвы [34]. Однако, влияние висмута на биологические свойства почв и экологическое состояние мало изучено. Таким образом, представляется актуальным выявление закономерностей, механизмов и возможных последствий влияния висмута на состояние почв, установление пределов их устойчивости к загрязнению, нормирование содержания висмута.

Целью настоящей работы явилось изучение влияния загрязнения висмутом на фитотоксические свойства почв юга России.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Объектом изучения были выбраны почвы, типичные для юга России: чернозем обыкновенный, бурая лесная почва и чернозем легкосуглинистый. Для модельных исследований образцы почв отобраны из верхнего пахотного слоя (0-20 см), поскольку в нем задерживается большая часть загрязняющих веществ, в том числе и тяжелых металлов [35]. Характеристика мест отбора проб почв представлена в таблице 1.

Таблица 1

Характеристика мест отбора проб почв

Название типа почвы (гранулометрический состав)	Место отбора	Географические координаты	Тип угодья	Содержание гумуса %	pH (водный)
Чернозем обыкновенный тяжелосуглинистый	г. Ростов-на-Дону, Ботанический сад ЮФУ,	47°14'17.54" с.ш., 39°38'33.22" в.д.	пашня	3,7	7,8
Чернозем легкосуглинистый (супесчаный)	Ростовская область, Усть-Донецкий р-н.	47° 46.015' с.ш. 40° 51.700' в.д.	разнотравно-злаковая степь	2,3	6,8
Бурая лесная тяжелосуглинистая почва	Республика Адыгея, п. Никель,	44° 10.649' с.ш. 40° 9.469' в.д.	грабово-буковый лес	1,8	5,8

Известно, что ПДК большинства тяжелых металлов составляют около трех их фоновых концентраций [36]. Поскольку предельно допустимая концентрация (ПДК) для данного элемента в почве не разработана, его содержание выражали в виде условно допустимой концентрации (УДК), равной трем фоновым значениям. При среднем фоновом содержании элемента в почве равном 1,12 мг/кг [9]. Следовательно, УДК приняли равной 3,36 мг/кг. Было исследовано действие разных концентраций загрязнителя — 1, 10 и 100 УДК, что соответствует 3,36 мг/кг, 33,6 мг/кг и 336 мг/кг. Моделирование такими высокими дозами обусловлено реальными случаями содержания соединений висмута в почве до 436 мг/кг в окрестностях шахтных свалок при добыче каменного угля [21].

Загрязнение висмутом моделировали в лабораторных условиях. Исследуемый элемент вносили в виде раствора нитрата висмута (III) 5-водного в концентрациях 3,36 мг/кг, 33,6 мг/кг и 336 мг/кг. Опыт поставлен в 3х кратной биологической повторяемости. В течение всего эксперимента влажность почв поддерживали, увлажняя их водопроводной отстоянной кипяченой водой.

Образцы почвы (1 кг) инкубировали в пластиковых сосудах в трехкратной биологической повторности при комнатной температуре (20 – 22°C) и оптимальном увлажнении (60% от полевой влагоемкости).

В работе оценивали фитотоксические свойства почв, поскольку они первыми реагируют на внешнее химическое воздействие [36].

Определение фитотоксических свойств чернозема обыкновенного проводили через 10, 30 и 90 суток после загрязнения.

Оценку фитотоксических свойств бурой лесной почвы и чернозема легкосуглинистого проводили после 10 суток.

Лабораторно-аналитические исследования были выполнены с использованием общепринятых в биологии, почвоведении и экологии методов [36]. О фитотоксичности почв судили по всхожести семян, длине корней и побегов редиса ($n = 225$: 3 биологических повторности \times 3 аналитических повторности в чашках Петри \times 25 семян).

В качестве биологической модели использовали семена редиса (*Raphanus sativus* L.) сорт «16 дней». Выбор растений редиса, как фитотеста, обусловлен наименьшим запасом питательных веществ в семени и быстрым откликом на температуру и влажность в почве, что определяет его прорастание.

Достоверность полученных результатов оценивали с помощью дисперсионного анализа и последующим определением наименьшей существенной разности (НСР).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

При исследовании загрязнения висмутом 1 УДК 10 суток, на черноземе обыкновенном и черноземе легкосуглинистом достоверных отличий всхожести от контроля не выявлено (рис. 1). При внесении 100 УДК висмута – в черноземе супесчаном всхожесть семян редиса снижалась на 23%.

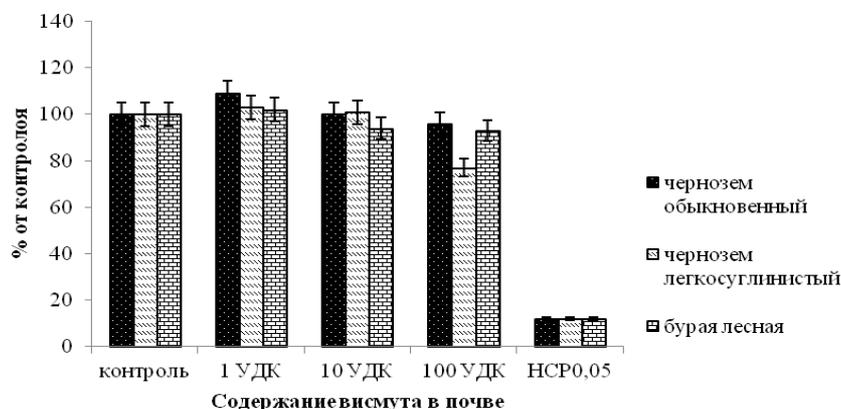


Рис. 1. Влияние загрязнения висмутом (1, 10 и 100 УДК) почв юга России на всхожесть семян редиса через 10 суток, % от контроля

Примечание: УДК – условно допустимая концентрация

Сходные результаты получены при изучении воздействия висмута на длину корней редиса – происходит угнетение корневой системы растения. Показатель снижается на 40% при внесении 100 УДК для чернозема легкосуглинистого (рис. 2).

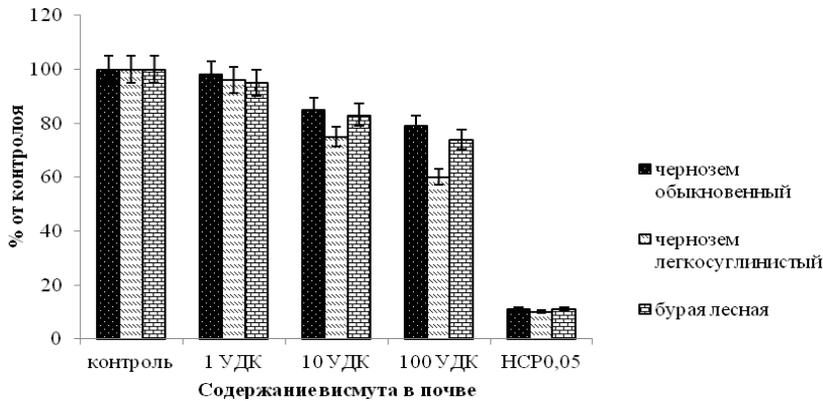


Рис. 2. Влияние загрязнения висмутом (1, 10 и 100 УДК) почв юга России на длину корней редиса через 10 суток, % от контроля
Примечание: УДК – условно допустимая концентрация

Поскольку чернозем обыкновенный показал высокую степень устойчивости через 10 суток эксперимента, было изучено влияние висмута в течение 90 суток. В результате исследования было установлено, что загрязнение висмутом чернозема обыкновенного тяжелосуглинистого приводит к снижению длины корней и всхожести семян редиса (рис. 3, 4).

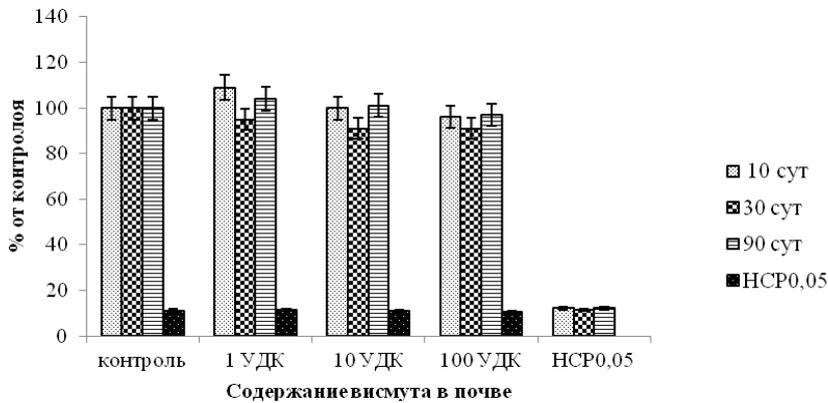


Рис. 3. Влияние загрязнения висмутом (1, 10 и 100 УДК) чернозема обыкновенного тяжелосуглинистого на всхожесть семян редиса через 10, 30 и 90 суток, % от контроля
Примечание: УДК – условно допустимая концентрация

Как видно из рисунка 3, при загрязнении малыми дозами висмута, 3,36 (1 УДК) и 33,6 мг/кг (10 УДК) на сроках 10 и 90 суток достоверных отличий от контроля не обнаружено. Краткосрочное воздействие (10 суток) элемента в дозе 3,36 мг/кг (1 УДК) также приводило к практически контрольным значениям длины корней редиса. Доза 1 УДК на 90 сутки от начала исследования приводила к восстановлению показателя фитотоксичности до контрольных значений (рис. 4). Ранее зафиксировано стимулирующее действие наночастиц висмута на прорастание злаковых культур [37].

Необходимо отдельно отметить временной отрезок – 30 суток от начала загрязнения висмутом различными фоновыми концентрациями чернозема обыкновенного. В этот период наиболее наглядно демонстрируется отрицательное влияние металла на редис и свойства почвы. Так, доза загрязнения 10 УДК угнетала рост корневой системы редиса на 23,2%; 100 УДК вносимого элемента, снижала рост корней на 31,6%. Наблюдалось достоверное снижение всех показателей п фитотоксичности. Аналогичные результаты действия тяжелыми металлами после 30 суток загрязнения почв получены ранее С.И. Колесниковым (2001) [38].

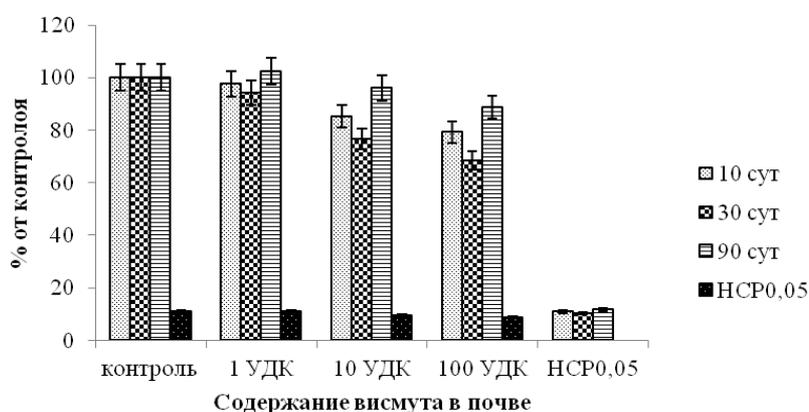


Рис. 4. Влияние загрязнения висмутом (1, 10 и 100 УДК) чернозема обыкновенного тяжелосуглинистого на длину корней редиса через 10, 30 и 90 суток, % от контроля

Примечание: УДК – условно допустимая концентрация

При внесении дозы 10 УДК длина корней редиса снижалась для черноземов обыкновенных на – 15%, для чернозема супесчаного – на 25%, для бурой лесной – на 17%.

Доза 100 УДК висмута угнетала корневую систему редиса на черноземе обыкновенном – на 21%, а бурой лесной – на 26%, на черноземе легкосуглинистом – на 40%. Всхожесть семян понижалась для бурой лесной почвы на 7%, на черноземе супесчаном – на 23%.

Устойчивость почв к загрязнению оценивали по отклонению показателей от контрольных при наибольшей концентрации висмута: чернозем обыкновенный (88) > бурая лесная почва (84) > чернозем супесчаный (69).

Устойчивость чернозема обыкновенного по сравнению с черноземом легкосуглинистым и бурой лесной почвой, согласно табл. 1, обусловлена высоким содержанием органического вещества: на 60% и 20,5%, по сравнению с черноземом супесчаным и бурой лесной, различием в гранулометрическом составе и реакции почвенной среды.

В большинстве случаев, при воздействии висмута зафиксировано снижение исследуемых показателей. Причинами негативного воздействия висмута на фитотоксические свойства почв, как и у многих тяжелых металлов, явились ингибирование ферментов, снижение проницаемости биологических мембран и, как результат, нарушение обмена веществ [39].

На чернозем обыкновенный тяжелосуглинистый наибольшее токсическое воздействие висмут оказал в дозе 100 УДК через 30 суток после загрязнения. Влияние на 30 сутки дозы висмута 100 УДК, вызывало снижение всхожести семян редиса. При повышении дозы до 10 и 100 УДК на всех сроках прослеживается угнетающее действие висмута на корневую систему растений.

В экотоксикологии известны случаи стимулирующего действия различных химических веществ, поступающих в живые организмы или в почву в малых количествах [35, 38]. Они получили название «эффекта малых доз». Ранее, в исследованиях, проведенных по аналогичной методике, наблюдалось стимулирующее действие токсикантов относительно контроля (незагрязненной почвы) при загрязнении чернозема обыкновенного 1 и даже 10 ПДК Hg, Cd, Pb, Cr, Cu, Zn, As и другими поллютантами, считающимися более опасными [40-42]. Данный факт свидетельствует о потенциальной токсичности висмута и актуальности изучения последствий загрязнения ним почв и экосистем. По данным авторов, при изучении воздействия (Hg, Cd, Pb, Cr, Cu, Zn, As и др) наблюдали выраженные тенденции к восстановлению биологических свойств почв на 90-е сутки после загрязнения [40-42]. В настоящем исследовании на 90-е сутки загрязнения чернозем обыкновенный приобретал первоначальные свойства. Это свидетельствует о токсичности висмута и высокой его опасности для изучаемых объектов.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В процессе изучения влияния висмута на три типа почв, характерных для южных регионов России, наблюдали снижение фитотоксических показателей. Отмечено угнетение всхожести и роста корневой системы растений редиса при внесении в почвы изучаемых доз элемента. Однако, всхожесть семян редиса на черноземе обыкновенном тяжелосуглинистом при загрязнении дозами 1 и 10 УДК при коротком (10 суток) и продолжительном сроке (90 суток) не отличалась от контроля. 10 УДК и 100 УДК были более токсичными для чернозема легкосуглинистого, чем для чернозема обыкновенного и бурой лесной почвы. По степени устойчивости к загрязнению висмутом образуется следующий ряд:

чернозем обыкновенный > бурая лесная > чернозем легкосуглинистый.

Вероятно, это обусловлено тем, что чернозем обыкновенный имеет нейтральную реакцию среды (рН), содержит больше гумуса, а бурая лесная почва имеет кислую среду. Чернозем легкосуглинистый оказался наиболее чувствительным объектом к загрязнению висмутом, поскольку обладает меньшим запасом органического вещества и более легким гранулометрическим составом.

Исследование выполнено при поддержке государственной ведущей научной школы Российской Федерации (НШ-3464.2018.11) и Министерства образования и науки Российской Федерации (5.5735.2017/8.9).

Список литературы

1. Касимов Н.С. Технофильность химических элементов в начале XXI века / Н.С. Касимов, Д.В. Власов // Вестн. Моск. ун-та Сер. 5. География. – 2012. – № 1. – С. 15-22.
2. Водяницкий Ю.Н. Тяжелые и сверхтяжелые металлы и металлоиды в загрязненных почвах / Ю.Н. Водяницкий – М.: ГНУ Почвенный институт им. В.В. Докучаева Россельхозакадемии. – 2009. – 184 с.
3. Водяницкий Ю.Н. Загрязнение почв тяжелыми металлами и металлоидами / Ю.Н. Водяницкий – М.: Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова. – 2017. – 192 с.
4. Das Arabinda K. Analytical techniques for the determination of bismuth in solid environmental samples / K. Das Arabinda, Ruma Chakraborty, M. Luisa Cervera, Miguel de la Guardia // Trend in Analytical Chemistry. – 2006. – Vol.25, No. 6. – P. 599-608.
5. Dobrowolski R. Determination of bismuth in environmental samples by slurry sampling graphite furnace atomic absorption spectrometry using combined chemical modifiers / R. Dobrowolski, J. Dobrzyńska, B. Gawrońska // Environ Monit Assess. – 2015. – 187 (1):4125.
6. Alloway B.J. Sources of heavy metals and metalloids in Soils / B.J. Alloway // Heavy Metals in Soils: Trace Metals and Metalloids in Soils and their Bioavailability. – New York: Springer. – 2010. – P. 11–50.
7. Умнов В.А. Управление отходами в горной промышленности / В.А. Умнов // Горный информационно-аналитический бюллетень. – 1995. – №5. – С. 99-106.
8. Галямова Г.К. Химические элементы в почвах г. Усть-Каменогорска / Г.К. Галямова // Юг России: экология, развитие. География и геоэкология. – 2013. – №2. – С. 120-126.
9. Алексеев В. А. Химические элементы в геохимических системах. Кларки почв селитренных ландшафтов: монография / В.А. Алексеев, А. В. Алексеев. – Ростов н/Д: Издательство Южного федерального университета. – 2013. – 380 с.
10. Cabrera F. Heavy metal pollution of soils affected by the Guadamar toxic flood / F. Cabrera, L. Clemente, E. Diaz Barrientos, R. López, J.M. Murillo // Sci Total Environ. – 1999. – 242: 117–129.
11. Soriano A., Deposition of heavy metals from particulate settleable matter in soils of an industrialised area / A. Soriano, S. Pallarés, F. Pardo, A.B. Vicente, T. Sanfeliu, J. Bech // Journal of Geochemical Exploration. – 2012. – 113: 36-44.
12. Li Z.Y. A review of soil heavy metal pollution from mines in China: pollution and health risk assessment / Z.Y. Li, Z.W. Ma, T.J. Van der Kuijp, Z.W. Yuan, L. Huang // Science of the Total Environment. – 2014. – 468:843-853.
13. Xiong Q.L. Dustfall heavy metal pollution during winter in North China / Q.L. Xiong, W.J. Zhao, X.Y. Guo, T.T. Shu, F.T. Chen, X.X. Zheng, Z.N. Gong // Bull. Environ. Contam. Toxicol. – 2015, Oct. – 95(4):548-554.
14. Шевченко В.П. Особенности накопления тяжелых металлов кустистыми эпифитными лишайниками в Республиках Алтай и Хакасия / В.П. Шевченко, Д.П. Стародымова, А.А. Афанасьева, А.Ю. Бычков, Я.В. Бычкова, В.В.Конева, А.С. Саввичев // Фундаментальные исследования. Биологические науки. – 2014. – № 12. – С. 2373-2377.

15. Горбань Д.Н. Содержание висмута в полыни Гмелина в природно-техногенном ландшафте Шерловогорского рудного района / Д.Н. Горбань // Экология. Здоровье. Спорт: Матер. VI междунар. науч.-практ. конф. – Чита. – 20-21 мая 2015. – С. 16-21.
16. Юргенсон Г.А. Биогеохимия растений и проблема рекультивации хвостохранилищ / Г.А. Юргенсон, Д.Н. Горбань // Эволюция и современное состояние ландшафтов и биоты Внутренней Азии. – 2016. – С. 284-291.
17. Юргенсон Г.А. Особенности распределения висмута в почвах, технозомах и растениях Шерловогорского рудного района / Г.А. Юргенсон, Д.Н. Горбань // Международный журнал прикладных и фундаментальных исследований. – 2017. – № 7. – С.111-116.
18. Юргенсон Г.А. Свинец и висмут в полыни Гмелинахвостохранилища Шерловогорского ГОКа (Юго-Восточное Забайкалье) / Г.А. Юргенсон, Д.Н. Горбань // Вестник Заб ГУ. – 2015. – № 10 (125). – С. 20-32.
19. Черняхов В.Б. Основные параметры распределения меди в растительном покрове Яман-Касинского медно-колчеданного месторождения [Электронный ресурс] / В.Б. Черняхов, Е.Г. Щеглова // Известия Оренбургского государственного аграрного университета. – 2016. – № 3 (59). – С. 167-171.
20. Черняхов В.Б. Распределение тяжелых металлов в растительном покрове Яман-Касинского месторождения / В.Б. Черняхов, О.Н. Калинина, М.И. Алексеев // Университетский комплекс, как региональный центр образования, науки и культуры. – Оренбург: ОГУ. – 2012. – С. 844 -851.
21. Jung M.C. Arsenic, Sb and Bi contamination of soil, plants, waters and sediments in the vicinity of the dalsung Cu-W mine in Korea / M.C. Jung, I. Thronton, H.-T. Chon // The Science of the total environment. – 2002. – No. 1-3. – P. 81-89.
22. Wei C. Arsenic, antimony, and bismuth uptake and accumulation by plants in an old antimony mine, China / C. Wei, Q. Deng, F. Wu, Z. Fu, L. Xu // Biol. Trace. Elem. Res. – 2011, Dec. – 144(1-3):1150-8.
23. Алексеев В.А. К вопросу о содержании химических элементов в почвах селитебных ландшафтов / В.А. Алексеев, Н.П. Лаверов, А.В. Алексеев // Школа экологической геологии и рационального природопользования. – СПб. – 2011. – С. 39-45.
24. Алексеев В.А. Кларки химических элементов почв селитебных ландшафтов. Методика проведения исследований / В.А. Алексеев, Н.П. Лаверов, А.В. Алексеев // Проблемы биогеохимии и геохимической экологии. – 2012. - № 3. – С. 120-125.
25. Алексеев В.А., Химические элементы в городских почвах / В.А. Алексеев, А.В. Алексеев. – М.: Логос. – 2014. – 312 с.
26. Селиванова Н. В. Утилизация отходов гальванического производства / Н. В. Селиванова, Т. А. Трифонова, Л. А. Ширкин // Известия Самарского научного центра РАН. – Самара. – 2011. – Т. 13, № 1. – С. 2085-2088.
27. Ларионова Н.А. Воздействие предприятий алюминиевой промышленности на загрязнение окружающей среды // Экологическая геология: теория, практика и региональные проблемы: Матер. VМеждунар. научн.-практ. конф. Воронеж (13-15 сентября 2017 г.). – Воронеж: Научная книга. – 2017. – С. 78-80.
28. UnaiCortada M. Impact in soil caused by metal (loid)s in lead metallurgy. The case of Cruz Smelter (Southern Spain) / M. UnaiCortada, C. Hidalgo, J. Martinez, J. Rey //Journal of Geochemical Exploration. – July, 2018. – Vol. 190. – P. 302-313.
29. Кудин М.В. Микроэлементный состав волос и ногтей у детей, проживающих в условиях воздействия цементной пыли / М.В. Кудин // Вопросы детской диетологии. – 2010. – Т. 8. – № 6. – С. 47-50.
30. Кошелева Н.Е. Природные и техногенные факторы аккумуляции висмута и кадмия в почвах Восточного округа Москвы / Н.Е. Кошелева, Д.В. Власов // Экологические проблемы промышленных городов: Сб. научн. трудов по матер. 6-й Всеросс. научн. -практ. конф. с междунар. участием. – Саратов. – 2013. – Ч. 1. – С. 212-216.
31. Крылов Д.А. Негативное влияние элементов-примесей от угольных ТЭС на окружающую среду / Д.А. Крылов // Горный информационно-аналитический бюллетень. – 2017. – № 12. – С. 77-87.
32. Богачева Т.М. Экологическая безопасность угольных ТЭС / Т.М. Богачева, В.А. Юшинов // Экология и промышленность России. – 2015. – Т. 19. – № 7. – С. 40-43.

33. Сидорова Г.П. Экологическое воздействие угольных ТЭС на окружающую среду / Г.П. Сидорова, Д.А. Крылов, А.А. Якимов // Вестник ЗабГУ. – 2015. – № 9 (124). – С. 28-38.
34. Нагорный С.В. Повышенное содержание в среде обитания и дисбаланс в организме людей ряда макро- и микроэлементов как причина алопеции и системного поражения организма детей / С.В. Нагорный, В.П. Тидген, Е.А. Цибульская, В.Г. Коньков // Микроэлементы в медицине. – 2000. – 1:35-50.
35. Kabata-Pendias A. Trace Elements in Soils and Plants / A. Kabata-Pendias. – 4th Edition. Boca Raton, FL: CrcPress. – 2010. – 548 p.
36. Kolesnikov S.I. Ranking of Chemical Elements According to Their Ecological Hazard for Soil / S.I. Kolesnikov, K. Sh. Kazeev, V.F. Val'kov, S.V. Ponomareva // Russian Agricultural Sciences. – 2010. – Vol. 36. – No. 1. – P. 32-34.
37. Скрыбин В.А. Нанопрепараты серебра и висмута из здравоохранения в растениеводство / В.А. Скрыбин // Сб. матер. 13-й Всеросс. научн.-практ. конф. (06 -10 июня 2016 г., г. Анапа). – Анапа: КФ ФГБНУ «ВНИИЗ». – 2016. – С. 34-39.
38. Murata T. Effects of bismuth contamination on the growth and activity of soil microorganisms using thiols as model compounds / T. Murata // J Environ Sci Health A Tox Hazard Subst Environ Eng. – 2006. – 41(2):161-72.
39. Zvyagintsev D.G. Microbiological and biochemical indicators of contamination of lead sod-podzolic soil / D.G. Zvyagintsev, A.V. Kurakov A.V., M.M. Umarov, Z. Filip // Eurasian Soil Science. – 1997. – № 9. – P. 1003-1009.
40. Колесников С.И. Агроэкологические аспекты загрязнения почв тяжелыми металлами. Дисс. на соиск. уч. ст. д.с.-х.н. / С.И. Колесников. – Ростов н/Д. – 2001. – 329 с.
41. Колесников С.И. Влияние загрязнения тяжелыми металлами на биологическую активность черноземов обыкновенных Северного Приазовья и Западного Предкавказья. Автореф. дис. к.г.н. / С.И. Колесников. – Ростов н/Д. – 1998. – 24 с.
42. Колесников С.И. Экологическое состояние и функции почв в условиях химического загрязнения / С.И. Колесников, К.Ш. Казеев, В.Ф. Вальков. – Ростов н/Д: Изд-во Ростиздат. – 2006. – 385 с.

THE EFFECT OF BISMUTH POLLUTION ON THE PHYTOTOXICITY OF THE SOILS IN SOUTHERN RUSSIA

Sudina L.V., Tsepina N.I., Minnikova T.V., Kolesnikov S.I.

*Academy of biology and biotechnology, Department of Ecology Southern Federal University,
Rostov-on-Don, Russian Federation
E-mail: malusik_07@inbox.ru*

Bismuth (Bi), for half a century is one of the most technophilic elements. Its high content is recorded in all components of the environment and on almost all continents. When bismuth accumulates in the soil, it is deposited in the organs of various plants. The main sources of bismuth pollution of the environment and soil cover are the metallurgical industry, cement plants, motor transport, coal thermal power plants (TPP). However, the influence of bismuth on the biological properties of soils and ecological status is poorly understood. It seems relevant to identify patterns, mechanisms and possible consequences of the influence of bismuth on the state of the soil, the establishment of limits of soil resistance to pollution, regulation of bismuth content. The aim of the work was to study the influence of bismuth pollution on phytotoxic properties of soils in the South of Russia.

The object of study selected soils typical of the South of Russia: ordinary Chernozem, brown forest soil and light loamy Chernozem. For model studies, soil samples were taken from the upper arable layer (0-20 cm), since it retains most of the pollutants, including heavy metals. Bismuth contamination was simulated in the laboratory. The study element made in the form of a solution of nitrate of bismuth (III) 5-water at concentrations of 3.36 mg/kg, or 33.6 mg/kg and 336 mg/kg. the experiment was in 3 multiple biological replicates. Phytotoxic properties of soils were evaluated in the work, as they are the first to react to external chemical effects. Laboratory and analytical studies were carried out using generally accepted methods in biology, soil science and ecology. The seeds of radish (*Raphanus sativus* L.) variety "16 days" were used as a biological model. In the process of studying the influence of bismuth on three types of soils typical for the southern regions of Russia, a decrease in phytotoxic parameters was observed. The inhibition of germination and growth of the root system of radish plants when introducing the studied doses of the element into the soil was noted. However, the germination of radish seeds on Chernozem ordinary heavy loam when contaminated with doses of 1 and 10 UDC for a short (10 days) and long term (90 days) did not differ from the control. 10 UDC and 100 UDC were more toxic for light loamy Chernozem than for ordinary Chernozem and brown forest soil. The degree of resistance to pollution bismuth is formed in the following range: ordinary black-soil > brown forest > black soil is light loam. This is probably due to the fact that ordinary Chernozem has a neutral reaction medium (pH), contains more humus, and brown forest soil – has an acidic environment. The black soil is light loam was the most sensitive object to pollution bismuth, because it has a smaller margin of organic matter and easier grading.

Keywords: bismuth, pollution, ordinary Chernozem, sandy loam Chernozem, brown forest soil, germination, root length.

References

1. Kasimov N.S., Vlasov D.V. Technophilicity of chemical elements at the beginning of the XXI century. Vestnik Moskovskogo universiteta. Seriya 5. Geografiia. 1: 15-22. (2012).
2. Vodyanitsky Yu.N. Heavy and superheavy metals and metalloids in contaminated soils. GNU Soil Institute named after V.V. Dokuchaev. Russian Agricultural Academy. 184 p. (2009).
3. Vodyanitsky Yu.N. Soil pollution by heavy metals and metalloids. Moscow State University of Lomonosov. 192 p. (2017).
4. Das Arabinda K., Ruma Chakraborty, M. Luisa Cervera, Miguel de la Guardia Analytical techniques for the determination of bismuth in solid environmental samples. Trend in Analytical Chemistry. Vol.25, No. 6. 599-608. (2006).
5. Dobrowolski R, Dobrzyńska J, Gawrońska B. Determination of bismuth in environmental samples by slurry sampling graphite furnace atomic absorption spectrometry using combined chemical modifiers. Environ Monit Assess. Jan; 187 (1): 4125. Published online 2014 Nov 12. (2015).
6. Alloway B.J.: Sources of heavy metals and metalloids in Soils. In: Alloway B.J. (ed.): Heavy Metals in Soils: Trace Metals and Metalloids in Soils and their Bioavailability. New York, Springer. 11-50. (2010).
7. Umnov V.A. Waste Management in the Mining Industry. Mining Information and Analytical Bulletin. 5: 99-106. (1995).
8. Galyamova G.K. Chemical elements in the soils of Ust-Kamenogorsk. South of Russia: ecology, development. Geography and geoecology. 2: 120-126. (2013).
9. Alekseenko, V. A. Chemical elements in geochemical systems. Clarks of soil of residential landscapes: monograph. Rostov-na-Donu: Publishing house of the Southern Federal University. 380 p. (2013).
10. Cabrera F, Clemente L, Diaz Barrientos E et al Heavy metal pollution of soils affected by the Guadiamar toxic flood. Sci Total Environ. 242: 117-129. (1999).

11. Soriano A, S. Pallarés, F. Pardo, A.B. Vicente, T. Sanfeliu, J. Bech b Deposition of heavy metals from particulate settleable matter in soils of an industrialized area *Journal of Geochemical Exploration*. 113: 36-44. (2012).
12. Li ZY, Ma ZW, Van der Kuijp TJ, Yuan ZW, Huang L. A review of soil heavy metal pollution from mines in China: pollution and health risk assessment. *Science of the Total Environment*. 468: 843-853. (2014).
13. Xiong QL, Zhao WJ, Guo XY, Shu TT, Chen FT, Zheng XX, Gong ZN. Dustfall heavy metal pollution during winter in North China / *Bull Environ Contam Toxicol*, Oct; 95 (4): 548-554. (2015).
14. Shevchenko V.P., Starodymova D.P., Afanasyeva A.A., Bychkov A.Yu., Bychkova Y.V., Koneva V.V., Savvichev A.S. Features of the accumulation of heavy metals by bushy epiphytic lichens in the Republics of Altai and Khakassia. *Basic research. Biological sciences*. 12: 2373-2377. (2014).
15. Gorban D.N. The content of bismuth in the wormwood Gmelin in the natural and technogenic landscape of the Sherlovogorsk ore district. *Ecology. Health. Sports: Mater. VI international scientific-practical conf. Chita, May 20-21, From 16-21*. (2015).
16. Jurgenson G.A., Gorban D.N. Plant biogeochemistry and the problem of tailing dump remediation. *Evolution and current status of landscapes and biota of Inner Asia*. 284-291. (2016)
17. Jurgenson G.A., Gorban D.N. Features of the distribution of bismuth in soils, industrial soils and plants of the Sherlovogorsk ore district. *International Journal of Applied and Fundamental Research*. 7: 111-116. (2017).
18. Jurgenson G.A., Gorban D.N. Lead and bismuth in the wormwood of the Gmelin tailing dump of the Sherlovogorsk GOK (Southeast Transbaikalia). *Bulletin of the State University*. 10 (125): 20-32. (2015).
19. Chernyakhov V. B., Scheglova E. G. The main parameters of the distribution of copper in the vegetation cover of the Yaman-Kasinsky copper-pyrite deposit. *Bulletin of the Orenburg State Agrarian University*. 3 (59): 167-171. (2016).
20. Chernyakhov VB, Kalinina ON, Alekseev MI, Distribution of heavy metals in the vegetation cover of the Yaman-Kasinsky deposit. *University complex as a regional center of education, science and culture. Orenburg: OSU*. 844-851. (2012).
21. Jung M.C., Thronton I, Chon H.-T. Arsenic, Sb and Bi contamination of soil, plants, waters and sediments in the vicinity of the dalsung Cu-W mine in Korea. *The Science of the total environment*. 1 (3): 81-89. (2002).
22. Wei C, Deng Q, Wu F, Fu Z, Xu L. Arsenic, antimony, and bismuth uptake and accumulation by plants in an old antimony mine, China. *Biol Trace Elem Res*. 2011 Dec; 144 (1-3): 1150-8. doi: 10.1007 / s12011-011-9017-x. Epub Mar 10. (2011).
23. Alekseenko V.A., Laverov N.P., Alekseenko A.V. To the question of the content of chemical elements in the soils of residential landscapes. *School of Environmental Geology and Environmental Management. Sankt-Petersburg*. 39-45. (2011).
24. Alekseenko V.A., Laverov N.P., Alekseenko A.V. Clarks of soil chemical elements in residential landscapes. *Research methodology. Problems of biogeochemistry and geochemical ecology*. 3: 120-125. (2012).
25. Alekseenko V.A., Alekseenko A.V. *Chemical elements in urban soils*. 312 p. (2014).
26. Selivanova, N.V. Utilization of waste from galvanic production. *Bulletin of the Samara Scientific Center of the Russian Academy of Sciences. Samara*. T. 13, No. 1. 2085-2088. (2011).
27. Larionova N.A. The impact of aluminum industry enterprises on environmental pollution. *Ecological geology: theory, practice and regional problems: Mater. VInternational. scientific-practical conf. Voronezh (September 13-15, 2017). Voronezh. Publishing house "Scientific book"*. 78-80. (2017).
28. Unai Cortada M., Carmen Hidalgo, Julian Martinez, Javier Rey Impact in soil caused by metal (loid) s in lead metallurgy. The case of Cruz Smelter (Southern Spain) *Journal of Geochemical Exploration Vol. 190, July, P. 302-313*. (2018).
29. Kudin M.V. The micronutrient composition of hair and nails in children living under the influence of cement dust. *Questions of children's dietetics*. V. 8, No. 6. 47-50. (2010).
30. Kosheleva N.E., Vlasov D.V. Natural and technogenic factors of bismuth and cadmium accumulation in the soils of the Eastern District of Moscow. *Ecological problems of industrial cities: Sat. scientific works on mater. 6th All-Russian. scientific-practical conf. from the international participation. Ed. Prof. Tikhomirova E.I. Saratov*. 1: 212-216. (2013).

31. Krylov D.A. The negative impact of impurity elements from coal-fired thermal power plants on the environment. *Mountain Information and Analytical Bulletin*. 12: 77-87. (2017).
32. Bogacheva T.M., Yushinov V.A. Ecological safety of coal TPPs. *Ecology and Industry of Russia*. V. 19. No. 7. 40-43. (2015).
33. Sidorova G.P., Krylov D.A., Yakimov A.A. The environmental impact of coal TPPs on the environment. *Vestnik ZabGU*. 9 (124). 28-38. (2015).
34. Nagorny S.V., Tidgen V.P., Tsibulskaya E.A., Konkov V.G. The increased content in the environment and the imbalance in the human body of a number of macro- and microelements as the cause of alopecia and systemic damage to the body of children. *Trace elements in medicine*. 1: 35-50. (2000).
35. Kabata-Pendias A., *Trace Elements in Soils and Plants*. 4th Edition. Boca Raton, FL: CrcPress. 548 p. (2010).
36. Kolesnikov S.I., Kazeev K.Sh., Val'kov V.F., and Ponomareva S.V. Ranking of Chemical Elements According to Their Ecological Hazard for Soil. *Russian Agricultural Sciences*. Vol. 36. No. 1. 32-34. (2010).
37. Skryabin, V. A., nano-preparations of silver and bismuth of health in crop production. *Proc. mater. 13 th all-Russia. scientific.scient. Conf. (06 -10 June 2016, Anapa)*. KF GNU "VNIIZ". Anapa. 34-39. (2016).
38. Murata T. Effects of bismuth contamination on the growth and activity of soil microorganisms using thiols as model compounds. *J Environ Sci Health A Tox Hazard Subst Environ Eng*. 41(2):161-72. (2006).
39. Zvyagintsev D. G., Kurakov A. V., Səfərov M. M., Filip Z. Microbiological and biochemical indicators of lead contamination of sod-podzolic soil. *Eurasian Soil Science*. No. 9. 1003-1009. (1997).
40. Kolesnikov S. I. Agroecological aspects of soil pollution by heavy metals. Dissertation for the degree of doctor of agricultural Sciences. Rostov-on-Don. 329 p. (2001).
41. Kolesnikov S. I. Influence of heavy metal pollution on the biological activity of ordinary chernozems of the Northern Azov and Western Caucasus. Abstract. dis. Candidate geographer. sciences'. Rostov-on-Don. 24 p. (1998)
42. Kolesnikov S. I., Kazeev K. sh., valkov V. F. Ecological state and functions of soils in conditions of chemical pollution. Rostov-on-Don: publishing house of forestsat. 385 p. (2006).

УДК 612.014.42

ДИНАМИКА ПОКАЗАТЕЛЕЙ ОКИСЛИТЕЛЬНОГО МЕТАБОЛИЗМА ПРИ ВОЗДЕЙСТВИИ НИЗКОИНТЕНСИВНОГО ЭЛЕКТРОМАГНИТНОГО ИЗЛУЧЕНИЯ МИЛЛИМЕТРОВОГО ДИАПАЗОНА

Трибрат Н. С.¹, Джелдубаева Э. Р.¹, Чуян Е. Н.¹, Трибрат А. Г.²

¹*Таврическая академия (структурное подразделение) ФГАОУ ВО «Крымский федеральный университет имени В. И. Вернадского», Симферополь, Республика Крым, Россия*

²*Медицинская академия имени С. И. Георгиевского (структурное подразделение) ФГАОУ ВО «Крымский федеральный университет имени В. И. Вернадского», Симферополь, Республика Крым, Россия
E-mail: tribratnatalia@rambler.ru*

Исследовано изменения кофакторов окислительного метаболизма и редокс отношения в динамике трехнедельного наблюдения, а также модулирующему воздействию низкоинтенсивного миллиметрового излучения (длина волны – 7,1 мм, плотность потока мощности – 0,1 мВт/см²) в эти же сроки. Исследование показателей окислительного метаболизма осуществлялось методом флуоресцентной спектроскопии. Оценивали такие показатели как восстановленная форма НАДН, окисленная форма ФАД, а также редокс-отношение, свидетельствующее о сопряженности процессов окисления и восстановления.

Было показано, что в течение 20-тидневного наблюдения отмечались ритмические изменения со стороны восстановленной формы НАДН и окисленной формы ФАД. Низкоинтенсивное электромагнитное излучение миллиметрового диапазона поддерживает и усиливает эту ритмическую активность с смещением пиков в 2 дня.

Ключевые слова: редокс отношение, восстановленная форма НАДН, окисленная форма ФАД, низкоинтенсивное миллиметровое излучение.

ВВЕДЕНИЕ

Одним из актуальных направлений современной электромагнитной биологии является исследование физико-химических механизмов действия электромагнитного излучения (ЭМИ) на биологические системы различного уровня организации [1]. В наших предыдущих исследованиях показано, что низкоинтенсивное ЭМИ миллиметрового (ММ) диапазона (длина волны 7,1 мм и плотность потока мощности 0,1 мВт/см²) при изолированном, превентивном и комбинированном со стресс-факторами разной природы действию модулирует активность всех звеньев нейроиммуноэндокринной системы организма, а в механизмах физиологического действия этого физического фактора важную роль играют нормализация прооксидантного/антиоксидантного равновесия, модификация временной организации физиологических процессов и др. [2–4]. Кроме того, показано, что в основе многих механизмов реакции живой системы на электромагнитное воздействие лежит влияние данного фактора на окислительный метаболизм. Так, известно, что параметры окислительного метаболизма, особенно антиоксидантной

системы, рассматриваются как биохимические детерминанты радиорезистентности [5]. Однако исследования данных показателей в динамике электромагнитного воздействия единичны и в основном посвящены их эффекту в ряде тканей и органов. При этом методологический подход к оценке окислительных процессов, нельзя назвать оптимальным, поскольку в большинстве работ состояние окислительного метаболизма характеризуется по ограниченному числу показателей.

Вместе с тем, изучение редокс-сигналирования и редокс-регуляции клеточных процессов становится все более весомым и распространенным для определения роли участников внутриклеточных и внеклеточных механизмов регуляции метаболизма, прежде всего в процессах свободно-радикального окисления. Это имеет и важное практическое значение в виду возможности, в том числе нефармакологической, оказывать влияние на изменение энергоснабжения тканей.

Эффекты влияния низкоинтенсивного ЭМИ ММ диапазона на динамику коферментов окислительного метаболизма не исследованы, что и является целью настоящей работы.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Работа выполнена на базе Центра коллективного пользования научным оборудованием «Экспериментальная физиология и биофизика» ФГАУО ВО «Крымский федеральный университет имени В. И. Вернадского».

Исследование было выполнено на 20 беспородных белых крысах самцах в возрасте 6–8 месяцев. Животные были разделены на две равноценные группы по 10 особей в каждой: I группа животных составила биологический контроль, II группа – животные, подвергавшиеся воздействию низкоинтенсивного ЭМИ ММ.

Воздействие низкоинтенсивным ЭМИ ММ (плотность потока мощности – $0,1 \text{ мВт/см}^2$, длина волны – $7,1 \text{ мм}$) осуществляли в течение 20-ти суток ежедневно, в утреннее время суток с экспозицией 30 минут на шейно-воротниковую область крысы [2].

Интенсивность окислительного метаболизма целесообразно использовать с помощью неинвазивного метода флуоресцентной спектроскопии, основанной на регистрации флуоресцентного отклика тканевыми флуорофорами, участвующих в начальных реакциях окислительного фосфорилирования [Крупаткин, Сидоров, 2014].

Регистрацию параметров тканевой флуоресценции проводили диагностическим комплексом «ЛАЗМА МЦ» (Модификация ЛАЗМА-МЦ-III, ООО НПП «ЛАЗМА», Москва, Россия). В доплеровском канале применялся лазерный модуль с длиной волны излучения 1064 нм , для возбуждения флуоресценции использовались источники на длинах волн излучения 365 и 450 нм . Доставка зондирующего излучения и прием обратно отраженного от ткани вторичного излучения осуществлялись одним оптическим волоконным зондом с диаметром 3 мм .

В канале флуоресцентной спектроскопии диаметры всех зондирующих и принимающих волокон составляли 400 мкм . Расстояние между источником и приемником равнялось 1 мм . Числовая апертура волокон – $0,22$. При проведении исследований с учетом данных, полученных в работе [6], отдельное внимание

уделялось минимизации механического давления, оказываемого зондом на кожу. Фиксацию волновода осуществляли у основания хвоста животных, предварительно фиксируя его пластырем.

Для оценки внутриклеточных энергетических обменных и процессов методом флуоресцентной спектроскопии оценивали следующие показатели:

- индекс тканевого содержания для восстановленного *NADH*;

- индекс тканевого содержания для окисленной формы *FAD*.

Индексы тканевого метаболизма исчислялись по следующей формуле:

$$I^{\lambda_1/\lambda_2} = \beta * I^{\lambda_1} / I^{\lambda_1}_1 + \beta * I^{\lambda_2}_f,$$

где I^{λ_1/λ_2} – определяемый индекс тканевого содержания вещества, λ_1 и λ_2 – используемые длины волн (нм) для возбуждения и регистрации флуоресценции соответственно, β – коэффициент ослабления порогового фильтра в приборе.

- редокс-отношение (РО) или индекс флуоресценции, определяемого по формуле:

$$PO = (I_f NADH / I_f FAD) * (I FAD / I NADH).$$

Последний имеет прямо пропорциональную связь с активностью окислительного метаболизма [7].

Регистрацию показателей окислительного метаболизма проводили в обеих группах животных, определяя фоновые значения показателей, а также на 2, 4, 6, 8, 10, 12, 14, 16, 18 и 20 сутки исследования.

Достоверность межгрупповых различий оценивали по критерию Манна-Уитни. Внутригрупповые различия оценивали по критерию Фридмана.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Как показали результаты настоящего исследования, при исследовании фоновых значений показателей окислительного метаболизма, межгрупповых различий не отмечалось.

В период трехнедельного наблюдения динамика значений показателя НАДН (восстановленная форма) характеризовалась отчетливой фазностью. Так, в первые 6 суток наблюдения, значения НАДН поддерживались на исходном уровне, затем было отмечено резкое падение к 8 суткам наблюдения (снижение на 27,30 %, $p \leq 0,05$ в сравнении с фоном) с дальнейшим подъемом к 14–18 суткам (возрастание в среднем на 18,01 %, $p \leq 0,05$ с исходными данными этого показателя), с последующим восстановлением к исходным значениям к 20 суткам наблюдения (рис. 1).

В группе животных, подвергавшихся воздействию низкоинтенсивного ЭМИ ММ диапазона, отмечалась подобная динамика значений показателя восстановленной формы НАДН, однако с запаздыванием в среднем на 2 суток. Межгрупповые различия были обнаружены на 8-е (рост уровня НАДН на 43,18 %, $p \leq 0,05$ при действии ЭМИ ММ), 1-е (рост уровня НАДН на 24,49 %, $p \leq 0,05$ при действии ЭМИ ММ) и 14-е сутки (депрессия уровня НАДН на 28,33 %, $p \leq 0,05$ в сравнении с контролем) наблюдения. Межгрупповые различия, по-видимому, обусловлены смещением пиков ритмических изменений данного показателя. Смещение ритмов регистрируемой активности показателя НАДН нивелировалась к

концу наблюдения – на 18–20 сутки. Следует отметить, что при воздействии ЭМИ ММ изменения показателя НАДН, были более выраженными, в сравнении с данными этого показателя, зарегистрированными в контрольной группе животных, хотя направленность изменений полностью совпадала с контрольной группой. Роль низкоинтенсивного ЭМИ ММ, вероятно, сводится, к возрастанию глубины модуляции естественной ритмической активности восстановленной формы НАДН, что проявляется в увеличении фазных пиков его возрастания и снижения.

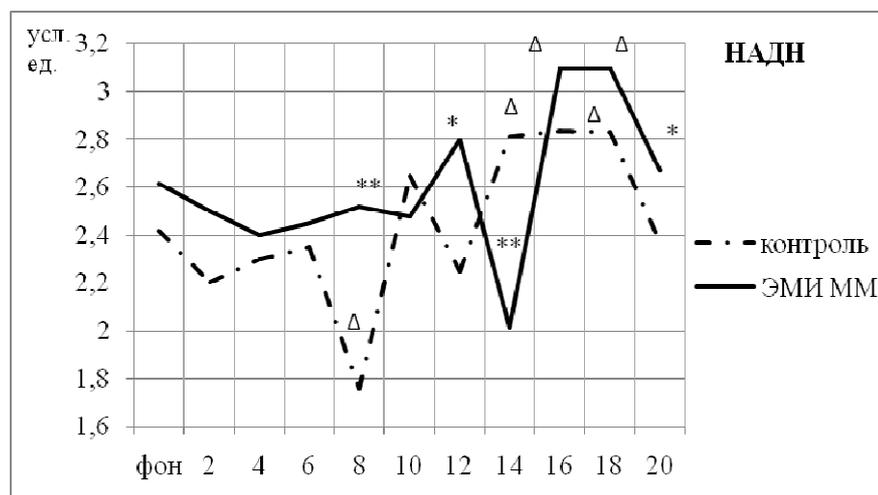


Рис. 1. Динамика значений показателя восстановленной формы НАДН, зарегистрированная в контрольной группе животных и в группе, подвергавшихся воздействию ЭМИ ММ.

Примечание: достоверность различий * – $p \leq 0,05$, ** – $p \leq 0,01$ по критерию Манна-Уитни, достоверность различий Δ – $p \leq 0,05$, по критерию Фридмана.

Динамика показателя окисленной формы ФАД в контрольной группе животных также была подвержена циклическим изменениям: поддержание уровня фоновых значений отмечалось в первые 4 суток наблюдения, на 6 сутки – тенденция к росту окисленной формы кофермента с дальнейшим падением на 10 сутки (14,67 %, $p \leq 0,05$) и максимальным возрастанием к 16–18 суткам наблюдения (в среднем на 17,01 %, $p \leq 0,05$) с последующим восстановлением к исходным значениям данного показателя к 20 суткам наблюдения (рис. 2).

В группе животных, подвергавшихся воздействию низкоинтенсивного ЭМИ ММ, отмечалась схожая динамика значений показателя ФАД с аналогичным смещением пиков изменений (запаздыванием) также на 2-е суток в сравнении с контролем. Изменения значений показателя ФАД характеризовались не только смещением пиковых фаз, но и большей выраженностью, что проявлялось в значительном возрастании пиков естественных изменений. Таким образом, низкоинтенсивное ЭМИ ММ диапазона также усиливает ритмическую активность окисленной формы ФАД.

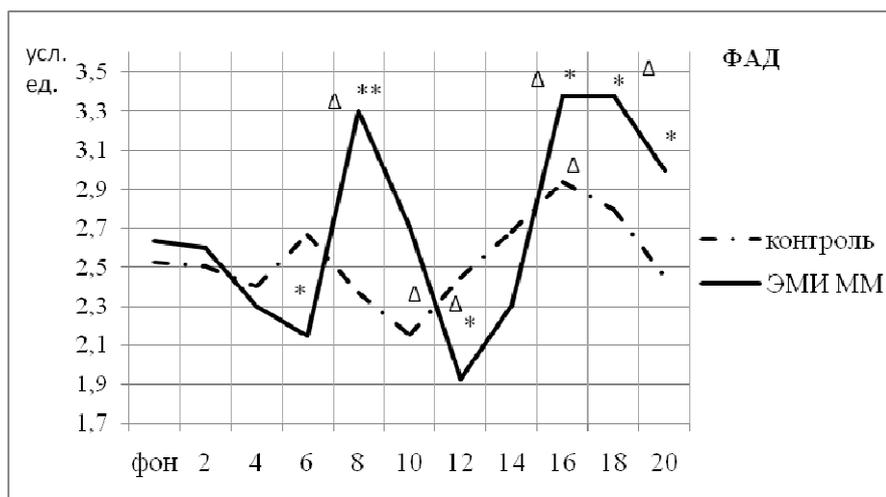


Рис. 2. Динамика значений показателя окисленной формы ФАД, зарегистрированная в контрольной группе животных и в группе, подвергавшихся воздействию ЭМИ ММ.

Примечание: достоверность различий * – $p \leq 0,05$, ** – $p \leq 0,01$ по критерию Манна-Уитни, достоверность различий Δ – $p \leq 0,05$, по критерию Фридмана.

Межгрупповые различия были зарегистрированы на 6-е (снижение уровня ФАД на 19,56 %, $p \leq 0,05$ под воздействием ЭМИ ММ), 8-е (возрастание уровня ФАД почти на 40 %, $p \leq 0,05$ при действии ММ-излучения), 12-е (снижение на 21,27 %, $p \leq 0,05$ при действии низкоинтенсивного фактора), 16-е и 18-е (возрастание в среднем на 21,56 %, $p \leq 0,05$ при воздействии физического фактора) сутки наблюдения. Межгрупповые различия, по всей видимости, также обусловлены смещением пиков ритмических изменений окисленной формы кофермента ФАД (рис. 2).

Циклические изменения уровня восстановленной формы НАДН и окисленной формы ФАД, принимающих участие в первой и во второй реакциях окислительного фосфорилирования, ведут к циклическим изменениям РО и, как следствие, интенсивности и эффективности окислительного метаболизма.

В контрольной группе животных также отмечалась ритмичность изменений показателя РО. Так, первые 4–6 суток значения РО поддерживались на уровне фоновых значений, начиная с 6 суток отмечалось падение значений РО, достигая своего минимального значения на 8-е сутки наблюдения (снижение на 26,54 %, $p \leq 0,05$ в сравнении с исходными значениями этого показателя) с дальнейшим, возможно, компенсаторным подъемом РО на 10–12 сутки исследования и последующим возвращением к исходным значениям к 14–20 суткам наблюдения (рис. 3).

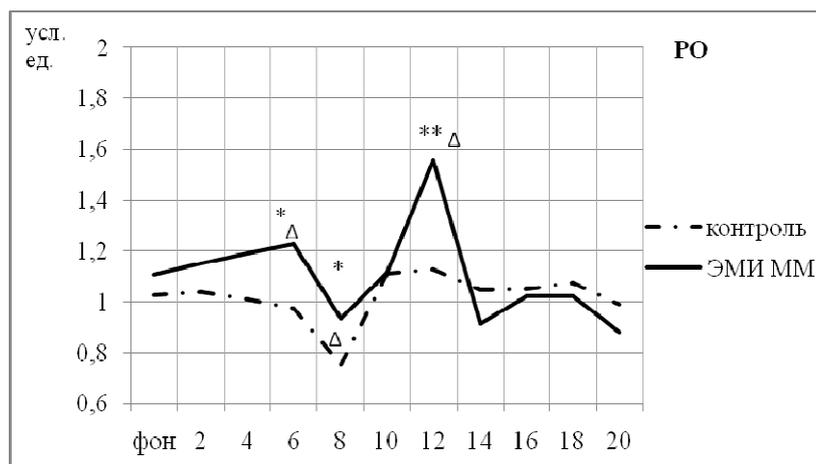


Рис. 3. Динамика изменения редокс отношения (РО) в контрольной группе и в группе животных, подвергавшихся воздействию ЭМИ ММ.

Примечание: достоверность различий * – $p \leq 0,05$, ** – $p \leq 0,01$ по критерию Манна-Уитни, достоверность различий Δ – $p \leq 0,05$, по критерию Фридмана.

Стоит отметить, что в группе животных, подвергавшихся влиянию ЭМИ ММ, отмечалась та же фазность изменения РО, что и в контрольной группе. Однако, низкоинтенсивное ЭМИ ММ оказывало модифицирующее влияние на РО. Так, на 6, 8 и 12 сутки воздействия низкоинтенсивным фактором, отмечалось возрастание значений РО в сравнении со значениями этого показателя, зарегистрированными в контрольной группе животных на 25,69 %, $p \leq 0,05$, 23,54 %, $p \leq 0,05$ и 37,81 %, $p \leq 0,01$ соответственно (рис. 3). Очевидно, что модифицирующее действие низкоинтенсивным фактором проявилось в начальной фазе падения РО (начиная с 6 суток) и продлилось до дальнейшего восстановления этого показателя к исходным значениям (к 12-е суток наблюдения). В дальнейшем, начиная с 14 суток наблюдения, динамика показателя РО в группе ЭМИ ММ была близкой к значениям этого показателя, зарегистрированным в контрольной группе животных, без статистически значимых различий.

Таким образом, изменения РО как интегрального показателя окислительного метаболизма, характеризующего сопряжение между донорами и акцепторами электронов в электрон-транспортной цепи является следствием периодической (ритмической) активности коферментов как в восстановленной, так и в окисленной формах или процессов, которые являются «поставщиками» этих коферментов.

Известно, что НАДН локализуется преимущественно в митохондриях, где он в дальнейшем подвергается окислению, являясь одним из триггеров цикла реакций окислительного фосфорилирования с дальнейшим образованием АТФ. Изменения уровня НАДН, по-видимому, связано с периодическими изменениями цикла Кребса, гликолиза или бета-окисления жирных кислот, поскольку эти биохимические циклы являются естественным донором восстановленной формы НАДН. Таким образом, можно предположить, что низкоинтенсивный физический фактор не только

поддерживает, но и усиливает ритмические изменения биохимических циклов, поставляющих НАДН, что в дальнейшем находит отражение в циклических изменениях окислительного метаболизма

Согласно литературным данным, концентрации субстратов в гликолизе в парах глюкоза/глюкозо-6-фосфат, фруктозо-6-фосфат/фруктозо-1,6-дифосфат и пируват/фосфоенолпируват проявляют ритмическую, а именно, циркадианную активность, изменяясь при этом синфазно [8]. Известны также циклические изменения цикла трикарбоновых кислот в рамках циркадианной активности. Вероятно, это одна из возможных причин циклического изменения НАДН. Воздействие глобальных факторов физической природы (например, гелиогеомагнитная активность) на активность окислительного метаболизма требуют дальнейшего изучения.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

1. В 20-дневной динамике наблюдения за показателями окислительного метаболизма отмечаются циклические изменения восстановленной формы кофермента НАДН и окисленной формы кофермента ФАД, а также их соотношения – редокс отношения.
2. Низкоинтенсивное электромагнитное излучение миллиметрового диапазона усиливает модуляцию естественной ритмической активности коферментов окислительного метаболизма.
3. Воздействие низкоинтенсивного миллиметрового излучения приводит к смещению пиков ритмической активности коферментов окислительного метаболизма в среднем на двое суток.

Работа выполнена на оборудовании Центра коллективного пользования научным оборудованием «Экспериментальная физиология и биофизика» ФГАОУВО «Крымского федерального университета имени В. И. Вернадского».

Список литературы

1. Азанова А. В. Воздействие электромагнитных и магнитных полей на жизнеспособность биологических объектов: автореф. дис. ... канд. биол. наук / А. В. Азанова – Красноярск: КГАУ, 2013. – 19 с.
2. Чуян Е. Н. Механизмы антиноцицептивного действия низкоинтенсивного миллиметрового излучения / Е. Н. Чуян, Э. Р. Джелдубаева. – Симферополь: «ДИАЙПИ», 2006. – 458 с.
3. Чуян Е. Н. Тканевая микрогемодинамика: влияние низкоинтенсивного электромагнитного излучения миллиметрового диапазона / Е. Н. Чуян, Н. С. Трибрат, М. Ю. Раваева. – Симферополь: ИТ «Ариал», 2017. – 325 с.
4. Физиологические механизмы биологических эффектов низкоинтенсивного ЭМИ КВЧ [Текст] / Е. Н. Чуян [и др.]. – Симферополь: Эльиньо, 2003. – 448 с.
5. Мазурик В. К. О некоторых молекулярных механизмах основных радиобиологических последствий действия ионизирующих излучений на организм млекопитающих / В. К. Мазурик, В. Ф. Михайлов // Радиационная биология. Радиоэкология. – 1999. – Т. 39, № 1. – С. 89–96.
6. Zherebtsov E. Fibre-optic probe for fluorescence diagnostics with blood influence compensation / E. Zherebtsov, V. Dremin, E. Zharkikh, A. Zherebtsova, I. Rafailov, A. Dunaev, N. Bazieva, E. Rafailov // Proc. SPIE 10493. 2018, 104931L.

7. Крупаткин А. И. Функциональная диагностика состояния микроциркуляторно-тканевых систем: колебания, информация, нелинейность: рук-во для врачей / под ред. А. И. Крупаткина, В. В. Сидорова. – Москва: Либроком, 2014. – 498 с.
8. Каминский Ю.Г. Суточные ритмы в метаболизме. автореферат дис. ... доктора биологических наук / Ю. Г. Каминский – Москва: 1989. – 35 с.

DYNAMICS OF OXIDATIVE METABOLISM INDICATORS UNDER INFLUENCE THE LOW-INTENSITY ELECTROMAGNETIC RADIATION MILLIMETER RANGE

Tribrat N. S., Dzheldubaeva E. R., Chuyan E. N., Tribrat A. G.

*V.I. Vernadsky Crimean Federal University, Simferopol, Crimea, Russia
E-mail: tribratnatalia@rambler.ru*

The article is devoted to research of cofactors of oxidative metabolism changes and the redox ratio during dynamics of a three-week observation/ More over, it was shown, that low-intensity millimeter radiation (wavelength – 7.1 mm, power flux density – 0,1 mW / cm²) is having a modulating effected on a dynamic data of oxidation metabolism.

The study of oxidative metabolism was carried out by fluorescence spectroscopy. Evaluated such indicators: reduced form of NADH, the oxidized form of FAD, the redox ratio, indicating the conjugation of oxidation and reduction processes.

It was shown that during a 20-day observation, rhythmic changes were noted from the restored form of NADH and the oxidized form of FAD.

Low-intensity millimeter-wave electromagnetic radiation maintains and enhances this rhythmic activity with a peak shift of 2 days.

Periodic changes in the cofactors of oxidative metabolism during the 20 days of observation are apparently due to cyclical changes in processes where the oxidized and reduced forms of cofactors are products, for example, periodic changes in the Krebs cycle or glycolysis. Changes in the ratio of reduced form of NADH and FAD affect the efficiency of oxidative phosphorylation.

Keywords: redox ratio, reduced form of NADH, oxidized form of FAD, low-intensity millimeter radiation.

References

1. Azanova A. V. *Vozdeystviye elektromagnitnykh i magnitnykh poley na zhiznesposobnost' biologicheskikh ob"yektov*: avtoref. dis. ... kand. biol. nauk , (KGAU, Krasnoyarsk., 2013), p. 19 s.
2. Chuyan E. N., Dzheldubayeva E. R. *Mekhanizmy antinotsitseptivnogo deystviya nizkointensivnogo millimetrovogo izlucheniya* (DIA YPI, Simferopol, 2006), p. 458.
3. Chuyan E. N., Tribrat N. S., Ravayeva M. Yu. *Tkanevaya mikrogemodinamika: vliyaniye nizkointensivnogo elektromagnitnogo izlucheniya millimetrovogo diapazona* (Arial, Simferopol, 2017), p. 325

4. Chuyan E. N., Temur'yants N. A., Moskovchuk O. B., Chirskiy N. V., Verko N. P., Tuman'yants Ye. N., Ponomareva V. P. *Fiziologicheskiye mekhanizmy biologicheskikh effektov nizkointensivnogo EMI KVCH: Monogr.* / (El'in'o, Simferopol, 2003), p. 447.
5. Mazurik V. K., Mikhaylov V. F. O nekotorykh molekulyarnykh mekhanizмах osnovnykh radiobiologicheskikh posledstviy deystviya ioniziruyushchikh izlucheniya na organizm mlekopitayushchikh, *Radiatsionnaya biologiya. Radioekologiya*, **39** (1), 89 (1999).
6. Zherebtsov E., Dremin V., Zharkikh E., Zherebtsova A., Rafailov I., Dunaev A., Bazieva N., E. Rafailov Fibre-optic probe for fluorescence diagnostics with blood influence compensation, *Proc. SPIE*, **10493**, 2018, 104931L (2018).
7. Krupatkin A. I. *Funktsional'naya diagnostika coctoyaniya mikrotsirkulyatomo-tkanevykh cicem: kolebaniya, informatsiya, nelineynost': ruk-vo dlya vrachey* (Librokom, Moskva, 2014), p. 498 c.
8. Kaminskiy YU. G. *Sutochnyye ritmy v metabolizme*. avtoreferat dis. ... doktora biologicheskikh nauk (Moskva, 1989), p. 35.

УДК 577:537.868:595.123

УЧАСТИЕ ЭЛЕКТРОМАГНИТНЫХ ФАКТОРОВ ЕСТЕСТВЕННОГО ПРОИСХОЖДЕНИЯ В ОРГАНИЗАЦИИ ИНФРАДИАННОЙ РИТМИКИ У БЕСПОЗВОНОЧНЫХ ЖИВОТНЫХ

Туманянц К. Н., Ярмолюк Н. С., Чуюн Е. Н., Темурьянц Н. А.

*Таврическая академия (структурное подразделение) ФГАОУ ВО «Крымский федеральный университет имени В. И. Вернадского», Симферополь, Республика Крым, Россия
E-mail: nat_yarm@mail.ru*

В проведенных исследованиях получены убедительные доказательства способности ПеМП частотой 8 Гц оказывать синхронизирующее действие на ИР, при наиболее выраженных эффектах у животных с десинхронизмом любого эффекта.

Ключевые слова: планарии, моллюски, ПеМП, ЭМЭ, ноцицепция, скорость движения.

ВВЕДЕНИЕ

Многочисленные данные эпидемиологических и экспериментальных исследований убедительно свидетельствуют о существенном влиянии снижения интенсивности геомагнитного поля (ГМП) на организмы различной степени сложности. Причем важное значение для процессов жизнедеятельности имеют не только значительные (>100 раз) уменьшения интенсивности статистической компоненты ГМП [1, 2], но их небольшие изменения. Такие ситуации довольно широко распространены в производственных и природных условиях (пещеры, штольни и т.д.), а также при моделировании гипомагнитных ситуаций для разнообразных производственных и исследовательских целей. Например, при использовании экранирующих камер для профилактики осложнений у больных сердечно-сосудистыми заболеваниями при геомагнитных возмущениях [3]. Однако влияние умеренного снижения интенсивности геомагнитного поля на биологические процессы изучено совершенно недостаточно. Между тем эпидемиологические исследования лиц, работающих в экранированных помещениях с коэффициентом ослабления 4–5, выявило значительное увеличение числа лиц с патологией ССС, нервной системы [4].

Вместе с тем изучение эффектов ГМП, вызванного экранированием, актуально для решения ряда фундаментальных проблем экологической физиологии, для изучения: механизмов действия комбинированных магнитных полей, резонансных механизмов их действия, эффектов микродоз и т.д. Ослабление ГМП оказалось эффективной моделью для изучения модификации терапевтической активности фармакологических препаратов [5–8], изучения временной организации биологических систем, роли электромагнитных факторов в ее формировании. В

ряде исследований показаны изменения циркадианной ритмики различных физиологических систем в условиях ослабленного ГМП. Иначе обстоит дело с ритмикой других диапазонов и в частности инфрадианного. Кроме того, не изученными остаются не только причины нарушения ритмических процессов в биологических системах – десинхроноза, но и роль электромагнитных факторов естественного происхождения в их нормализации. Предполагается, что роль датчиков времени в широком диапазоне периодов могут выполнять переменные магнитные поля крайне низкой частоты в частности 8 Гц [9] – фундаментальной частотой ионосферного волновода [10], близкой к частоте некоторых биоритмов [11]. Известно, интенсивность ПемП КНЧ максимальна по сравнению с интенсивностью полей других частотных полос как в спокойные периоды, так и особенно во время геомагнитных возмущений, когда его интенсивность может возрастать в 10–1000 раз [12].

Обычно реакции организма на действие электромагнитных факторов оцениваются по изменению показателей системы крови, центральной нервной, сердечно-сосудистой систем и т.д. Однако наиболее воспроизводимые и стойкие результаты получены при исследовании ноцицепции [13–15]. В связи с изложенным целью исследования является изучение инфрадианной ритмики ноцицепции и локомоторной активности беспозвоночных в условиях умеренного ЭМЭ и ее изменения под влиянием низкоинтенсивного ПемП частотой 8 Гц.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

При изучении влияния любого фактора всегда остро стоит вопрос о выборе объекта исследования. Этот выбор зачастую затруднен, так как в Европейской Конвенции о защите позвоночных животных, используемых для экспериментов или в иных научных целях (1986), сформулированы принципы использования животных в экспериментах, подчеркнута необходимость поощрять научные исследования с целью «разработки способов и методов, которые могут предоставить информацию, аналогичную той, которая может быть получена в результате процедур, причиняющих боль, страдание» [16].

Одним из таких способов являются эксперименты на беспозвоночных животных, в частности, на планариях и моллюсках. Эти животные используются в многочисленных экспериментах, в которых изучена феноменология, закономерности, механизмы действия различных факторов в том числе электромагнитной природы [17–19].

Все исследования были проведены под контролем комиссии по биоэтике КФУ им. В. И. Вернадского

*Исследование планарий *Dugesia tigrina*.* В экспериментах использовали лабораторную бесполоую расу плоских червей – планарий *Dugesia tigrina* – длиной 9 ± 1 мм, у которых движение осуществляется за счет ресничек [20]. Планарий содержали в смеси водопроводной и дистиллированной воды в пропорции 2:1 при комнатной температуре, кормление осуществляли один раз в неделю личинками двукрылых насекомых.

Отбор планарий для опыта производился через три–четыре дня после кормления. Каждое животное помещалось в отдельный стеклянный флакон с 20 мл воды, что позволило регистрировать скорость движения (СД) каждой отдельно взятой особи.

В качестве исследуемого показателя выбрана СД животных, так как электромагнитные факторы различных параметров изменяют аппарат движения – реснички, жгутики [21], а также структуру основного их белка – тубулина [22].

Скорость движения планарий определяли с помощью компьютерных технологий анализа изображений. Для получения стандартных изображений нерегенерирующих планарий использовали видеокамеру Sun Kwang (модель SK-2046, размер датчика 1/3 дюйма, 570 телевизионных линий), смонтированную на окуляре бинокулярного микроскопа «МБС-10». Через видеотюнер Kworld (разрешение 640x480) изображение передавали на персональный компьютер. Обработку и анализ результатов осуществляли с помощью пакета программного обеспечения «Image-Pro». СД планарий вычислялась отношением пройденного ею пути (мм) ко времени в одну секунду. Для этого видеоизображения движущихся в воде планарий регистрировалась с частотой 30-ть кадров в одну секунду. Путь измерялся наложением двух участков одного видеоряда с соответствующей разницей во времени. Контрастирование проводилось при помощи стандартной операции «вычитания» для двух изображений [23].

Фиксация изображений, расчет СД осуществлялись у животных всех групп ежедневно в одно и то же время суток.

Определение параметров ноцицепции у моллюсков. Исследования проведены на наземных брюхоногих моллюсках *H. albescens*. В эксперименте использовались половозрелые животные, одинаковые по массе и размерам, которых содержали в светонепроницаемых стеклянных террариумах в условиях постоянного температурного режима (22 ± 2 °С), высокой влажности и избытка пищи.

О состоянии ноцицептивной чувствительности животных судили по порогу (П) и латентному периоду (ЛП) реакции избегания термического стимула в тесте «горячая пластинка», которая изготовлена из стекла, а на нижнюю поверхность которой методом распыления в вакууме нанесен нитрид титана [24].

Ослабление ГМП может быть достигнуто применением экранов, материала для которых подразделяются на 2 класса:

- ферромагнитные (железо, сплавы с высокими значениями магнитной проницаемости – пермаллой, мю–металл); внутри боксов, изготовленных из подобных материалов, уменьшается статическое магнитное поле и любые его вариации, тем самым – радиоволны; в них не проникает электрическое поле и его изменения;
- электромагнитные (алюминий, сплавы типа латуни); внутри таких боксов статическое магнитное поле не изменяется, но уменьшается интенсивность радиоволн и исчезает электрическое поле.

В наших экспериментах ослабление фонового электромагнитного поля (ЭМП) достигалось применением экранирующей камеры размером 2x3x2 м, изготовленной из двухслойного железа «Динамо», т.е. – ферромагнитное экранирование (ФМЭ).

Коэффициент экранирования, измеренный с помощью феррозондового магнитометра, составляет для вертикальной составляющей 4,4, для горизонтальной – 20. Измерялась также спектральная плотность магнитного шума в камере как в области ультранизких (от 2×10^{-4} Гц до 0,2 Гц), так и в области радиочастот (от 15 Гц до 100 кГц). В области сверхнизких частот измерения производились с помощью феррозондового магнитометра в паре со спектроанализатором, в области радиочастот – индукционным методом. Внутри камеры для частот выше 170 Гц и в области частот от 2×10^{-3} до 0,2 Гц уровень спектральной плотности магнитного шума ниже 10 нТл/Гц 0.5. Коэффициент экранирования камеры на частотах 50 и 150 Гц порядка трех. В области частот от 150 Гц до 100 кГц происходит слабое экранирование, тогда как на частотах больше 1 МГц имело место полное экранирование. Методика измерения описана ранее [23].

Таким образом, в нашем исследовании имело место умеренное ослабление как постоянной, так и переменной компонент магнитного поля Земли, в отличие от значительных (100 и более раз) уменьшений таковых, применяемых в подавляющем большинстве исследований [25–28].

Величину магнитной индукции выбирали с таким расчетом, чтобы она была значительно выше интенсивности естественного ПеМП на данной частоте. Это позволило уменьшить эффекты неконтролируемых электромагнитных воздействий, а вследствие широкого «амплитудного окна» на этой частоте распространить сделанные выводы на достаточно широкий диапазон интенсивностей ПеМП [29, 30]. Кроме того, учитывалось, что для такой интенсивности поля физиологические эффекты надежно воспроизводятся [30]. Применялись многократные трехчасовые экспозиции ПеМП, которые проводились ежедневно с 8 до 11 ч утра.

ПеМП создавалось кольцами Гельмгольца диаметром 1 м, с неравномерностью поля в зоне расположения животных менее 5 %. Источником сверхнизкочастотного тока синусоидальной формы служил генератор ГРМ-3. Контроль за протеканием тока через кольца осуществлялся непрерывно с помощью миллиамперметра М2020 и осциллографа Н-303. Оценка всех составляющих погрешностей амплитуды позволила поддерживать амплитуду и частоту ПеМП с точностью не ниже 3.5 % от их номинального значения.

Было использовано две установки генерации ПеМП КНЧ. Одна из них помещалась в центре экранирующей камеры для воздействия на животных, находящихся в экранируемом пространстве, другая находилась в лаборатории и использовалась для воздействия ПеМП на контрольных животных.

Освещенность внутри и вне камеры, а также внутри флаконов и террариумов измерялась с помощью люксметра ТКЛ-ПКМ (модель 63). Внутри них освещенность колебалась от 0,1 до 0,2 лк, внутри экранирующей камеры и в лаборатории, где содержались животные контрольной группы, была такого же уровня, а в лаборатории, в которой проводили тестирование, колебалась от 480 до 500 лк.

В ходе проведения исследования животных обоих таксонов делили на пять равноценных групп по 20 особей в каждой. Первая группа содержалась в обычных условиях лаборатории (контрольные животные), вторую содержали в

экранирующей камере по 22 ч в сутки в течение 20 суток, животные третьей группы по три часа в день подвергались воздействию ПеМП частотой 8 Гц индукцией 50 нТл вне камеры. Четвертую группу (ПеМП+ФМЭ) составили животные, которые находились в экранирующем объеме по 22 ч в сутки и внутри камеры дополнительно ежедневно подвергались трехчасовому воздействию ПеМП КНЧ. Животных пятой группы подвергали «мнимому» воздействию ПеМП вне камеры.

Животные II и IV групп извлекались из камеры на 2 часа с 11.00 до 13.00 ч для регистрации исследуемых параметров, которые проводили у каждого животного. У особей I, III групп измерения проводились с 9.00 до 11.00 ч. Таким образом, животные всех групп находились в условиях свет : темнота 2 : 22 ч. Измерения исследуемых показателей осуществлялись с соблюдением принципов двойного слепого эксперимента.

Для статистической обработки данных использовали пакет специализированных программ “MedStat”. Математическую обработку коротких временных рядов физиологических данных проводили методом спектрального Фурье анализа с дальнейшей статистической обработкой с применением косинор-анализа [31, 32], который применяется в исследованиях ритмики различной продолжительности, и этот анализ заключается в том, что вначале методом наименьших квадратов вычисляются значения амплитуды для каждой индивидуальной хронограммы, а затем для исследуемой выборки животных находят средние значения спектральных параметров и их ошибки средних. Для оценки достоверности наблюдаемых изменений использовали t-критерий Стьюдента. Для оценки достоверности различий исследуемых показателей между группами (p) применяли однофакторный дисперсионный анализ.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Анализ временной динамики СД планарий выявил наличие ритмической составляющей в ее изменениях. Так, при использовании спектрального и косинор-анализа удалось выявить многодневные ритмы СД интактных планарий, включающие следующие периоды: $\approx 2^d,3$ (2,2–2,4); $\approx 3^d,3$ (3,3–3,8) и $\approx 8^d,0$ (7,1–8,0). В исследуемом спектре доминирующим периодом явился 8-суточный период с амплитудой $0,023 \pm 0,003$ усл.ед. (табл. 1). Отмечено, что амплитуды ритмов исследуемого спектра возрастали с увеличением длины периода.

Спектральное преобразование Фурье динамики параметров ноцицепции интактных моллюсков выявило следующие периоды: $\approx 2^d,4$ (2,2–2,4); $\approx 3^d,7$ (3,7–3,8); $\approx 6^d,4$ (5,5–6,4) и $\approx 9^d,0$ (8,5–9,0). Доминирующим ритмом в данном спектре являлся низкочастотный период продолжительностью $\approx 9^d,0$ сут с амплитудой $0,060 \pm 0,006$ усл.ед. (табл. 2, рис. 1). Экспоненциальная модель данных позволила выявить тенденцию к увеличению амплитуды с увеличением длины периода.

Таблица 1.

Данные косинор- и спектрального Фурье анализов СД нерегенерирующих планарий *Dugesia tigrina* контрольной группы и животных, подвергнутых изолированному и комбинированному с ФМЭ действию ПеМП КНЧ

Параметры ритма	Группы животных				
	Контроль	ФМЭ	ПеМП	ПеМП+ФМЭ	Плацебо-ПеМП
	1	2	3	4	5
Период (сутки)	2,3	2,2	2,4	2,3	2,3
Амплитуда (усл.ед.)	0,017±0,002	0,015±0,002	0,015±0,001	0,016±0,001	0,017±0,003
Фаза (радианы)	1,180±0,096	5,763±0,112 P ₁₋₂ <0,01	0,917±0,023 P ₂₋₃ <0,01	1,233±0,084 P ₂₋₄ <0,01	1,182±0,089 P ₂₋₅ <0,01
Период (сутки)	3,3	3,8	3,3	3,8	3,3
Амплитуда (усл.ед.)	0,017±0,001	0,016±0,002	0,013±0,002	0,013±0,001	0,017±0,006
Фаза (радианы)	2,254±0,173	1,311±0,094 P ₁₋₂ <0,05	0,037±0,012 P ₁₋₃ <0,01	3,115±0,075 P ₂₋₄ <0,05 P ₃₋₄ <0,05	2,247±0,177 P ₂₋₅ <0,05 P ₃₋₅ <0,01
Период (сутки)	---	4,8	---	---	---
Амплитуда (усл.ед.)	---	0,019±0,002	---	---	---
Фаза (радианы)	---	4,931±0,263	---	---	---
Период (сутки)	8,0	---	7,1	8,0	8,0
Амплитуда (усл.ед.)	0,023±0,003	---	0,025±0,003	0,027±0,002	0,021±0,009
Фаза (радианы)	4,180±0,315	---	2,751±0,126 P ₁₋₃ <0,01	3,182±0,183 P ₃₋₄ <0,05	4,184±0,320 P ₃₋₅ <0,01

Примечание: P₁₋₅ – достоверность различий сравниваемых групп.

Сравнение фаз выделенных периодов П и ЛП реакции избегания термического стимула выявил практически полное их совпадение.

Выявленные нами инфрадианные биоритмы сходной или близкой величины свойственны функционированию различных физиологических систем животных и человека: локомоторной активности крыс [33], системе крови у животных [34], частоте сердечных сокращение у крыс, физической работоспособности и потребления кислорода [35], экскреции Na⁺ с мочей и уровня альдостерона [36] и ряда физиологических показателей у людей [37–39]. Существование подобных стабильных периодов биоритмов, вероятно, осуществляется благодаря наличию внутренних механизмов их поддержания или же как результат воздействия внешнего синхронизатора.

Таблица 2.
Данные косинор- и спектрального Фурье анализа ЛП ноцицептивной реакции моллюсков *H. albescens* контрольной группы и животных, подвергнутых изолированному и комбинированному с ФМЭ действию ПеМП КНЧ

Параметры ритма	Группы животных				
	Контроль	ФМЭ	ПеМП	ПеМП+ФМЭ	Плацебо-ПеМП
	1	2	3	4	5
Период (сутки)	2,4	2,2	2,4	2,4	2,4
Амплитуда (усл.ед.)	0,041±0,004	0,045±0,005	0,047±0,005	0,043±0,005	0,040±0,007
Фаза (радианы)	1,490±0,123	1,120±0,014	2,046±0,211	2,569±0,231	1,484±0,151
Период (сутки)	3,7	---	3,8	3,8	3,7
Амплитуда (усл.ед.)	0,041±0,004	---	0,055±0,004 P ₁₋₃ <0,05	0,057±0,006 P ₁₋₄ <0,05	0,042±0,003 P ₃₋₅ <0,05 P ₄₋₅ <0,05
Фаза (радианы)	2,522±0,826	---	4,357±0,647	2,203±0,577	2,531±0,781
Период (сутки)	---	4,5	4,4	---	---
Амплитуда (усл.ед.)	---	0,057±0,008	0,057±0,006	---	---
Фаза (радианы)	---	2,484±0,323	2,299±0,105	---	---
Период (сутки)	6,4	---	---	5,5	6,4
Амплитуда (усл.ед.)	0,049±0,006	---	---	0,055±0,005	0,049±0,003
Фаза (радианы)	2,306±0,201	---	---	1,258±0,083	2,289±0,218
Период (сутки)	---	7,5	---	---	---
Амплитуда (усл.ед.)	---	0,073±0,008	---	---	---
Фаза (радианы)	---	4,007±0,162	---	---	---
Период (сутки)	9,0	---	8,5	8,5	9,0
Амплитуда (усл.ед.)	0,060±0,006	---	0,073±0,009	0,090±0,006 P ₁₋₄ <0,001	0,061±0,004 P ₄₋₅ <0,001
Фаза (радианы)	2,523±0,234	---	1,129±0,052	2,956±0,807	2,528±0,199

Примечание: P₁₋₅ – достоверность различий сравниваемых групп.

Как показали проведенные исследования, ослабление ГМП вносило изменения в ИР исследуемых показателей. Так, было установлено, что пребывание нерегенерирующий планарий в условиях умеренного ФМЭ влечет за собой изменения инфранианной периодичности их СД. Эти изменения заключались в существенном изменении структуры спектра, который, как и у животных контрольной группы, состоял из трех периодов, однако состав спектра был несколько иной: появлялся период $\approx 4^d,8$, но переставал выявляться самый длинный период продолжительностью $\approx 8^d,0$. Кроме того, совпадающие периоды $\approx 2^d,3$ и $\approx 3^d,8$

сут. характеризовались значительными фазовыми сдвигами (на $262,6^\circ$ ($p < 0,01$) (рис. 2) и 54° ($p < 0,05$) соответственно). Таким образом, следствием пребывания нерегенерирующей планарий в экранирующей камере явилось развитие десинхроноза.

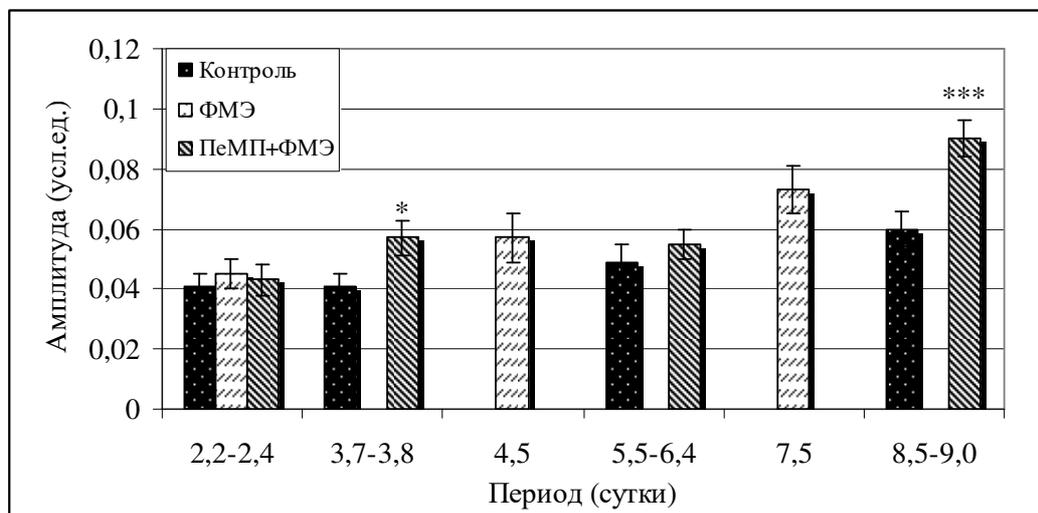


Рис. 1. Спектры инфрадианной ритмики параметров ноцицепции моллюсков контрольной группы, животных, подвергнутых изолированному и комбинированному с ФМЭ действию ПеМП КНЧ.

Примечание: * – достоверность различий относительно контрольных значений: * – ($p < 0,05$)

Если у планарий в условиях ФМЭ количество выделенных периодов совпадало с таковыми у интактной группы, то следствием пребывания наземных моллюсков в экранирующей камере явилось изменение структуры спектров мощности П и ЛП ноцицептивной реакции, выражающиеся, главным образом, в сужении спектра выделяемых периодов. В этих спектрах не выявлялся ряд периодов $\approx 3^d,7$; $\approx 6^d,4$; $\approx 9^d,0$, выделенные у интактных животных, однако зарегистрированы периоды длительностью $\approx 4^d,5$ и $\approx 7^d,5$ сут, не обнаруживаемые в спектрах моллюсков контрольной группы (табл. 2). Амплитуды выделенных ритмов колебались от 0,041 до 0,073 усл.ед., с увеличением длины периода их амплитуды возрастали. Эти данные указывают на то, что ФМЭ вызывало развитие десинхроноза.

Данные о способности изоляции от ГМП вызывать нарушения ритмики согласуются с литературными сведениями и существенно дополняют их. Так, установлено, что ФМЭ вызывает изменения циркадианной и ультрадианной ритмик при пребывании человека [40] и животных [41, 42] в условиях искусственного ослабления ГМП.

Следует отметить, что десинхроноз развивается как при значительном ослаблении постоянной компоненты ГМП, так и небольших ее изменениях. Так, в работе А.Г. Горелкина и др. [43], по показателям вариабельности сердечного ритма

зафиксирован десинхронизм у волонтеров, находящихся по 30 минут ежедневно в течение 10 дней в экранирующей камере, ослабляющей ГМП в 600 раз, в то время как С. М. Чибисов и др. [44] описали такое же явление в условиях снижения статистической компоненты ГМП всего на 0,5 %.

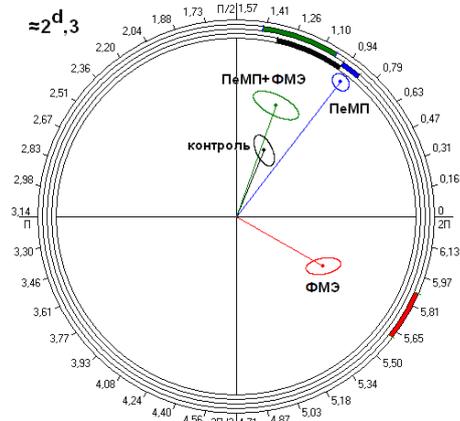


Рис. 2. Косинорограмма периода $\approx 2^{\text{д}},3$ СД нерегенерирующий планарий контрольной группы, животных, находящихся в условии ФМЭ, влиянии ПеМП КНЧ и воздействии ПеМП КНЧ на животных, находящихся в условиях ФМЭ.

Изменения инфраничных биоритмов вызывает и воздействие на животных ПеМП частотой 8 Гц индукцией 50 нТл. Состав спектра СД планарий под влиянием ПеМП КНЧ не отличался от такового интактных животных, однако во всех выделенных периодах зафиксирован достоверный сдвиг фаз относительно данных контрольной группы ($p < 0,01$) (табл. 1).

Сопоставление ИР показателей ноцицепции у интактных моллюсков и животных, подвергнутых трехчасовому воздействию крайненизкочастотного ПеМП, позволило выявить следующие особенности. Количество выделяемых периодов у моллюсков при действии ПеМП совпадало, однако вместо периода $\approx 6^{\text{д}},4$, присутствующего в спектрах животных контрольной группы, появлялся период $\approx 4^{\text{д}},4$, не характерный для спектра интактных моллюсков. Кроме того, имело место достоверное повышение амплитуды периода $\approx 3^{\text{д}},8$ ($p < 0,05$). Анализ фазовых взаимоотношений не выявил достоверных изменений фаз ни в одном из совпадающих периодов.

При «мнимом» воздействии ПеМП КНЧ были выявлены такие же изменения структуры спектров, как и у интактной группы животных. Эти результаты являются подтверждением того, что полученные нами результаты обусловлены действием ПеМП.

Данные о способности ПеМП частотой 8 Гц (индукция 1 мкТл) изменять многодневных ритмов условно-рефлекторной деятельности крыс отмечены в работе Е. В. Архангельской [45], кроме того, обнаружены изменения процессов перекисного окисления липидов, обмена тиоловых групп и липидов в головном

мозге мышей, а также биохимических процессов в системе крови при воздействии слабого ПемП в диапазоне частот от 0,008 до 80 Гц индукцией 30 мкТл [46, 47].

По мнению многих исследователей, одним из наиболее существенных внешних факторов, способных синхронизировать инфрадианные биоритмы, претерпевшие изменения, являются естественные электромагнитные поля. Для подтверждения данной теории и для устранения десинхроноза у планарий и моллюсков, вызванного ФМЭ, животных в условиях экранирующей камере дополнительно подвергали трехчасовому воздействию ПемП КНЧ.

Как показали проведенные исследования при воздействии ПемП частотой 8 Гц на животных, находящихся в условиях ФМЭ, не выявлено заметных отличий в ИР СД нерегенерирующих планарий и ноцицепции моллюсков. Состав спектра ИР исследуемых показателей был одинаков с таковым у контрольных животных, зафиксировано лишь увеличение амплитуды совпадающего 8-суточного периода у планарий и периода продолжительностью $\approx 3^d,8$ сут у моллюсков. В то же время этот спектр существенно отличался от спектра животных, находящихся в условиях ФМЭ (табл. 1, табл. 2). Таким образом, можно заключить, что крайненизкочастотное ПемП нивелирует нарушения временной организации, устраняет десинхроноз, вызванный ФМЭ, оказывая синхронизирующее действие.

Полученные нами данные подтверждают мнение ряда исследователей о возможной синхронизации биологических ритмов периодическими колебаниями интенсивности на частоте 8 Гц в атмосфере (шумановский резонанс) [48, 49]. Так, была установлена сопряженность показателей артериального давления у людей [50], а также изменений ЭЭГ и интенсивности шумановского резонанса [51].

Ранее продемонстрирована способность ПемП интенсивностью 50 нТл и частотой 8 Гц оказывать синхронизирующее действие на ультрадианную ритмику СД планарий [52], а также ИР физиологических процессов у животных разных индивидуально-типологических групп. При этом наиболее выраженная синхронизация была выявлена в динамике показателей активности сукцинатдегидрогеназы и α -глицерофосфатдегидрогеназы в лимфоцитах и нейтрофилах периферической крови [53]. Корректирующее действие ПемП КНЧ было доказано на его способности изменять ИР показателей системы крови крыс, чья двигательная активность ограничивалась (гипокинезия) [48].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, в проведенных исследованиях получены убедительные доказательства способности ПемП частотой 8 Гц оказывать синхронизирующее действие на ИР, при наиболее выраженных эффектах у животных с десинхронозом любого эффекта. Эти данные могут быть использованы в хронотерапевтической коррекции, подразумевающей восстановление ритмичности физиологических процессов, для разработки эффективных методов лечения на основе данных об особенностях временной организации организма в норме и при патологиях.

Работа выполнена при финансовой поддержке в рамках инициативной части государственного задания № 6.5452.2017/8.9 Минобрнауки России в сфере научной деятельности темы «Временная организация физиологических систем человека и животных: феноменология и механизмы генерации и регуляции микро- и мезоритмов».

Работа была выполнена на базе Центра коллективного пользования научным оборудованием «Экспериментальная физиология и биофизика» при кафедре физиологии человека и животных и биофизики Таврической академии (СП) ФГАОУ ВО «Крымский федеральный университет имени В. И. Вернадского».

Список литературы

1. Asashima M. Magnetic shielding induces early developmental abnormalities in the newt, *Cynops pyrrhogaster* / M. Asashima, K. Shimada, C. J. Pfeiffer // *Bioelectromagnetics*. – 1991. – Vol. 12, Is. 4. – P. 215–224.
2. Копанев В. И. Влияние гипоманнитного поля на биологические объекты / В. И. Копанев, А. В. Шакула – Л. Наука, 1985. – 72 с.
3. Гурфинкель Ю. И. Геомагнитные возмущения и острая сердечно-сосудистая патология (статистические исследования) / Ю. И. Гурфинкель, Х. Д. Канониди, Е. В. Митрофанова [и др.] // *Международный крымский семинар «Космос и биосфера»*. – Партенит: Крым. – 2001. – С. 13–15.
4. Походзей Л. В. Гипогеомагнитное поле: биологическое действие и гигиеническое нормирование / Л. В. Походзей, Ю. П. Пальцев, Н. Б. Рубцова // *Человек и электромагнитные поля: Докл. III Межд. конф. Саров*. – 2010. – С. 185–193.
5. Рыжкина И. С. Самоорганизация высокоразбавленных водных растворов – ключ к пониманию механизма действия сверхмалых доз биологически активных веществ / И. С. Рыжкина // *VI Международный конгресс «Слабые и сверхслабые поля и излучения в биологии и медицине»*. – 2012. – С. 90.
6. Коновалов А. И. Способ прогнозирования биоэффекта растворов низких и сверхнизких концентраций. Заявка на патент РФ № 2009106496, приоритет от 24.02.09 / Коновалов А. И., Рыжкина И. С., Муртазина Л. И // *БИ*. – 2010. – № 24.
7. Хусаинов Д. Р. Умеренное электромагнитное экранирование крыс нивелирует противоболевой эффект аспирина / Д. Р. Хусаинов, Н. А. Темурьянц, И. И. Кореньюк, И. В. Черетаев, А. В. Чайка, К. Н. Туманянц // *Международный журнал прикладных и фундаментальных исследований*. – 2015. – № 7–1. – С. 76–78.
8. Хусаинов Д. Р. Особенности противоболевой активности аспирина у крыс-самок в условиях умеренного электромагнитного экранирования / Д. Р. Хусаинов, Н. А. Темурьянц, К. Н. Туманянц // *Ученые записки Крымского федерального университета имени В. И. Вернадского. Биология. Химия*. – 2015. – Т. 1, № 3 (67). – С. 56–64.
9. Владимирский Б. М. Влияние солнечной активности на биосферу-ноосферу / Б. М. Владимирский, Н. А. Темурьянц – М.: МНЭПУ, 2000. – 374 с.
10. Schumann W. O. Über die dämpfung der electromagnetischen Eigenwingungen des Systems Erde-Luft-Ionosphäre / W. O. Schumann // *Naturwissenschaft*. – 1982. – Vol. 7. – P. 250–254.
11. Ашофф Ю. Биологические ритмы / Ю. Ашофф – М.: Мир, 1984. – Т. 1. – 176 с.
12. Polk G. Resonances of ears ionosphere cavity – extremely low frequency reception at Kingston / G. Polk, F. Fitchen, W. O. Schumann // *Radio Propagation*. – 1962. – V.3, Is. 66. – P. 313.
13. Exposure to a hypogeomagnetic field or to oscillating magnetic fields similarly reduce stress-induced analgesia in C57 male mice / C. Del Seppia, P. Luschi, S. Ghione [et al.] // *Life Sci*. – 2000. – Vol. 66, Is. 14. – P. 1299–1306.
14. Эффекты слабых электромагнитных воздействий у беспозвоночных животных (регенерация планарий, ноцицепция моллюсков) / Н. А. Темурьянц, Е. Н. Чуян, А. С. Костюк [и др.] – Симферополь: ДИАЙПИ. – 2012. – 303 с.

15. Daily repeated magnetic field shielding induces analgesia in CD-1 mice / F. S. Prato, J. A. Robertson, D. Desjardins [et al.] // *Bioelectromagnetics*. – 2005. – Vol. 26. – P.109–117.
16. Европейская Конвенция о защите позвоночных животных, используемых для экспериментов или в иных научных целях. Страсбург, 18 марта 1986 г.
17. Тирас Х. П. Биологические эффекты слабых магнитных полей: сравнительный анализ / Х. П. Тирас, О. Н. Петрова, С. Н. Мякишева, К. Б. Асланиди // *Фундаментальные исследования*. – 2014. – № 12 (часть 7). – С. 1442–1451.
18. Темуриянц Н. А. Влияние низкоинтенсивного электромагнитного излучения крайне высокой частоты на болевую чувствительность моллюсков *Helix albescens* / Н. А. Темуриянц, А. С. Костюк, К. Н. Туманянц // *Миллиметровые волны в биологии и медицине*. – 2010. – №1. – С. 39–45.
19. Prato F. S. Non-thermal extremely low frequency magnetic field effects on opioid related behaviors: Snails to humans, mechanisms to therapy / F. S. Prato // *Bioelectromagnetics*. – 2015. – Vol. 36, Is. 5. – P. 333–348.
20. Шмидт–Нельсен К. Физиология животных: приспособление и среда / К. Шмидт–Нельсен – М: «Мир», 1982. – С. 555–643.
21. Денисенкова И. В. Стимулированная локомоторная активность планарии *Dugesia tigrina* в естественном магнитном поле и при его компенсации / И. В. Денисенкова, Г. М. Пискунова, Н. К. Чемерис // *Вестник новых медицинских технологий* – 1997. – Т.4, № 4. – С. 56–60.
22. Wang P. L. Tubulin assembly is disordered in a hypogeomagnetic field / P. L. Wang, X. S. Wang, R. Xiao, R. Q. He // *Biochem Biophys Res Commun*. – 2008. – V. 376, Is. 2. – С. 363–368.
23. Темуриянц Н. А. Сезонные различия регенерации планарий в условиях многодневного электромагнитного экранирования / Н. А. Темуриянц, Н. А. Демцун // *Биофизика*. – 2010. – Т. 55, № 4. – С. 710–714.
24. Установка для изучения болевой чувствительности наземных моллюсков *Helix albescens* / В. Г. Вишневикий, А. С. Костюк, Н. А. Темуриянц, Е. В. Бугаец, И. А. Макаренко // *Уч. зап. Тавр. нац. ун-та им. В. И. Вернадского. Сер. Биология, химия*. – 2010. – Т. 22, № 1. – С. 3–8.
25. Дубров А. П. Геомагнитное поле и жизнь. / Дубров А. П. – Л. Гидрометеоиздат, 1974. – 175 с.
26. Asashima M. Magnetic shielding induces early developmental abnormalities in the newt, *Cynops pyrrhogaster*. / M. Asashima, K. Shimada, C. J. Pfeiffer // *Bioelectromagnetics*. – 1991 – 12 (4) – P. 215–224.
27. Mo Wei-Chuan A biological perspective of the hypomagnetic field: from definition towards mechanism. / Mo Wei-Chuan, Liu Ying, He Rong-Qiao // *Progress in Biochemistry and Biophysics*. – 2012 – 39 (9) – P. 835–842.
28. Adey W. R. Frequency and power window in tissue interactions with weak electromagnetic fields / Adey W. R. // *Proc. IEEE*. – 1980. – Vol. 68, Is.1. – P. 119.
29. Макеев В. Б. Исследование частотной зависимости биологической эффективности магнитного поля в диапазоне геомагнитного поля (0,01–100 Гц) / В. Б. Макеев, Н. А. Темуриянц // *Пробл. космич. биологии*. – 1982. – Т. 43. – С. 116–128.
30. Темуриянц Н. А. Сверхнизкочастотные электромагнитные сигналы в биологическом мире / Н. А. Темуриянц, Б. М. Владимирский, О. Г. Тишкин – Киев: Наук. думка, 1992. – 187 с.
31. Емельянов И. П. Формы колебания в биоритмологии. / Емельянов И. П. – Новосибирск: Наука – 1976. – 127 с.
32. Мартынюк В. С. Биологические ритмы и электромагнитные поля среды обитания / В. С. Мартынюк, Б. М. Владимирский, Н. А. Темуриянц // *Геофизические процессы и биосфера*. – 2006. – Т. 5, № 1. – С. 5–23.
33. Диатроптов М. Е. Морфофункциональные параметры эндокринной и иммунной системы и пролиферативная активность эпителия в инфранидном диапазоне биоритмов: диссертация ... доктора биологических наук: 03.03.04 / Диатроптов Михаил Евгеньевич [ФГБУ «НИИ морфологии человека»]. – Москва, 2015. – 263 с.
34. Чиркова Э. Н. Фазовая координация ритмов изменения солнечной активности и месячных биоритмов изменения концентрации холестерина в сыворотке крови кроликов / Э. Н. Чиркова, М. М. Абраменко, О. А. Нечитайло [и др.] // *Бюлл. эксперим. биологии и медицины*. – 1988. – №3. – С. 340–345.

35. Шабатура Н. Н. Механизм происхождения инфрадианных биологических ритмов / Н. Н. Шабатура // Успехи физиол. наук. – 1989. – Т. 20, № 3. – С. 83–103.
36. Long-term space flight simulation reveals infradian rhythmicity in human Na (+) balance / N. Rakova, K. Jüttner, A. Dahlmann, A. Schröder [et. al.] // Cell Metab. – 2013. – V. 8, Is.17(1). – P.125–131.
37. Ковальчук А. В. Многодневные биоритмы физиологических процессов и некоторые вопросы связи организма человека с динамикой изменений внешней среды / А. В. Ковальчук, М. К. Чернышев // Теоретические и прикладные аспекты анализа временной структуры организации биоритмов. – М., 1976. – С. 112–124.
38. Чиркова Э. Н. Месячные и суточные биоритмы амилазы сыворотки крови здоровых мужчин и их связь с ритмами внешней среды / Э. Н. Чиркова, Л. С. Сулов, М. М. Авраменко, Г. Е. Криворучко // Лабораторное дело. – 1990. – Т. 4. – С. 40–44.
39. Бреус Т. К. Влияние геомагнитной и солнечной активности на сердечно–сосудистые и другие хроноэпидемиологии / Т. К. Бреус, С. Ж. Корнелиссен, С. Бинхам [и др.] // Хронобиология и хрономедицина и влияние гелиогеофизических факторов на организм человека. – М., 1992. – С. 146–191.
40. Wever R. Einfluss schwacher elektro–magnetischer felder auf die circadian periodic des menschen / R. Wever // Naturwissenschaften. – 1968. – Vol. 55. – P. 29–32.
41. Бородин Ю. И. Реакция циркадианных ритмов лимфоидной системы на глубокое экранирование от геомагнитного поля Земли / Ю. И. Бородин, А. Ю. Лятегин // БЭБМ. – 1990. – № 2. – С. 191–193.
42. Ярмолюк Н. С. Реакции планарий *Dugesia tigrina* на действие электромагнитных факторов (биоритмологический анализ) / Н. С. Ярмолюк, Н. А. Темуриянц // Монография. [Saarbrücken: LAP Lambert Academic Publishing.] – 2012. – 169 с.
43. Горелкин А. Г. Медленные колебательные процессы при геомагнитном экранировании / А. Г. Горелкин, А. В. Трофимов // Проблемы ритмов в естествознании материалы второго международного симпозиума. – Москва. – 2004. – С. 111–113.
44. Чибисов С. М. Биологические ритмы сердца и «внешний» стресс / С. М. Чибисов, Л. К. Овчинникова, Т. К. Бреус // М. РУДН. – 1998. – 250 с.
45. Архангельская Е. В. Динамика высшей нервной деятельности крыс на фоне гелиогеофизических флуктуаций: автореф. дисс. на соискание научн. степени канд. биол. наук: спец. 03.00.13 «Физиология человека и животных» / Е. В. Архангельская – Симферополь, 1992. – 19 с.
46. Мартынюк В. С. К вопросу о синхронизирующем действии сверхнизкочастотных магнитных полей на биологические системы / В. С. Мартынюк // Биофизика. – 1992. – Т. 37, № 4. – С. 569–573.
47. Мартынюк В. С. Влияние слабых электромагнитных полей крайне низких частот на ультрадианную ритмику физиологических процессов / В. С. Мартынюк, С. Б. Мартынюк // Материалы симпозиума «Корреляции биологических и физико-химических процессов с солнечной активностью и другими факторами окружающей среды». Пушино. – 1993. – С. 115–116.
48. Темуриянц Н. А. Особенности комбинированного действия гипокинетического стресса и рентгеновского излучения на неспецифическую резистентность крыс / Н. А. Темуриянц, А. С. Костюк, Н. С. Ярмолюк, К. Н. Туманянц // Уч. зап. Тавр. нац. ун-та им. В. И. Вернадского. Сер. Биология, химия. – 2007. – Т. 20, № 3. – С. 107–114.
49. Бреус Т. К. Магнитные бури – медико-биологические и геофизические аспекты / Т. К. Бреус, С. И. Рапопорт – М.: Советский спорт, 2003. – 192 с.
50. Mitsutake G. Does Schumann resonance affect our blood pressure? / G. Mitsutake, K. Otsuka, M. Hayakawa [et. al.] // Biomedicine & pharmacotherapy Biomedecine & pharmacotherapie. – 2005. – V. 59 (Suppl 1). – P. 10.
51. Колесник А. Г. Электромагнитная экология / А. Г. Колесник, С. А. Колесник, С. В. Побаченко – Томский Гос. Ун-т, Томск, 2009. – 334 с.
52. Ярмолюк Н. С. Биоритмологический подход к анализу реакций планарий *Dugesia tigrina* на действие слабого электромагнитного экранирования: автореф. дисс. на соискание научн. степени канд. биол. наук: спец. 03.00.13 «Физиология человека и животных» / Ярмолюк Н. С. – Симферополь, 2011. – 20 с.
53. Мартынюк В. С. Магнитные поля крайне низкой частоты как фактор модуляции и синхронизации инфрадианной ритмики у животных / В. С. Мартынюк, Н. А. Темуриянц // Геофизические процессы и биосфера. – 2008. – Т. 8, № 1. – С. 36–50.

**PARTICIPATION OF ELECTROMAGNETIC FACTORS OF NATURAL
ORIGIN IN THE ORGANIZATION OF INFRADIAN RHYTHMIC
IN INVERTIBLE ANIMALS**

*Tumanyants K. N., Yarmolyuk N. S., Chuyan E. N., **Temuryants N. A.***

*V. I. Vernadsky Crimean Federal University, Simferopol, Crimea, Russia
E-mail: nat_yarm@mail.ru*

Numerous data from epidemiological and experimental studies convincingly indicate a significant effect of a decrease in the intensity of the geomagnetic field (GMF) on organisms of varying degrees of complexity. Moreover, important for life processes are not only significant (>100 times) decreases in the intensity of the statistical components of GMFs, but their small changes. Such situations are quite widespread in industrial and natural conditions (caves, adits, etc.), as well as in modeling hypomagnetic situations for a variety of industrial and research purposes. For example, when using shielding chambers for the prevention of complications in patients with cardiovascular diseases with geomagnetic disturbances. However, the influence of a moderate decrease in the intensity of the geomagnetic field on biological processes has not been fully studied. Meanwhile, epidemiological studies of people working in shielded rooms with an attenuation coefficient of 4–5 revealed a significant increase in the number of people with pathology of CVS, the nervous system.

In the experiments, we used a laboratory asexual race of flatworms – the planarium *Dugesia tigrina* – 9 ± 1 mm long, in which cilia move. The planaria was kept in a mixture of tap and distilled water in a 2: 1 ratio at room temperature; feeding was carried out once a week by dipteran insect larvae.

Studies were carried out on terrestrial gastropod mollusks *H. albescens*. In the experiment, sexually mature animals of the same weight and size were used, which were kept in opaque glass terrariums under conditions of constant temperature (22 ± 2 °C), high humidity, and excess food.

The state of nociceptive sensitivity of animals was judged by the threshold (P) and latent period (LP) of the reaction to avoid the thermal stimulus in the “hot plate” test, which is made of glass, and on the lower surface of which titanium nitride was sprayed in a vacuum.

In the conducted studies, convincing evidence was obtained of the ability of a PeMP with a frequency of 8 Hz to have a synchronizing effect on IR, with the most pronounced effects in animals with desynchronosis of any effect. These data can be used in chronotherapeutic correction, which implies restoration of the rhythm of physiological processes, to develop effective methods of treatment based on data on the features of the temporary organization of the body in normal and pathological conditions.

Keywords: planaria, mollusks, PeMP, EME, nociception, movement speed.

References

1. Asashima M., Shimada K., Pfeiffer C. J. Magnetic shielding induces early developmental abnormalities in the newt, *Cynops pyrrhogaster*, *Bioelectromagnetics*, **12**, 4, 215 (1991).
2. Kopanev V. I., Shakula A. V. *Influence of the hypomagnetic field on biological objects*, 72 p. (L. Science, 1985).
3. Gurfinkel Yu. I., Kanonidi H. D., Mitrofanova E. V. [et al.] Geomagnetic disturbances and acute cardiovascular pathology (statistical studies), *The International Crimean Seminar "Cosmos and the Biosphere". Partenit: Crimea*, 13 (2001).
4. Pokhodzey L. V., Fingers Yu. P., Rubtsova N. B. Hypogeomagnetic field: biological effect and hygienic regulation Man and electromagnetic fields, *Dokl. III Int. conf. Sarov*, 185 (2010).
5. Ryzhkina I. S. Self-organization of highly diluted aqueous solutions is the key to understanding the mechanism of action of ultra-low doses of biologically active substances, *VI International Congress "Weak and superweak fields and radiation in biology and medicine"*, 90 (2012).
6. Konovalov A. I., Ryzhkina I. S., Murtazina L. I. A method for predicting the bioeffect of solutions of low and ultralow concentrations. Application for patent of the Russian Federation No. 2009106496, priority of 02/24/09, BI. 20U. No. 24
7. Khusainov D. R., Temuryants N. A., Korenyuk I. I., Cheretaev I. V., Chajka A. V., Tumanants K. N. Moderate electromagnetic shielding eliminates the analgesic effect of aspirin in rats, *International journal of applied and fundamental research*, **7**, 76 (2015).
8. Khusainov D. R., Temuryants N. A., Tumanants K. N. Features of analgesic activity of aspirin in rats-females under conditions of moderate electromagnetic shielding, *Scientific Notes of Crimean V.I. Vernadsky Federal University. Biology. Chemistry.*, **3** (67), **1**, 56 (2015).
9. Vladimirsky B. M., Temuryants N. A. *Influence of solar activity on the biosphere-noosphere*, 374 (M.: MNEPU, 2000).
10. Schumann W. O. Über die dämpfung der elecromagnetischen Eigenwingungen des Systems Erde-Luft-Ionosphäre, *Naturwissenschaft*, **7**, 250 (1982).
11. Ashoff Y. *Biological rhythms*, **1**, 176 (M.: Mir., 1984).
12. Polk G., Fitchen F., Schumann W. O. Resonances of ears ionosphere cavity – extremely low frequency reception at Kingston, *Radio Propagation*, **3**, **66**, 313 (1962).
13. Del Seppia C., Luschi P., Ghione S. [et al.] Exposure to a hypogeomagnetic field or to oscillating magnetic fields similarly reduce stress-induced analgesia in C57 male mice, *Life Sci.*, **66**, **14**, 1299 (2000).
14. Temuryants N. A., Chuyan E. N., Kostyuk A. S. [et al.] *The Effects of the Weak Electromagnetic Influences among Invertebrate Animals (The Regeneration of Planarian, The Nociception of Mollusca)*, 303 (Simferopol: DIAPI, 2012).
15. Prato F. S., Robertson J. A., Desjardins D. [et al.] Daily repeated magnetic field shielding induces analgesia in CD-1 mice, *Bioelectromagnetics*, **26**, 109. (2005).
16. European Convention for the Protection of Vertebrates Used for Experiments or for Other Scientific Purposes – Strasbourg, 18 March 1986, Chapter III, Article 6.
17. Tiras Kh. P., Petrova O. N., Myakisheva S. N., Aslanidi K. B. Biological effects of weak magnetic fields: a comparative analysis, *Fundamental research*, **12** (7), 1442 (2014).
18. Temuryants N. A., Kostyuk A. S., Tumanants K. N. The effect of extremely high-frequency electromagnetic radiation of extremely high frequency on the pain sensitivity of *Helix albescens* mollusks, *Millimeter waves in biology and medicine*, **1**, 39 (2010).
19. Prato F. S. Non-thermal extremely low frequency magnetic field effects on opioid related behaviors: Snails to humans, mechanisms to therapy, *Bioelectromagnetics*, **36**, **5**, 333 (2015).
20. Schmidt-Nelsen K. *Physiology of animals: adaptation and environment*, 555 (M.: "World", 1982).
21. Denisenkova I. V., Piskunov G. M., Chemeris N. Stimulated locomotor activity planarian *Dugesia tigrina* in the natural magnetic field and its compensation, *Bulletin of new medical technologies*, **4**, **4**, 56 (1997).
22. Wang P. L., Wang X. S., Xiao R., He R. Q. Tubulin assembly is disordered in a hypogeomagnetic field, *Biochem Biophys Res Commun*, **376**, **2**, 363 (2008).
23. Temuryants N. A., Demtsun N. A. Seasonal differences in the planarian regeneration conditions, electromagnetic shielding multi-day, *Biophysics*, **55**, **4**, 710 (2010).

24. Vishnevsky V. G., Kostyuk A. S., Temuryants N. A., Bugayets E. V., Makarenko I. A. Installation for the study of pain sensitivity of terrestrial mollusks *Helix albescens*, *Uch. zap Taurus nat un-that them. V. I. Vernadsky. Ser. Biology, Chemistry*, **22**, **1**, 3 (2010).
25. Dubrov A. P. *The geomagnetic field and the life*, 175 (L. Gidrometeoizdat, 1974).
26. Asashima M., Shimada K., Pfeiffer C. J. Magnetic shielding induces early developmental abnormalities in the newt, *Cynops pyrrhogaster*, *Bioelectromagnetics*, **12**, **(4)**, 215 (1991).
27. Mo Wei-Chuan, Ying Liu, Rong-Qiao He A biological perspective of the hypomagnetic field: from definition towards mechanism, *Progress in Biochemistry and Biophysics*, **39** **(9)**, 835 (2012).
28. Adey W. R. Frequency and power window in tissue interactions with weak electromagnetic fields, *Proc. IEEE*, **68**, **1**, 119 (1980).
29. Makeyev V. B., Temuryants N. A. Investigation of frequency dependence of the biological effectiveness of the magnetic field in the range of the geomagnetic field (0.01-100 Hz), *Problems. cosmic. Biology*, **43**, 116 (1982).
30. Temuryants N. A., Vladimirsky B. M., Tishkin O. G. *ELF electromagnetic signals in the biological world*, 187 pp. (Kiev: Science. Dumka, 1992).
31. Emelyanov I. P. *Waveforms in biorhythmology*, 127 p (Nauka, Novosibirsk, 1976).
32. Martynyuk V. S., Vladimirsky B. M., Temuryants N. A. Biological rhythms and electromagnetic fields of the habitat, *Geophysical processes and biosphere*, **5**, **1**, 5. (2006).
33. Diatroptov M. E. *Morphofunctional parameters of the endocrine and immune system and proliferative activity of the epithelium in the infra-Diane range of biorhythms*, 263 p. (Moscow, 2015).
34. Chirkova E. N., Abramenko M. M., Nechitailo O. A. [et al.] Phase coordination of rhythms of changes in solar activity and monthly biorhythms of changes in the concentration of cholesterol in the blood serum of rabbits, *Bull. experiment biology and medicine*, **3**, 340 (1988).
35. Shabaturova N. N. The mechanism of the origin of biological rhythms infradian, *Advances Fiziol. Sciences*, **20**, **3**, 83 (1989).
36. Rakova N., Jüttner K., Dahlmann A., Schröder A. [et. al.] Long-term space flight simulation reveals infradian rhythmicity in human Na (+) balance, *Cell Metab.*, **8**, **17(1)**, 125 (2013).
37. Kovalchuk A. V., Chernyshev M. K. Multi-day biorhythms of physiological processes and some issues of the relationship of the human body with the dynamics of changes in the environment, *Theoretical and applied aspects of the analysis of the temporal structure of the organization of biorhythms*, 112 (M., 1976).
38. Chirkova E. N., Suslov L. S., Bamenko M. M. [et al.] Monthly and daily biorhythms amylase serum of healthy men and their relationship with the rhythms of the environment, *Laboratory business*, **4**, 40 (1990).
39. Breus T. K., Cornelissen S. ZH., Bingham S. [et al.] Influence of geomagnetic and solar activity on cardiovascular and other chronoepidemiology, *Chronobiology and chronomedicine and the influence of heliogeophysical factors on the human body*, 146 (M., 1992).
40. Wever R. Einfluss schwacher elektro-magnetischer felder auf die circadiane periodizität des menschen, *Naturwissenschaften*, **55**, 29 (1968).
41. Borodin Yu. I., Letyagin Yu. The reaction of the lymphoid system of circadian rhythms on a deep screening of the Earth's geomagnetic field, *Bulletin of Environmental Biology and Medicine*, **2**, 191 (1990).
42. Yarmolyuk N. S., Temuryants N. A. *Reactions planarian Dugesia tigrina on the effect of electromagnetic factors (biorythmological analysis)*, 169 p. (Monograph. Saarbrücken: LAP Lambert Academic Publishing, 2012).
43. Gorelkin A. G., Trofimov A. V. *Slow oscillatory processes in the geomagnetic shielding, Rhythm problems in natural materials of the second international symposium*, 111. (Moscow, 2004).
44. Chibisov S. M., Ovchinnikova L. K., Breus T. K. Biological rhythms of the heart and "external" stress, 250 (M. RUDN, 1998).
45. Arkhangelskaya E. V. *Dynamics of the higher nervous activity of rats against the background of heliogeophysical fluctuations*, 19. (Simferopol, 1992).
46. Martynyuk V. S. On the issue of synchronizing the action of ELF magnetic fields on biological systems, *Biophysics*, **37**, **4**, 569 (1992).

47. Martynyuk V. S., Martyniuk S. B. *Effect of weak electromagnetic fields of extremely low frequencies in the ultradian rhythms of physiological processes*, Proceedings of the symposium "The correlation of biological and physico-chemical processes in solar activity and other environmental factors.", 115 (Pushchino, 1993).
48. Temuryants N. A., Kostyuk A. S., Yarmolyuk N. S., Tumanyants K. N. Features of the combined action of hypokinetic stress and X-ray radiation on nonspecific resistance of rats, *Uch. zap Tavrus nat. un-that them. V.I. Vernadsky. Ser. Biology, Chemistry*, **20, 3**, 107 (2007).
49. Breus T. K., Rapoport S. I. *Magnetic storms – biomedical and geophysical aspects*, 192 (M.: Soviet Sport, 2003).
50. Mitsutake G., Otsuka K., Hayakawa M. [et. al.] Does Schumann resonance affect our blood pressure? *Biomedicine & pharmacotherapy Biomedecine & pharmacotherapie*, **59 (1)**, 10 (2005).
51. Kolesnik A. G., Kolesnik S. A., Pobachenko S. V. *Electromagnetic Ecology*, 334 (Tomsk State. University, Tomsk, 2009).
52. Yarmolyuk N. S. *Bioritmologicheskii podkhod k analizu reaktsiy planariy Dugesia tigrina na deystviye slabogo elektromagnitnogo ekranirovaniya*, 20 (Simferopol', 2011).
53. Martynyuk V. S., Temuryants N. A. Magnetic fields of extremely low frequency as a factor of modulation and synchronization of the infradian rhythmicity in animals, *Geophysical processes and biosphere*, **8, 1**, 36 (2008).

УДК 579.67:579.872.1

ИДЕНТИФИКАЦИЯ И ОСНОВНЫЕ БИОЛОГИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА ПРОПИОНОВОКИСЛЫХ БАКТЕРИЙ

Хаева О. Э.¹, Икоева Л. П.², Цугжиев Б. Г.³

¹*ФГБОУ ВО «Северо-Осетинский государственный университет имени Коста Левановича Хетагурова», Владикавказ, РСО-Алания, Россия*

²*ФГБНУ ФНЦ «Владикавказский научный центр Российской академии наук – Северо-Кавказский научно-исследовательский институт горного и предгорного сельского хозяйства», с. Михайловское, РСО-Алания, Россия*

³*ФГБОУ ВО «Горский государственный аграрный университет», Владикавказ, РСО-Алания, Россия*

E-mail: oksana_haeva@mail.ru

Представлены материалы по изучению биологических свойств штаммов пропионовокислых бактерий, выделенных из образцов квашенной капусты и томатов. По морфологическим признакам клетки выделенных штаммов – неподвижные палочки, не образующие спор и окрашивающиеся по Граму положительно. Определена способность штаммов ферментировать углеводы в биохимических тестах. В результате проведенных исследований изучаемые штаммы бактерий были отнесены к *Propionibacterium freudenreichii*, *Propionibacterium jensenii*. Изучена устойчивость штаммов микроорганизмов к действию агрессивных химических факторов среды. Культуры пропионовокислых бактерий характеризуются устойчивостью к секретам желудочно-кишечного тракта.

Ключевые слова: род *Propionibacterium*, *Propionibacterium freudenreichii*, *Propionibacterium jensenii*, пропионовокислые бактерии, штамм, идентификация, желчестойчивость.

ВВЕДЕНИЕ

В последние годы биотехнологические исследования направлены на создание эффективных продуктов функционального питания и совершенствование выпускаемых форм этих пробиотических препаратов на основе живых культур микроорганизмов для коррекции микрофлоры человека и для лечения патологических состояний организма, поэтому поиск новых видов микроорганизмов для использования их в производстве пробиотических препаратов продолжается многими исследователями [1–3]. Пропионовокислые бактерии способны активно продуцировать экзометаболиты – витамин В₁₂, пропионовую и фолиевую кислоты, и снижать генотоксическое влияние ряда химических соединений и УФ – лучей за счет высоких иммуногенных и антимуtagenных свойств [4, 5], благодаря чему наряду с бифидо- и лактобактериями успешно используются для создания пробиотических препаратов [3, 6].

Цель нашей работы - выделение чистых культур пропионовокислых бактерий, определение их видовой принадлежности на основе физиолого-биохимических тестов и изучение их биологических свойств.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Источниками для выделения штаммов пропионовокислых бактерий были образцы квашеной капусты и томатов. Выделение культур микроорганизмов проводили в жидких питательных средах – молочно-кальциевом бульоне и кукурузно-глюкозной среде рН до автоклавирования 7,0–7,2. Бактериальные изоляты культивировали при 36±1 °С в течение 5 суток [5].

Выделение чистых культур проводили методом Дригальского, с последующей доочисткой методом посева «штрихом», как это принято в работах по микробиологии [7].

Для исследования морфологических особенностей колоний исследуемых штаммов применяли кукурузно-глюкозный агар. Бактериальные изоляты культивировали при 36±1 °С в течение 5 суток [5]. При их описании учитывали следующие признаки: профиль, форма, размер, поверхность, блеск и прозрачность, цвет, край, структура и консистенция.

Идентификацию пропионовокислых бактерий проводили на основе физиолого-биохимических тестов [7]. Штаммы идентифицировались до вида с помощью диагностических ключей определителя бактерий Берджи [8] и с учетом характеристик этих микроорганизмов в первоисточниках [4].

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Впервые в условиях РСО-Алания выделены изоляты пропионовокислых бактерий из образцов квашеной капусты и томатов. Результаты первичного выделения местных штаммов приведены в таблице 1.

Таблица 1

Характеристика выделенных штаммов

№	Шифр штамма	Источник выделения	Микроскопическая
1	АС-1	Квашенная капуста	Монококки
2	АС-2	Квашенная капуста	Диплококки
3	АС-3	Квашенная капуста	Монококки
4	АС-4	Квашенная капуста	Палочки
5	АС-5	Квашенная капуста	Палочки
6	АС-6	Квашенная капуста	Диплококки
7	АС-7	Квашенная капуста	Палочки
8	АС-8	Томаты	Монококки
9	АС-9	Томаты	Палочки
10	АС-10	Томаты	Тетракокки
11	АС-11	Томаты	Монококки
12	АС-12	Томаты	Диплококки

В процессе предварительных исследований из выделенных 12 штаммов было отобрано 4 штамма микроорганизмов палочковидной формы (АС–4, АС–5, АС–7, АС–9), с наиболее стабильными технологическими свойствами (табл. 1).

Для определения таксономического статуса штаммов АС–4, АС–5, АС–7, АС–9 были изучены диагностические важные признаки (культуральные, морфологические, физиологические и биохимические).

Морфологически – это неспорообразующие, неподвижные, грамположительные, слегка овальные палочки, одиночные или расположенные парами. Толщина клеточной стенки с возрастом культуры несколько менялась, находясь в пределах 21,0–25,0 нм. При окрашивании раствором ацетата свинца можно различить два слоя клеточной стенки. На микропрепаратах, приготовленных методом отрицательного контрастирования, обнаруживали большое число мембранных телец. На твердой питательной среде штаммы образуют колонии кремового цвета. Колонии выпуклые, гладкие, полупрозрачные, край гладкий. По штриху рост умеренный, видна цепь изолированных колоний. В жидких питательных средах образуют тяжелый тянущийся осадок.

Метаболизм пропионовокислых бактерий бродильный, но они могут расти и в присутствии кислорода (факультативные анаэробы). Штаммы рода *Propionibacterium* являются гомоферментативными, способны к росту в средах с углеродсодержащими соединениями [4]. Данная характеристика важна для штаммов микроорганизмов, поскольку позволяет определить целесообразность их применения в составе закваски для конкретного молочного продукта [2]. Изучаемые штаммы были проанализированы по способности к сбраживанию углеводов. Штаммы АС–4, АС–5, АС–7 сбраживают лактозу, глюкозу, галактозу, фруктозу, рамнозу, маннозу, не сбраживает мальтозу, сахарозу; маннит, сорбит, арабинозу, раффинозу, ксилозу, дульцит. Штамм АС–9 сбраживает мальтозу, сахарозу, лактозу, глюкозу, галактозу, фруктозу, маннозу, раффинозу, сорбит, не сбраживает маннит, арабинозу, ксилозу, рамнозу, дульцит. Культуры исследуемых штаммов не восстанавливают нитраты и не разжижают желатин.

На основании анализа материалов исследования культуральных, морфологических и биохимических свойств выделенные местные штаммы были отнесены к роду *Propionibacterium*. Штаммы АС–4, АС–5, АС–7 мы отождествляем с видом *Propionibacterium freudenreichii*, штамм АС–9 – с видом *Propionibacterium jensenii*.

Изучение влияния на исследуемые пропионовокислые бактерии фенола, хлористого натрия и соляной кислоты показало, что исследуемые штаммы способны противостоять химически агрессивным факторам среды (табл. 2).

Как следует из данных таблицы 2, штамм АС–9 бактерий рода *Propionibacterium* продолжал расти в присутствии 0,4 %-ной концентрации фенолов в среде культивирования. Штаммы АС–4, АС–5, АС–7 проявили меньшую фенолоустойчивость: максимальная концентрация фенолов, при которой наблюдался рост культур данных штаммов, составила всего 0,2 %. Бактерии рода *Propionibacterium* оказались и достаточно солеустойчивыми. Рост клеток наблюдался при 4 % хлористого натрия в среде культивирования для штаммов

АС-4, АС-5, АС-9, а штамм АС-7 развивался при более низкой концентрации поваренной соли – 5,5 %.

Таблица 2

Устойчивость пропионовокислых бактерий к химически агрессивным факторам среды

Фактор среды	Концентрация в среде культивирования, %	Штаммы пропионовокислых бактерий			
		АС-4	АС-5	АС-7	АС-9
фенол	0,4	–	–	–	+
	0,2	+	+	+	+
хлорид натрия	2,0	+	+	+	+
	4,0	+	+	+	+
	5,5	–	–	+	–

Условные знаки: «+» – положительный результат, «–» – отрицательный результат.

Устойчивость выделенных штаммов пропионовокислых бактерий к действию соляной кислоты была изучена на жидкой питательной кукурузно-глюкозной среде, засеянной тестируемыми бактериями, устанавливая соляной кислотой значения рН от 2,0 до 4,0. Изучаемые штаммы показывают не только хорошую устойчивость к низким рН, но и способность к дальнейшему росту и размножению.

На рисунке 1 представлен график выживаемости исследуемых штаммов пропионовокислых бактерий к действию кислой реакции среды.

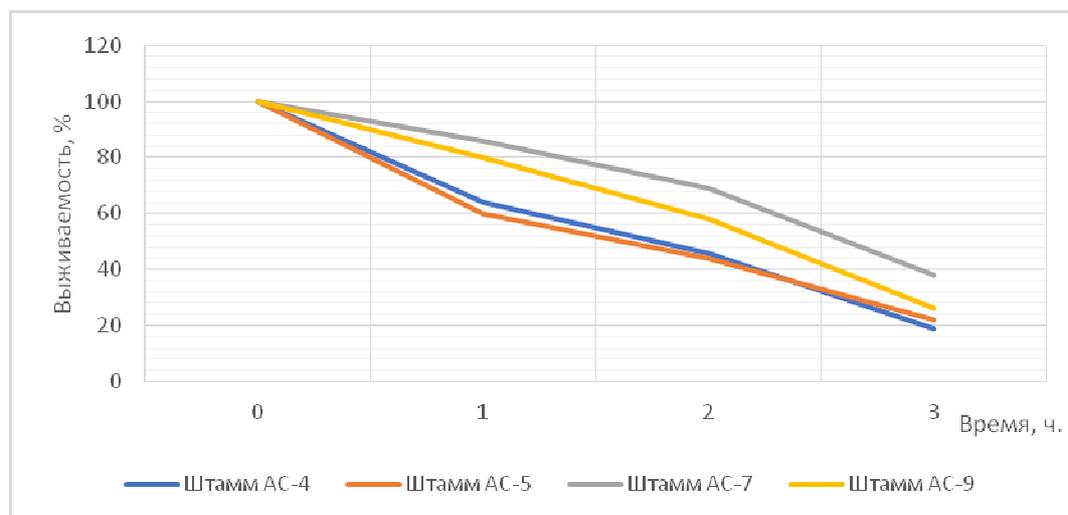


Рис. 1. Выживаемость при рН 2 штаммов рода *Propionibacterium* АС-4, АС-5, АС-7, АС-9.

Как видно из рис.1, заметное снижение количества жизнеспособных клеток происходит с увеличением времени инкубации. Выживаемость культур вида *Propionibacterium freudenreichii* значительно варьировала, так при pH 2 через 1 час инкубации количество жизнеспособных клеток для штамма АС-7 составляет 86 %, а для штаммов АС-4 и АС-5 сохраняется соответственно 64 и 60 %. Устойчивость к кислотности и выживаемость штамм АС-9 вида *Propionibacterium jensenii* составляла 80 % количества жизнеспособных клеток.

Таким образом, изученные физиолого-биохимические свойства (достаточно высокая степень феноло-, соле- и кислотоустойчивости) является доказательством приспособленности изучаемых микроорганизмов к агрессивным химическим факторам среды.

При отборе пробиотических штаммов – одной из важнейших характеристик, является их резистентность к желудочному соку. Желчь поступает в дуоденальный отдел тонкого кишечника, что обуславливает отмирание большого количества бактерий, так как их клеточные мембраны, состоящие из липидов и жирных кислот, очень чувствительны к солям желчных кислот. В связи с этим эффективность пробиотических микроорганизмов зависит от их устойчивости к желчи [3]. Жизнеспособность изучаемых штаммов пропионовокислых бактерий в желудочном соке изучали путем выращивания суточной культуры микроорганизмов на кукурузно-глюкозной среде, содержащей концентрат аптекарской желчи в количестве – 0,3 % и 0,5 %. Бактериальный рост анализировался путем подсчета жизнеспособных колоний после 0, 2 и 4 часа культивирования и при дальнейшем инокулировании в кукурузно-глюкозный агар при 37 °С в течение 48 часов [5]. Штаммы исследуемых культур пропионовокислых бактерий показали значительную устойчивость к действию желчи. Было установлено, что увеличение времени инкубации и концентрата желчи в питательной среде до 0,5 %, приводит к снижению количества жизнеспособных клеток.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, выделенные штаммы бактерий в соответствии с определителем бактерий Берджи [8] были отнесены к роду *Propionibacterium*. Результаты исследования культурально-морфологических и физиолого-биохимических свойств позволяют выделенные и исследуемые штаммы предварительно отнести штаммы АС-4, АС-5, АС-7 к виду *Propionibacterium freudenreichii*, штамм АС-9 – виду *Propionibacterium jensenii*. Исследуемые штаммы показали хорошую устойчивость к агрессивным факторам среды, низким значениям pH и действию желчи, что является косвенным показателем жизнеспособности клеток, которая возможно служит основанием для дальнейшего изучения выделенных новых штаммов пропионовокислых бактерий в качестве основы пробиотических препаратов.

Список литературы

1. Saarela R. Probiotic bacteria: safety, functional and technological properties / R. Saarela, G. Mogensen, R. Fonden, J. Matto, S. Matilla // Journal of Biotechnology. – 2000. – Vol. 84. – P. 197–215.

2. Карапетян К. Дж. Сравнительная оценка ряда свойств новых штаммов молочнокислых бактерий / К. Дж. Карапетян // Биолог. журн. Армении. – 2009. – № 4 (61). – С. 36–42.
3. Хамагаева И.С. Исследование пробиотических свойств комбинированной закваски / И. С. Хамагаева, И. В. Бояринаева, Н. Ю. Потапчук // Техника и технология пищевых производств. – 2013. – № 1 (28). – С. 54–58.
4. Воробьева Л. И. Пропионовокислые бактерии / Л. И. Воробьева. – М.: Изд-во МГУ, 1995. – 288 с.
5. Хаева О. Э. Выделение и изучение пропионовокислых бактерий к кислотному стрессу / О. Э. Хаева, Л. П. Икоева // Известия ГГАУ. – 2018. – Т. 55, Ч. 2, № 2. – С. 152–156.
6. Кузнецова Т. В. Выделение и селекция пропионовокислых бактерий, обладающих анганостической активностью / Т. В. Кузнецова, А. Е. Халымбетова, М. Г. Саубенова // Actualscience. – 2015. – Т. 1, № 2. – С. 19–20.
7. Прунтова О. В. Лабораторный практикум по общей микробиологии / О. В. Прунтова, О. Н. Сахно. – Владимир: Изд-во ВлГУ, 2005. – 76 с.
8. Определитель бактерий Берджи: В 2 т. – Т. 2.– Пер. с англ. / Под ред. Дж. Хоулта, Н. Крига, П. Снита, Дж. Стейли, С. Уильямса. – М.: Мир, 1997. – 325 с.

IDENTIFICATION AND BASIC BIOLOGICAL PROPERTIES OF PROPIONIC ACID BACTERIA

Khaeva O. E.¹, Ikoeva L. P.², Tsugkiev B. G.³

¹*FSBEI HE North Ossetian State University after Kosta Levonovich Khetagurov, Vladikavkaz, Russia*

²*Federal Agency of Scientific Organizations North Caucasus Research Institute of Mountain and Foothill Agriculture, RAS, village Mikhaylovskoye, Russia*

³*FSBEI HE Gjrsky State Agrarian University, Vladikavkaz, Russia*
E-mail: oksana_haeva@mail.ru

The materials on studying of biological properties of the propionic aced bacteria strains isolated on samples of sauerkraut and tomatoes were displayed. The studies were conducted in the laboratory of Microbiology, Research Institute of Biotechnology, FSBEI HE Gorsky State Agrarian University. On morphological features of a cage of the allocated strains are fixed bacilli, which aren't argumentative and staining by Gram is positive. The ability of strains to ferment carbohydrates in biochemical tests was defined. The cultures of the studied strains are not restored nitrates and are not gelatinolytic. The research results showed that the studied bacterial strains of AC-4, AC-5, AC-7 were related as *Propionibacterium freudenreichii* and a strain of AC-9 – *Propionibacterium jensenii*. Resistance of strains of microorganisms to action of aggressive chemical factors of the environment is studied. The cultures of propionic aced bacteria are characterized by resistance to the secrets of the gastro-intestinal tract. The study of propionic acid bacteria tolerance to acid showed that the different amounts of bile and the incubation time of cells of isolated propionic acid bacteria strains influenced their survival. The survival of a strain of AC-7 of propionic aced bacteria at pH 2 in 1 hour of an incubation was 86 %, and for a strain of AC-4, AC-5 and AC-9 remain 64, 60 and 80 % of the number of viable cells. The study of propionic acid bacteria tolerance to bile showed that the different amounts of

bile and the incubation time of cells of isolated propionic acid bacteria strains influenced their survival.

Keywords: *Propionibacterium*, *Propionibacterium freudenreichii*, *Propionibacterium jensenii*, propionic acid bacteria, strain, identification, bile tolerance.

References

1. Saarela R., Mogensen G., Fonden R., Matto J., Matilla S., Probiotic bacteria: safety, functional and technological properties, *Journal of Biotechnology*, **84**, 197 (2000).
2. Karapetyan K. J., Comparative evaluation of a number of properties of new strains of lactic acid bacteria *Biological. journal of Armenia*, **4(61)**, 36 (2009).
3. Khamagaev I. S., Boyarinoва I. V., Potapchuk N. Yu., The study of the probiotic properties of combined sourdough, *Technique and technology of food production*, **1 (28)**, 54 (2013).
4. Vorobyova L. I., Propionic acid bacteria, 288 (*publ. of the Moscow State University*, 1995).
5. Khaeva O. E., Ikoeva L. P., Isolation and study of propionic acid bacteria resistance to acid stress, *Proceedings of Gorsky State Agrarian University*, **55 (2), 2**, 152 (2018).
6. Kuznetsova T. V., Khalymbetova A. E., Saubenova M. G., Isolation and selection of propionic acid bacteria having an antagonistic activity, *Actualscience*, **1, 2**, 19 (2015).
7. Pruntova O. V., Sahnо O. N., Laboratory workshop on general microbiology, 76 (*publ. of the Vladimir State University*, 2005).
8. Hoult J., Krieg N., Snita P., Staley J., Williams S., *Bergey's manual of determinative bacteriology*, 1 vol., 325 (Mir Publishing House, Moscow, 1997).

УДК 616-009.62/550.38

ДИНАМИКА ОБЩЕЙ ДВИГАТЕЛЬНОЙ АКТИВНОСТИ КРЫС-САМЦОВ В УСЛОВИЯХ ЧЕТЫРНАДЦАТИДНЕВНОГО ЭЛЕКТРОМАГНИТНОГО ЭКРАНИРОВАНИЯ

Хусаинов Д. Р., Туманянц К. Н., Можаровская И. А., Усова В. В.

*Таврическая академия (структурное подразделение) ФГАОУ ВО «Крымский федеральный университет имени В. И. Вернадского», Симферополь, Республика Крым, Россия
E-mail: gangliu@yandex.ru*

В ходе исследовательской работы была рассмотрена четырнадцатидневная динамика изменения двигательной активности крыс-самцов при трехкратном десятиминутном тестировании в установке «Ротарод» в норме и в условиях электромагнитного экранирования. Выявлен периодический характер сокращения времени нахождения животных на барабане установки в контрольной группе с пиком на 7-е сутки ($p \leq 0,05$) на первом десятиминутном этапе; на втором и на третьем десятиминутном этапах достоверные отличия от максимальной (фоновой) продолжительности нахождения крыс в установке «Ротарод» у контрольной группы отсутствовали. В экспериментальной группе эти пики приходились на 5–7-е сутки на первом десятиминутном этапе ($p \leq 0,05$); на втором – на 5 и 6-е ($p \leq 0,05$); на третьем – на 6 и 7-е сутки ($p \leq 0,05$). Между исследуемым показателем крыс контрольной и экспериментальной групп достоверные отличия проявлялись на 5-е и 6-е сутки на первом и втором этапах и на 6-е и 7-е сутки на третьем этапе. При этом, значения экспериментальной группы были меньшими по сравнению с показателем контрольной группы соответствующего дня исследования при уровне значимости $p \leq 0,05$.

Ключевые слова: двигательная активность, экранирование, крысы, период.

ВВЕДЕНИЕ

На изменение двигательной активности животных в условиях гипомангнитной среды обращалось внимание ещё с середины XX века. К примеру, Т. Рыскановым было оказано воздействие 257 МП разной индукции на крыс. Увеличение двигательной активности фиксировалось примерно в 70 % случаев, и с увеличением индукции увеличивался эффект [1]. Также канадский ученый М. Перзингер отметил увеличение двигательной активности грызунов во время магнитной бури 5–6 июля 1974 г [2]. Снижение двигательной активности у мышей линии СВА в ослабленном МП показала З. Н. Нахильницкая с соавторами [3], число движений уменьшалось приблизительно на 30 %. Также Копанёв и др. в своей статье рассказывали об опытах совершенных американскими исследователями Халперном и Ван Дейком на мышцах линии Свисс-Уебстер, находившихся в течении нескольких поколений в гипогеомагнитном поле и отмеченным ими снижением двигательной активности [4]. Исследования влияния физических факторов и гипомангнитной среды на двигательную активность, физическую выносливость, работоспособность активно продолжается и в наши дни. Так показано угнетение двигательной активности крыс

при облучении микроволновым излучением [5], подавление активности нейронов и ЦНС [6, 7], двигательной активности [6, 8] в гипомагнитных условиях. В подавляющем большинстве исследований магнитный фон снижается значительно, но в обычных условиях животные и человек сталкиваются с заметно меньшим уровнем экранирования (метро, банковские хранилища и т.д.). Кроме того, в исследованиях физиологических эффектов не столь выраженного экранирования существует целый ряд противоречий и особенно в биоритмологическом аспекте. В связи с указанным, в настоящем исследовании мы поставили задачу выяснить динамику общей двигательной активности крыс в четырнадцатидневный период электромагнитного экранирования приближенного к условно умеренному подавлению электромагнитного фона.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Для исследования были выбраны 20 белых крыс-самцов линии Wistar, со средним весом, приблизительно 180–200 г, одного возраста (около 6 месяцев), со средней двигательной активностью. Животные до эксперимента содержались в стандартных условиях вивария, по состоянию здоровья – условно здоровые. Отбор животных со средней двигательной активностью был проведен по стандартной методике в тесте «открытое поле» [9]: вертикальная двигательная активность 5–7 усл.ед. – число подъемов на задние лапы, горизонтальная двигательная активность 24–28 усл.ед. – число пересечений секторов и низкой эмоциональностью 0–1 усл.ед. – число болюсов и уринаций. Все отобранные животные оставались на барабане установки «Ротарод» в течение 10 минут со скоростью вращения 25 об/мин. Выбранных крыс разделяли на две группы по 10 особей и помещали в ящики размером 790×450×390 мм полупрозрачного пластика, крышки и стенки которых имели вентиляционные отверстия. Обеспечивался свободный доступ животных к стандартному для грызунов корму и воде. После отбора крысы помещались в стандартные условия вивария на 10 дней для социальной адаптации и предотвращения эффекта наслоения тренировки на исследовательский процесс. Затем, в тестовый период контейнеры с животными экспериментальной группы (n=10) помещались в экранирующую камеру ежедневно с 15⁰⁰ до 10⁰⁰ ч следующего дня, т.е. они находились в условиях ЭМЭ 19 часов в сутки в течение 14 дней. Экранирующая камера представляет собой комнату размером 2х3х2 м, изготовленную из железа «Динамо». Внутри комнаты находится контур из колец Гельмгольца. Коэффициент экранирования BDC составляет для вертикальной составляющей 4,3, для горизонтальной – 20. Внутри камеры для частот выше 170 Гц и в области частот от 2×10^{-3} до 0,2 Гц уровень спектральной плотности магнитного шума ниже 10 нТл/Гц. Коэффициент экранирования камеры на частотах 50 и 150 Гц порядка трех. На частотах больше 1 МГц имеет место практически полное экранирование. Крысы контрольных групп в этот четырнадцатидневный период не были подвержены воздействию ЭМЭ и находились в помещении вблизи экранирующей камеры. При этом, все сопутствующие условия содержания обеих групп: освещенность, температура и т.д. создавались максимально идентичными.

Освещенность внутри и вне камеры, а также внутри ящиков измерялась с помощью люксметра ТКЛ-ПКМ (модель 63). Внутри ящиков освещенность колебалась от 0.1 до 0.2 лк, внутри экранирующей камеры и в лаборатории, где содержались крысы контрольной группы, освещенность была такого же уровня, а в лаборатории, в которой проводили тестирование и уборку клеток, колебалась от 480 до 500 лк. Цикл свет\темнота составлял классическое соотношение 12/12 часов. В этот четырнадцатидневный экспериментальный период всех крыс переносили в лабораторию этологии к 10⁰⁰ часам, где они до 13⁰⁰ имели возможность успокоиться и привыкнуть к обстановке лаборатории. Затем с 13⁰⁰ до 15⁰⁰ животные тестировались на установке «Ротарод», по методике, указанной далее.

Установка «Ротарод» предназначена для исследования общей двигательной активности (выносливости) и равновесия, а также двигательных дисфункций, хронического стресса и прочего. Механизм представляет собой вращающийся стержень с лопастями (барабан) позволяющий одновременно проводить тестирование на 4-х крысах. Установка оснащена инфракрасными сенсорами для регистрации падения животных. Также в комплект входит решетчатый пол для электростимуляции, в случае необходимости создать мотивацию для избегания падения. При подключении к ПК возможно использование различных сценариев изменения скорости вращения. Линейные размеры установки 500*260*420 мм. Радиус барабана составляет 185 мм, а диаметр стержня 70 мм. Скорость вращения стержня от 4 до 25 оборотов в минуту. Управление аппаратно-программным комплексом «Ротарод» осуществляется с помощью ПК через USB-кабель или с запуском с панели управления. Для данной установки нет единого принятого протокола эксперимента. Однако, стоит отметить, что тест в большинстве случаев проводят каждые 10 минут на протяжении 60–90 минут. И регистрируется либо максимальная скорость на которой фиксировалось падение животного с вращающегося стержня, либо время удержания животного на установке [10–12].

Удержание равновесия на ротароде не является результатом повышения общей двигательной способности, а следствие внесения изменений в двигательную стратегию, чтобы освоить задачу. Нормальное животное после обучения может поддерживать свое равновесие на неопределенный срок времени. Навыки приобретаются путем обучения. Эффективность навыка обычно выходит на плато после определенного числа его повторений, которое зависит от сложности и новизны задачи. Сложные навыки требуют повторных тренировок с межсессионными периодами отдыха. В целом, обучение с перерывами является более эффективным, чем непрерывное обучение. Перед тестированием необходимо провести тренировочные сессии для привыкания животных к удержанию равновесия на установке. Однако, не существует общепринятой методики, устанавливающей необходимые параметры ротарода для отбора или тестирования животных [10, 13, 14].

Как уже было отмечено, в нашем исследовании отбирались животные, которые оставались на барабане установки «Ротарод» в течение 10 минут со скоростью вращения 25 об/мин. Затем, в экспериментальный период животные тестировались по 10 минут (600 секунд) в 3 этапа на скорости 25 об/мин, фиксировалось время

падения животных, если они падали ранее, чем истекут 600 секунд. Между этапами время отдыха животных составляло также 600 секунд. Во время отдыха одной из групп тестируемых крыс, на установке проводилось исследование другой группы. Следовательно, в указанном методическом подходе двигательная активность животных оценивается по нескольким составляющим: удержание равновесия (координация), физическая выносливость и, с учетом четырнадцатидневной длительности исследования, процесс тренировки. Далее при описании результатов исследования мы будем употреблять понятие двигательная активность, подразумевая указанные составляющие.

Эксперименты были проведены с использованием принципов биоэтики согласно Европейской конвенции о защите позвоночных животных, используемых в экспериментах или прочих научных исследованиях (Directive 2010/63/EU, Страсбург, 2010).

Статистическую обработку данных проводили в программе GraphPad Prism 7 используя непараметрический критерий Данна. При этом, сравнение проводилось между контролем и группой ЭМЭ, а также с максимальным временем каждого этапа (600 с), которое принято за фоновые показатели.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Анализ динамики общей двигательной активности крыс-самцов в трех десятиминутных этапах эксперимента

При анализе экспериментальных данных было выяснено, что на первом десятиминутном этапе нахождения животных в установке «Ротарод» на протяжении четырех суток крысы как контрольной, так и экспериментальной групп выдерживали предъявляемую нагрузку и продолжали находиться на движущемся барабане установки вплоть до его останова (рис. 1).

Начиная с пятых суток эксперимента наблюдалось сокращение времени нахождения животных на барабане установки «Ротарод». Так, у животных контрольной группы обнаружено достоверное ($p < 0,05$) сокращение этого показателя по сравнению с фоном (600 с) только на седьмые сутки, хотя в предшествующие два дня наблюдается постепенное снижение времени нахождения крыс в установке «Ротарод». У животных группы ЭМЭ подавление двигательной активности проявлялось в такой же временной интервал, но с заметно более выраженными изменениями. Достоверное падение длительности нахождения крыс в установке «Ротарод» по сравнению с фоном (600 с) проявлялось на 5–7-е сутки эксперимента. На пятые сутки показатель времени составлял 473 ± 32 с при $p < 0,05$ по сравнению с фоном, на шестые – $388 \pm 58,1$ с ($p < 0,05$) и на $477 \pm 79,6$ с ($p < 0,05$).

Практически в этот же период отмечены и достоверные отличия между контрольной группой и группой ЭМЭ. Так, на пятые и шестые сутки исследования время нахождения животных группы ЭМЭ на барабане ротарода достоверно меньше по сравнению с контролем при $p < 0,05$.

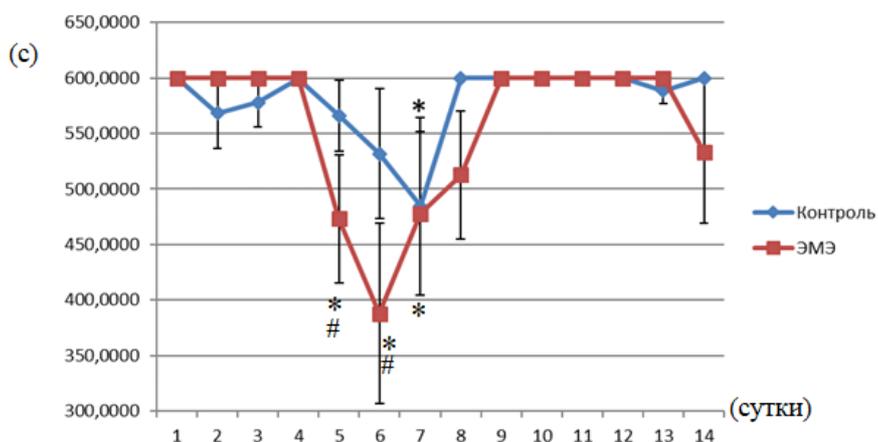


Рис. 1. Динамика двигательной активности крыс-самцов на установке «Ротарод» в первый десятиминутный этап.

Примечания: по оси x отмечены дни эксперимента, по оси y время нахождения крыс в установке (в секундах). * – отмечены дни в которые наблюдалось достоверное отличие от максимальной (фоновой) продолжительности нахождения крыс в установке «Ротарод» ($p < 0,05$), # – отмечены дни в которые наблюдалось достоверное отличие экспериментальной группы от контрольной ($p < 0,05$).

При анализе данных, полученных во время второго десятиминутного этапа тестирования на установке «Ротарод» отмечено снижение показателя двигательной активности у животных экспериментальной группы, в то время как животные контрольной группы удерживались на вращающемся стержне вплоть до его остановки. И лишь с пятого дня отмечается некоторое снижение двигательной активности у контрольных животных, но эти колебания не достигают достоверного уровня значимости. И, напротив, животные, подвергавшиеся экранированию, показывали большее снижение двигательной активности, которое на пятые и шестые сутки достигало достоверного уровня отличий, как от фоновых показателей, так и от контрольных значений (рис. 2). На пятые сутки эксперимента время нахождения животных группы ЭМЭ в установке «Ротарод» находилось на уровне $454 \pm 41,8$ с, на шестые – $435 \pm 38,6$ с ($p < 0,05$ по сравнению с фоном и контролем в оба указанных дня).

В третий десятиминутный этап нахождения крыс в установке «Ротарод» животные контрольной группы на протяжении всего четырнадцатидневного эксперимента не проявляли значимого изменения показателя двигательной активности и не было выявлено достоверных отличий от фоновых показателей (рис. 3).

У животных, подвергавшихся ЭМЭ, к третьему десятиминутному этапу эксперимента достоверное сокращение времени нахождения на барабане установки «Ротарод» наблюдается на 6 и 7-е сутки эксперимента, в которые указанный показатель снижался до $430 \pm 82,2$ с ($p < 0,05$, по сравнению с фоном) и до 457 ± 92 с ($p < 0,05$, по сравнению с фоном). Также фиксируется сокращение этого показателя

на 2-е и 10-е сутки исследования, но в эти дни изменения не достигают достоверного уровня значимости.

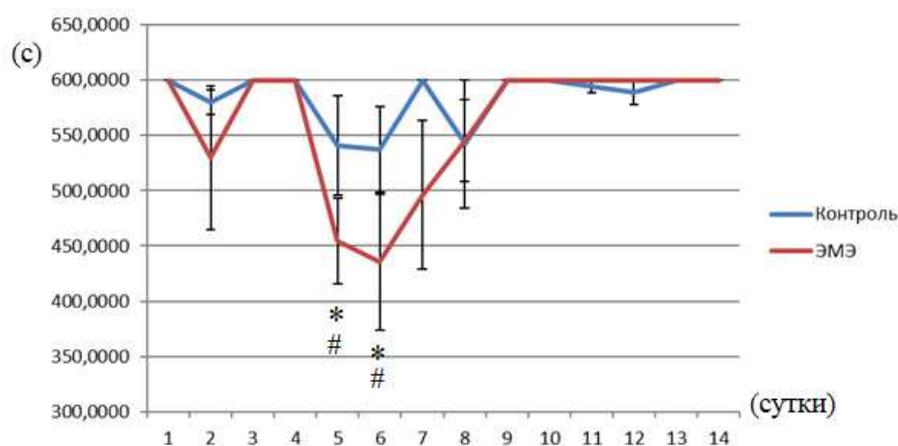


Рис. 2. Динамика двигательной активности крыс-самцов на установке «Ротарод» во второй десятиминутный этап.
Примечания: обозначения такие же, как и на рис. 1.

При сравнении двигательной активности двух групп между собой достоверные отличия обнаружены на 6 и 7-е сутки эксперимента при $p < 0,05$, что предсказуемо, т.к. именно в эти дни наблюдался пик угнетения двигательной активности животных группы ЭМЭ.

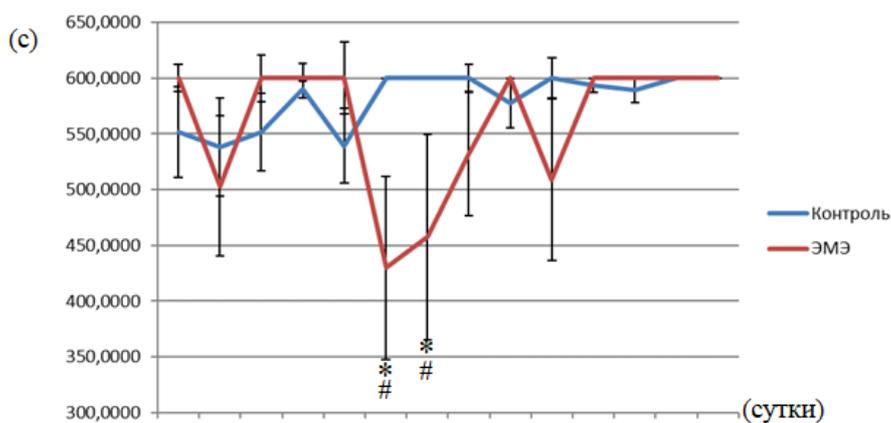


Рис. 3. Динамика двигательной активности крыс-самцов на установке «Ротарод» в третий десятиминутный этап.
Примечания: обозначения такие же, как и на рис. 1.

Таким образом, в ходе исследовательской работы была рассмотрена четырнадцатидневная динамика изменения двигательной активности крыс-самцов в норме, выявлена слабо выраженная периодичность ее угнетения с достоверным сокращением времени нахождения на барабане установки «Ротарод» только в первом десятиминутном этапе; в остальные два этапа все отклонения не достигали необходимого уровня значимости.

Двигательная активность животных, подвергшихся четырнадцатидневному ЭМЭ, демонстрировала гораздо более выраженные изменения во всех трех десятиминутных этапах тестирования в установке «Ротарод». И, как следствие, периодичность изменений двигательной активности животных группы ЭМЭ имело более явный характер. На первом десятиминутном этапе тестирования пик угнетения двигательной активности крыс группы ЭМЭ приходился на 5–7-е сутки эксперимента. В контрольной группе условно (в силу достоверного падения только на 7-е сутки) с пятых по 7-е сутки эксперимента. В последующих этапах, особенно на третьем, разобщение между направленностью изменений в контрольной группе и группе ЭМЭ становится еще более выраженным.

Такие данные, помимо прочего, являются предпосылкой для проведения биоритмологического анализа и предполагается могут свидетельствовать о фазовом биоритмологическом сдвиге, неоднократно отмеченным различными авторами [15, 16].

Анализ биоритмологической составляющей физической выносливости крыс-самцов контрольной и экспериментальной групп на протяжении четырнадцатидневного исследования.

Для того чтобы подтвердить наличие периодичности в пиках и спадах физической выносливости у животных обеих групп был проведен анализ Фурье, в каждом десятиминутном этапе в установке «Ротарод». Так, на первом этапе выявлены более длинные ритмы порядка пяти суток и короткие в пределах 2–3 суток (табл. 1) При этом, у животных обеих групп наблюдается совпадение ритмов продолжительностью 4,7 суток. Но более короткодневные периоды имеют заметное отличие со смещением порядка от 0,3 до 1,3 дня (табл. 1). Следовательно, в короткодневных периодах происходит фазовое смещение в сторону укорочения ритмов у животных, подвергнутых действию умеренного ЭМЭ. Такое фазовое опережение у экспериментальной группы животных ярко проявляется на первом десятиминутном этапе, что хорошо видно на рисунке 1.

Во время второго десятиминутного этапа длинные четырехсуточные периоды у животных контрольной группы пропадают, тогда как у экспериментальной группы сохраняются (табл. 1). Более короткодневные периоды, в свою очередь, проявляются у обеих групп, совпадают между собой и не смещаются относительно друг друга.

У животных контрольной группы во время третьего этапа физических нагрузок периоды укорачиваются, наиболее длительный период в контрольной группе составляет 3,5 суток, а более короткие 2,3 и 2 суток (табл. 1). Однако экспериментальная группа сохраняет соотношение периодов прежним, наиболее

длительный период остается в пределах пяти суток, а именно 4,7, более короткие периоды представлены 3,5 и 2 сутками. При этом, наиболее короткий двухсуточный период совпадает у обеих групп. Следовательно, тенденция к укорочению периодов наблюдается у животных, не подвергавшихся умеренному ЭМЭ, а фазовый сдвиг этой группы относительно группы экспериментальных животных оказывается около 1,2 суток в наиболее длительных периодах каждой групп и периодах средней длительности.

Таблица 1

Длина (дни) биоритмологических периодов изменения двигательной активности у крыс-самцов в трех этапах предъявления физической нагрузки

	Первый этап			Второй этап			Третий этап		
Контроль	4,7	3,5	2,3	3,5	2,8	3,5	2,3	2	
ЭМЭ	4,7	2,8	2	4,7	3,5	2,8	4,7	3,5	2

При сопоставлении динамики групповых средних значений времени нахождения крыс в экспериментальной установке наблюдается постепенное усиление явления десинхронизации от первого этапа к третьему. На первом этапе расхождение периодов показателя двигательной активности животных наблюдается в более короткодневном диапазоне, во время второго этапа расхождение периодов выражено наблюдается в пятисуточном диапазоне, на третьем этапе наблюдается сохранение выраженной десинхронизации, которая проявляется в более длиннодневных периодах.

Таким образом, можно выделить условно длинные ритмы продолжительностью около пяти суток, средние – около трех суток и короткие ритмы – около двух суток. Следовательно, по продолжительности, во время первого десятиминутного этапа эксперимента, периоды сниженной физической выносливости крыс контрольной и экспериментальной групп отличаются чуть более, чем на сутки в основном за счет смещения в средних и коротких периодах. В то же время во втором этапе предъявления нагрузки у животных контрольной группы исчезает наиболее продолжительный пятисуточный (4,7 суток) ритм, и остаются лишь ритмы средней и малой длительности, тогда как у животных экспериментальной группы наиболее продолжительный ритм сохраняется, и ритмы средней и малой длительности совпадают с ритмами животных контрольной группы. К третьему этапу, как уже было сказано выше, наблюдается наиболее яркое ритмическое разобщение, так как в контрольной группе длительный пятисуточный ритм вытесняется трехсуточным ритмом средней длительности, также сохраняются периоды малой длительности, что, возможно, говорит о процессах тренировки и адаптации происходящих в организмах животных, находящихся в условиях нормального геомагнитного поля. У животных подвергавшихся умеренному электромагнитному экранированию

наблюдается сохранение всех ритмов, имевшихся на предыдущих этапах эксперимента. Стоит, также, отметить, что амплитудность пиков выраженного угнетения двигательной активности у крыс экспериментальной группы сохраняется на протяжении всех трех этапов исследования. У животных контрольной группы пик угнетения двигательной активности значимо выражен только на первом десятиминутном этапе, в последующие – все отклонения не достигают достоверного уровня значимости. Что ещё раз подтверждает влияние ЭМЭ на биоритмологическую составляющую всех процессов организма, отмеченную многими авторами [15–17]. Также получено экспериментальное подтверждение, что не только сильное подавление электромагнитного фона вызывает угнетение двигательной активности и, в частности, снижает физическую выносливость, но и умеренное ЭМЭ достоверно угнетает двигательную активность животных с выраженной периодичностью.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

1. В ходе исследовательской работы была рассмотрена четырнадцатидневная динамика изменения физической выносливости крыс-самцов, так в нативных условиях, выявлен периодический характер снижения выносливости. При этом, достоверного уровня значимости эти колебания достигали только на 7-е сутки первого десятиминутного этапа.
2. В результате исследования, выявлено, что физическая выносливость крыс-самцов, находящихся в условиях четырнадцатидневного ЭМЭ, также имеет периодический характер при более значимых колебаниях по сравнению с контрольной группой. Наибольшее снижение физической выносливости наблюдается на 5–7-е сутки ($p < 0,05$) во время первого десятиминутного этапа, на 5 и 6-е сутки ($p < 0,05$) во время второго этапа предъявления нагрузки и на 6 и 7-е сутки ($p < 0,05$) в третьем этапе. При этом, значимо меньшие по сравнению с контролем показатели времени нахождения крыс группы ЭМЭ на барабане «Роторода» отмечены на 5 и 6-е сутки ($p < 0,05$) во время первого и второго десятиминутных этапов и на 6 и 7-е сутки ($p < 0,05$) в третьем этапе.
3. С помощью Фурье-анализа определили, что на первых этапах более длительные ритмы имеют продолжительность около 5 суток, а более короткие около 2–3 суток в экспериментальной и контрольной группах. Тогда как к третьему этапу в контрольной группе наиболее длительный период занимает менее 4 суток, а в экспериментальной группе он сохраняет свою продолжительность аналогичной первому этапу.

Работа выполнена при финансовой поддержке в рамках инициативной части государственного задания № 6.5452.2017/8.9 Минобрнауки России в сфере научной деятельности темы «Временная организация физиологических систем человека и животных: феноменология и механизмы генерации и регуляции микро- и мезоритмов».

Работа выполнена на оборудовании КП ФГАОУ ВО КФУ им. В. И. Вернадского» «Экспериментальная физиология и биофизика».

Список литературы

1. Рысканов Т. Некоторые реакции нервной системы экспериментальных животных на неоднородное постоянное магнитное поле разной индукции (в норме и при высотной гипоксии): Автореф. Дис... канд. Биол. наук. / Т. Рысканов. – Ашхабад. – 1980. – 98 с.
2. Persinger M. A. (Ed.) ELF and VLF electromagnetic field effects / M. A. Persinger (Ed.) // N.Y.:Plenum, 1974. – 316 p.
3. Нахильницкая З. Н. Магнитное поле и жизнедеятельность организмов / З. Н. Нахильницкая. – В кн.: Проблемы космической биологии. – М., 1978. – Т. 37. – 268 с.
4. Копанев В. И. О биологическом действии на организм гипомангнитной среды / В. И. Копанев, Г. Д. Ефименко, А. В. Шакула // Изв. АН СССР. Сер. Биол. – 1979. – №3. – С. 342–353.
5. Керяя А. В. Динамика поведенческих реакций мышей в ходе воздействия на жировую ткань наносекундным импульсно-периодическим микроволновым излучением / А. В. Керяя, М. А. Большаков, А. Е. Купцова [и др.] // Международный журнал прикладных и фундаментальных исследований. – 2018. – № 3. – С. 105–109.
6. Гуль Е. В. Поведение и функциональное состояние ЦНС крыс после пребывания в моделируемых гипогеомагнитных условиях: диссертация ... кандидата биологических наук: 03.03.01 / Е. В. Гуль, Национальный исследовательский Томский государственный университет, Томск, 2014. – 128 с.
7. Новиков С. М. Исследование действия ослабленного постоянного магнитного поля на возбудимость нервной клетки / С. М. Новиков [и др.] // Биофизика. – 2008. – Т. 53, № 3. – С. 519–523
8. Дещеревский А. В. Геомагнитные возмущения и активность животных в лабораторных условиях / А. В. Дещеревский, А. Я. Сидорин, Е. П. Харин // Биофизика. – 2009. – Т. 54, № 3. – С. 554–562.
9. Маркель А. Л. К оценке основных характеристик поведения крыс в тесте «открытое поле» / А. Л. Маркель // Журн. высш. нерв. деят. – 1981. – Т.31, № 2. – С. 301–307.
10. Vuitrago M. M. Short and long-term motor skill learning in an accelerated rotarod training paradigm / M. M. Vuitrago, J. B. Schulz, J. Dichgans [et al.] // Neurobiology of learning and memory. – 2004. – V. 81, № 3. – P. 211–216.
11. Каркищенко Н. Н. Альтернативы биомедицины, руководство по лабораторным животным и альтернативным моделям в биомедицинских технологиях / под ред. Н. Н. Каркищенко и С. В. Грачева. – Москва, 2010. – 56 с.
12. Чайка А. В. Поведенческие методики в нейроэтологии / А. В. Чайка, И. В. Черетаев, Д. Р. Хусаинов, И. И. Коренюк. – Симферополь, 2015. – 36 с.
13. Mizoguchi K. Chronic stress impairs rotarod performance in rats: implications for depressive state / K. Mizoguchi, M. Yuzurihara, A. Ishige [et al.] // Pharmacology Biochemistry and Behavior. – 2002. – V. 71, № 1. – P. 79–84.
14. Shiotsuki H. A rotarod test for evaluation of motor skill learning / H. Shiotsuki, K. Yoshimi, Y. Shimo [et al.] // Journal of neuroscience methods. – 2010. – V. 189, № 2. – P. 180–185.
15. Туманянц К. Н. Поведение крыс при умеренном электромагнитном экранировании / К. Н. Туманянц, Е. Н. Чуян, Д. Р. Хусаинов, А. С. Костюк, Н. С. Ярмлюк, И. В. Черетаев, А. В. Чайка // Международный журнал прикладных и фундаментальных исследований. – 2016. – №. 1–2. – С. 199–203.
16. Темурьянц Н. А. Участие опиоидной системы в изменении агрессивного поведения крыс в условиях длительного электромагнитного экранирования / Н. А. Темурьянц, К. Н. Туманянц, А. С. Костюк, Д. Р. Хусаинов, И. В. Черетаев, А. В. Чайка // Учен. зап. Тавр. нац. ун-та им. В. И. Вернадского. Сер. «Биология, химия». – 2014. – Т. 27, № 3. – С. 160–168.
17. Чибисов С. М. Влияние гелиогеофизических факторов на биоритмы организма / С. М. Чибисов, В. А. Фролов, Д. Г. Стрелков, Д. С. Скрылев, Е. А. Романова, Е. В. Харлицкая, Ф. Халберг, Ж. Корнелиссен // Современные проблемы науки и образования. – 2006. – № 5. – С. 15–22.

**DYNAMICS OF GENERAL MOTOR ACTIVITY OF RATS UNDER THE
CONDITIONS OF THE FOURTEEN-DAY ELECTROMAGNETIC SHIELDING**

Khusainov D. R., Tumanyants K. N., Mozharovskaya I. A., Usova V. V.

V. I. Vernadsky Crimean Federal University, Simferopol, Crimea, Russia

E-mail: gangliu@yandex.ru

In the course of the research, a fourteen-day dynamics of changes in the motor activity of male rats was examined with a threefold ten-minute test in the Rotarod facility in the norm and under electromagnetic shielding conditions (ESC). For the study, 20 white male rats of the Wistar line were selected, with an average weight of about 180–200 g, of the same age (about 6 months), with an average motor activity. All selected animals remained on the drum unit "Rotarod" for 10 minutes with rotation speed of 25 rpm. The Selected rats were divided into two groups of 10 animals and placed into boxes with size 790×450×390 mm opaque plastic, the lid and the walls of which had vents. Ensured free access of animals to standard rodent food and water. After selection, the animals were placed in standard vivarium conditions for 10 days for social adaptation and to prevent the effect of layering training on the research process.

Then, during the test period, containers with animals of the experimental group (n=10) were placed in the screening chamber daily from 1500 to 1000 hours of the next day, i.e. they were in EME conditions 19 hours a day for 14 days. Boxes with animals of the control group were in the room near the screening chamber. At the same time, all related conditions of both groups: light, temperature, etc. are designed to be identical.

In the installation "Rotarod" animals were tested for 10 minutes (600 seconds) in 3 stages at a speed of 25 rpm, recorded the time of falling animals, if they fell earlier than 600 seconds will expire. Between the stages, the rest time of the animals was also 600 seconds. During the rest of one of the groups of tested rats, another group was studied at the facility. Therefore, in the specified methodical approach motor activity of animals is estimated on several components: keeping of balance (coordination), physical endurance and, taking into account fourteen-day duration of research, process of training. Further, when describing the results of the study, we will use the concept of motor activity, implying these components.

Statistical data processing was performed in GraphPad Prism 7 using nonparametric Dunn criterion. At the same time, a comparison was made between the control and the ESC group, as well as with the maximum time of each stage (600 s), which is taken as background indicators.

In the course of research work was reviewed by the fourteen days the dynamics of changes in physical endurance of rats-males in native conditions, revealed the periodic nature of the performance. At the same time, these fluctuations reached a reliable level of significance only on the 7th day of the first ten-minute stage.

As a result of the study, it was revealed that the physical endurance of male rats under fourteen-day ESC also has a periodic character with more significant fluctuations compared to the control group. The greatest decrease in physical endurance is observed on the 5th–7th day ($p<0.05$) during the first ten-minute stage, on the 5th and 6th day ($p<0.05$) during the second stage of load presentation and on the 6th and 7th day ($p<0.05$) in the

third stage. At the same time, significantly lower compared to control indices of rats of a group of ESC on the drum "Rotorod" marked on the 5 and 6th day ($p < 0.05$) during the first and second of the ten stages and on 6 and 7th day ($p < 0.05$) in the third stage.

Using Fourier analysis, it was determined that in the first stages longer rhythms have a duration of about 5 days, and shorter ones about 2–3 days in the experimental and control groups. Whereas by the third stage in the control group the longest period takes less than 4 days, and in the experimental group it retains its duration similar to the first stage.

Keywords: physical activity, shielding, rats, period.

References

1. Ryskanov T. *Some reactions of the nervous system of experimental animals to an inhomogeneous constant magnetic field of different induction (normal and with altitude hypoxia)*, 98 p. (Ashgabat, 1980)
2. Persinger M. A. (Ed.) *ELF and VLF electromagnetic field effects*, 316 p. (N.Y.: Plenum, 1974).
3. Nakhilnitskaya Z. N. *The magnetic field and the vital activity of organisms*, **37**, 268 (In book: Problems of space biology. M., 1978).
4. Kopanev V. I., Efimenko G. D., Shakula A. V. On the biological effect on the organism of a hypomagnetic environment, *Izv. Academy of Sciences of the USSR. Ser. Biol.*, **3**, 342 (1979).
5. Kereya A. V., Bolshakov M. A., Kuptsova A. E. [et al.] The dynamics of the behavioral reactions of mice during exposure to adipose tissue with nanosecond pulse-periodic microwave radiation, *International Journal of Applied and Fundamental Research.*, **(3)**, 105 (2018).
6. Gul E. V. *Behavior and functional state of the central nervous system of rats after being in simulated hypogeomagnetic conditions*, 128 p. (Tomsk, 2014).
7. Novikov S. M. [et al.] Investigation of the effect of a weakened constant magnetic field on the excitability of a nerve cell, *Biophysics*, **53 (3)**, 519 (2008).
8. Deshcherevsky A. V., Sidorin A. Ya., Harin E. P. Geomagnetic disturbances and activity of animals in laboratory conditions, *Biophysics*, **54, (3)**, 554 (2009).
9. Markel A. L. To the assessment of the main characteristics of the behavior of rats in the open field test, *Zh. higher nerve. Activities*, **31 (2)**, 301 (1981).
10. Buitrago M. M., Schulz J. B., Dichgans J. [et al.] Short and long motorized paradigm, *Neurobiology of learning and memory*, **81 (3)**, 211 (2004).
11. Karkishchenko N. N., Grachev S. V. *Alternatives to biomedicine, a guide to laboratory animals and alternative models in biomedical technologies*, p. 5. (Moscow, 2010).
12. Chaika A. V., Cheretaev I. V., Khusainov D. R., Korenyuk I. I. *Behavioral techniques in neuroethology*, p. 36. (Simferopol, 2015).
13. Mizoguchi K., Yuzurihara M., Ishige A. [et al.] Chronic stress impairs rotarod performance in rats: implications for depressive state, *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, **71 (1)**, 79 (2002).
14. Shiotsuki H., Yoshimi K., Shimo Y. [et al.] A rotarod test for evaluation of motor skill learning, *Journal of neuroscience methods*, **189 (2)**, 180 (2010).
15. Tumanlyants K. N., Chuyan E. N., Khusainov D. R., Kostyuk A. S., Yarmolyuk N. S., Cheretaev I. V., Chajka A. V. Behavior of rats with moderate electromagnetic shielding, *International Journal of Applied and Fundamental Research*, **1-2**, 199 (2016).
16. Temuryants N. A., Tumanlyants K. N., Kostyuk A. S., Khusainov D. R., Cheretaev I. V., Chaika A. V. The participation of the opioid system in changing the aggressive behavior of rats under conditions of prolonged electromagnetic shielding, *Studies. zap Taurus nat un-that them. V. I. Vernadsky. Ser. "Biology, Chemistry"*, **27 (3)**, 160 (2014).
17. Chibisov S. M., Frolov V. A., Strelkov D. G., Skrylev D. S., Romanova E. A., Kharlitskaya E. V., Halberg F., Cornelissen J. Influence of heliogeophysical factors on the biorhythms of organism, *Modern problems of science and education*, **5**, 15 (2006).

УДК 796.332; 796.01:612; 57.024; 57.017.64

ОСОБЕННОСТИ ПСИХОФУНКЦИОНАЛЬНОЙ ПОДГОТОВЛЕННОСТИ ФУТБОЛИСТОВ ЮНОШЕСКОГО ВОЗРАСТА

**Чайка А. В.^{1,2}, Салашинский А. А.¹, Нагаева Е. И.¹, Хусаинов Д. Р.^{1,2},
Яценко И. Н.², Смаилова Э. Э.², Голинач О. В.²**

¹*Таврическая академия (структурное подразделение) ФГАОУ ВО «Крымский федеральный университет имени В. И. Вернадского», Симферополь, Республика Крым, Россия*

²*ГБПОУ «Крымское среднее профессиональное училище (техникум) олимпийского резерва», с. Краснолесье, Симферопольский район, Россия
E-mail: andrew.chajka@yandex.ru*

Подготовка высококвалифицированного резерва для профессионального футбола становится всё более актуальной задачей современности. В связи с этим была поставлена цель исследовать психологические и функциональные характеристики футболистов-юношей, обучающихся в ГБПОУ «Крымское среднее профессиональное училище (техникум) олимпийского резерва» (КСПУОР) с. Краснолесье, Симферопольского района.

В результате было выяснено, что антропометрические параметры футболистов-юношей из КСПУОР полностью соответствуют показателям юношеских команд России, СНГ и общемировому уровню, в целом. Также выявлен достаточно высокий уровень психологической готовности, но такие показатели как «преодоление трудностей» и «работа под давлением» развиты менее всего, а значит требуют дополнительной работы по их увеличению. Сила мышц руки у юношей-футболистов КСПУОР ($55,3 \pm 1,55$ кг) оказалась достоверно выше всех литературных данных, в том числе и показателей профессиональных спортсменов и, напротив, жизненная емкость легких значимо ниже. Следовательно, в училище более успешно проходит формирование силовых качеств, чем связанных с выносливостью. Опираясь на полученные данные, следует рекомендовать заметную коррекцию тренировочного процесса с усилением внимания развития выносливости юношей-футболистов КСПУОР.

Ключевые слова: футбол, антропометрия, динамометрия, ACSI-28, фэйр-плей.

ВВЕДЕНИЕ

Футбол считается одним из самых популярных видов спорта в мире [1], и как междисциплинарная область исследований может рассматриваться с различных точек зрения: социологической, психологической, педагогической, физиологической и биомеханической [2].

Для футбола как командного вида спорта характерно решение оперативных задач, которое протекает в нестационарной среде [3], вследствие чего игроки имеют различный уровень специализации на поле, проявляемый в виде распределения по игровым позициям, к каждой из которых предъявляются соответствующие физиологические требования. Помимо этих требований, различные независимые факторы, включая возраст, биологическую зрелость, количество лет тренировок,

морфологию и антропометрию, влияют на физический и физиологический профиль игроков [4–6].

Проблема подготовки высококвалифицированного резерва для профессионального футбола в настоящее время становится всё более актуальной [7]. Эффективное функционирование системы спортивного резерва, повышение качества учебно-тренировочного процесса юных спортсменов может быть обеспечено только при строгом научном обосновании как системы в целом, так и ее отдельных компонентов [8]. Оптимальное проектирование технологии тренировочного процесса, формирование тренировочных программ, подбор адекватных средств и методов тренирующих воздействий и целенаправленного восстановления возможно только на основе учета закономерностей возрастного развития, информации о психических и функциональных особенностях спортсменов [9].

Известно, что между различными игровыми позициями существуют характерные антропометрические отличия [10], однако, в ряде исследований, напротив, показано, что нет принципиальных различий в физической работоспособности по игровым позициям у юношей [6, 11]. Авторы объясняют этот факт тем, что по сравнению со взрослым футболом высокого уровня, в юношеском футболе интенсивность и продолжительность матчей ниже, как и количество, объём и интенсивность еженедельных тренировок [10, 12].

Футбол требует, равно как и другие виды спорта, не только высокий уровень физической работоспособности, но также умственную подготовку и психологические навыки [2]. Многие предыдущие исследования были сфокусированы на требованиях к физической подготовке для различных игровых позиций. Тем не менее, физические навыки не достаточны, чтобы показывать высокие результаты – спортсменам требуется наличие определённых умственных качеств. Высокий уровень стресса или низкие навыки самоконтроля, как на поле, так и вне его, могут вызывать изменения в когнитивной оценке и фокусировке, и повлиять на физическую работоспособность через изменения мышечного напряжения и физической координации. Влияние психического состояния на производительность так же важно, как технические и тактические навыки [13].

Есть доказательства того, что игроки на разных игровых позициях, как правило, имеют разные уровни психологического мастерства. Показано, что для футболистов атакующих позиций характерен значительно более высокий уровень эмоциональной нестабильности по сравнению с игроками обороны [13]. Тем не менее, недавние исследования утверждают, что не существует значимой разницы между позицией в футболе и различными психологическими атрибутами [1, 14].

Поэтому исследование у футболистов-юношей психологических и функциональных характеристик, их связи, как между собой, так и с позицией на поле, по-прежнему является актуальным вопросом спортивной физиологии и определяется нами как цель данного исследования, для выполнения которой определены следующие задачи:

1. Сравнить полученные результаты по психологическим и физиологическим показателям футболистов-мужчин юношеского возраста с указанными в литературе данными для их сверстников, а также взрослых профессиональных игроков.

2. Провести корреляционный анализ на предмет наличия связи между психологическими и физиологическими показателями футболистов-мужчин юношеского возраста.

3. Провести корреляционный анализ на предмет наличия связи между психофункциональной подготовленностью футболистов-мужчин юношеского возраста и их игровой позицией.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Исследование было проведено в марте-апреле 2019 г. на 25 футболистах-юношах, обучающихся в ГБПОУ «Крымское среднее профессиональное училище (техникум) олимпийского резерва» (КСПУОР) с. Краснолесье, Симферопольского района, на 4–5 курсе (средний возраст = $19,29 \pm 0,19$ лет), в соревновательный период.

У мужчин вплоть до 20 лет в структуре физического состояния доминирует фактор тотальных размеров тела, т.е. на первую ступень выходит антропометрия. На втором месте по значимости располагается скоростно-силовая и координационная подготовленность [15]. Поэтому для оценки физического состояния организма футболистов были выбраны антропометрические показатели (рост, масса тела), частота сердечных сокращений (ЧСС), динамометрия и измерение жизненной ёмкости лёгких (ЖЕЛ).

Рост измеряли в сантиметрах согласно ростомеру (стоя), массу тела – в килограммах с помощью напольных диагностических весов (Beurer BG17). Систола сердца реализуется в пульсовую волну, поэтому ЧСС контролируется по пульсу [16]. Подсчёт ЧСС производился путём учёта пульса вручную за минуту. Динамометрия проводилась с помощью кистевого динамометра (ДМЭР-120-0,5) в килограммах, на ведущей руке, а замер ЖЕЛ – спирометра (ССП), в литрах, по методике «максимальный вдох – максимальный выдох». Пульсометрия, динамометрия и измерение ЖЕЛ проходило в положении сидя, в покое.

Для исследования психологических особенностей футболистов-юношей применялся популярный среди исследователей и тренеров опросник ACSI-28 (Опросник спортивных копинг-навыков). Шкала ACSI-28 используется для измерения семи классов психологических копинг-навыков с высокой факторной достоверностью [17, 18]. Каждая из подшкал в равной степени составляет четыре элемента, которые измеряются по 4-балльной шкале Ликерта в диапазоне от 0 (редко) до 3 (почти всегда). Есть шесть пунктов, которые являются «обратными», где более высокие оценки отражают более низкий уровень копинг-навыков (пункты № 3, 7, 10, 12, 19, 23). Соответственно, максимальный балл по каждой шкале – 12, а по всему тесту – 84. Считается, что, если спортсмен набирает меньше 10 баллов по любой из шкал, то ему необходимо совершенствовать соответствующие психологические навыки [18] (табл.).

Для оценки отношения футболистов-юношей к честной игре был использован соответствующий опросник по методике А. Junge [19] из 8 вопросов (ФП1-ФП8):

1. Я не разговариваю с соперником во время игры: Да/Нет
2. Я не слушаю, что говорит соперник во время игры: Да/Нет
3. Я отвечаю на провокацию соперника своей провокацией: Да/Нет
4. Я могу сразу отомстить сопернику фолом, который не увидит судья: Да/Нет
5. Я могу при удобном случае отомстить сопернику фолом, который не увидит судья: Да/Нет
6. Для меня, провокация – это часть игры: Да/Нет
7. Для меня, скрытый фол – это часть игры: Да/Нет
8. Иногда игрок должен совершить фол: Да/Нет.

Таблица

Соответствие подшкал и номеров вопросов в ACSI-28
[Bin Hidrus, Kueh, Kuan, 2016]

<i>Подшкала</i>	<i>Номер вопроса</i>
Преодоление трудностей (ПТ)	5, 17, 21, 24
Работа под давлением (РПД)	6, 18, 22, 28
Постановка целей / ментальная подготовка (ПЦ/МП)	1, 8, 13, 20
Концентрация (К)	4, 11, 16, 25
Свобода от негативных переживаний (СОНП)	7, 12, 19, 23
Уверенность в себе и мотивация достижений (УВСИМД)	2, 9, 14, 26
Обучаемость (О)	3, 10, 15, 27

Результаты исследования были обработаны с помощью описательной статистики (критерий нормальности Д'Агостино-Пирсона, среднее арифметическое и ошибка среднего), t-критерия Стьюдента для сопоставления выборочной средней с заданной средней величиной, t-критерия Стьюдента для определения достоверности разности выборочных долей, t-критерия Стьюдента для определения достоверности разности средних несвязанных выборок, ANOVA с пост-хок тестом Тьюки для множественных сравнений, коэффициентов корреляции Пирсона и Спирмэна [20, 21]. Использовались программы Microsoft Excel 2019 и GraphPadPrism 7.

Для сравнительного анализа были выбраны литературные данные исходя, в первую очередь, из критерия «игроки стран СНГ», поэтому многие эталонные данные получены от футбольных команд из Беларуси, России и Украины, т. к. известно, что национальность и география являются важными факторами, влияющим на результаты, как физиологических, так и психических тестов [22]. В противном случае, эталонными данными считались те, которые были найдены в литературе в открытом доступе, с акцентом на игроков из Европы. В случае с

антропометрией, данные получить намного легче, поэтому эталонными были взяты результаты игроков Премьер-Лиги Крыма по футболу (рост/масса тела/возраст) [23, 24] в качестве уровня взрослых игроков, а для юношей – данные команды U-21 «Краснодар» [25], как наиболее близкой к Крыму географически, а также из-за статуса лучшей молодёжной академии России [26]. При использовании зарубежных источников, выбирались эталонными результаты региональных лиг, вторых и третьих лиг, менее успешные команды, дабы их уровень был адекватным для сопоставления с данными КСПУОР, а не изначально завышен из-за запредельного уровня мастерства и, в таком случае, сравнительный анализ был бы мало информативен.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

По итогам проведённого исследования были выявлены соответствующие психофункциональные особенности футболистов-юношей, представленные на рис. 1 и рис. 2.

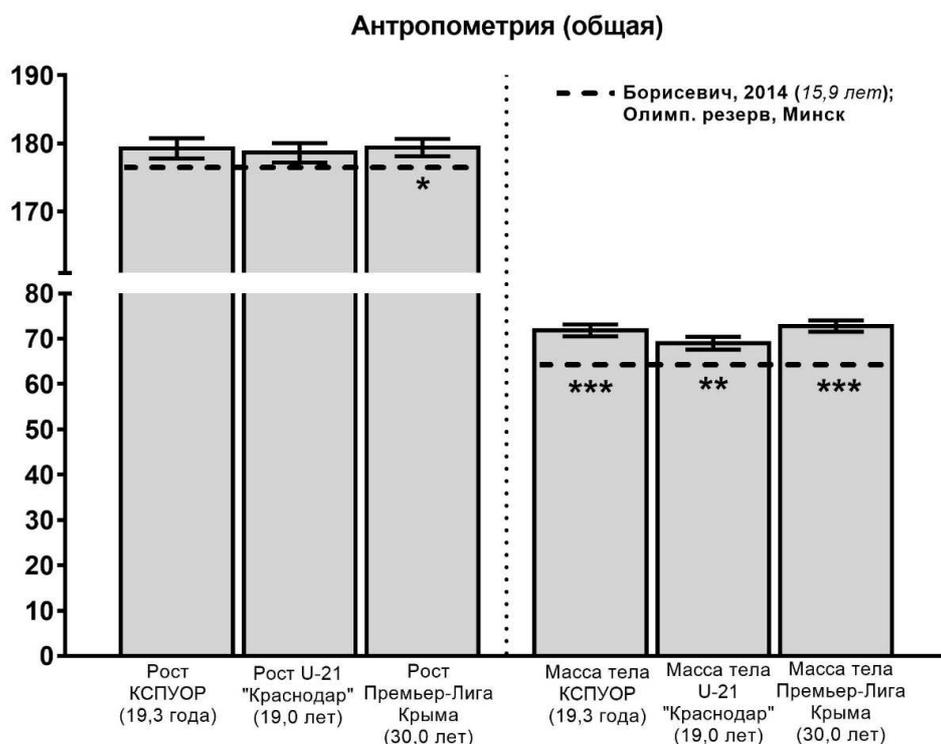


Рис. 1. Антропометрические показатели футболистов-юношей КСПУОР в сравнении с литературными данными.

Примечание: звёздочками отмечены достоверные отличия при * $p < 0,05$, ** $p < 0,01$, *** $p < 0,001$.

Как видно из рис. 1. достоверных отличий между ростом, как игроков КСПУОР, так и U-21 «Краснодар», и команд Премьер-Лиги Крыма не наблюдается. Однако, есть различия между игроками команд Премьер-Лиги Крыма с игроками олимпийского резерва раннего юношеского возраста из «Минска» [27]. Что касается массы тела, то также, различия достоверны только между игроками старше 18 и юношами из Беларуси.

Как известно [28], созревание всех систем организма человека наступает у многих людей уже к 20 годам, поэтому не удивительно, что между различными возрастными группами футболистов старше 18 лет, не было обнаружено значимых отличий в антропометрии. Возраст 18–19 лет считается переломным, переходом в группу высших спортивных достижений [29], а футбол является высокодемократичным видом спорта, в котором самые разнообразные сочетания антропометрических признаков могут сопутствовать успешному спортивному выступлению конкретного игрока [30]. Поэтому такие результаты закономерны и подтверждаются литературными данными: S. M. Ostojic [31] не было обнаружено различий в росте и массе тела между более взрослыми (24 года) профессионалами Первой лиги Сербии и неэлитными игроками (21 год) 3-й Лиги; а C. Lehanse и соавторы [32] пришли к тем же выводам, сравнивая рост 26-летних профессиональных футболистов и 19-летних игроков Первого Дивизиона Бельгии.

В то же время, стоит отметить, что не все исследования поддерживают эту точку зрения: С. Т. Woods и соавторами [33] на примере юношей из западноавстралийской лиги (U-18) показано, что элитные игроки из академии «WAFU State U/18 Academy» достоверно выше в среднем на 6 см и тяжелее на 7 кг своих сверстников по Лиге (субэлитных игроков), которые в эту академию не входят. А. Arnason с соавторами [34] также установили, что игроки Элитного Дивизиона Исландии достоверно выше футболистов Первого Дивизиона на 2 см, хотя и разница в массе тела (+1,3 кг) была лишь на уровне тенденции. Однако, здесь есть важная особенность – тактика команды и типичный стиль игры лиги. Логично, если в Австралии более силовой футбол, как и в Исландии, то и отбор будет идти по этим показателям. Поэтому не значит, что те, кто антропометрически слабее, прямо хуже, как игроки – они просто не подходят под силовую модель игры, а это несколько разные вещи. Этим и можно объяснить, почему в Сербии и Бельгии, где проповедуют более техничный футбол, различия по антропометрии между игроками разного возраста и уровня мастерства обнаружено не было. Таким образом, можно предположить, что отсутствие различий в антропометрии между игроками позднего юношеского возраста из КСПУОР и профессионалами из Премьер-Лиги Крыма, говорит о том, что на полуострове преимущество отдаётся силовой подготовке футболистов, и уже с 18 лет игроки физически готовы выступать на региональном профессиональном уровне. Отсутствие отличий между антропометрией у юношей из КСПУОР и U-21 «Краснодара» свидетельствует, о том, что антропометрические данные не являются определяющим фактором, влияющим на мастерство футболистов, что согласуется с литературными данными [30-32].

При проведении корреляционного анализа, было установлено, что существует сильная достоверная связь ($r=0,80$, $p<0,001$) между ростом и массой тела у

футболистов-юношей КСПУОР. Практически такая же корреляция обнаружена и для U-21 «Краснодара» ($r=0,80$, $p<0,001$). В тоже время, для игроков Премьер-Лиги Крыма такая связь была выявлена на среднем уровне силы ($r=0,56$, $p<0,01$), что говорит в пользу быстрых процессов роста и развития, которые по-прежнему продолжают даже по достижении 19–21 года, что соответствуют классическим представлениям возрастной физиологии.

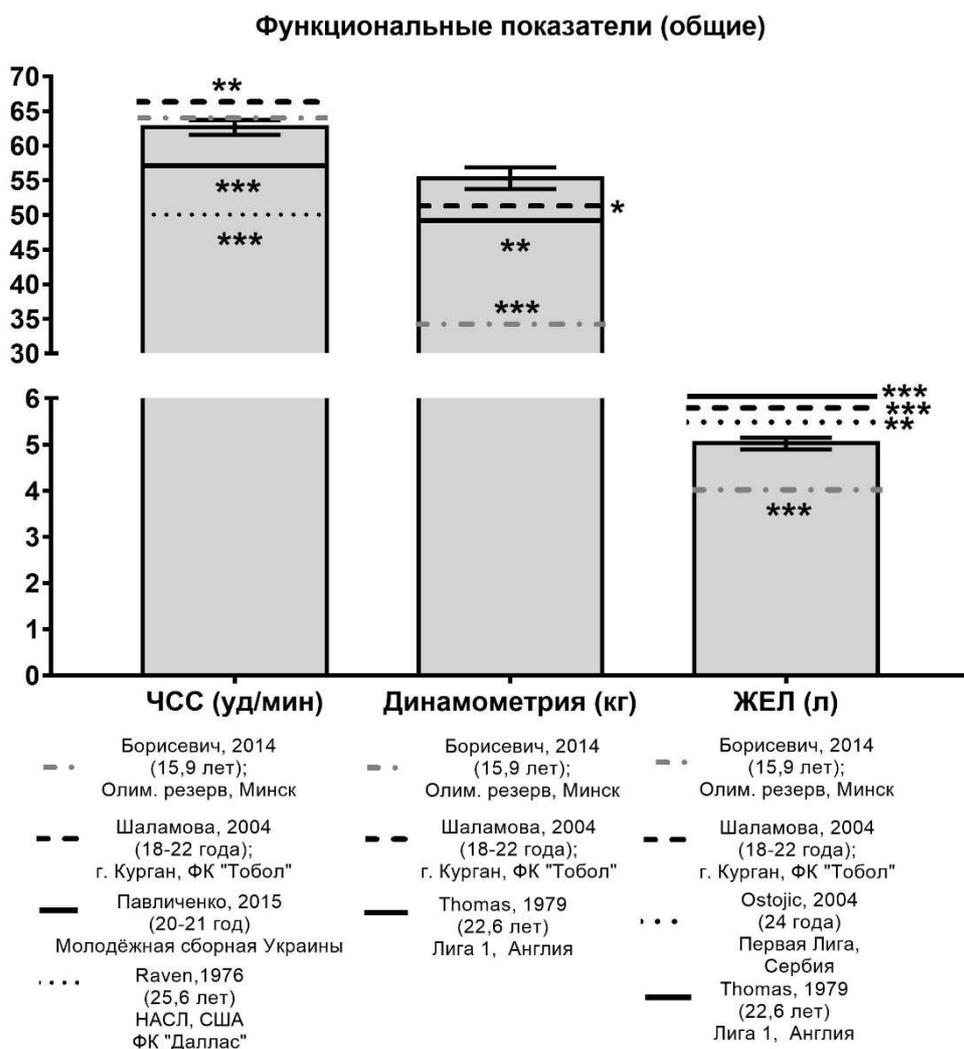


Рис. 2. Функциональные показатели футболистов-юношей КСПУОР в сравнении с литературными данными.

Примечание: звёздочками отмечены достоверные отличия при * $p<0,05$, ** $p<0,01$, *** $p<0,001$.

Рассмотрим далее, как функциональные показатели футболистов-юношей КСПУОР соотносятся с литературными данными (см. рис. 2). Из рисунка видно, что ЧСС у футболистов-юношей КСПУОР достоверно не отличается от такового у футболистов «Минска» (15,9 лет), и даже оказывается значимо ниже, чем у сверстников из ФК «Тобол» г. Курган в среднем примерно на 4 уд/мин, что может говорить о более лучшей физической подготовке крымских футболистов [35]. В то же время, ЧСС игроков сборной Украины U-21 по футболу составляет в среднем на 5 ударов меньше [36], чем у КСПУОР, что является прямым доказательством того, что чем выше уровень мастерства, тем соответственно выше уровень нагрузок, в т. ч. и тренировочных, и неизменно происходит адаптация сердечно-сосудистой системы, что отражается и на достоверном снижении ЧСС. Результаты, полученные Р. В. Raven и соавторами [37] на профессиональных игроках ФК «Даллас» (США, 25,6 лет) подтверждают эту закономерность – их ЧСС равняется в среднем 50 уд/мин. Важно отметить, что у украинских сборников U-21 минимальные показатели ЧСС равнялись 49 уд/мин, что наталкивает на мысль о том, что у игроков старше 15 лет, сердечно-сосудистая система уже достаточно созрела, чтобы ЧСС, в первую очередь, зависела не столько от возраста, сколько от мастерства и уровня физических нагрузок. Среди футболистов КСПУОР нет сборников, поэтому их более худшие показатели ЧСС закономерны. В эту концепцию отлично укладываются и результаты А. А. Рязанова и А. М. Шпичко [38], где ЧСС у футболистов-юношей местной команды Тамбовского государственного университета имени Г. Р. Державина составляла в среднем 73–75 уд/мин (17–19 лет), хотя у украинской молодежной команды U-21 даже максимальный уровень ЧСС не превышал 69 уд/мин, а у команды U-19 средний ЧСС равнялся 68,6 уд/мин [39].

Не менее важным функциональным показателем, чем ЧСС, является ЖЕЛ, характеризующий уровень тренированности дыхательной системы. Из рис. 2 следует, что уровень ЖЕЛ у футболистов-юношей КСПУОР достоверно выше, только по сравнению с ранним юношеским возрастом ($p < 0,001$), в остальном же, показатели юношей и профессиональных взрослых футболистов из других регионов оказались значимо лучше ($p < 0,01$, $p < 0,001$) [31, 35, 40], что, безусловно говорит об их лучшей функциональной подготовленности по этому показателю. Следует учесть, что ЖЕЛ зависит от роста, возраста и массы тела, не только тренированности, поэтому результаты Е. Ю. Шаламовой, О. Н. Косолапова и S. M. Ostojic [31, 35] следует воспринимать в привязке к росту, который, однако, значимо не отличается от уровня КСПУОР (180,58 и 181,8 см против 179,3 см), как и масса тела. Тем более, что рост и масса тела профессиональных игроков английской Лиги 1 практически идентична показателям КСПУОР, но при этом их ЖЕЛ равняется 6 л, что, снова, говорит о том, что физическая подготовка и связанный с ней уровень мастерства оказывается решающим, а отнюдь не антропометрия или разница в возрасте в пару лет [40]. Соответственно мы можем говорить о более высоком уровне выносливости у профессиональных взрослых футболистов из Англии, и считать ЖЕЛ и ЧСС важными показателями, связанными с мастерством, которые следует улучшить юношам из КСПУОР, если они хотят добиться более высоких игровых успехов.

Ещё одним показателем функциональной готовности спортсмена является его мышечная сила, для чего нами была проведена кистевая динамометрия. По рис. 2 понятно, что сила мышц руки у юношей-футболистов КСПУОР оказалась достоверно выше всех литературных данных ($p < 0,05$, $p < 0,01$, $p < 0,001$), в т. ч. и показателей профессиональных спортсменов [27, 35, 40]. Таким образом, можно заключить, что в училище более успешно проходит формирование силовых качеств, чем выносливости, что является несколько неожиданным выводом для такого вида спорта, как футбол. Касаемо корреляции, то была выявлена ожидаемая связь между показателями динамометрии и ростом ($r = 0,60$; $p < 0,01$), массой тела ($r = 0,63$; $p < 0,01$), что, безусловно, является нормальной картиной для здорового человека.

Проблема перехода спортсменов-юниоров во взрослый спорт высших достижений связана с рядом закономерностей, включающих в себя спортивную результативность, физиологические изменения организма и психологические процессы зачастую «ускоренного» за счет профессионализации нормативного онтогенеза: становление и укрепление мотивации в основной деятельности, повышение рефлексии и волевого самоконтроля, рост стрессоустойчивости [29]. Поэтому психологические качества очень важны для успешной профессиональной деятельности в футболе для юношей. На рис. 3 и рис. 4 представлены результаты психологических опросов футболистов-юношей КСПУОР и сравнение этих результатов с литературными данными.

В. Coetzee с соавторами [41] определили психологические навыки, такие как концентрация внимания, оптимальное выполнение задания под давлением, мотивация достичь успеха, постановка целей и контроль возбуждения, как важные различия между успешными и менее успешными футболистами. Обращаясь к рис. 3 мы видим наглядную демонстрацию этой концепции: чуть более молодые и менее мастеровитые юниоры из Чехии, Франции и Германии показали худшие результаты по ПТ, ПЦ/МП, К, УВСИМД и О ($p < 0,05$, $p < 0,01$, $p < 0,001$), чем юноши из КСПУОР, в то время, как профессионалы из ЮАР и Дании набрали больше баллов по ПТ и РПД ($p < 0,05$, $p < 0,01$) [41, 42]. Однако, стоит отметить также и неожиданно низкие показатели этих игроков по ПЦ/МП, и более низкий СОНП у испанцев, чем у КСПУОР [43]. По многим другим показателям, как и по суммарному количеству баллов в опроснике ACSI-28, у датчан и футболистов из ЮАР баллы выше, чем у КСПУОР, однако, различия только на уровне тенденции. К сожалению, С. Devantier провёл опрос лишь по 5 из 7 подшкал, и не подвёл итог, аргументируя это тем, что исключённые подшкалы обладают относительно низким уровнем валидности, поэтому данных для сравнения не указано [42]. В целом, хочется отметить, что футболисты-юноши из КСПУОР показали достаточно высокие баллы по всем 7 подшкалам ACSI-28 и, во многом, по психологической устойчивости не уступают более именитым игрокам из-за рубежа, хотя ПТ и РПД следует всё же поднять до более высокого уровня.

Далее мы рассмотрим результаты опросника фэйр-плей и проведём корреляционный анализ между данными результатами и баллами в ACSI-28 (см. рис. 4). К числу актуальных проблем современного спорта, привлекающих внимание социологов, следует отнести трудности в реализации его

гуманистического потенциала, практическую реализацию принципов фэйр-плей в сфере спорта.

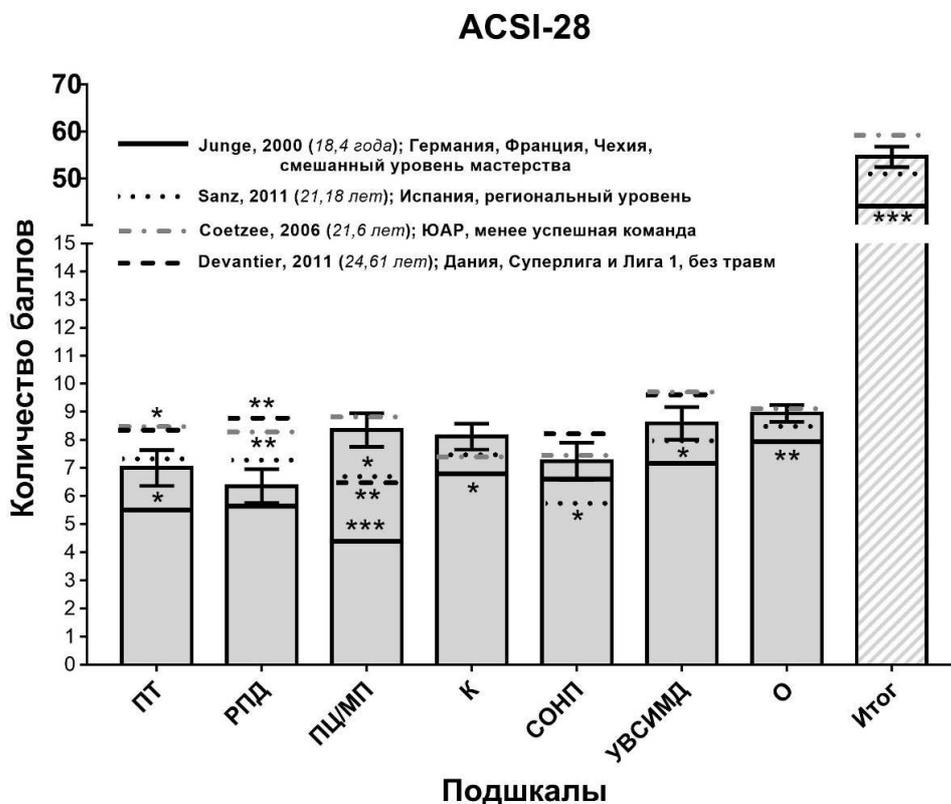


Рис. 3. Показатели ACSI-28 футболистов-юношей КСПУОР в сравнении с литературными данными.

Примечание: звёздочками отмечены достоверные отличия при * $p < 0,05$, ** $p < 0,01$, *** $p < 0,001$.

ПТ – преодоление трудностей, РПД – работа под давлением, ПЦ/МП – постановка цели/ментальная подготовка, К – концентрация, СОНП – свобода от негативных переживаний, УВСИМД – уверенность в себе и мотивация достижений, О – обучаемость.

Многочисленные социологические исследования выявляют слабую ориентацию большинства спортсменов на следование морально-этическим принципам спорта [44], однако отмечают, что более честная игра и идеализм присущи именно юношам, в то время, как взрослые футболисты заточены больше на эффективность, и многие готовы сделать что угодно ради победы [45].

Как видно из рис. 4 по большинству вопросов футболисты-юноши из КСПУОР набирают больше «положительных» баллов, нежели футболисты из Германии, Чехии и Франции – они на 26 % реже разговаривают с соперником во время игры,

на 28 % реже сами слушают, что им говорит соперник, на 10 % реже отвечают на провокацию соперника, на 41 % чаще встречается мнение, что провокация – это не часть игры в футбол. В то же время, юноши из КСПУОР могут на 40 % чаще сразу мстить фолом за фол соперника так, чтобы это не увидел судья, и на 7 % чаще, если фол будет отложенный.

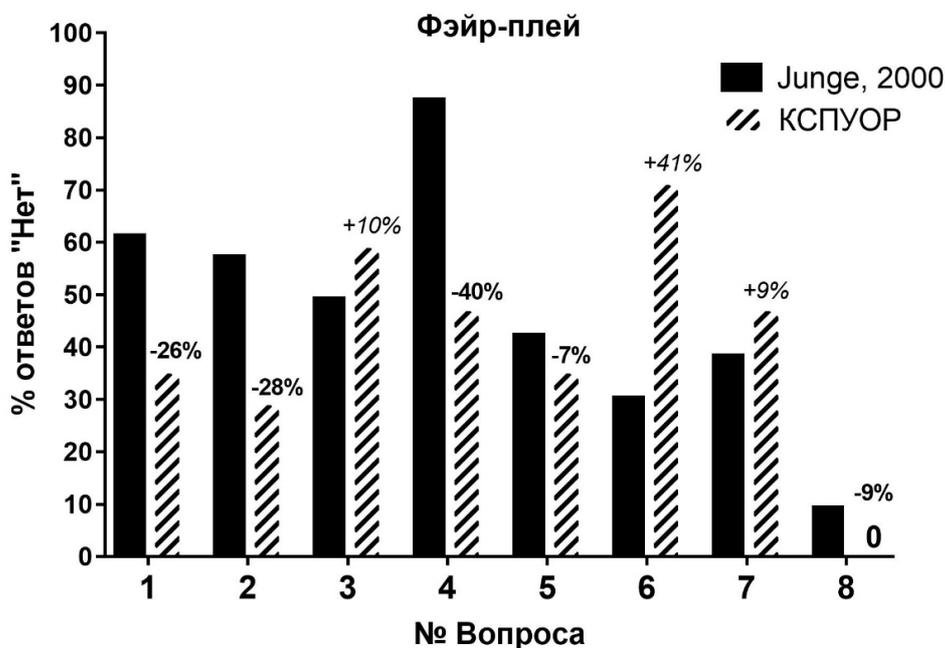


Рис. 4. Процент отрицательных ответов футболистов-юношей КСПУОР на вопросы по фэйр-плей в сравнении с литературными данными.

Примечание: все отличия между группами достоверны при $***p < 0,001$.

В целом хочется отметить достаточно высокий уровень фэйр-плей среди футболистов-юношей КСПУОР. Касаемо корреляционного анализа между результатами опросников фэйр-плей и АCSI-28, то были получены следующие результаты:

- Корреляция между 1 вопросом фэйр-плей и ПТ $r = 0,58$ ($p < 0,05$).
- Корреляция между 4 вопросом фэйр-плей и К $r = 0,57$ ($p < 0,05$).
- Корреляция между 7 вопросом фэйр-плей и О $r = 0,54$ ($p < 0,05$).
- Корреляция между 7 вопросом фэйр-плей и СОНП $r = -0,49$ ($p < 0,05$).

Таким образом, выходит, что:

- лучше преодолевают трудности те, кто меньше общается с соперником на поле;
- негативные переживания чаще свойственны тем, кто считает, что скрытый фол – это часть игры;

- обучаются лучше те, кто считает скрытые фолы частью игры;
- концентрация внимания выше у тех, кто лучше умеет мстить фолом на фол так, чтобы это не заметил судья.

Как бы не хотелось этого признавать, но последние два вывода подчёркивают важную для любого вида спорта, в т. ч. и футбола, деталь – нарушение фэйр-плей может ассоциироваться также и с положительными качествами спортсмена, такими как обучаемость и концентрация, ведь скрытые фолы требуют особого умения в их реализации, таким образом игрок часто нарушающий правила честной игры, в то же время может быть более цепким на поле, лучше усваивать установку тренера и быть заряженным на борьбу и результат. Идеальным примером сочетания таких качеств в одном человеке, вероятно, может быть нападающий «Атлетико Мадрида» Диего Коста или защитник «Реал Мадрида» Серхио Рамос.

Проведение корреляционного анализа между психологическими и физиологическими показателями футболистов-мужчин юношеского возраста КСПУОР привело к следующим результатам:

- корреляция между РПД и ростом $r = 0,61$ ($p < 0,05$);
- корреляция между ПТ и возрастом $r = 0,48$ ($p < 0,05$).

Таким образом, мы можем сделать следующие выводы:

- чем выше рост игрока-юноши, тем лучше он может работать под давлением;
- чем старше игрок-юноша, тем он лучше преодолевает трудности.

В первом случае, по-видимому, более высокий рост позволяет лучше вести физическую борьбу, снимать верховые мячи, что выливается и в более лучшую способность справляться уже с давлением психическим, что в случае игры в футбол, очень тесно связанные между собой вещи. Во втором случае, логично предположить, что с возрастом, даже в пределах границ юношества, растёт психическая устойчивость благодаря созреванию нервной системы, приближению её состоянию к таковому у взрослого человека, к тому же с годами накапливается и опыт, что также позволяет вести себя более хладнокровно и уметь преодолевать трудности.

В ходе ряда исследований показано, что вратари среди игроков всех позиций на поле обладают наибольшей массой тела и ростом [30, 34, 37, 46], не зависимо от того, идёт ли речь о юношах или взрослых игроках, в то время как, между другими позициями различий в антропометрии, часто, что не наблюдается. Также было установлено, что вратари могут быть сильнее остальных игроков по кистевой динамометрии, а защитники имеют самый низкий ЖЕЛ [37]. В случае с психическими навыками, например, А. Najah и R. B. Rejeb [13] пришли к выводу, что у игроков из Туниса возрастом 15-19 лет, у форвардов наблюдается самая высокая мотивация, а защитники – лучше всего подвержены релаксации, согласно опроснику OMSAT-4. Однако, при разделении на подгруппы по возрасту и мастерству, достоверность различий по этим показателям не всегда обнаруживалась. Также ещё важно то, что у юниоров очень часто нет чёткой позиции на поле, они играют, как сами признаются, где придётся, их талант полностью не раскрыт и не привязан к строгой специализации по функциям на поле, поэтому их универсализм мешает выявлять чёткие корреляции, ведь известно, что

что любое улучшение производительности является следствием обратной связи с задачей [47]. Дополнительно стоит отметить тот факт, что во многих исследованиях [13, 14, 30, 48] игроков по позициям делят условно, т.е. «вратарь-защитник-полузащитник-нападающий» без дополнительной специализации, хотя ни для кого не секрет, что разница, например, между центральным защитником и крайним защитником, как и между таранным центрфорвардом и фланговым нападающим бывает очень велика, как в антропометрии, так и в чисто психологических навыках, необходимых для успешной игры в футбол, поэтому при усреднении такой неоднородной информации, сложно получить достоверные отличия, ведь особенности игроков маскируются общим потоком данных.

В результате проведённого корреляционного анализа мы также не выявили связи между психофункциональными характеристиками футболистов-юношей из КСПУОР и позицией на поле, что согласуется с мнением ряда авторов в научной литературе [1, 6, 11, 14].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

1. Достоверных различий в антропометрии между футболистами возрастного диапазона от 18 до 30 лет не выявлено, что объясняется особенностями игры в футбол, где самые разнообразные сочетания антропометрических признаков и возраста могут сопутствовать успешному спортивному выступлению конкретного игрока.
2. Сопоставление ЧСС и уровня квалификации футболистов показало, что, в первую очередь, ЧСС зависит от уровня мастерства, а значит и тренированности организма, но не возраста.
3. Уровень ЖЕЛ у футболистов-юношей КСПУОР ($5,02 \pm 0,13$ л) значимо ниже, чем у их сверстников из других команд, а также профессиональных футболистов. Соответственно, следует считать ЖЕЛ и ЧСС важными показателями, связанными с мастерством, которые необходимо улучшить юношам из КСПУОР, чтобы добиться более высоких игровых успехов.
4. Сила мышц руки у юношей-футболистов КСПУОР ($55,3 \pm 1,55$ кг) оказалась достоверно выше всех литературных данных, в том числе и показателей профессиональных спортсменов. Значит, в училище более успешно проходит формирование силовых качеств, чем выносливости.
5. Футболисты-юноши из КСПУОР показали достаточно высокие баллы по всем 7 подшкалам ACSI-28 и, во многом, по психологической устойчивости не уступают более именитым игрокам из-за рубежа, хотя ПТ и РПД следует поднять до более высокого уровня.
6. Установлена положительная корреляция между психологическими и физиологическими показателями футболистов-мужчин юношеского возраста КСПУОР в таких парах как «рост – работа под давлением ($r = 0,61$); «возраст – преодоление трудностей» ($r = 0,48$).
7. В результате проведённого корреляционного анализа не выявлено связи между психофункциональными характеристиками футболистов-юношей из КСПУОР и позицией на поле.

Список литературы

1. Kurt C. Comparison of loneliness, trait anger-anger expression style, self-esteem attributes with different playing position in soccer / C. Kurt, F. Catikkas, I. K. Ömürlü, O. Atalağ // *Journal of Physical Education & Sport*. – 2012. – Vol. 12, № 1. – P. 39–43.
2. Hanin Y. L. Soccer and emotion: enhancing or impairing performance / Y. L. Hanin // *Soccer and science*. – Copenhagen, Denmark: University of Copenhagen. – 2000. – P. 22–23.
3. Ляшенко В. Н. Специфические особенности индивидуальных свойств личности спортсменов командных видов спорта / В. Н. Ляшенко, В. Н. Туманова, Е. В. Гацко, Е. Н. Корж // *Физическое воспитание студентов*. – 2016. – № 5. – С. 24–32.
4. Da Silva C. D. A review of stature, body mass and maximal oxygen uptake profiles of U17, U20 and first division players in Brazilian soccer / C. D. Da Silva, J. Bloomfield, J. C. B. Marins // *Journal of sports science & medicine*. – 2008. – Vol. 7, № 3. – P. 309–319.
5. Wong P. Characteristics of World Cup soccer players / P. Wong, I. Mujika, C. Castagna [et al.] // *Soccer Journal-Binghamton-National Soccer Coaches Association of America*. – 2008. – Vol. 53, № 1. – P. 57–62.
6. Wong P. L. Relationship between anthropometric and physiological characteristics in youth soccer players / P. L. Wong, K. Chamari, A. Dellal, U. Wisløff // *The Journal of Strength & Conditioning Research*. – 2009. – Vol. 23, № 4. – P. 1204–1210.
7. Шамардин А. И. Оптимизация функциональной подготовленности футболистов: Монография / А. И. Шамардин. – Волгоград, 2000. – 276 с.
8. Бальсевич В. К. Контуры новой стратегии подготовки спортсменов олимпийского класса / В. К. Бальсевич // *Теория и практика физической культуры*. – 2001. – № 4. – С. 9–10.
9. Яшанин Я. Биологические основы оптимизации тренировочных нагрузок / Я. Яшанин, Ю. Войнар, Н. Яшанин, А. Скурвидас // *Наука в олимпийском спорте*. – 2002. – № 1. – С. 54–59.
10. Lago-Peñas C. Anthropometric and physiological characteristics of young soccer players according to their playing positions: relevance for competition success / C. Lago-Peñas, L. Casais, A. Dellal [et al.] // *The Journal of Strength & Conditioning Research*. – 2011. – Vol. 25, № 12. – P. 3358–3367.
11. Malina R. M. Height, mass and skeletal maturity of elite Portuguese soccer players aged 11–16 years / R. M. Malina, M. P. Reyes, J. C. Eisenmann [et al.] // *Journal of sports sciences*. – 2000. – Vol. 18, № 9. – P. 685–693.
12. Wrigley R. Quantification of the typical weekly in-season training load in elite junior soccer players / R. Wrigley, B. Drust, G. Stratton [et al.] // *Journal of sports sciences*. – 2012. – Vol. 30, № 15. – P. 1573–1580.
13. Najah A. The psychological profile of youth male soccer players in different playing positions / A. Najah, R. B. Rejeb // *Advances in physical education*. – 2015. – Vol. 5, № 03. – P. 161–169.
14. Jooste J. Psychological skills, playing positions and performance of African youth soccer teams / J. Jooste, B. J. M. Steyn, L. Van den Berg // *South African Journal for Research in Sport, Physical Education and Recreation*. – 2014. – Vol. 36, № 1. – P. 85–100.
15. Романенко В. А. Двигательные способности человека / В. А. Романенко. – Донецк: УК-центр, 1999. – 336 с.
16. Воробьев К. П. Клинико-физиологический анализ категорий функционального состояния организма в интенсивной терапии / К. П. Воробьев // *Вестник интенсивной терапии*. – 2001. – № 2. – С. 3–8.
17. Симоненкова И. Проблема диагностики психологических навыков спортсменов (по материалам зарубежных исследований) / И. Симоненкова // *Спортивный психолог*. – 2015. – № 3. – С. 63–66.
18. Bin Hidrus A. Measuring coping skills among athletes using ACSI-28: a brief guideline for coaches / A. Bin Hidrus, Y. C. Kueh, G. Kuan // *Coaching Journal*. – 2016. – Vol. 2, № 7. – P. 31–36.
19. Junge A. Psychological and sport-specific characteristics of football players / A. Junge, J. Dvorak, D. Rosch [et al.] // *The American Journal of Sports Medicine*. – 2000. – Vol. 28, № 5. – P. 22–28.
20. Янцев А. В. Решение статистических задач в биологии: Учебное пособие для студентов биологов / А. В. Янцев. – Симферополь: ТНУ им. В. И. Вернадского, 2009. – 118 с.
21. Жученко Ю. М. Математическая статистика в биологии и химии: учебное пособие для студентов вузов по специальности 1-31 01 01 «Биология» / Ю. М. Жученко. – Гомель: ГГУ им. Ф. Скорины, 2010. – 197 с.

22. Omar-Fauzee M. S. The effectiveness of imagery and coping strategies in sport performance / M. S. Omar-Fauzee, W. Daud, R. Abdullah, S. A. Rashid // *European Journal of Social Sciences*. – 2009. – Vol. 9, № 1. – P. 97–108.
23. Footballfacts.ru Футболисты [Электронный ресурс]. – 2019. – Режим доступа к статье: <http://footballfacts.ru/players> (дата обращения 05.04.2019).
24. Transfermarkt.com Football transfers, rumours, market values, news and statistics, 2019.
25. Wyscout.com FK Krasnodar Under 21 [Электронный ресурс]. – 2019. – Режим доступа к статье: <https://platform.wyscout.com/app/?> (дата обращения 13.04.2019).
26. Карпов С. Как выглядит лучшая спортивная академия в России. А может, и не только в России [Электронный ресурс] / С. Карпов. – 2016. – Режим доступа к статье: <https://mel.fm/sport/5698413-fckrasnodar> (дата обращения 05.02.2019).
27. Борисевич Я. Н. Показатели структуры тела, функциональных возможностей и адаптационных резервов организмов футболистов / Я. Н. Борисевич // Специфические и неспецифические механизмы адаптации при стрессе и физической нагрузке: сборник научных статей I Республиканской научно-практической интернет-конференции с международным участием / Н. И. Штаненко [и др.]. – Электрон. текст. данные (объем 2,31 Мб). – Гомель: ГомГМУ, 2014. – С. 89–92.
28. Stratton G. Youth soccer: From science to performance / G. Stratton, T. Reilly, M. Williams, D. Richardson. – Routledge, 2004. – 229 pp.
29. Гаврилова О. Я. Подросток или взрослый? Мотивация, тревожность и другие психологические маркеры зрелости спортсменов-юниоров / О. Я. Гаврилова, Л. М. Довжик, К. А. Бочавер // Сборник трудов XI Всероссийской научно-практической конференции «подросток в мегаполисе: среда возможностей», ред. М. Я. Кац. – М.: Перекрёсток Плюс, 2018. – С. 1–7.
30. Ширияев Н. В. Основные антропометрические параметры игроков современных европейских футбольных команд / Н. В. Ширияев, В. В. Ширияев, М. П. Максимьяк, А. В. Лузин // Учёные записки Таврического национального университета имени В. И. Вернадского. Серия: Биология, химия. – 2008. – Т. 21, № 3. – С. 212–219.
31. Ostojic S. M. Elite and nonelite soccer players: preseasonal physical and physiological characteristics / S. M. Ostojic // *Research in Sports Medicine*. – 2004. – Vol. 12, № 2. – P. 143–150.
32. Lehance C. Muscular strength, functional performances and injury risk in professional and junior elite soccer players / C. Lehance, J. Binet, T. Bury, J. L. Croisier // *Scandinavian journal of medicine & science in sports*. – 2009. – Vol. 19, № 2. – P. 243–251.
33. Woods C. T. E. Predicting playing status in junior Australian Football using physical and anthropometric parameters / C. T. E. Woods, A. J. Raynor, L. Bruce [et al.] // *Journal of Science and Medicine in Sport*. – 2015. – Vol. 18, № 2. – P. 225–229.
34. Arnason A. Physical fitness, injuries, and team performance in soccer / A. Arnason, S. B. Sigurdsson, A. Gudmundsson [et al.] // *Medicine & Science in Sports & Exercise*. – 2004. – Vol. 36, № 2. – P. 278–285.
35. Шаламова Е. Ю. Влияние занятий футболом на физическое развитие юношей 18–22-х лет / Е. Ю. Шаламова, О. Н. Косолапов // *Вестник Курганского государственного университета*. – 2004. – № 1. – С. 156–160.
36. Павличенко П. П. (а). Влияние игровой нагрузки на функциональное состояние профессиональных футболистов / П. П. Павличенко // *Мир медицины и биологии*. – 2015. – Т. 11, № 1 (48). – С. 49–54.
37. Raven P. B. A physiological evaluation of professional soccer players / P. B. Raven, L. R. Gettman, M. L. Pollock [et al.] // *British Journal of Sports Medicine*. – 1976. – Vol. 10, № 4. – P. 209–216.
38. Рязанов А. А. Контроль подготовленности футболистов на этапе спортивного совершенствования / А. А. Рязанов, А. М. Шпичко // *Вестник Тамбовского университета. Серия: Гуманитарные науки*. – 2012. – № 5 (109). – С. 229–233.
39. Павличенко П. П. (б). Функциональное состояние при проведении тестов функциональной подготовленности у профессиональных футболистов / П. П. Павличенко // *Медицинські перспективи*. – 2015. – Т. 20, № 4. – С. 65–71.
40. Thomas V. Fitness assessment of English league soccer players through the competitive season / V. Thomas, T. Reilly // *British journal of sports medicine*. – 1979. – Vol. 13, № 3. – P. 103–109.
41. Coetzee B. Sport psychological skills that distinguish successful from less successful soccer teams / B. Coetzee, H. W. Grobbelaar, C. C. Gird // *Journal of Human Movement Studies*. – 2006. – Vol. 51, № 6. – P. 383–402.

42. Devantier C. Psychological predictors of injury among professional soccer players / C. Devantier // *Sport Science Review*. – 2011. – Vol. 20, № 5–6. – P. 5–36.
43. Sanz J. L. G. Development and validation of a Spanish version of the Athletic Coping Skills Inventory, ACSI-28 / J. L. G. Sanz, L. M. R. Pérez, V. G. Coll, R. E. Smith // *Psicothema*. – 2011. – Vol. 23, № 3. – P. 495–502.
44. Егоров А. Г. Фэйр Плэй в современном спорте: учеб. пособие / А. Г. Егоров, М. А. Захаров. – Смоленск: СГУ, 2006. – 186 с.
45. Heinilä K. Ethics of sport / K. Heinilä // University of Jyväskylä. Department of Sociology and Planning for Physical Culture. Finland, Jyväskylä. – 1974. – № 4. – P. 72.
46. Перцухов А. А. Взаимосвязь показателей габаритных размеров тела и функциональной подготовленности футболистов 17–19 лет / А. А. Перцухов // *Физическое воспитание студентов*. – 2011. – Т. 4. – С. 64–66.
47. Franks I. M. Use of feedback by coaches and players / I. M. Franks / In T. Reilly, J. Bangsbo, M. Hughes (eds.) *Science and Football III*. – London: E. & F. N. Spon, 1997. – P. 267–278.
48. Turovsky V. F. Psychophysiological characteristics of football players of various playing positions / V. F. Turovsky, J. V. Koryagina, V. A. Blinov // *Theory and practice of physical culture*. – 2013. – № 7. – P. 15.

PSYCHO-FUNCTIONAL STATUS OF YOUTH SOCCER PLAYERS

***Chajka A. V.^{1,2}, Salashinsky A. A.¹, Nagaeva E. I.¹, Khusainov D. R.^{1,2}, Yatsenko I. N.²,
Smailova E. E.², Golinach O. V.²***

¹*V. I. Vernadsky Crimean Federal University, Simferopol, Crimea, Russia*

²*Krasnolesie Crimean College of Olympic Reserve, Simferopol district, Russian Federation*

E-mail: andrew.chajka@yandex.ru

The problem of preparing a highly qualified reserve in professional soccer is currently becoming increasingly important. The effective functioning of the sports reserve system, improving the quality of the educational process of young athletes can be ensured only with strict scientific justification of the system as a whole and its individual components. The optimal design of the technology of the training process, the formation of training programs, the selection of adequate means and methods of training effects and targeted recovery is possible only on the basis of the laws of age development, information on the mental and functional characteristics of athletes.

Therefore, the study of the psychological and functional characteristics of young soccer players, their relationship, both among themselves and with the position on the field, is still an urgent issue in sports physiology and is defined by us as the goal of this study.

The study was conducted in March-April 2019 on 25 young soccer players (19.29±0.19 years) studying at the Krasnolesie Crimean College of Olympic Reserve (KCCOR), in the competitive period. To assess the physical condition of the soccer players, anthropometric indicators (height, body weight), heart rate, hand strength (dynamometry) and measurement of lung vital capacity (VC) were chosen. The ACSI-28 questionnaire was used to study the psychological characteristics of youth soccer players. To assess the attitude of young soccer players to fair play, an appropriate questionnaire was used according to the methodology by A. Junge (2000).

For comparative analysis, literature data were selected based primarily on the criterion «players of the CIS countries», therefore, many reference data were obtained from soccer teams from Belarus, Russia and Ukraine, because it is known that nationality and geography are important factors, affecting the results of both physiological and mental tests. Otherwise, the reference data were those that were found in the literature in the public domain, with an emphasis on players from Europe. In the case of anthropometry, the data are much easier to obtain, therefore, the results of the Crimean Premier League adult soccer players (height, body weight, age) were taken as benchmarks, and for young men – the data of the U-21 Krasnodar team, as geographically closest to Crimea, and also because of the status of the best youth academy in Russia. When using foreign sources, the results of regional leagues, second and third leagues, less successful teams were chosen as reference, so that their level was adequate for comparison with our data, and not initially overestimated due to the prohibitive level of skill and, in this case, the comparative analysis would be little informative.

According to the results of the study, it was found that:

1. No significant differences in anthropometry between soccer players in the age range from 18 to 30 years have been identified, which is explained by the peculiarities of soccer, where the most diverse combinations of anthropometric signs and age can accompany the successful sports performance of a particular player.

2. A comparison of heart rate and the skill level of football players showed that, first of all, heart rate depends on the level of skill, and therefore the fitness of the body, but not age.

3. The level of VC among the youth soccer players of KCCOR (5.02 ± 0.13 l) is significantly lower than that of their peers from other teams, as well as professional soccer players. Accordingly, VC and heart rate should be considered important indicators related to mastery, which must be improved by young men from KCCOR in order to achieve higher gaming successes.

4. The strength of the muscles of the hand in youth soccer players of KCCOR (55.3 ± 1.55 kg) turned out to be significantly higher than all published data, including and indicators of professional athletes. This means that the school is more successfully involved in the formation of power qualities than endurance.

5. Youth soccer players from KCCOR showed rather high scores for all 7 ACSI-28 subscales and, in many respects, are not inferior in psychological stability to more eminent players from abroad, although «coping with adversity» and «peaking under pressure» should be raised to a higher level.

6. A positive correlation was established between the psychological and physiological parameters of male soccer players of the KCCOR in such pairs as «height – peaking under pressure» ($r = 0.61$); «Age – coping with adversity » ($r = 0.48$).

7. As a result of the correlation analysis, no relationship was found between the psycho-functional characteristics of the youth football players from KCCOR and their position on the field, probably due to the fact that in youth football specialization on the field does not take place completely, many play in different positions and have not yet fully revealed their talent.

Keywords: soccer, anthropometry, hand strength, ACSI-28, fair play.

References

1. Kurt C., Çatikkas F., Ömürlü İ. K., & Atalağ O. Comparison of Loneliness, Trait Anger-Anger Expression Style, Self-esteem Attributes with Different Playing Position in Soccer, *Journal of Physical Education & Sport*, **12(1)**, 39 (2012).
2. Hanin Y. L. Soccer and Emotion: enhancing or impairing performance. *Soccer and science. Copenhagen, Denmark: University of Copenhagen*, 22 (2000).
3. Liashenko V. N., Tumanova V. N., Hatsko E. V., Korzh Y. N. Specific features of team kinds of sports sportsmen's individual characteristics. *Physical education of students*, **5**, 24 (2016). (In Russ.).
4. Da Silva C. D., Bloomfield J., & Marins J. C. B. A review of stature, body mass and maximal oxygen uptake profiles of U17, U20 and first division players in Brazilian soccer, *Journal of sports science & medicine*, **7(3)**, 309 (2008).
5. Wong P., Mujika I., Castagna C., Chamari K., Lau W. C., & Wisloff U. Characteristics of World Cup soccer players, *Soccer Journal-Binghamton-National Soccer Coaches Association of America*, **53(1)**, 57. (2008).
6. Wong P. L., Chamari K., Dellal A., & Wisløff U. Relationship between anthropometric and physiological characteristics in youth soccer players, *The Journal of Strength & Conditioning Research*, **23(4)**, 1204 (2009).
7. Shamardin A. I. *The optimization of footballers' functional preparedness*, 276 pp. (Volgograd, 2000) (In Russ.).
8. Bal'sevich V. K. Kontury novoj strategii podgotovki sportsmenov olimpijskogo klassa, *Teoriya i praktika fizicheskoy kul'tury*, **4**, 9 (2001). (In Russ.).
9. Yashanin Ya., Voynar Yu., & Skurvidas A. Biological basis of optimization of training loads, *Science in the Olympic sport*, **1**, 54 (2002). (In Russ.).
10. Lago-Peñas C., Casais L., Dellal A., Rey E., & Domínguez E. Anthropometric and physiological characteristics of young soccer players according to their playing positions: relevance for competition success, *The Journal of Strength & Conditioning Research*, **25(12)**, 3358 (2011).
11. Malina R. M., Reyes M. P., Eisenmann J. C., Horta L., Rodrigues J., & Miller R. Height, mass and skeletal maturity of elite Portuguese soccer players aged 11–16 years, *Journal of sports sciences*, **18(9)**, 685 (2000).
12. Wrigley R., Drust B., Stratton G., Scott M., & Gregson W. Quantification of the typical weekly in-season training load in elite junior soccer players, *Journal of sports sciences*, **30(15)**, 1573 (2012).
13. Najah A., & Rejeb R. B. The psychological profile of youth male soccer players in different playing positions. *Advances in physical education*, **5(03)**, 161. (2015).
14. Jooste J., Steyn B. J., & Van den Berg L. Psychological skills, playing positions and performance of African youth soccer teams, *South African Journal for Research in Sport, Physical Education and Recreation*, **36(1)**, 85 (2014).
15. Romanenko V.A. *Motive capabilities of a man*, 336 p. (Uktsentr, Donetsk, 1999) (In Russ.).
16. Vorob'ev K. P. Kliniko-fiziologicheskij analiz kategorij funktsional'nogo sostoyaniya organizma v intensivnoj terapii, *Vestnik intensivnoj terapii*, **2**, 3 (2001) (In Russ.).
17. Simonenkova I. P. Problem diagnosis of psychological skills of athletes (on materials of foreign studies), *Sport psychologist*, **38(3)**, 63 (2015) (In Russ.).
18. Bin Hidrus, A., Kueh, Y. C. & Kuan, G. Measuring coping skills among athletes using ACSI-28: a brief guideline for coaches. *Coaching Journal*, **2(7)**, 31 (2016).
19. Junge A., Dvorak, J., Rosch, D., Graf-Baumann, T., Chomiak, J., & Peterson, L. Psychological and sport-specific characteristics of football players. *The American Journal of Sports Medicine*, **28** (5_suppl), 22 (2000).
20. Yantsev A. V. *Reshenie statisticheskikh zadach v biologii: uchebnoe posobie dlya studentov biologov*, 118 p. (V. I. Vernadsky TNU, Simferopol, 2009) (In Russ.).
21. Zhuchenko, YU. M. *Matematicheskaya statistika v biologii i himii: uchebnoe posobie dlya studentov vuzov po spetsial'nosti 1-31 01 01 «Biologiya»*, 197 p. (GGU im. F. Skoriny, Gomel, 2010) (In Russ.).
22. Omar-Fauzee M. S., Daud W. R. B. W., Abdullah R., & Rashid S. The effectiveness of imagery and coping strategies in sport performance, *European Journal of Social Sciences*, **9(1)**, 97 (2009).
23. Footballfacts.ru *Football Players*. Retrieved from: <http://footballfacts.ru/players> (2019) (In Russ.).
24. Transfermarkt.com *Football transfers, rumours, market values, news and statistics* (2019).

25. Wyscout.com *FK Krasnodar Under 21*. Retrieved from: <https://platform.wyscout.com/app/> (2019).
26. Karpov S. *What does the best sports academy in Russia look like? Or maybe not only in Russia*. Retrieved from: <https://mel.fm/sport/5698413-fckrasnodar> (2016) (In Russ.)
27. Borisevich YA. N. Pokazateli struktury tela, funkcional'nyh vozmozhnostej i adaptatsionnyh rezervov organizma futbolistov. *Spetsificheskie i nespetsificheskie mekhanizmy adaptatsii pri stresse i fizicheskoj nagruzke: sbornik nauchnyh statej I Respublikanskoj nauchno-prakticheskoj internet-konferentsii s mezhdunarodnym uchastiem*, p. 89-92. (GomGMU, Gomel, 2014) (In Russ.).
28. Stratton G., Reilly T., Williams A. M. & Richardson D. *Youth soccer: From science to performance*, 229 pp. (Routledge, 2004).
29. Gavrilova O. YA., Dovzhik L. M. & Bochaver K. A. Podrostok ili vzroslyj? Motivaciya, trevozhnost' i drugie psihologicheskie markery zrelosti sportsmenov-yuniorov. *Sbornik trudov XI Vserossijskoj nauchno-prakticheskoj konferencii «Podrostok v megapolise: sreda vozmozhnostej»*, red. M. YA. Katz p. 1-7. (Perekrestok Plyus, Moscow, 2018) (In Russ.).
30. Shirayev N. V., Shirayev V. V., Maximyak M. P. & Luzin A. V. The main anthropometrical parameters of the players of modern European football teams. *Uchenye zapiski Tavricheskogo Natsionalnogo Universiteta im. V. I. Vernadskogo. Series «Biology, chemistry»*, **21(3)**, 212 (2008). (In Russ.).
31. Ostojic S. M. Elite and nonelite soccer players: preseasonal physical and physiological characteristics. *Research in Sports Medicine*, **12(2)**, 143 (2004).
32. Lehance C., Binet J., Bury T., & Croisier J. L. Muscular strength, functional performances and injury risk in professional and junior elite soccer players, *Scandinavian journal of medicine & science in sports*, **19(2)**, 243 (2009).
33. Woods C. T., Raynor A. J., Bruce L., McDonald Z., & Collier N. Predicting playing status in junior Australian Football using physical and anthropometric parameters, *Journal of Science and Medicine in Sport*, **18(2)**, 225 (2015).
34. Arnason A., Sigurdsson S. B., Gudmundsson A., Holme I., Engebretsen L., & Bahr R. Physical fitness, injuries, and team performance in soccer, *Medicine & Science in Sports & Exercise*, **36(2)**, 278 (2004).
35. Shalamova E. YU. & Kosolapov O. N. Vliyanie zanyatij futbolom na fizicheskoe razvitie yunoshej 18-22-h. *Vestnik Kurganskogo gosudarstvennogo universiteta*, (1), 156 (2004) (In Russ.).
36. Pavlichenko P. P. The influence of the playing load on the functional status of professional football players. *World Medicine and Biology*, **11(1)**, 49 (2015) (In Russ.).
37. Raven P. B., Gettman L. R., Pollock M. L., & Cooper K. H. A physiological evaluation of professional soccer players. *British Journal of Sports Medicine*, **10(4)**, 209 (1976).
38. Ryazanov A. A., Shpichko A. M. Control of players on stage of sports improvement readiness. *Tambov University Review. Series Humanities*, (5), 229 (2012) (In Russ.).
39. Pavlichenko P. P. The functional status of the professional football players during functional testing procedure. *«Medicni perspektivi» (Medical perspectives)*, **20(4)**, 65 (2015) (In Russ.).
40. Thomas, V., & Reilly, T. Fitness assessment of English league soccer players through the competitive season. *British journal of sports medicine*, **13(3)**, 103 (1979).
41. Coetzee B., Grobbelaar H. W., & Gird C. C. Sport psychological skills that distinguish successful from less successful soccer teams. *Journal of Human Movement Studies*, **51(6)**, 383 (2006).
42. Devantier C. Psychological predictors of injury among professional soccer players, *Sport Science Review*, **20(5-6)**, 5 (2011).
43. Sanz J. L. G., Pérez L. M. R., Coll V. G., & Smith R. E. Development and validation of a Spanish version of the Athletic Coping Skills Inventory, ACSI-28., *Psicothema*, **23(3)**, 495 (2011).
44. Egorov A. G. & Zakharov M. A. *Fjejr Pljej v sovremennom sporte. [Fair-play in modern sport]*, 186 p. (SGAFKST; Smolgu, Smolensk, 2006) (In Russ.).
45. Heinilä K. Ethics of sport. *University of Jyväskylä. Department of Sociology and Planning for Physical Culture. Finland, Jyväskylä*, (4), 72 (1974).
46. Pertsuhov A. A. Vzaimosvyaz' pokazatelej gabaritnyh razmerov tela i funkcional'noj podgotovlennosti futbolistov 17-19 let, *Fizicheskoe vospitanie studentov*, **4**, 64 (2011) (In Russ.).
47. Franks I. M. Use of feedback by coaches and players, *Science and football III*, 267 (1997).
48. Turovsky V. F., Koryagina J. V., & Blinov V. A. Psychophysiological characteristics of football players of various playing positions, *Theory and Practice of Physical Culture*, (7), 15 (2013).

УДК 591.5:612.014.46

**ВЛИЯНИЕ БИС(2-ПИРИДИЛ-1,2,4-ТРИАЗОЛИЛ-3)ПРОПАНА НА
ПОВЕДЕНИЕ САМЦОВ И САМОК КРЫС В ТЕСТАХ «ОТКРЫТОЕ ПОЛЕ» И
«ПРИПОДНЯТЫЙ КРЕСТООБРАЗНЫЙ ЛАБИРИНТ»**

Черетаев И. В., Чуян Е. Н., Раваева М. Ю., Шульгин В. Ф.

*Таврическая академия (структурное подразделение) ФГАОУ ВО «Крымский федеральный университет имени В. И. Вернадского», Симферополь, Республика Крым, Россия
E-mail: cheretaev86@yandex.ru*

В статье представлены результаты оценки влияния бис(2-пиридил-1,2,4-триазолил-3)пропана в дозах 5, 50, 100, 150 и 200 мг/кг на поведение самцов и самок крыс в тестах «открытое поле» и «приподнятый крестообразный лабиринт». Эксперименты проведены на 60 самках и 60 самцах линии Вистар. В тесте «открытое поле» бис(2-пиридил-1,2,4-триазолил-3)пропан проявлял у самцов крыс седативный и анксиогенный эффект в дозах 150 и 200 мг/кг, а у самок крыс в данном тесте наблюдался выраженный анксиогенный эффект этого вещества в дозах 50 и 150 мг/кг и седативный – в дозах 50, 150 и 200 мг/кг. В тесте «приподнятый крестообразный лабиринт» тестируемое соединение оказывало выраженный анксиогенный эффект в дозах 150 и 200 мг/кг у самцов (прямая линейная зависимость «доза-эффект»), а у самок был обнаружен аналогичный ярко выраженный эффект в дозах 5 и 50 мг/кг и слабый – в дозах 100 и 150 мг/кг (обратная линейная зависимость «доза-эффект»). В этом тесте зависимость «доза-эффект» носила почти линейный характер с максимальной выраженностью в дозе 150 мг/кг у самцов и 50 мг/кг – у самок.

Ключевые слова: бис(2-пиридил-1,2,4-триазолил-3)пропан, крысы, поведение, тревожность.

ВВЕДЕНИЕ

По данным обзорных исследований, тревожные и тревожно-депрессивные аффективные расстройства поведения являются глобальной проблемой всего человечества [1–3]. Распространены эти расстройства и на территории России и, в частности, Республики Крым [4]. В связи с этим, проведение биоскрининга различных химических биологически активных веществ на наличие противотревожной (анксиолитической) активности с использованием поведенческих моделей на животных актуально для прикладной фармакологии и медицины.

Для проведения таких биоскрининговых исследований перспективны 1,2,4-триазолы, поскольку у некоторых представителей 1,2,4-триазолов уже известны психоактивные эффекты [5, 6]. Кроме того, в отношении изучаемого в данной работе соединения нами ранее было показано, что в определённых дозах оно обладает противоболевой активностью, повышая у самцов и самок крыс пороги температурной болевой чувствительности в тестах «tail-flick», «hot-plate» и механической – в тесте Рэндалла-Селитто [7, 8].

Несмотря на представленные выше сведения, непосредственные данные о влиянии бис(2-пиридил-1,2,4-триазолил-3)пропана (БТП) на тревожное поведение отсутствуют.

Цель работы – оценить влияние БТП на поведение самцов и самок крыс в тестах «открытое поле» и «крестообразный приподнятый лабиринт».

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Предварительно в тесте «открытое поле» было отобрано 60 лабораторных крыс-самок и 60 лабораторных крыс-самцов линии Вистар («ФГУП «Питомник лабораторных животных «Рапполово») одинакового возраста массой 180–200 г со средним уровнем двигательной активности и низким уровнем эмоциональности. Для этого использовали специализированную рабочую станцию размером 45 x 45 см с прозрачными полипропиленовыми стенками высотой 20 см – актимер (IR Actimeter, Pan Lab Harvard Apparatus Испания) с двумя инфракрасными рамками, выполняющих роль датчиков движений. Для управления рабочей станцией и сбора данных использовали программное обеспечение Actitrack 2.0 (Pan Lab Harvard Apparatus, Испания).

Животных, участвующих в эксперименте, содержали в стандартных условиях вивария (ГОСТ 33215-2014 «Руководство по содержанию и уходу за лабораторными животными. Правила оборудования помещений и организации процедур») с естественным 12-часовым свето-темновым циклом при температуре 18–22 °С на подстилке «Рехофикс МК 2000» со свободным доступом к воде и полноценному гранулированному корму ГОСТ Р-50258-92. Исследование проведено в соответствии с ГОСТ Р-53434-2009 «Принципы надлежащей лабораторной практики» и правилами Европейской конвенции по защите позвоночных животных, используемых для экспериментальных и иных научных целей. Экспериментальная часть работы выполнена в центре коллективного пользования научным оборудованием «Экспериментальная физиология и биофизика» кафедры физиологии человека и животных и биофизики Таврической академии (структурное подразделение ФГАОУ ВО «Крымский федеральный университет им. В. И. Вернадского).

В эксперименте с каждым веществом принимали участие 60 самцов и 60 самок крыс, которые были разделены на 12 групп по 10 особей. На момент начала эксперимента эстральный цикл самок был синхронизирован. Самцы и самки одной группы являлись контрольными и получали внутривенно инъекции по 0,2 мл физиологического раствора и находились в стандартных условиях вивария, остальные экспериментальные группы получали по 0,2 мл внутривенных инъекций тестируемого вещества в дозах 5, 50, 100, 150 и 200 мг/кг соответственно. Тестирование параметров поведения животных проводили через 1 час после инъекций в тестах «открытое поле» (IR Actimeter, Pan Lab Harvard Apparatus, Испания) и «приподнятый крестообразный лабиринт» (НПК «Открытая Наука», Россия), использующихся согласно [9] в исследованиях по изучению транквилизирующего (анксиолитического) действия веществ. Постоянство

освещения опытных установок контролировали с помощью люксметра Testo 540 (ФРГ), интенсивность освещения составляла 250 ± 15 Лк.

В тесте «открытое поле» проводили тестирование общей двигательной и ориентировочно-исследовательской активности крыс, а также в центре и на периферии исследовательской установки IR Actimeter, описанной выше [9–11]. Регистрацию и анализ данных теста проводили с помощью программного обеспечения Actitrack 2.0 (Pan Lab Harvard Apparatus, Испания). Видеорегистрацию поведенческих реакций животного осуществляли с помощью цифровой видеосистемы с переносным штативом VS1304-P (НПК Открытая Наука, Россия). Регистрировали такие показатели поведенческой активности крыс, как горизонтальная двигательная активность, которая включала в себя пройденное расстояние (в см) внутри поля, в центре и на периферии; общего количества актов исследовательской активности (ИА), в центре и на периферии установки; общего количества актов груминга; количества актов дефекации и уринаций. Продолжительность теста составляла 3 мин, в течение которых регистрировали с помощью актиметра IR Actimeter и видеокамеры VS1304-P поведенческие характеристики.

Тест «приподнятый крестообразный лабиринт» (НПК Открытая Наука, Россия) представлял собой крестообразную установку, пол и стенки которой сконструированы из жёсткого поливинилхлорида серого цвета. Ширина рукавов 14 см при длине 50 см, высота стенок в закрытых рукавах составляла 30 см, а высота борта открытых рукавов – 1 см. В месте пересечения рукавов располагалась центральная площадка 14 x 14 см. Торцевые стенки на концах закрытых рукавов отсутствовали. Лабиринт располагался на высоте 55 см над уровнем пола на тележке со стопорами, выполненной из крашеного алюминия и стальных труб. Продолжительность теста составляла 3 мин, в течение которых регистрировали с помощью видеокамеры VS1304-P следующие поведенческие характеристики: время, проведённое в открытых и закрытых рукавах, а также в центре лабиринта (отражает исследовательское поведение), вертикальная двигательная активность (ВДА), количество заглядываний вниз с краёв открытых рукавов (оценка риска) [9].

Данные представлены в виде медианы и межквартильного диапазона (25 и 75 %), их статистический анализ и графическое представление выполнены в программном пакете Graph Pad Prism 7.0. Достоверность различий между группами определяли с помощью однофакторного дисперсионного анализа (ANOVA) с апостериорным тестом Тьюки и непараметрическим критерием множественных сравнений Данна [9].

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Результаты проведённого анализа влияния БТП на локомоторную активность и ориентировочно-исследовательское поведение самцов и самок крыс в тесте «открытое поле» представлены на рис. 1 и 2 соответственно.

Обнаружено, что в тесте «открытое поле» БТП обладает седативным эффектом в дозах 150 и 200 мг/кг у самцов (рис. 1, А, В, Д), а у самок – в дозах 50, 150 и

200 мг/кг (рис. 1, Б, Г, Е), что выражалось в достоверном снижении показателей локомоторной активности по сравнению с контролем.

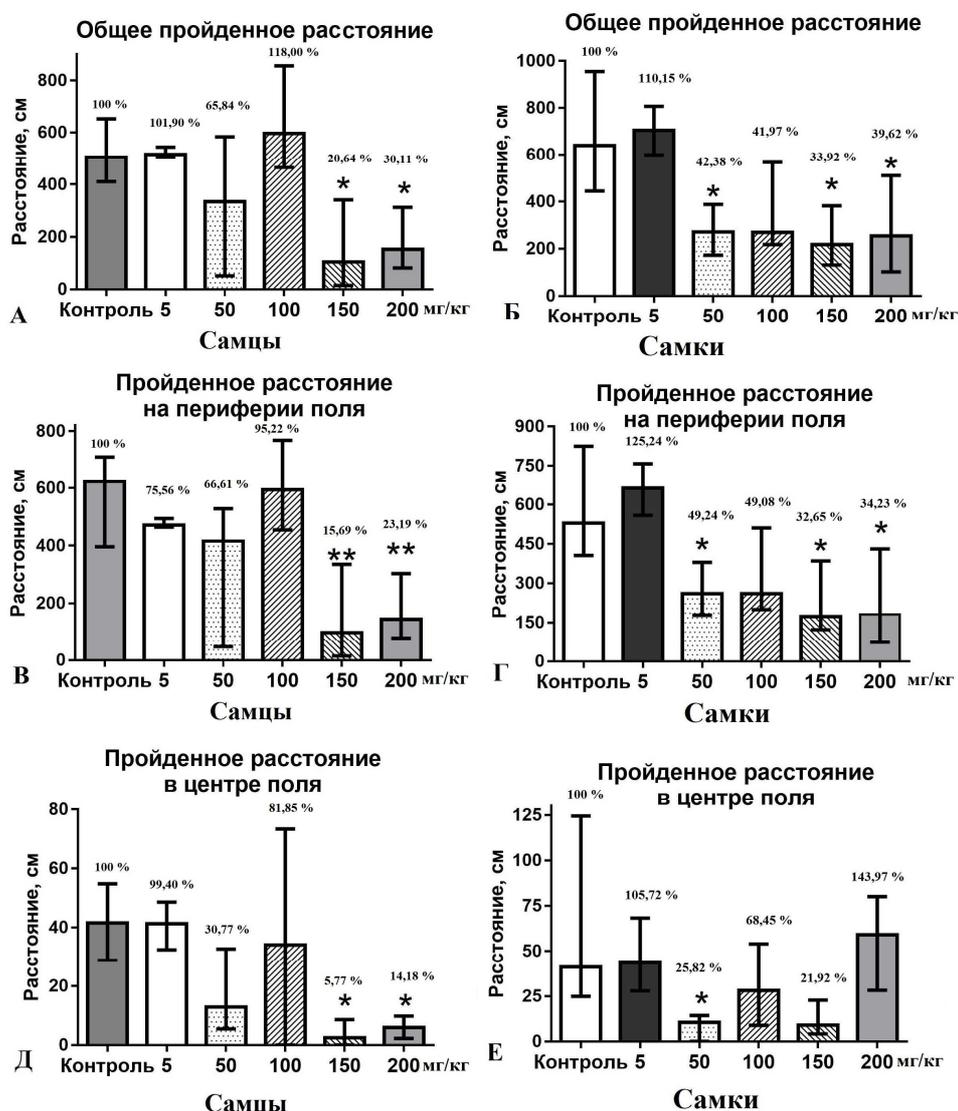


Рис. 1. Влияние бис(2-пиридил-1,2,4-триазилил-3)пропана на показатели локомоторной активности самцов (А, В, Д) и самок (Б, Г, Е) крыс в тесте «открытое поле».

Примечание: А, Б – общее пройденное расстояние в «открытом поле»; В, Г – расстояние, пройденное на периферии «открытого поля»; Д, Е – расстояние, пройденное в центральной зоне «открытого поля»; * – $p \leq 0.05$; ** – $p \leq 0.01$ – достоверность отличий показателя по сравнению с контролем (принят за 100 %).

Так, у самцов БТП в дозах 150 и 200 мг/кг приводил (рис. 1, А) к снижению общего пройденного расстояния относительно контроля на 79,36 ($p \leq 0.05$, $n=10$) и 69,89 % ($p \leq 0.05$, $n=10$), соответственно. Расстояние, пройденное на периферии (рис. 1, В), снижалось по сравнению с контролем у самцов на 84,31 % ($p \leq 0.01$, $n=10$) после введения БТП в дозе 150 мг/кг и на 76,81 % – после воздействия дозы 200 мг/кг ($p \leq 0.01$, $n=10$). Расстояние, пройденное в центральной зоне «открытого поля» (рис. 1, Д), снижалось ещё значительно – на 94,23 ($p \leq 0.05$, $n=10$, БТП в дозе 150 мг/кг) и 85,82 % ($p \leq 0.05$, $n=10$, БТП в дозе 200 мг/кг).

У самок крыс подобные изменения наблюдались не только в дозах 150 и 200 мг/кг, но ещё и в дозе 50 мг/кг (рис. 1, Б, Г, Е). Общее пройденное расстояние (рис. 1, Б) после однократного введения БТП в дозах 50, 150 и 200 мг/кг снижалось относительно контроля на 57,62 ($p \leq 0.05$, $n=10$), 66,08 ($p \leq 0.05$, $n=10$) и 60,38 % ($p \leq 0.05$, $n=10$) соответственно. Расстояние, пройденное самками на периферии (рис. 1, Г), в дозах 50, 150 и 200 мг/кг снижалось на 50,76 ($p \leq 0.05$, $n=10$), 67,35 ($p \leq 0.05$, $n=10$) и 60,38 % ($p \leq 0.05$, $n=10$) соответственно. Расстояние, пройденное самками в центральной зоне «открытого поля» (рис. 1, Е), снижалось значительно по сравнению с контролем только в дозе 50 мг/кг на 74,18 % ($p \leq 0.05$, $n=10$).

Таким образом, угнетающий, седативный, эффект БТП на локомоторную активность согласно интерпретации вышеуказанных показателей теста в работах [9, 10] у самцов проявлялся только в высоких дозах (150 и 200 мг/кг), а у самок крыс – в более широком диапазоне доз (50, 150 и 200 мг/кг).

Что касается параметров ориентировочно-исследовательского и поискового поведения (рис. 2), то у самцов крыс достоверно снижалась до нуля ИА только в центральной зоне «открытого поля» после введения БТП в дозах 150 и 200 мг/кг (рис. 2, Д). Остальные показатели – общая ИА и ИА на периферии «открытого поля» – у самцов достоверно не отличались от контроля (рис. 2, А, В). Это свидетельствует о некотором, очень слабо выраженном, анксиогенном эффекте БТП в отношении поведения самцов согласно экспериментальным протоколам теста [9, 10].

У самок крыс выраженный анксиогенный эффект БТП проявлялся в дозах 50 и 150 мг/кг (рис. 2, Б, Г, Е). Это отражалось в снижении относительно контроля общей ИА под влиянием БТП в дозе 150 мг/кг на 68,42 % ($p \leq 0.05$, $n=10$, рис. 2, Б); снижении ИА на периферии после инъекций БТП в дозах 50 и 150 мг/кг – на 48,57 и 65,71 % (рис. 2, Г) соответственно; достоверном снижении ИА до нуля (рис. 2, Е) в центральной зоне «открытого поля» (БТП в дозах 50 и 150 мг/кг).

Следовательно, значимый анксиогенный эффект БТП в отношении ориентировочно-исследовательского поведения проявлялся у самок крыс в дозах 50 и 150 мг/кг.

Остальные показатели теста (количество актов груминга, количество актов дефекации и уринаций) ни у самок, ни у самцов крыс достоверно не отличались от контрольной группы), поэтому эти данные на рис. 1 и 2 не представлены.

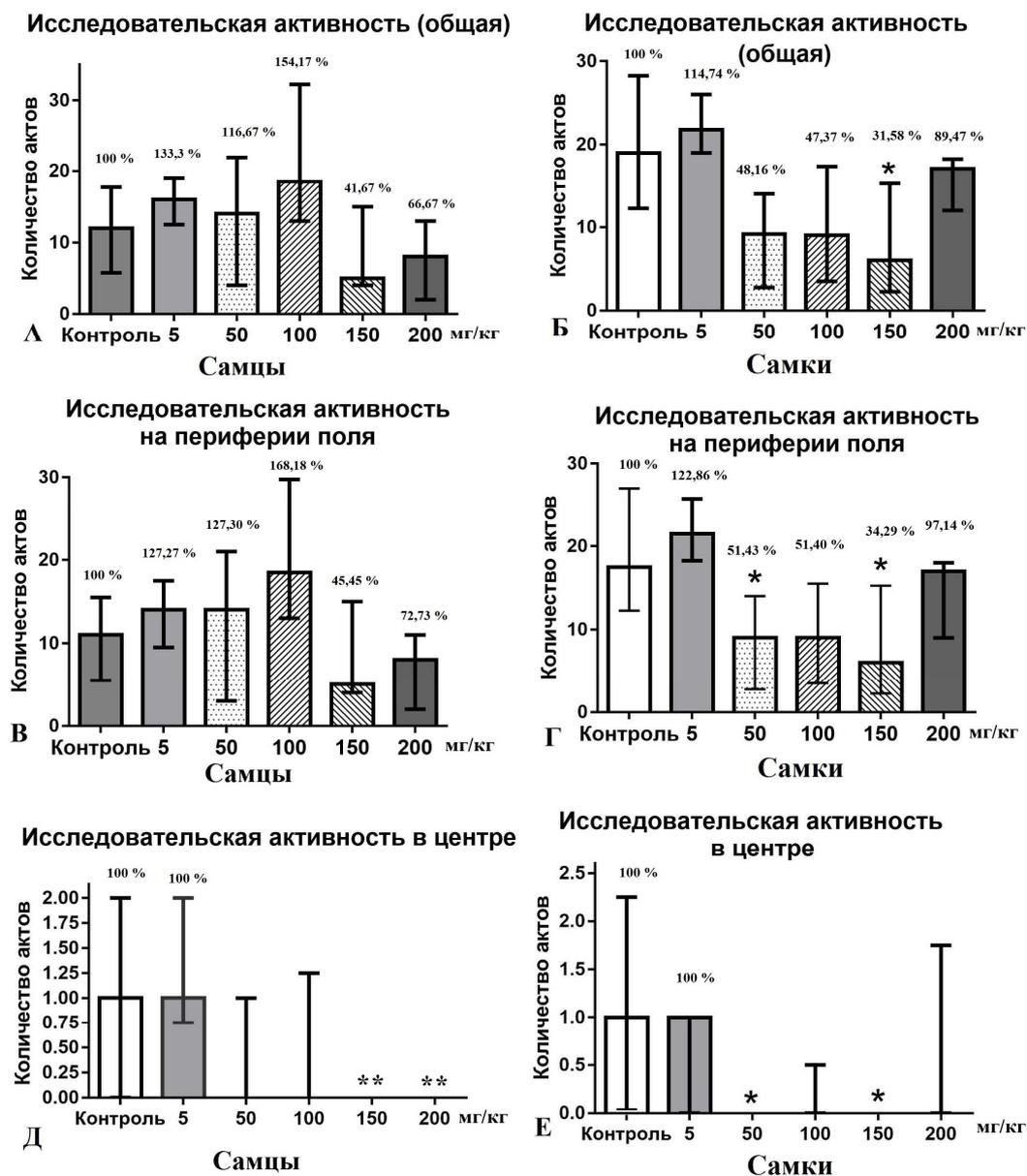


Рис. 2. Влияние бис(2-пиридил-1,2,4-триазолил-3)пропана на ориентировочно-исследовательское самцов и самок крыс в тесте «открытое поле».

Примечание: А, Б – общая исследовательская активность в «открытом поле»; В, Г – исследовательская активность на периферии «открытого поля»; Д, Е – исследовательская активность в центральной зоне «открытого поля»; * – $p \leq 0.05$ – достоверность отличий показателя по сравнению с контролем (принят за 100 %).

Результаты проведённой оценки влияния БТП на показатели поведения самцов и самок крыс в тесте «приподнятый крестообразный лабиринт» представлены на рис. 3 и 4.

В данном тесте у самцов крыс после инъекций БТП в дозах 150 и 200 мг/кг (рис. 3, А) достоверно снижалось по отношению к контролю время, проведённое в открытых рукавах, на 93,36 ($p \leq 0.05$, $n=10$) и 84,83 ($p \leq 0.05$, $n=10$) соответственно. Время, проведённое в закрытых рукавах (рис. 3, В), повышалось у самцов относительно контроля на 174,80 ($p \leq 0.05$, $n=10$, БТП в дозе 150 мг/кг) и 160,16 % ($p \leq 0.05$, $n=10$, БТП в дозе 200 мг/кг). ВДА повышалась у самцов в 3 раза ($p \leq 0.05$, $n=10$, рис. 4, А) под влиянием БТП дозе 100 мг/кг, что указывает согласно [9] на некоторый анксиолитический эффект исследуемого соединения в этой дозе, однако другие показатели теста под влиянием БТП в данной дозе не изменялись, поэтому говорить о её анксиолитическом эффекте преждевременно. Заглядывания вниз с краёв открытых рукавов установки теста у самцов (рис. 4, А, В) относительно контроля снижались до нуля после инъекций БТП в дозах 50 ($p \leq 0.05$, $n=10$) и 150 мг/кг ($p \leq 0.01$, $n=10$) и на 75 % ($p \leq 0.05$, $n=10$) – в дозе 200 мг/кг.

У самок крыс после инъекций БТП в дозе 50 мг/кг (рис. 3, Б) снижалось до нуля ($p \leq 0.05$, $n=10$) время, проведённое в открытых рукавах. Время, проведённое в закрытых рукавах (рис. 3, Г), увеличивалось под влиянием БТП в дозах 5 и 50 мг/кг на 19,03 ($p \leq 0.05$, $n=10$) и 33,96 % ($p \leq 0.01$, $n=10$) соответственно. Время, проведённое в центральной зоне лабиринта (рис. 3, Е), в результате воздействия БТП достоверно снижалось на 97,37 % ($p \leq 0.01$, $n=10$) в дозе 50 мг/кг, на 86,84 % ($p \leq 0.05$, $n=10$) – в дозе 100 мг/кг и на 89,47 % – в дозе 150 мг/кг ($p \leq 0.05$, $n=10$) соответственно. ВДА и заглядывания вниз с краёв открытых рукавов лабиринта в данном тесте у самок крыс достоверно не отличались от контроля (рис. 4, Б, Г).

Изменения данных показателей теста согласно [9] свидетельствуют о выраженном седативном и анксиогенном эффекте БТП у самцов в дозах 150 и 200 мг/кг, а у самок о выраженном анксиогенном эффекте этого вещества в дозах 5 и 50 мг/кг, и слабом – в дозах 100 и 150 мг/кг. Если проанализировать на графиках динамику показателей теста (рис. 3, А, Д и рис. 4, А, В), то видно, что у самцов наблюдается прямая зависимость анксиогенного эффекта БТП от дозы, а у самок – обратная (рис. 3, Б, Г, Е и рис. 4, Г).

Сравнительный анализ данных, полученных в тестах «открытое поле» и «приподнятый крестообразный лабиринт» показал, что у самцов крыс БТП проявлял в обоих тестах седативный и анксиогенный эффект в дозах 150 и 200 мг/кг, а наиболее выраженным этот эффект был в дозе 150 мг/кг. У самок крыс в тесте «открытое поле» седативный эффект проявлялся в дозах 50, 150 и 200 мг/кг, а анксиогенный – в дозах 50 и 150 мг/кг, наиболее заметными эти эффекты были в дозе 150 мг/кг. В тесте «приподнятый крестообразный лабиринт» БТП оказывал ярко выраженный анксиогенный эффект у самок крыс в дозе 50 мг/кг и слабый – в дозах 100 и 150 мг/кг.

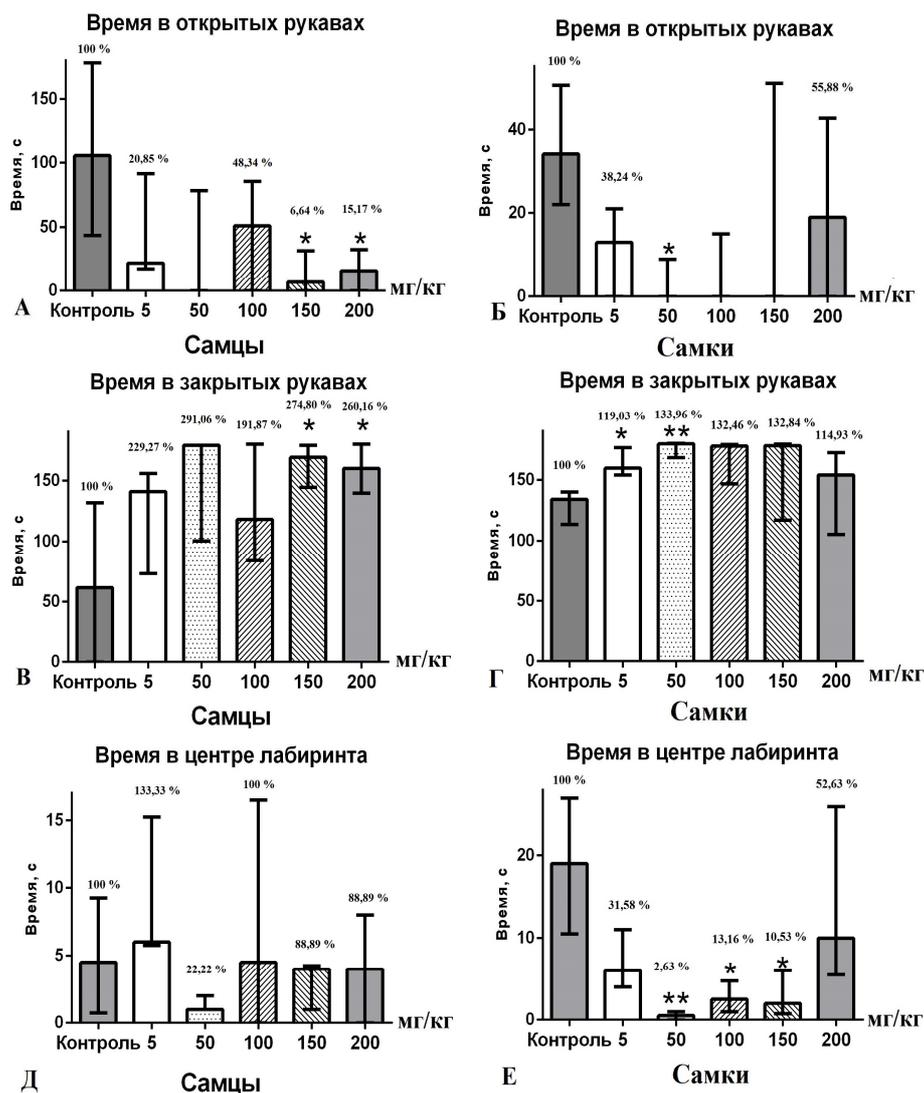


Рис. 3. Влияние бис(2-пиридил-1,2,4-триазилил-3)пропана на время, проведённое самцами и самками крыс в различных зонах теста «приподнятый крестообразный лабиринт».

Примечание: А, Б – время, проведённое в открытых рукавах; В, Г – время, проведённое в закрытых рукавах; Д, Е – время, проведённое в центральной зоне; * – $p \leq 0.05$, ** – $p \leq 0.01$ – достоверность отличий показателя по сравнению с контролем (принят за 100 %).

Таким образом, наиболее сильный седативный и анксиогенный эффект БТП у самцов наблюдался в дозах 150 мг/кг, а у самок седативный и анксиогенный – в тесте «открытое поле» (150 мг/кг) и анксиогенный в тесте «приподнятый крестообразный лабиринт» (50 мг/кг).

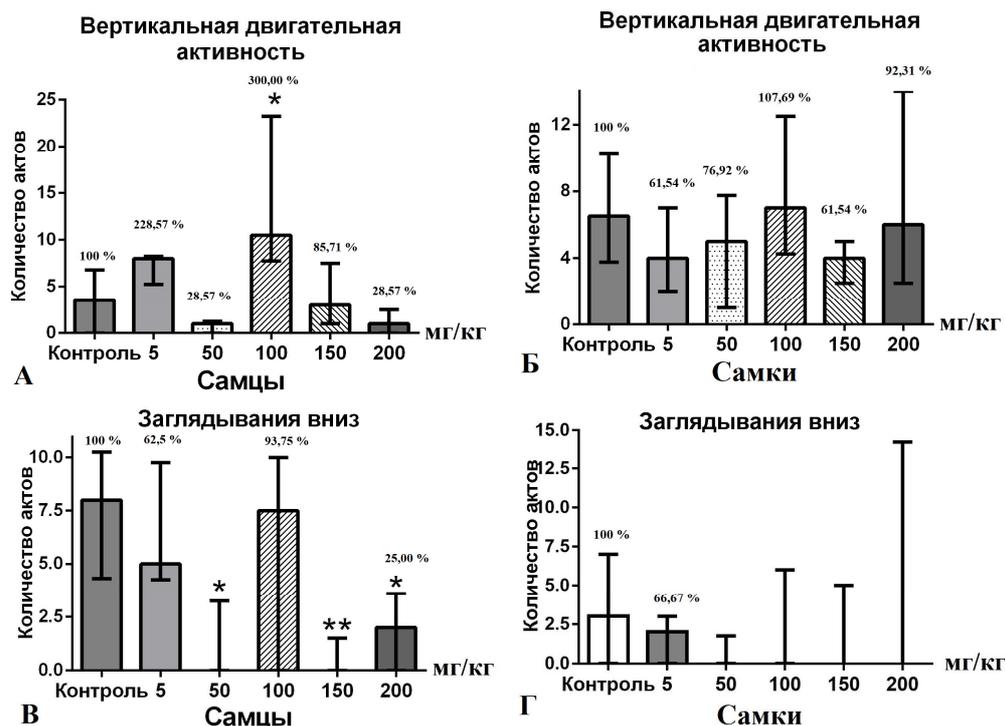


Рис. 4. Влияние бис(2-пиридил-1,2,4-триазолил-3)пропана на вертикальную двигательную активность и количество заглядываний вниз с краёв открытых рукавов самцов и самок крыс в тесте «приподнятый крестообразный лабиринт». *Примечание:* А, Б – вертикальная двигательная активность; В, Г – количество заглядываний вниз с краёв открытых рукавов; * – $p \leq 0.05$ – достоверность отличий показателя по сравнению с контролем (принят за 100 %).

Можно сказать, что БТП оказался вполне безопасен для самцов, поскольку только в высоких дозах (не менее 150 мг/кг) данное вещество существенно изменяло психоэмоциональный статус организма, увеличивая тревожность и снижая их локомоторную активность. С учётом коэффициента пересчёта доз (в мг/кг) с животных на человека [9], учитывающего соотношение между массой и площадью поверхности тела человека и лабораторных крыс, БТП можно рекомендовать для дальнейших клинических испытаний и применения у мужчин при однократном использовании в дозах ниже 885 мг/кг с низкой вероятностью риска побочных эффектов, связанных с возрастанием тревожного поведения. Предварительные исследования противоболевого эффекта БТП позволяют считать целесообразным использование БТП для однократного применения в ещё более низких дозах в качестве противоболевого агента [7, 8].

Однократное применение БТП у самок оказалось сопряжено с негативными последствиями для психоэмоционального статуса организма (увеличение базового уровня тревожности) в более низких дозах – 5 и 50 мг/кг. С учётом выше указанного

коэффициента пересчёта доз (в мг/кг) с животных на человека [9], с высокой степенью вероятности можно предполагать наличие побочных эффектов БТП, связанных с возникновением или усугублением проявлений тревожного поведения у женщин, уже в дозах около 30 мг/кг и выше при однократном введении. При создании биологически активных производных на основе БТП необходимо учесть полученные данные и снизить побочные эффекты таких производных на психоэмоциональный статус женского организма.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Обнаружено, что БТП в диапазоне доз от 5 до 200 мг/кг в определённых дозах существенно угнетают локомоторную активность и ориентировочно-исследовательское поведение самцов и самок крыс:

1. БТП в тесте «открытое поле» оказывал у самцов крыс седативный и анксиогенный эффект в дозах 150 и 200 мг/кг. У самок крыс в данном тесте выраженный анксиогенный эффект БТП проявлялся в дозах 50 и 150 мг/кг, а седативный – в дозах 50, 150 и 200 мг/кг. И у самцов, и у самок крыс наиболее выраженными седативные и анксиогенные эффекты БТП были в дозе 150 мг/кг.
2. В тесте «приподнятый крестообразный лабиринт» БТП оказывал выраженный анксиогенный эффект в дозах 150 и 200 мг/кг у самцов (прямая линейная зависимость «доза-эффект»), а у самок аналогичный ярко выраженный эффект в дозах 5 и 50 мг/кг и слабый – в дозах 100 и 150 мг/кг (обратная линейная зависимость «доза-эффект»). Для БТП зависимость «доза-эффект» носит почти линейный характер с максимальной выраженностью в дозе 150 мг/кг у самцов и 50 мг/кг – у самок.
3. БТП является сравнительно безопасным соединением для самцов, поскольку только в высоких дозах (не менее 150 мг/кг) данное вещество может существенно изменять психоэмоциональный статус организма, увеличивая тревожность и снижая их локомоторную активность. Однократное применение БТП у самок сопряжено с негативными последствиями для психоэмоционального статуса организма (увеличение тревожности) в более низких дозах – 5 и 50 мг/кг.

Работа выполнена при финансовой поддержке гранта РФФИ № 18-13-00024 «Координационные соединения дифосфонатов металлов со спейсеризованными 1,2,4-триазолами как основа новых гибридных материалов и лекарственных препаратов» на экспериментальном оборудовании центра коллективного пользования научным оборудованием «Экспериментальная физиология и биофизика» кафедры физиологии человека и животных и биофизики Таврической академии (структурное подразделение) ФГАОУ ВО «Крымский федеральный университет им. В.И. Вернадского».

Список литературы

1. Kessler R. C. Lifetime prevalence and age-on-set distributions of mental disorders in the World Health Organisation's World Mental Health Survey Initiative / R. C. Kessler, M. Angermeyer, J. C. Anthony [et al.]. // *World Psychiatry*. – 2007. – Vol. 6. – P. 168–176.
2. Федотова А. В. Тревожно-депрессивные расстройства в общеклинической практике / А. В. Федотова // *Рациональная фармакотерапия в кардиологии*. – 2008. – № 3. – С. 83–88.
3. Марута Н. А. Тревожная депрессия (клинико-психопатологическая и патофизиологическая характеристика) / Н. А. Марута, Т. В. Панько, Г. Ю. Каленская, В. Ю. Федченко // *Таврический журнал психиатрии*. – 2014. – Т. 18, № 2 (67). – С. 5–13.
4. Строевский В. В. Профилактика суицидов у пациентов с аффективными расстройствами в АР Крым / В. В. Строевский // *Таврический журнал психиатрии*. – 2014. – Т. 18, № 2 (67). – С. 80–81.
5. Plech T. Studies on the anticonvulsant activity of 4-alkyl-1,2,4-triazole-3-thiones and their effect on GABAergic system / T. Plech, B. Kaprona, J. J. Łuszczki [et al.]. // *European Journal of Medicinal Chemistry*. – 2014. – Vol. 86 C. – P. 690–699. doi: 10.1016/j.ejmech.2014.09.034
6. Thakur A. 1,2,4-Triazole Scaffolds: Recent Advances and Pharmacological Applications / A. Thakur, P. S. Gupta, P. K. Shukla // *Int. J. Curr. Res. Aca. Rev.* – 2016. – Vol. 4, No 2. – P. 277–296. doi: 10.2174/1871524915666150209100533
7. Черетаев И. В. Влияние 1-гидрокси-1,1-этилидендифосфоновой кислоты, бис(2-пиридил-1,2,4-триазолил-3)пропана и их аддукта на болевую чувствительность самцов крыс (часть 1) / И. В. Черетаев, М. Ю. Раваева, Э. Р. Джелдубаева [и др.]. // *Учёные записки Крымского федерального университета имени В. И. Вернадского. Биология, химия*. – 2019. – Т. 5 (71), № 2. – С. 162–175.
8. Черетаев И. В. Влияние 1-гидрокси-1,1-этилидендифосфоновой кислоты и бис(2-пиридил-1,2,4-триазолил-3)пропана на болевую чувствительность самок крыс / И. В. Черетаев, Е. Н. Чуян, М. Ю. Раваева [и др.]. // *Международный научно-исследовательский журнал*. – 2019. – № 7 (85), Ч. 1. – С. 92–97. doi: <https://doi.org/10.23670/IRJ.2019.85.7.018>
9. Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств / А. Н. Миронов, Н. Д. Бунатян, А. Н. Васильев [и др.]. – Ч. 1. М.: Гриф и К, 2012. – 944 с.
10. Вдовина Н. В. Исследование особенностей поведения здоровых крыс разного возраста и крыс-опухоленосителей в «открытом поле» / Н. В. Вдовина, Е. С. Клинцева, Т. Г. Щербатюк // *Современные технологии в медицине*. – 2010. – № 2. – С. 12–16.
11. Митрошина Е. В. Адаптационная роль глиального нейротрофического фактора при ишемии головного мозга / Е. В. Митрошина, Б. Ж. Абогессименгане, М. Д. Уразов [и др.]. // *Современные технологии в медицине*. – 2017. – Т. 9, № 1. – С. 68–77. doi: 10.17691/stm2017.9.1.08

THE EFFECT OF BIS(2-PYRIDYL-1,2,4- TRIAZOLYL-3)PROPANE ON THE BEHAVIOR OF RAT MALES AND FEMALES IN THE TESTS “OPEN FIELD” AND “ELEVATED PLUS MAZE”

Cheretaev I. V., Chuyan E. N., Ravaeva M. Yu., Shulgin V. F.

*V. I. Vernadsky Crimean Federal University, Simferopol, Crimea, Russia
E-mail: cheretaev86@yandex.ru*

The article presents the results of the study of assessing the effects of bis(2-pyridyl-1,2,4-triazolyl-3)propane in doses of 5, 50, 100, 150 and 200 mg/kg on the behavior of rat males and females in the tests “open field” and “elevated plus maze”.

The aim of the work is to evaluate the effect of bis(2-pyridyl-1,2,4-triazolyl-

3)propane on the behavior of rat males and females in the tests "open field" and "elevated plus maze" in the dose range from 5 to 200 mg/kg.

The studies were performed on 60 rats-males and 60 rats-females of the Wistar line weighing 180-200 g kept in standard vivarium conditions at a temperature of 18 - 22 ° C in the understytle "Rehofix MK 2000" (based on corn cobs) with a natural 12-hour light-dark cycle, free access to water and (GOST 33215-2014 "Guidelines for the maintenance and care of laboratory animals. Rules for equipping premises and organizing procedures") and complete granulated feed in accordance with GOST R-50258-92. Previously, in the open field test, animals were selected with an average level of motor activity and a low level of emotionality (for this purpose, an infrared actimeter and the software of Actitrack 2.0 from Pan Lab Harvard Apparatus, Spain) were used.

In the experiment with each substance involved 60 male and 60 female rats, which were divided into 12 groups of 10 individuals. At the beginning of the experiment, the estrous cycle of females was synchronized. Males and females of one group were controls and received intraperitoneal injections of 0.2 ml of saline solution and were in standard vivarium conditions, the remaining experimental groups received 0.2 ml of intraperitoneal injections of bis(2-pyridyl-1,2,4-triazolyl-3)propane at doses of 5, 50, 100, 150 and 200 mg/kg, respectively. Animal behavior parameters were tested 1 hour after injection in the "open field" tests (IR Actimeter, Pan Lab Harvard Apparatus, Spain) and "raised cruciform labyrinth" tests (NPK "Open Science", Russia), which are used in studies of the tranquilizing (anxiolytic) effect of substances. The constancy of the illumination of the pilot plants was controlled by a luxmeter Testo 540 (Germany), the intensity of illumination was 250±15 Lux.

In the "open field" test, the General motor and research activity of rats was tested, as well as in the center and periphery of the IR Actimeter research facility. Registration and analysis of test data was performed using Actitrack 2.0 software (Pan Lab Harvard Apparatus, Spain). Video of behavioral reactions of the animal was performed using a digital video system with a portable tripod VS1304-P (NPK Open Science, Russia). We recorded such indicators of rat behavioral activity as horizontal motor activity, which included the distance traveled (in cm) inside the field, in the center and on the periphery; the total number of acts of research activity (RA), in the center and on the periphery of the installation; the total number of acts of grooming; the number of acts of defecation and urination. Test duration was 3 min, during which was recorded with the help of actimetry IR Actimeter and camcorders VS1304-P behavioral characteristics.

The test "elevated plus maze" (NPK Open Science, Russia) was a cruciform installation, the floor and walls of which are constructed of rigid gray polyvinyl chloride. The width of the sleeves is 14 cm with a length of 50 cm, the height of the walls in the closed sleeves was 30 cm, and the height of the side of the open sleeves was 1 cm.at the intersection of the sleeves there was a Central platform 14 x 14 cm. The maze was located at a height of 55 cm above floor level on a trolley with stoppers, made of painted aluminum and steel pipes. Test duration was 3 min, during which was recorded with a camcorder VS1304-P the following behavioral characteristics: time spent in open and closed sleeves, as well as in the center of the labyrinth (reflects exploratory behavior), vertical locomotor activity, the number of looking down the edges of the open sleeves

(risk assessment).

The data are presented in the form of median and interquartile range (25 and 75 %), their statistical analysis and graphical representation are performed in the software package Graph Pad Prism 7.0. The significance of the differences between the groups was determined using univariate analysis of variance (ANOVA) with a posteriori Tukey test and nonparametric Dunn's multiple comparison criterion.

Comparative analysis of data obtained in the tests "open field" and "elevated plus maze" demonstrated that in male rats bis(2-pyridyl-1,2,4-triazolyl-3)propane showed in both tests and anxiogenic sedative effect at doses of 150 and 200 mg/kg, most pronounced this effect was in a dose of 150 mg/kg in female rats in "open field" test the sedative effect was observed at doses of 50, 150 and 200 mg/kg, and anxiogenic – in doses of 50 and 150 mg/kg, the highest severity of these effects showed a dose of 150 mg/kg. In the "elevated plus maze" test, BTP had a pronounced anxiogenic effect in female rats at a dose of 50 mg/kg and weak at doses of 100 and 150 mg / kg.

Keywords: bis(2-pyridyl-1,2,4-triazolyl-3)propane, rats, behavior, anxiety.

References

1. Kessler R. C., Angermeyer M., Anthony J. C., Angermeyer M., de Graaf R., Demyttenaere K., Gasquet I., de Girolamo G., Gluzman S., Gureje O., Haro J. M., Kawakami N., Karam A., Levinson D., Mora M. E. M., Browne M. O., Posada-Villa J., Stein D. J., Tsang C. H. A., Aguilar-Gaxiola S., Alonso J., Lee S., Heeringa S., Pennell B.-E., Berglund P., Gruber M. J., Petukhova M., Chatterji S., Üstün T. B., Lifetime prevalence and age-onset distributions of mental disorders in the World Health Organisation's World Mental Health Survey Initiative, *World Psychiatry*, **6**, 168 (2007).
2. Fedotova A. V. Trevozhno-depressivnye rasstrojstva v obshcheklinicheskoy praktike, *Racional'naya farmakoterapiya v kardiologii*, **3**, 83 (2008).
3. Maruta N. A., Pan'ko T. V., Kalenskaya G. Yu., Fedchenko V. Yu., Trevozhnaya depressiya (kliniko-psihopatologicheskaya i patopsihologicheskaya harakteristika), *Tavrisheskij zhurnal psikiatrii*, **18**, **2** (67), 5 (2014).
4. Stroeviskij V. V. Profilaktika suicidov u pacientov s affektivnymi rasstrojstvami v AR Krym, *Tavrisheskij zhurnal psikiatrii*, **18**, **2** (67), 80 (2014).
5. Plech T., Kaprona B., Łuszczki J. J., Paneth A., Siwek A., Kołaczkowski M., Zolnierek M., Nowak G., Studies on the anticonvulsant activity of 4-alkyl-1,2,4-triazole-3-thiones and their effect on GABAergic system, *European Journal of Medicinal Chemistry*, **86**, 690 (2014).
6. Thakur A., Gupta P. S., Shukla P. K., 1,2,4-Triazole Scaffolds: Recent Advances and Pharmacological Applications, *Int. J. Curr. Res. Aca. Rev.*, **4** (2), 277 (2016).
7. Cheretaev I. V., Ravaeva M. Yu., Dzheldubaeva E. R., Chuyan E. N., Shulgin V. F., Sheichmambetov N., Palaevskaya M. V. Vliyanie 1-gidroksi-1,1-etilidendifosfonovoj kisloty, bis(2-piridil-1,2,4-triazolil-3)propana i ih addukta na bolevuyu chuvstvitel'nost' samcov krysa (chast 1), *Scientific notes of the Crimean Federal University named after V.I. Vernadsky. Biology, Chemistry*, **5** (71), **2**, 162 (2019).
8. Cheretaev I. V., Chuyan E. N., Ravaeva M. Yu., Shulgin V. F. The effect of 1-hydroxy-1,1-ethylidene diphosphonic acid and bis(2-pyridyl-1,2,4-triazolyl-3)propane on pain sensitivity of female rats, *International Research Journal*, **7** (85), 1, 92 (2019). doi: 10.23670/IRJ.2019.85.7.018
9. Mironov A. N., Bunatjan A. D., Vasil'ev A. N. i dr., *Rukovodstvo po provedeniju doklinicheskikh issledovanij lekarstvennykh sredstv*. Ch. 1. 944 s. (Moskva: Grif i K, 2012).
10. Vdovina N. V., Klintsova E. S., Shcherbatyuk T. G., The study of the behavior of healthy rats of different ages and rat-tumor carriers in the "open field", *Sovremennye tekhnologii v medicine*, **2**, 12 (2010).
11. Mitroshina E. V., Abogessimengane B. Zh., Urazov M. D., Adaptive role of glial neurotrophic factor in cerebral ischemia, *Sovremennye tekhnologii v medicine*, **9**, **1**, 68 (2017). doi: 10.17691/stm2017.9.1.08

УДК 612.159:615.3

**СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ ПРОТИВОБОЛЕВОЙ АКТИВНОСТИ
1-ГИДРОКСИ-1,1-ЭТИЛИДЕНДИФОСФОНОВОЙ КИСЛОТЫ,
БИС(2-ПИРИДИЛ-1,2,4-ТРИАЗОЛИЛ-3)ПРОПАНА И ИХ АДДУКТА У
САМЦОВ КРЫС (ЧАСТЬ 2)**

*Черетаев И. В., Раваева М. Ю., Джелдубаева Э. Р., Чюян Е. Н., Шульгин В. Ф.,
Шейхмамбетов Н., Палаевская М. В.*

*Таврическая академия (структурное подразделение) ФГАОУ ВО «Крымский федеральный университет имени В. И. Вернадского», Симферополь, Республика Крым, Россия
E-mail: cheretaev86@yandex.ru*

В статье представлены результаты сравнительного анализа противоболевой активности 1-гидрокси-1,1-этилидендифосфоновой кислоты, бис(2-пиридил-1,2,4-триазолил-3)пропана и их аддукта в дозах 5, 50, 100 и 200 мг/кг у самцов крыс. Эксперименты проведены на 150 лабораторных крысах-самцах линии Вистар в тест-моделях острой термической («tail-flick», «hot plate») и механической боли (тест Рэндалла-Селитто). Показано, что аддукт 1-гидрокси-1,1-этилидендифосфоновой кислоты и бис(2-пиридил-1,2,4-триазолил-3)пропана превосходит по противоболевой активности 1-гидрокси-1,1-этилидендифосфоновую кислоту в тесте «tail-flick» в дозах 50, 100 и 200 мг/кг; в тесте Рэндалла-Селитто – в дозах 5, 50, 100 и 200 мг/кг; в тесте «hot plate» – в дозе 50 мг/кг. Бис(2-пиридил-1,2,4-триазолил-3)пропан уступает исследуемому аддукту в тесте «tail-flick» в дозе 100 мг/кг; в тесте Рэндалла-Селитто – в дозах 50, 100 и 200 мг/кг; в тесте «hot plate» – в дозах 5, 50 и 200 мг/кг.

Ключевые слова: 1-гидрокси-1,1-этилидендифосфоновая кислота, бис(2-пиридил-1,2,4-триазолил-3)пропан, аддукт, болевая чувствительность, анальгетический эффект, перцептуальный компонент боли, механическая боль, спинальный и супраспинальный механизмы регуляции боли.

ВВЕДЕНИЕ

В предыдущей публикации [1] было показано, что 1-гидрокси-1,1-этилидендифосфоновая кислота (ГДК), бис(2-пиридил-1,2,4-триазолил-3)пропан (БТП) и их аддукт (ГДК+БТП) в различных дозах в диапазоне от 5 до 200 мг/кг существенно изменяют болевую чувствительность крыс-самцов, повышая её пороги, и в определённых дозах оказывают анальгетический эффект с участием различных механизмов регуляции боли (спинальный и супраспинальный уровни регуляции боли, перцептуальный компонент боли, механическая болевая чувствительность).

Существенный интерес представляет проведение у самцов крыс сравнительной оценки противоболевых эффектов новосинтезированного соединения – ГДК+БТП – и его исходных компонентов (ГДК и БТП), послуживших для дальнейшего химического синтеза ГДК+БТП. Это позволит понять насколько

новосинтезированное вещество (ГДК+БТП) превосходит и или уступает по противоболевой активности своим химическим предшественникам (ГДК и БТП).

Цель работы – провести сравнительный анализ влияния противоболевых эффектов ГДК, БТП и ГДК+БТП на болевую чувствительность самцов крыс в диапазоне доз от 5 до 200 мг/кг.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Дизайн эксперимента, использовавшееся оборудование, экспериментальные и статистические методы детально описаны в работе [1].

Для сравнительной оценки эффектов БТП+ГДК, ГДК и БТП на основании результатов, полученных в работе [1], рассчитывали коэффициенты противоболевой активности (КПА) ГДК+БТП относительно эффектов ГДК ($KPA_{ГДК+БТП/ГДК}$) и БТП ($KPA_{ГДК+БТП/БТП}$) в процентах относительно контроля по формулам:

$$KPA_{ГДК+БТП/ГДК} = (ГДК+БТП (\%) - ГДК (\%))/ГДК (\%)$$

$$KPA_{ГДК+БТП/БТП} = (ГДК+БТП (\%) - БТП (\%))/БТП (\%)$$

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Сравнительный анализ противоболевой активности аддукта 1-гидрокси-1,1-этилидендифосфоновой кислоты и бис(2-пиридил-1,2,4-триазолил-3)пропана относительно эффектов 1-гидрокси-1,1-этилидендифосфоновой кислоты.

Как видно из рис. 1, ГДК+БТП в тесте «tail-flick» проявлял менее выраженную противоболевую активность по сравнению с ГДК в дозе 5 мг/кг, что отражалось в снижении $KPA_{ГДК+БТП/ГДК}$ в сторону отрицательных значений. Однако в диапазоне доз от 50 до 200 мг/кг ГДК+БТП, наоборот, оказывал более выраженный противоболевой эффект по сравнению с ГДК, сила которого возрастала с увеличением дозы, что проявлялось в соответствующем увеличении $KPA_{ГДК+БТП/ГДК}$ относительно нуля (рис. 1, А). Это свидетельствует согласно методической интерпретации используемого теста [2–4] о том, что ГДК+БТП в указанных дозах более эффективно, чем ГДК, снижает болевую чувствительность с участием перцептуального компонента и спинального механизма регуляции боли.

В тесте Рэндалла-Селитто ГДК+БТП, показывающем механическую болевую чувствительность [5], во всём диапазоне исследуемых доз (5-200 мг/кг) оказался более эффективным анальгетиком, чем ГДК, увеличивая $KPA_{ГДК+БТП/ГДК}$ относительно нуля и проявляя наибольшую противоболевую активность в дозе 100 мг/кг. То есть данное соединение более эффективно снижает механическую болевую чувствительность самцов крыс.

В тесте «hot plate» (рис. 1, А), отражающем вклад в болевую чувствительность супраспинального механизма её регуляции [6–8], напротив, ГДК оказалась более эффективным противоболевым средством в дозах 5, 100 и 200 мг/кг, чем ГДК+БТП ($KPA_{ГДК+БТП/ГДК}$ в зависимости от увеличения дозы снижался относительно нуля с увеличением дозы). Только в дозе 50 мг/кг ГДК+БТП оказался более эффективным анальгетиком с участием супраспинального механизма регуляции боли по

сравнению с ГДК, так как КПА $_{ГДК+БТП/ГДК}$ возрастал в области положительных значений.

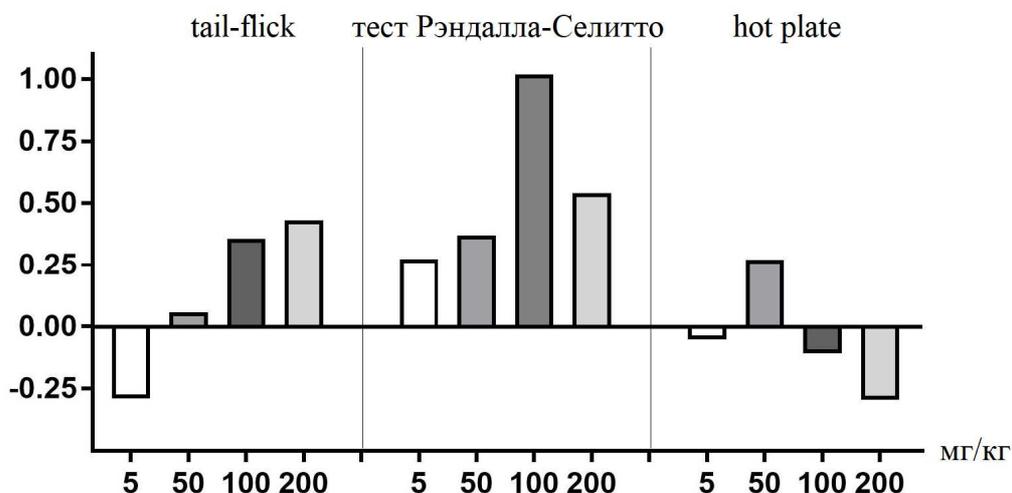


Рис. 1. Коэффициент противоболевой активности аддукта 1-гидрокси-1,1-этилендифосфоновой кислоты и бис(2-пиридил-1,2,4-триазилил-3)пропана относительно эффектов 1-гидрокси-1,1-этилендифосфоновой кислоты на болевую чувствительность крыс-самцов в тестах «tail-flick», Рэндалла-Селитто и «hot plate».

Сравнительный анализ противоболевой активности аддукта 1-гидрокси-1,1-этилендифосфоновой кислоты и бис(2-пиридил-1,2,4-триазилил-3)пропана относительно эффектов бис(2-пиридил-1,2,4-триазилил-3)пропана.

По сравнению с БТП, соединение ГДК+БТП в тесте «tail-flick» в дозе 100 мг/кг оказывал выраженную противоболевую активность с участием перцептуального компонента и спинального механизма боли (согласно методическим рекомендациям проведения данного теста [2–4], значительно повышая КПА $_{ГДК+БТП/ГДК}$ относительно нуля (рис 2, Б).

В тесте механической болевой чувствительности Рэндалла-Селитто [4] ГДК+БТП в дозах 50, 100 и 200 мг/кг (рис. 2, Б) оказался более эффективным анальгетиком, чем БТП, увеличивая КПА $_{ГДК+БТП/ГДК}$ относительно нуля и проявляя наибольшую противоболевую активность в дозе 100 мг/кг. Данное вещество в указанных дозах более эффективно, чем БТП, снижало механическую болевую чувствительность у самцов крыс.

В тесте «hot plate» (рис. 2, Б), отражающем участие в болевой чувствительности супраспинального механизма её регуляции [6–8], аддукт ГДК+БТП в дозах 5, 50 и 200 мг/кг оказался более эффективным анальгетиком, чем БТП, так как КПА $_{ГДК+БТП/БТП}$ увеличивался относительно нуля. То есть аддукт ГДК+БТП обладал более выраженной противоболевой активностью с участием супраспинального уровня регуляции боли.

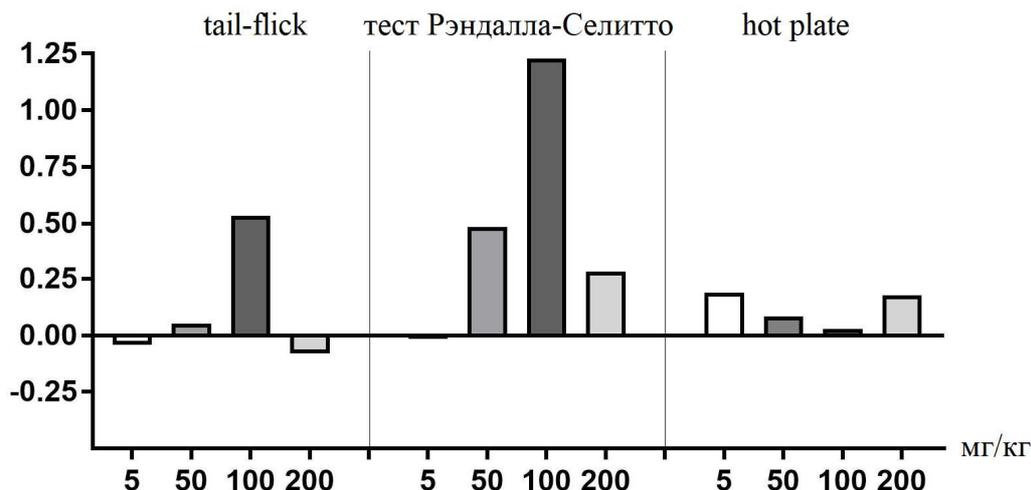


Рис. 2. Коэффициент противоболевой активности аддукта 1-гидрокси-1,1-этилидендифосфоновой кислоты и бис(2-пиридил-1,2,4-триазолил-3)пропана относительно эффектов бис(2-пиридил-1,2,4-триазолил-3)пропана на болевую чувствительность крыс-самцов в тестах «tail-flick», Рэндалла-Селитто и «hot plate».

Таким образом, ГДК+БТП значительно превосходил по противоболевой активности БТП в тесте «tail-flick» в дозе 100 мг/кг, увеличивая анальгезию за счёт перцептуального компонента и спинального механизма регуляции боли; в тесте Рэндалла-Селитто – в дозах 50, 100 и 200 мг/кг, снижая механическую болевую чувствительность; в тесте «hot plate» – в дозах 5, 50 и 200 мг/кг с участием супраспинального механизма регуляции боли. ГДК+БТП в тесте «tail-flick» в дозах 5 и 200 мг/кг незначительно уступал по противоболевой активности БТП (перцептуальный компонент и спинальный механизм регуляции боли).

В целом можно сказать, что соединение ГДК+БТП превосходило по противоболевой активности ГДК в тесте «tail-flick» в дозах 50, 100 и 200 мг/кг, усиливая анальгезию за счёт перцептуального компонента и спинального механизма регуляции боли; в тесте Рэндалла-Селитто – в дозах 5, 50, 100 и 200 мг/кг, снижая механическую болевую чувствительность; в тесте «hot plate» – в дозе 50 мг/кг с участием супраспинального механизма регуляции боли. При этом, данное вещество уступало по противоболевой активности ГДК в тесте «tail-flick» в дозе 5 мг/кг (перцептуальный компонент и спинальный механизм регуляции боли) и в тесте «hot plate» – в дозах 5, 100 и 200 мг/кг (супраспинальный механизм регуляции боли).

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Обнаружено, что аддукт 1-гидрокси-1,1-этилидендифосфоновой кислоты и бис(2-пиридил-1,2,4-триазолил-3)пропана в определённых дозах по противоболевой активности превосходит либо уступает своим компонентам предшественникам – 1-гидрокси-1,1-этилидендифосфоновой кислоте и бис(2-пиридил-1,2,4-триазолил-3)пропану:

1. Аддукт 1-гидрокси-1,1-этилидендифосфоновой кислоты и бис(2-пиридил-1,2,4-триазолил-3)пропана превосходит по противоболевой активности 1-гидрокси-1,1-этилидендифосфоновую кислоту в тесте «tail-flick» в дозах 50, 100 и 200 мг/кг, усиливая анальгезию за счёт перцептуального компонента и спинального механизма регуляции боли; в тесте Рэндалла-Селитто – в дозах 5, 50, 100 и 200 мг/кг, снижая механическую болевую чувствительность; в тесте «hot plate» – в дозе 50 мг/кг с участием супраспинального механизма регуляции боли. При этом данное вещество уступает по противоболевой активности 1-гидрокси-1,1-этилидендифосфоновой кислоте в тесте «tail-flick» в дозе 5 мг/кг (перцептуальный компонент и спинальный механизм регуляции боли) и в тесте «hot plate» – в дозах 5, 100 и 200 мг/кг (супраспинальный механизм регуляции боли).
2. Аддукт 1-гидрокси-1,1-этилидендифосфоновой кислоты и бис(2-пиридил-1,2,4-триазолил-3)пропана значительно превосходит по противоболевой активности бис(2-пиридил-1,2,4-триазолил-3)пропан в тесте «tail-flick» в дозе 100 мг/кг, увеличивая анальгезию за счёт перцептуального компонента и спинального механизма регуляции боли; в тесте Рэндалла-Селитто – в дозах 50, 100 и 200 мг/кг, снижая механическую болевую чувствительность; в тесте «hot plate» – в дозах 5, 50 и 200 мг/кг с участием супраспинального механизма регуляции боли. Аддукт 1-гидрокси-1,1-этилидендифосфоновой кислоты и бис(2-пиридил-1,2,4-триазолил-3)пропана в тесте «tail-flick» в дозах 5 и 200 мг/кг незначительно уступал по противоболевой активности бис(2-пиридил-1,2,4-триазолил-3)пропану (перцептуальный компонент и спинальный механизм регуляции боли).

Работа выполнена при финансовой поддержке гранта РНФ № 18-13-00024 «Координационные соединения дифосфонатов металлов со спейсеризованными 1,2,4-триазолами как основа новых гибридных материалов и лекарственных препаратов» на экспериментальном оборудовании центра коллективного пользования научным оборудованием «Экспериментальная физиология и биофизика» кафедры физиологии человека и животных и биофизики Таврической академии (структурное подразделение) ФГАОУ ВО «Крымский федеральный университет им. В.И. Вернадского».

Список литературы

1. Влияние 1-гидрокси-1,1-этилидендифосфоновой кислоты, бис(2-пиридил-1,2,4-триазолил-3)пропана и их аддукта на болевую чувствительность самцов крыс (часть 1) / И. В. Черетаев, М. Ю. Раваева, Э. Р. Желдубаева [и др.]. // Ученые записки Крымского федерального университета имени В. И. Вернадского. Биология, химия. – 2019. – Т. 5 (71), № 2. – С. 162–175.
2. Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств / А. Н. Миронов, Н. Д. Бунатян, А. Н. Васильев [и др.]. – Ч. 1. М.: Гриф и К, 2012. – 944 с.
3. Determination of Adrenergic and Imidazoline Receptor Involvement in Augmentation of Morphine and Oxycodone Analgesia by Clonidine and BMS182874 / Gulati A., Bhalla S., Matwyshyn G. [et al]. // Pharmacology. – 2011. – Vol. 83. – P. 45–58.

- Xu F. The neurotoxicity of intrathecal lidocaine is enhanced in postpartum compared to virgin rats / F. Xu, B. Zhang, T. Li // *Fundam Clin Pharmacol.* – 2013. – Vol. 27, № 4. – P. 427–433.
- Randall L. O. A method for measurement of analgesic activity on inflamed tissue / L. O. Randall, J. J. Selitto // *Arch. Int. Pharmacodyn. Ther.* – 1957. – Vol. 111 (4). – P. 409–419.
- Woolfe G. The evaluation of the analgesic action of pethidine hydrochloride (Demerol) / G. Woolfe, A. D. Macdonald // *J. Pharmacol. Exp. Ther.* – 1944. – Vol. 80, № 3. – P. 300–307.
- Влияние L-аргинина на электрокожную и температурную болевую чувствительность у крыс / Л. А. Северьянова, И. И. Бобынцева, Н. А. Кирьянова [и др.]. // *Курский научно-практический вестник «Человек и его здоровье».* – 2005. – № 2. – С. 44–49.
- Василенко А. М. Корреляции болевой чувствительности и гуморального иммунного ответа у мышей при термораздрожении / А. М. Василенко, О. Г. Яновский, О. В. Коптелов // *Бюлл. эксперим.-мед.* – 1995. – № 4. – С. 405–408.

COMPARATIVE ANALYSIS OF ANALGESIC ACTIVITY OF 1-HYDROXY-1,1-ETHYLIDENEDIPHOSPHONE ACID, BIS(2-PYRIDYL-1,2,4-TRIAZOLYL-3)PROPANE AND THEIR ADDUCT IN RATS (PART 2)

***Cheretaev I. V., Ravaeva M. Yu., Dzheldubaeva E. R., Chuyan E. N., Shulgin V. F.,
Sheichmambetov N., Palaevskaya M. V.***

*V. I. Vernadsky Crimean Federal University, Simferopol, Crimea, Russia
E-mail: cheretaev86@yandex.ru*

The article presents the results of a comparative analysis of the analgesic activity of 1-hydroxy-1,1-ethylidene diphosphonic acid, bis(2-pyridyl-1,2,4-triazolyl-3)propane and their adduct in doses of 5, 50, 100 and 200 mg / kg in male rats.

The aim of the work is to conduct a comparative analysis of 1-hydroxy-1,1-ethylidenediphosphonic acid, bis(2-pyridyl-1,2,4-triazolyl-3)propane and their adduct analgesic effects on the pain sensitivity of male rats in the dose range from 5 to 200 mg/kg.

The studies were performed on 150 white laboratory rats-males of the Wistar line ("FSUE Nursery of laboratory animals "Rappolovo") weighing 180-200 g (5 groups of 10 animals each) kept in standard vivarium conditions at a temperature of 18 - 22 ° C in the understyle "Rehofix MK 2000" (based on corn cobs) with a natural 12-hour light-dark cycle, free access to water and (GOST 33215-2014 "Guidelines for the maintenance and care of laboratory animals. Rules for equipping premises and organizing procedures") and complete granulated feed in accordance with GOST R-50258-92. Previously, in the open field test, animals were selected with an average level of motor activity and a low level of emotionality (for this purpose, an infrared actimeter and the software of Actitrack 2.0 from Pan Lab Harvard Apparatus, Spain) were used.

In the experiment with each substance, 50 male rats took part (150 animals in total). Animals of each experimental series were divided into 5 groups of 10 animals. Since the effects of 3 substances (1-hydroxy-1,1-ethylidenediphosphonic acid, bis(2-pyridyl-1,2,4-triazolyl-3)propane and their adduct) were studied in the experiment, a total of 3

experimental series with a single intraperitoneal the introduction of the substance. In each series of the experiment, animals of one group were control and received intraperitoneally injections of 0.2 ml of saline and were in standard vivarium conditions, the remaining experimental groups received 0.2 ml of intraperitoneal injections of the test substance in doses of 5, 50, 100 and 200 mg / kg respectively. Testing the parameters of pain sensitivity in rats was carried out 1 hour after injection in models of acute painful stress "tail-flick", Randall-Selitto ("forceps") and "hot plate". Before the "tail-flick" and Randall-Selitto tests, after injections, the animals were placed in special fixers for rats (NPK Open Science, Russia).

For a comparative assessment of the effects of adduct of 1-hydroxy-1,1-ethylidenediphosphonic acid and bis(2-pyridyl-1,2,4-triazolyl-3)propane, 1-hydroxy-1,1-ethylidenediphosphonic acid and bis(2-pyridyl-1,2,4-triazolyl-3)propane, we calculated the coefficients of analgesic activity relative to the effects of 1-hydroxy-1,1-ethylidenediphosphonic acid and bis(2-pyridyl-1,2,4-triazolyl-3)propane as a percentage of control.

The adduct of 1-hydroxy-1,1-ethylidenediphosphonic acid and bis(2-pyridyl-1,2,4-triazolyl-3)propane superior in analgesic activity of 1-hydroxy-1,1-ethylidenediphosphonic acid in the test "tail-flick" in doses of 50, 100 and 200 mg/kg, increasing analgesia at the expense of the perceptual component and a spinal mechanism for the regulation of pain; in the test of Randall-Selitto – in doses of 5, 50, 100 and 200 mg/kg, reducing mechanical pain sensitivity; in the test "hot plate" in a dose of 50 mg/kg, with the participation of supraspinal mechanism for the regulation of pain. At the same time, this substance is inferior to the analgesic activity of 1-hydroxy-1,1-ethylidenediphosphonic acid in the "tail-flick" test at a dose of 5 mg/kg (perceptual component and spinal pain regulation mechanism) and in the "hot plate" test – in doses of 5, 100 and 200 mg/kg (supraspinal pain regulation mechanism).

The adduct of 1-hydroxy-1,1-ethylidenediphosphonic acid and bis(2-pyridyl-1,2,4-triazolyl-3)propane are significantly more analgesic activity of bis(2-pyridyl-1,2,4-triazolyl-3)propane in the test "tail-flick" in a dose of 100 mg/kg, increasing analgesia at the expense of the perceptual component and a spinal mechanism for the regulation of pain; in the test of Randall-Selitto – in doses of 50, 100 and 200 mg/kg, reducing mechanical pain sensitivity; in the test "hot plate" – in doses of 5, 50 and 200 mg/kg, with the participation of supraspinal mechanism for the regulation of pain. The adduct of 1-hydroxy-1,1-ethylidenediphosphonic acid and bis(2-pyridyl-1,2,4-triazolyl-3)propane in the "tail-flick" test at doses of 5 and 200 mg/kg was slightly inferior in analgesic activity of BTP (perceptual component and spinal pain regulation mechanism).

Thus, it has been found that the adduct of 1-hydroxy-1,1-ethylidenediphosphonic acid and bis(2-pyridyl-1,2,4-triazolyl-3)propane in certain doses in anti-pain activity exceeds or is inferior to its precursor substances – 1-hydroxy-1,1-ethylidenediphosphonic acid and bis(2-pyridyl-1,2,4-triazolyl-3)propane.

Keywords: 1-hydroxy-1,1-ethylidenediphosphonic acid, bis(2-pyridyl-1,2,4-triazolyl-3)propane, adduct, pain sensitivity, analgesic effect, perceptual pain component, mechanical pain, spinal and supraspinal pain regulation.

References

1. Cheretaev I. V., Ravaeva M. Yu., Dzheldubaeva E. R., Chuyan E. N., Shul'gin V. F., Shejhmambetov N., Palaevskaya M. V., Vliyanie 1-gidroksi-1,1-etilidendifosfonovoj kisloty, bis(2-piridil-1,2,4-triazolil-3)propana i ih addukta na bolevuyu chuvstvitel'nost' samcov krysv (chast 1), Uchenye zapiski Krymskogo federal'nogo universiteta imeni V. I. Vernadskogo. *Biologiya, himiya.*, **5 (71)**, 2, 162 (2019).
2. Mironov A. N., Bunatjan A. D., Vasil'ev A. N. i dr., *Rukovodstvo po provedeniju doklinicheskikh issledovaniy lekarstvennyh sredstv*. Ch. 1. 944 s. (Moskva: Grif i K, 2012).
3. Gulati A., Bhalla S., Matwyshyn G., Zhang Z., Andurkar S.V., Determination of Adrenergic and Imidazoline Receptor Involvement in Augmentation of Morphine and Oxycodone Analgesia by Clonidine and BMS182874, *Pharmacology*, **83**, 45 (2011).
4. Xu F., Zhang B., Li T., The neurotoxicity of intrathecal lidocaine is enhanced in postpartum compared to virgin rats, *Pharmacology*, **27**, **4**, 427 (2013).
5. Randall L. O., Selitto J. J., A method for measurement of analgesic activity on inflamed tissue, *Arch. Int. Pharmacodyn. Ther.*, **111 (4)**, 409 (1957).
6. Woolfe G., Macdonald A. D., The evaluation of the analgesic action of pethidine hydrochloride (Demerol), *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, **80**, **3**, 300 (1944).
7. Sever'yanova L. A., Bobynceva I. I., Kir'yanova N. A., Dolginceva M. E., Vliyanie L-arginina na elektrokozhnuyu i temperaturную bolevuyu chuvstvitel'nost' u krysv, *Kurskij nauchno-prakticheskij vestnik «Chelovek i ego zdorov'e»*, **2**, **44**, 2005.
8. Vasilenko A. M., Yanovskij O. G., Koptelev O. V., Korrelyacii bolevoj chuvstvitel'nosti i gumoral'nogo immunnogo otveta u myshej pri termorazdrozhenii, *Byull. eksper.-med.*, **4**, 405 (1995).

УДК 574.587:553.774:504.61(470.56)

ЭКОЛОГИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ХЛОРИДНО-НАТРИЕВЫХ МИНЕРАЛЬНЫХ ИСТОЧНИКОВ УРОЧИЩА ТУЗЛУККОЛЬ

Шайхутдинова А. А.^{1,2}

¹Институт клеточного и внутриклеточного симбиоза Оренбургского федерального
исследовательского центра УрО РАН, Оренбург, Россия

²Оренбургский государственный университет, Оренбург, Россия
E-mail: varvarushka@yandex.ru

Впервые проведенные исследования минеральных источников на территории памятника природы регионального значения «Тузлуккольские грязи» (Беляевский район, Оренбургская область) позволили установить таксономический состав макрозообентоса. Отбор проб воды и донных отложений осуществляли по сезонам (весна, лето, осень) 2018 года в трех минеральных источниках, изливающих из солей и гипсов кунгурского яруса ранней перми. Отбор и обработка проб проводилась по общепринятым гидробиологическим методикам.

Общая минерализация хлоридно-натриевых источников варьирует от 15,15 г/л до 164,62 г/л. Вследствие разного уровня минерализации, глубины, типа субстрата, температуры воды источники различаются по составу и структуре сообществ макрозообентоса. В природном окружении минеральных источников зарегистрировано три таксона: Insecta: Diptera – *Culicoides* sp., *Cricotopus salinophilus*, *Ephydra pseudomurina*. В природном окружении скважины 1 обнаружены все три вида, в природном окружении скважины 2 и в минеральном роднике зарегистрировано уникальное бентосное сообщество, полностью сформированное личинками цератопогонид. В целом в гидроэкосистемах, образованных минеральными источниками, формируются сообщества бентофауны с преобладанием личинок *Culicoides* sp. (63,4–100 % численности). Отмеченные виды относятся к галофилам.

Таким образом, в минеральных источниках формируются сообщества галофильных видов, снижено биологическое разнообразие, что характеризует упрощение структуры сообществ макрозообентоса.

Ключевые слова: памятник природы регионального значения «Тузлуккольские грязи»; минеральные источники; биологическое разнообразие; макрозообентос.

ВВЕДЕНИЕ

Оренбургская область располагается в степной зоне, главной особенностью которой является превышение испаряемости над атмосферными осадками, обусловившей засушливость климата. Дефицит атмосферных осадков относительно испаряемости определяет направление и скорость прохождения многих природных процессов в степной зоне, в том числе формирование гидроэкосистем [1].

На территории Оренбургской области в Беляевском районе располагается малая река Тузлукколь. Водосборная площадь реки располагается в восточной части Предуральяского краевого прогиба, залегание горных пород которого осложнено соляными куполами, один из которых Тузлуккольский. Соляной купол способствует выходу на поверхность солей и гипсов кунгурского яруса ранней перми. В результате в долине реки Тузлукколь сформировалось заболоченное

соленое урочище, имеющее статус памятника природы регионального значения «Тузлуккольские грязи» [2].

На территории соленого урочища у подножия небольшого холма бьет минеральный родник, а также выбурены две скважины, из которых идет самоизлив рассола. Воды из минеральных источников поступают в реку Тузлукколь и изменяют уровень ее минерализации. Минеральные воды соленого урочища используются в летнее время туристами в бальнеологических целях.

Изучение экологии донных сообществ водоисточников, расположенных в пределах соленого урочища, никогда не проводилось. Поэтому целью работы явилось изучение видового разнообразия и структуры сообществ макрозообентоса минеральных источников урочища «Тузлуккольские грязи».

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Материалы были собраны по сезонам (весна, лето, осень) 2018 года в трех ручьях, образованных минеральными источниками, на территории соленого урочища.

Для определения видового разнообразия макрозообентоса отбор образцов с илистых грунтов производили дночерпателем ДАК-100 с площадью захвата 0,01 м², с каменисто-галечниковых – гидробиологическим скребком с длиной ножа 16 см. Грунт промывали через ситовую ткань с размером ячеек 300 мкм. Донных беспозвоночных фиксировали 4 % раствором формальдегида. Бентос изучали в фиксированном состоянии с использованием световых микроскопов марки МБС-2 и Standart-25 (Carl Zeiss) и определяли по возможности до вида или более крупных таксономических рангов [3]. Отбор и обработка проб макрозообентоса проводилась по общепринятым в гидробиологии методикам [4]. Определяли видовой состав, численность и биомассу донных беспозвоночных с последующим пересчетом на 1 м². Доминирование групп макрозообентоса в сообществе оценивали их по процентной доле от общей численности и биомассы.

Отбор проб воды для химического анализа, хранение, транспортировку и подготовку к исследованиям проводили в соответствии с ГОСТ 31861-2012. Гидрохимический анализ проб воды осуществляли по стандартным методикам на базе аккредитованной лаборатории г. Оренбурга ФГБУ Государственный центр агрохимической службы «Оренбургский».

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Химический состав и качество вод природных водоемов оказывают влияние на структуру бентоценозов. Так по результатам проведенных исследований выявлено, что исследуемые воды представляют собой бесцветную прозрачную жидкость без посторонних включений и без запаха.

Вокруг самоизливающейся скважины 1 образуется небольшая заводь с вязким черным илом с запахом сероводорода глубиной 0,1 м и шириной 0,5 м. Вода из самоизливающейся скважины 2 образует небольшой ручей протяженностью 0,5 м шириной 0,1 м с каменистым субстратом. Минеральный родник также образует ручей с каменисто-песчаным грунтом шириной 0,2 м и глубиной 0,1 м (табл. 1).

Таблица 1

**Физико-географическая характеристика минеральных источников урочища
Тузлукколь**

№ станции	Местоположение	Координаты с.ш., в.д.	Глубина, м	Ширина, м	Скорость течения, м/с	Характер грунта
1	самоизливающаяся скважина 1	51°28'57", 56°60'35"	0,10	0,50	0,01	илистый
2	самоизливающаяся скважина 2	51°28'58", 56°60'35"	0,02	0,10	0,02	каменистый
3	минеральный источник	51°28'72", 56°60'39"	0,10	0,20	0,01	каменисто-песчаный

Согласно существующей классификации [5] вода из самоизливающейся скважины 2 относится к гипергалинным водам, из родника и скважины 1 – к солоноватым (табл. 2). Высокие показатели общей минерализации исследуемых вод объясняются территориальными и климатическими особенностями урочища. Территория памятника природы образована Тузлуккольским соляным куполом и для нее характерно поверхностное залегание солей [6]. Также для исследуемой территории характерны жаркое, с частыми суховеями, лето и суровая малоснежная зима. Количество атмосферных осадков составляет 250–390 мм в год, при этом интенсивность испарения в летнее время достигает 850 мм. Количество осадков уменьшается соразмерно с увеличением температуры атмосферного воздуха [1]. Совокупность этих факторов способствует поддержанию высоких показателей минерализации в исследуемых водоисточниках.

Все источники на территории урочища характеризуются хлоридно-натриевым составом вод (табл. 2). Температура в течение года колеблется от 9 до 12 °С и характеризуется как холодная.

По водородному показателю воды из скважин во все сезоны относятся к нейтральным. Вода из родника характеризуется как слабощелочная (табл. 2).

Более подробная характеристика гидрохимических и микробиологических особенностей источников урочища Тузлукколь была опубликована ранее [7].

Концентрация растворенного кислорода во всех источниках максимальной была весной и составляла 10,3 мг/л, 9,0 мг/л и 4,4 мг/л (94,2 %, 82,4 %, 39,3 % насыщения соответственно) (табл. 2). В летний и осенний периоды достигала критических значений – от 0,6 до 2,7 мг/л (5,8–23,7 % насыщения). Нехватка кислорода в водоеме может привести к заморным явлениям, сопровождающимся гибелью большинства гидробионтов. При низком уровне растворенного кислорода водоем заселяют личинки эвриоксибионтных видов – некоторые виды хирономид, олигохеты, мухи. Отдельные представители донных беспозвоночных хорошо переносят почти полное его отсутствие [8, 9].

Таблица 2

Некоторые гидрохимические показатели воды минеральных источников урочища Тузлукколь (октябрь 2018 г)

№ станции	Химический состав и температура воды (формула Курлова)	Содержание растворенного кислорода по сезонам, м/г		Степень насыщения воды кислородом, %
1	$M_{24,23} \frac{Cl_{93}SO_{4,5}}{Na_{95}} T_{10^{\circ}} pH_{7,7}$	весна	10,3	94,2
		лето	2,7	23,7
		осень	0,9	7,9
2	$M_{164,62} \frac{Cl_{195}}{Na_{97}} T_{10^{\circ}} pH_{7,4}$	весна	9,0	82,4
		лето	1,0	8,8
		осень	0,6	5,8
3	$M_{15,15} \frac{Cl_{172}SO_{4,24}}{Na_{77}Ca_{13}Mg_{8}} T_{11^{\circ}} pH_{7,8}$	весна	4,4	39,3
		лето	1,5	14,0
		осень	0,7	6,3

В составе макрозообентоса в минеральных источниках зарегистрировано 3 таксона: Insecta: Diptera – *Culicoides* sp., *Cricotopus salinophilus*, *Ephydra pseudomurina* (табл. 3).

Количество видов макрозообентоса в исследуемых источниках колеблется от 1 (минеральный родник, скважина 2) до 3 (скважина 1) (табл. 3).

Во все сезоны 2018 года наиболее распространенными видами в природном окружении скважины 1 являются личинки *Culicoides* sp. Их наибольшая численность (10175 экз./м²) отмечается в осенний период 2018 года (табл. 3). Цератопогониды *Culicoides* sp. развиваются в массе совместно с личинками двукрылых насекомых *Cricotopus salinophilus*, которые являются типичными галофилами.

В природном окружении скважины 2 и в минеральном роднике зарегистрировано уникальное бентосное сообщество, полностью сформированное личинками цератопогонид (табл. 3).

Во всех минеральных источниках урочища Тузлукколь обнаружено отсутствие моллюсков, личинок стрекоз, ручейников, веснянок, вислокрылок, поденок и др., которые являются типичными обитателями пресных водоемов.

Численность представителей донных сообществ изменяется от 12 до 12824 экз./м², биомасса – от $5,5 \cdot 10^{-3}$ до 6,31 г/м² (табл. 3).

Во все сезоны в минеральных источниках урочища Тузлукколь формируются сообщества цератопогонид с доминированием 63,4–85,9 % в природном окружении скважины 1 (рис. 1) и 100 % в природном окружении скважины 2 и роднике.

Изменения показателей численности и биомассы макрозообентоса сопровождались и изменениями в структуре сообществ.

Таблица 3

Численность и биомасса макрозообентоса в минеральных источниках урочища Тузлукколь по сезонам года

Виды и таксоны	сезон		
	весна	лето	осень
самоизливающаяся скважина 1			
Diptera			
Ceratopogonidae			
<i>Culicoides</i> sp.	$\frac{175}{0,08}$	$\frac{1675}{0,54}$	$\frac{10175}{5,25}$
Chironomidae			
<i>Cricotopus salinophilus</i> Zinchenco, Makarchenco et Makarchenco, 2009	$\frac{88}{0,04}$	$\frac{250}{0,1}$	$\frac{2637}{1,00}$
Ephydriidae			
<i>Ephydra pseudomurina</i> Krivosheina, 1983	$\frac{13}{0,10}$	$\frac{25}{0,20}$	$\frac{12}{0,06}$
самоизливающаяся скважина 2			
Diptera			
Ceratopogonidae			
<i>Culicoides</i> sp.	–	$\frac{113}{0,05}$	–
минеральный родник			
Diptera			
Ceratopogonidae			
<i>Culicoides</i> sp.	$\frac{12}{5,5 \cdot 10^{-3}}$	$\frac{3350}{0,52}$	–

Примечание: над чертой – численность, экз./м²; под чертой – биомасса, г/м² донных беспозвоночных

Для определения видовой структуры сообществ макрозообентоса использовали классификацию В. Я. Леванидова [10], согласно которой к доминантным видам относятся представители с общей численностью и биомассой 15 % и более, субдоминанты составляют от 5,0 до 14,9 %, на долю второстепенных видов приходится от 1,0 до 4,9 % (табл. 4).

Во все сезоны к категории доминантов по численности и биомассе в ручье, образованном водами скважины 1, относились личинки цератопогонид *Culicoides* sp.

В мае к категории доминантов по численности были отнесены *Culicoides* sp. и *Cricotopus salinophilus*. Категория второстепенных видов включала личинок мух-береговушек *Ephydra pseudomurina*. В июле снизилась численность *Cricotopus salinophilus* и они стали относиться к субдоминантам, что также связано с массовым вылетом имаго. К второстепенным видам относились личинки *Ephydra pseudomurina*. В октябре 2018 года к доминантам вновь стали относиться *Culicoides* sp. и *Cricotopus salinophilus*.

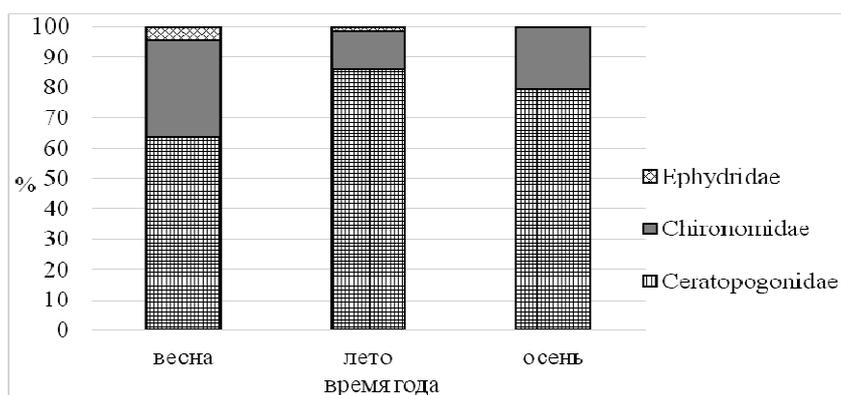


Рис. 1. Распределение основных таксономических групп макрозообентоса в природном окружении скважины 1 по сезонам 2018 года

Таблица 4
Структура видового состава в природном окружении скважины 1 урочища Тузлукколь

Категория	Сезон года		
	весна	лето	осень
по численности			
доминанты	<i>Culicoides</i> sp. 63,4 % <i>Cricotopus salinophilus</i> 31,9 %	<i>Culicoides</i> sp. 85,9 %	<i>Culicoides</i> sp. 79,3 % <i>Cricotopus salinophilus</i> 20,6 %
субдоминанты	–	<i>Cricotopus salinophilus</i> 12,8 %	–
второстепенные виды	<i>Ephydra pseudomurina</i> 4,7 %	<i>Ephydra pseudomurina</i> 1,3 %	–
по биомассе			
доминанты	<i>Ephydra pseudomurina</i> 45,5 % <i>Culicoides</i> sp. 36,4 % <i>Cricotopus salinophilus</i> 18,2 %	<i>Culicoides</i> sp. 64,3 % <i>Ephydra pseudomurina</i> 23,8 %	<i>Culicoides</i> sp. 83,2 % <i>Cricotopus salinophilus</i> 15,9 %
субдоминанты	–	<i>Cricotopus salinophilus</i> 11,9 %	–
второстепенные виды	–	–	<i>Ephydra pseudomurina</i> 1,0 %

По биомассе в мае 2018 года к категории доминантов были отнесены все обнаруженные виды: *Culicoides* sp., *Cricotopus salinophilus* и *Ephydra pseudomurina*.

В июле снизилась биомасса хирономид и они перешли в категорию субдоминантов. *Culicoides* sp. и *Ephydra pseudomurina* отнесены в летний период к категории доминантов. Осенью 2018 года по биомассе к доминантам относятся *Culicoides* sp. и *Cricotopus salinophilus*. Субдоминанты в сообществе не представлены. К второстепенным видам относятся личинки *Ephydra pseudomurina*.

Таким образом, значительный градиент минерализации в источниках формирует гидрохимические особенности в экосистемах. В результате в природном окружении минеральных источников в составе макрозообентоса развиваются галофильные личинки двукрылых насекомых родов *Cricotopus*, *Culicoides* и *Ephydra*.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Минеральные источники на территории соленого урочища «Тузлуккольские грязи» относятся к хлоридно-натриевой группе. Однако вследствие разного уровня минерализации, глубины, типа субстрата, температуры воды источники различаются по составу и структуре сообществ макрозообентоса. Закономерных изменений численности и биомассы донных беспозвоночных за период исследований не обнаружено, что связано с интенсивным использованием данной территории в летний период года туристами из Оренбургской области и республики Казахстан. В результате неорганизованной бальнеологической деятельности гидробионты подвергаются антропогенному воздействию и часть живых организмов гибнет. Также численность и биомасса амфибиотических насекомых снижается в результате вылета имаго.

Отличительная особенность сообществ макрозообентоса природного окружения минеральных источников обусловлена адаптационными особенностями галофильных видов *Cricotopus salinophilus* и *Culicoides* sp. к обитанию в экстремальных условиях.

Увеличение минерализации приводит к снижению видового разнообразия в минеральных источниках и показывает смену доминирующих видов на фоне общего снижения числа видов, что характеризует упрощение структуры донных сообществ.

Список литературы

1. Нестеренко Ю. М. Природные воды Южного Урала : формирование и использование / Ю. М. Нестеренко, М. Ю. Нестеренко. – Екатеринбург : УрО РАН, 2016. – 244 с.
2. Чибилев А. А. Природное наследие Оренбургской области : особо охраняемые природные территории / А. А. Чибилев, В. М. Павлейчик, А. А. Чибилев (мл). – Оренбург : УрО РАН, Печатный дом «Димур», 2009. – 328 с.
3. Определитель пресноводных беспозвоночных России и сопредельных территорий / Под ред. С. Я. Цалолыхина. Том 4 Двукрылые насекомые. – СПб. : Наука, 2000. – 579 с.
4. Абакумов В. А. Руководство по методам гидробиологического анализа поверхностных вод и донных отложений / В. А. Абакумов. – Ленинград : Гидрометеоиздат, 1983. – 240 с.
5. Константинов А. С. Общая гидробиология / Константинов А. С. – Москва : Высшая школа, 1986. – 472 с.

6. Петрищев В. П. Солянокупольный ландшафтогенез : морфоструктурные особенности геосистем и последствия их техногенной трансформации / Петрищев В. П. – Екатеринбург : УрО РАН, 2011. – 310 с.
7. Шайхутдинова А. А. Гидрохимические и микробиологические особенности источников урочища Тузлукколь / А. А. Шайхутдинова, О. А. Гоголева // Материалы VII Международной научно-практической конференции «Биоэкологическое краеведение : мировые, российские и региональные проблемы», 16 ноября 2018 г., г. Самара, Российская Федерация / Самарский государственный социально-педагогический университет. – Самара : СГСПУ, 2018. – С. 137–139.
8. Зинченко Т. Д. Биоразнообразие и структура сообществ макрозообентоса соленых рек аридной зоны юга России (Приэльтонье) / Т. Д. Зинченко, Л. В. Головатюк // Аридные экосистемы. – 2010. – Том 16. – № 3 (43). – С. 25–33.
9. Halpern M. Chironomid microbiome / M. Halpern, Y. Senderovich // Microb Ecol. – 2015. – Vol. 70. – P. 1–8. DOI:10.1007/s00248-014-0536-9с.
10. Леванидов В. Я. Биомасса и структура донных биоценозов реки Кедровой / В. Я. Леванидов // Пресноводная фауна заповедника «Кедровая падь». – Владивосток. – 1977. – Т. 45 (148). – С. 126–159.

ECOLOGICAL CHARACTERISTICS OF SODIUM CHLORIDE MINERAL SOURCES AT THE TUZLUKKOL TRACT

Shayhutdinova A. A.^{1,2}

¹*Institute of cellular and intracellular symbiosis of Orenburg Federal research center of Ural branch RAS, Orenburg, Russia*

²*Orenburg state University, Orenburg, Russia*

E-mail: varvarushka@yandex.ru

For the first time, studies of mineral sources on the regional importance nature monument «Tuzlukkol mud» (Belyaevsky district, Orenburg region)'s territory allowed us to establish the taxonomic composition of macrozoobenthos. Sampling of water and bottom sediments was carried out by the seasons (spring, summer, autumn) of 2018 in three mineral springs pouring out of the Kungur early Permian stage's salts and gypsum. The sampling and processing were carried out according to generally accepted hydrobiological methods.

The total mineralization of sodium chloride sources varies from 15.15 g/l to 164.62 g/l. Due to different mineralization levels, depth, substrate type, water temperature, the sources differ in composition and macrozoobenthos communities' structure. Three taxa are registered in the natural environment of mineral springs: Insecta: Diptera – *Culicoides* sp., *Cricotopus salinophilus*, *Ephydra pseudomurina*. In the natural environment of well 1, all three species were found; in the natural environment of well 2 and in the mineral spring a unique benthic, fully formed by ceratopogonid larvae community was found. In general, in the hydroecosystems, formed by mineral springs, communities of benthofauna are formed with the predominance of the larvae *Culicoides* sp. (63.4–100 % of the population). Marked species are halophiles.

The number of benthic communities' representatives at river stations varies from 12 to 9438 ind./m² and the biomass varies from 5.5·10⁻³ to 6.31 g/m².

The average biomass of bottom fauna representatives was 0.07 g/m² in May, 0.99 g/m² in July, 1.26 g/m² in October.

The benthic communities structure was dominated by the Chironomidae larvae, constituting 99.73 % and 95.47 % of the aquatic organisms total number and total biomass, respectively.

In all seasons, the chironomids *Culicoides* sp.larvae belong to the dominants category in terms of abundance and biomass within «The Tuzlukkol Mud», the natural monument of regional importance.

Thus, the halophilic species communities form in mineral springs, and biological diversity is reduced, which characterizes the simplification of the macrozoobenthos communities' structure.

Keywords: regional significance nature monument «Tuzlukkol mud»; mineral springs; biodiversity; macrozoobenthos.

References

1. Nesterenko Yu. M. and Nesterenko M. Yu., *Natural waters of the southern Urals: formation and use*, 244 p. (UB RAS, Ekaterinburg, 2016).
2. Chibilyov A. A., Pavlejchik V. M. and Chibilev A. A., *The Natural heritage of the Orenburg region: protected areas*, 328 p. (Printing house «Dimur», Orenburg, 2009).
3. Tsalolikhin S. Y., *The key to freshwater invertebrates of Russia and adjacent territories*, 579 p. (Science, Saint-Petersburg, 2000).
4. Abakumov V. A., *A Manual on methods of hydrobiological analysis of surface waters and bottom sediments*, 240 p. (Gidrometeoizdat, Leningrad, 1983).
5. Konstantinov A. S., *General Hydrobiology*, 472 p. (High school, Moscow, 1986).
6. Petrishchev V. P., *Salt Dome landscape Genesis: morphostructural features of geosystems and consequences of their technogenic transformation*, 310 p. (UB RAS, Ekaterinburg, 2011).
7. Shayhutdinova A. A. and Gogoleva O. A., Hydrochemical and microbiological features sources tract Tazlocale, *Materials of VII International scientific-practical conference "Bioecological study and regional issues"* (SGSU, Samara, 2018), p. 137.
8. Zinchenko T. D. and Golovatyuk L. V., Biodiversity and structure of macrozoobenthos communities of salty rivers of the arid zone of the South of Russia (Prieltonye), *Arid ecosystems*, **3**, 25 (2010).
9. Halpern M. and Senderovich Y., Chironomid microbiome, *Microb Ecol.* **70**, 1 (2015).
10. Levanidov V. Ya., Biomass and structure of bottom biocenoses of the river Kedrovaya, *Freshwater fauna of the reserve «Kedrovaya pad»*, **45**, 126 (1977).

УДК 633+546.23

ВЛИЯНИЕ НАНОСЕЛЕНА НА АКТИВНОСТЬ КОМПОНЕНТОВ АНТИОКСИДАНТНОЙ СИСТЕМЫ ПШЕНИЦЫ В УСЛОВИЯХ КОМБИНИРОВАННОГО ДЕЙСТВИЯ ЗАСОЛЕНИЯ И ЗАСУХИ

Юркова И. Н., Омельченко А. В., Панов Д. А.

*Таврическая академия (структурное подразделение) ФГАОУ ВО «Крымский федеральный университет имени В. И. Вернадского», Симферополь, Республика Крым, Россия
E-mail: nanosilver@rambler.ru*

Впервые проведено исследование протекторного действия оригинальной наноконпозиции селена на антиоксидантные ферменты пероксидазу и каталазу, а также осмопротектор пролин в условиях комбинированного действия хлоридного засоления и засухи на пшеницу. Показано, что наноселен может воздействовать на активность основных антиоксидантных ферментов пероксидазы и каталазы, регулирующих в клетке уровень АФК, и тормозить синтез пролина, проявляя выраженные антиоксидантные свойства.

Ключевые слова: наноселен, пшеница, стресс, засуха, засоление, пероксидаза, каталаза, пролин.

ВВЕДЕНИЕ

Ухудшение состояния окружающей среды, связанное с изменением климата и деятельностью человека, приводит к увеличению дефицита пресной воды и засолению орошаемых земель. Это ставит под вопрос возможность выращивания многих сельскохозяйственных культур, в том числе пшеницы. Наиболее опасными для растений являются осмотические стрессы, вызванные засолением и водным дефицитом, которые часто проявляются одновременно, усиливая действие друг друга [1, 2]. Нарушение водного режима растений при засолении и засухе приводит к усилению образования активных форм кислорода (АФК), что включает антиоксидантную систему защиты, состоящую из высоко- и низкомолекулярных компонентов. К важнейшим высокомолекулярным компонентам, обезвреживающим АФК, относятся ферменты-антиоксиданты (каталаза, супероксиддисмутаза, пероксидаза и др.) [3–6]. Кроме того, баланс поглощения и потери воды при обезвоживании поддерживается путем накопления клетками осмотически активных соединений, стабилизирующих макромолекулы клеточных структур, таких как пролин [7, 8].

В адаптации растений к стрессам не менее важную роль играют фитогормоны [9]. На содержание некоторых из них оказывает влияние селен [10, 11]. В ряде работ показана положительная роль селена в усилении адаптивного потенциала растений в условиях окислительного стресса, вызванного различными факторами [12–15]. Также установлено положительное влияние низких концентраций селена на рост,

развитие и повышение урожайности растений [16, 17]. Поэтому является очевидным, что действие селена на растения носит полифункциональный характер [18].

Известно, что биологическая активность селена зависит от его формы. Подавляющее большинство исследований влияния селена на различные процессы, протекающие в растениях, проводятся с ионными формами селена (селенитами и селенатами), которые обладают высокой токсичностью. Наименее токсичными и биологически доступными являются наночастицы селена, обладающие пролонгированным действием. Биологическая активность наночастиц селена, как и других биогенных элементов, зависит не только от размера, формы и устойчивости наночастиц, но и от свойств стабилизирующей матрицы [19].

Целью работы было исследование влияние протекторного действия оригинальной водорастворимой композиции наноселена, стабилизированного альгинатом натрия, на активность некоторых компонентов антиоксидантной системы защиты пшеницы в условиях комбинированного действия засоления и засухи.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Объектами исследования были семена озимой пшеницы (*Triticum aestivum* L.) сорта Жнея и водорастворимая композиция наночастиц селена, которую получали по оригинальной технологии, разработанной в Крымском федеральном университете им. В. И. Вернадского. Для этого селенистокислый натрий (хч) восстанавливали L-цистеином («Synex Pharma», Китай) в присутствии стабилизатора альгината натрия (натриевая соль альгиновой кислоты, «Fluka») [20].

Для исследования протекторного действия наноселена в условиях комбинированного действия засоления и засухи семена пшеницы замачивали в течение 4 часов в растворе наноселена в концентрации 10,0; 20,0 и 30,0 мг/л (по селену). Контролем служили семена, замоченные в дистиллированной воде. Объем выборки составлял 30 семян в трехкратной повторности для каждого варианта. Растения пшеницы выращивали в течение 10 суток в контролируемых условиях в климатической камере («Binder», Германия) в сосудах емкостью 1,0 л, 16-часовом фотопериоде, температуре 25/20 °С (день/ночь) и относительной влажности воздуха 60±5 %. В качестве субстрата использовали хорошо отмытый речной песок. Относительная влажность субстрата составляла 60 % от его полной влагоемкости, которую определяли по ГОСТу [21]. Вместе с дистиллированной водой в опытные сосуды вносили 100 мМ раствор NaCl. Контролем 1 служили проростки пшеницы, выращенные в песке, увлажненном дистиллированной водой, а контролем 2 – в песке, увлажненном раствором NaCl. Заданная влажность песка составляла 60 % от полной влагоемкости. На 10-е сутки влажность песка снизилась до 30 %, что принято считать умеренной засухой [22].

Активность ферментов пероксидазы (ПО) и каталазы (КАТ), накопление свободного пролина и массу сухого вещества определяли в проростках пшеницы на 10-е сутки. Массу сухого вещества корней и надземной части проростков измеряли

гравиметрическим методом на 10-е сутки, фиксируя растительный материал в течение 5 мин при 110 °С и доводя его до постоянной массы при 60 °С.

Активность КАТ определяли газометрическим методом после добавления к фильтрату H_2O_2 по скорости выделения кислорода в течение 5 минут и выражали в мкмоль O_2 /г сырой массы в мин [23]. Активность ПО определяли по методу Бояркина. Для этого растительный материал гомогенизировали в ацетатном буфере с рН 5,4. О скорости окисления бензидина ПО в присутствии H_2O_2 судили по степени увеличения оптической плотности при 590 нм. Активность ПО рассчитывали в условных единицах, отнесенных к 1 г сырой массы в минуту [24].

Содержание свободного пролина определяли с помощью кислого нингидринового реактива спектрофотометрически при 520 нм и рассчитывали по калибровочной кривой, построенной со стандартным L-пролином («Sigma»). Содержание пролина выражали в мкмоль на 1 г сырой массы [25].

Эксперименты проводили в 3-кратной биологической повторности. Статистическую обработку полученных результатов проводили по Г. Ф. Лакину [26], в таблице представлены средние арифметические значения и их стандартные ошибки.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Фермент ПО, входящий в состав антиоксидантной системы, способен реагировать на широкий спектр неблагоприятных воздействий окружающей среды на растения, а его активность повышается в соответствии со степенью стрессового воздействия [27].

Результаты исследований показали, что активность ПО в листьях и корнях пшеницы в вариантах с наноселеном была значительно ниже, чем в контроле 2 (без селена, NaCl) (рис. 1). С увеличением концентрации наноселена активность ПО снижалась по сравнению с контролем 2, но при концентрации 20,0 и 30,0 мг/л была близка к значениям контроля 1 (без селена, без NaCl) как в листьях, так и в корнях. Известно, что устойчивость растений к неблагоприятным факторам среды коррелирует с окислительно-восстановительными процессами. В нашем случае с увеличением концентрации наноселена и снижением активности ПО наблюдалось значительное увеличение массы сухого вещества листьев и корней (табл.). Эти результаты свидетельствуют об антиоксидантной роли наноселена, связанной с его способностью понижать уровень АФК. По сравнению с листьями, активность фермента в корнях была в 1,1–1,5 раз выше. Однако с ростом концентрации наноселена эти различия снижались. Аналогичная закономерность изменения активности ПО в корнях и надземной части в стрессовых условиях отмечена у газонных растений в работе [5].

Одним из наиболее активных ферментов, участвующим в процессах адаптации растений к стрессовым факторам, является КАТ [28]. Было установлено, что активность КАТ в условиях действия засоления и засухи с увеличением концентрации наноселена снижается по сравнению с контролем 2 как в листьях, так и в корнях (рис. 2). Однако ее величины были значительно выше по сравнению с контролем 2 и близки к контролю 1.

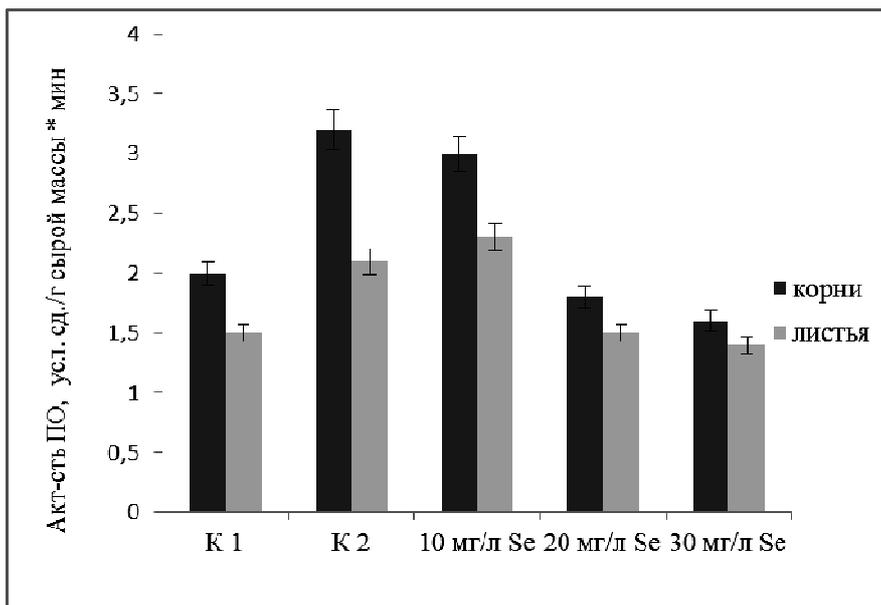


Рис. 1. Влияние наноселена на активность пероксидазы в условиях комбинированного действия засоления и засухи.

Таблица

Влияние наноселена на массу сухого вещества 10-дневных проростков пшеницы в условиях комбинированного действия засоления и засухи

Вариант опыта	Масса сухого вещества			
	корни, мг	листья, мг	корни, %	листья, %
Контроль 1 (без Se ⁰ , H ₂ O)	12,6±0,45	11,4±0,12	100,0	100,0
Контроль 2 (без Se ⁰ , 100 мМ NaCl)	8,6±0,12	10,2±0,38	100,0	100,0
Se ⁰ 10,0 мг/л (100 мМ NaCl)	9,2±0,31	12,0±0,40	73,0*/106,6**	105,3/117,6
Se ⁰ 20,0 мг/л (100 мМ NaCl)	13,8±0,50	12,9±0,43	109,5/160,5	113,2/126,5
Se ⁰ 30,0 мг/л (100 мМ NaCl)	15,8±0,52	14,1±0,52	125,4/183,7	123,7/138,2

Примечание: значения массы сухого вещества корней и листьев в % по отношению к контролю 1* и контролю 2** в вариантах с наноселеном приведены через косую черту

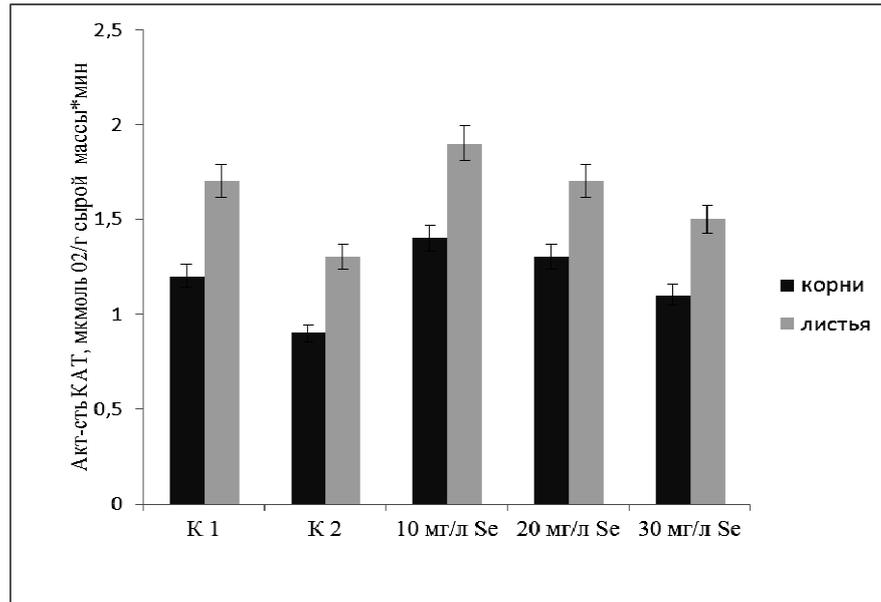


Рис. 2. Влияние наноселена на активность каталазы в условиях комбинированного действия засоления и засухи.

По сравнению с листьями в корнях КАТ проявляла себя менее активно в 1,3–1,4 раза. В ряде работ показано, что у большинства растений со слабой устойчивостью к антропогенным нагрузкам активность КАТ значительно ниже, чем у более устойчивых культур [5, 28]. В нашем эксперименте активность КАТ в корнях и листьях поддерживалась на уровне, характерном для контрольного варианта 1 (без NaCl и селена). При этом масса сухого вещества листьев и корней с ростом концентрации наноселена увеличивалась по сравнению с контролем 1 на 5,3–23,7 % и 9,5–25,4 % соответственно.

Наряду с антиоксидантными ферментами в поддержании жизнедеятельности растений в стрессовых условиях участвуют такие осмотически активные соединения, как универсальный осмолит пролин. Его накопление в клетках является неспецифической защитной реакцией растений на действие стресс-факторов различной природы [7, 8, 31]. Установлено, что пролин не только обладает осморегуляторной и протекторной функциями, но также является антиоксидантом [29, 30]. Как показано на рис. 3, накопление пролина в листьях пшеницы в условиях комбинированного стресса засолением и засухой было в 4,1–6,5 раз выше, чем в корнях. В контроле 2 (без Se⁰, NaCl) концентрация пролина в листьях и корнях увеличилось в 6,4 и 4,7 раза соответственно по сравнению с контролем 1 (без Se⁰, без NaCl). С увеличением концентрации наноселена уровень пролина в листьях снижался до значения контроля 1. В корнях содержание пролина было выше в 2,0–2,3 раза по сравнению с листьями, что может быть связано с барьерными механизмами корневой системы [32]. Однако сопоставление этих результатов с

массой сухого вещества корней также свидетельствует в пользу антиоксидантного действия наноселена на проростки пшеницы в условиях стресса засолением и засухой.

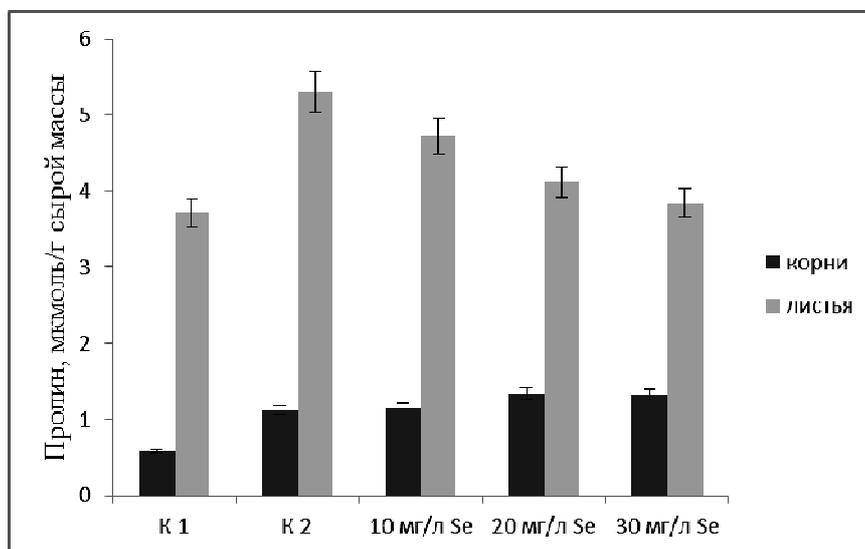


Рис. 3. Влияние наноселена на активность пролина в условиях комбинированного действия засоления и засухи.

Таким образом, можно утверждать, что наноселен в условиях комбинированного засоления и засухи может воздействовать на активность основных антиоксидантных ферментов пероксидазы и каталазы, регулирующих уровень АФК в клетке, и тормозить синтез пролина, проявляя выраженные антиоксидантные свойства.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

1. Изучено влияние наноселена на антиоксидантные ферменты пероксидазу и каталазу, а также осмопротектор пролин в условиях комбинированного действия хлоридного засоления и засухи.
2. Показано, что наноселен проявлял антиоксидантные свойства, регулируя активность антиоксидантных ферментов пероксидазы и каталазы, влияющих на уровень АФК, и замедлял синтез пролина.

Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ и Совета Министров Республики Крым в рамках научного проекта № 19-44-910003 р_а «Исследование закономерностей влияния наноконцентрации селена на стрессоустойчивость пшеницы в условиях комбинированного действия засоления и засухи».

Список литературы

1. Шевелуха В. С. Проблемы, приоритеты и масштабы сельскохозяйственной биотехнологии в XXI веке / В. С. Шевелуха // Вестник РАСХН. – 2000. – № 4. – С. 5–13.
2. Иванов А. А. Совместное действие водного и солевого стрессов на фотосинтетическую активность листьев пшеницы разного возраста / А. А. Иванов // Физиология и биохимия культ. растений. – 2013. – Т. 45, № 2. – С. 155–163.
3. Bolwell G. P. Mechanisms for the Generation of Reactive Oxygen Species in Plant Defense – a Broad Perspective / G. P. Bolwell / *Physiol. Mol. Plant Pathol.* – 1997. – V. 51. – P. 347–366.
4. Double antisense plants lacking ascorbate peroxidase and catalase are less sensitive to oxidative stress than single antisense plants lacking ascorbate peroxidase or catalase / L. Rizhsky, E. Hallak-Herr, F. V. Breusegem [et al.] // *Plant J.* – 2002. – Vol. 32. – P. 329–342.
5. Половникова М. Г. Активность компонентов антиоксидантной защиты и полифенолоксидазы у газонных растений в онтогенезе в условиях городской среды / М. Г. Половникова, О. Л. Воскресенская // Физиология растений. – 2008. – Т. 55, № 5. – С. 777–785.
6. Bohnert H. J. Strategies for engineering water stress tolerance in plants / H. J. Bohnert, R. G. Jensen // *Trends Biotechnol.* – 1996. – Vol. 14, No 3. – P. 89–97.
7. Methods and concepts in quantifying resistance to drought, salt and freezing, abiotic stresses that affect plant water status / P. E. Verslues, M. Agarwal, S. Katiyar-Agarwal [et al.] // *Plant J.* – 2006. – Vol. 45, No 4. – P. 523–539.
8. Физиологические механизмы повышения солеустойчивости растений рапса брассиностероидами / М. В. Ефимова, А. Л. Савчук, Дж. А. К. Хасан [и др.] // Физиология растений. – 2014. – Т. 61, № 6. – С. 778–789.
9. Биологическая активность наноразмерного коллоидного селена / И. Н. Никонов, Ю. Г. Фолманис, Л. В. Коваленко [и др.] // Доклады академии наук. – 2012. – Т. 447, № 6. – С. 675–677.
10. Вихрева В. А. Влияние селена на рост, развитие и адаптивный потенциал козлятника восточного (*Galera orientalis*): автореф. дис. на соискан. учен. степ. канд. биол. наук / Валерия Александровна Вихрева – Москва, 2001. – 28 с.
11. Pennanen A. Protective role of selenium in plants subjected to severe UV irradiation stress / A. Pennanen, T. L. Xue, H. Hartikainen // *J. Appl. Bot.* – 2002. – Vol. 76. – P. 66–76.
12. Кузнецов В. Вл. Защитное действие селена при адаптации растений пшеницы к условиям засухи: автореф. дис. на соискан. учен. степ. канд. биол. наук / Василий Владимирович Кузнецов – Москва, 2004. – 21 с.
13. Головацкая И. Ф. Влияние селена на морфогенез и биохимические параметры растений *Triticum aestivum* L. в зависимости от селективного света / Головацкая И. Ф., Кулагина Ю. М., Крахалева А. В., Карначук Р. А. // *Агрохимия.* – 2013. – № 5. – С. 558–565.
14. Selenium an antioxidative protectant in soybean during senescence / M. Djanaguiraman, D. D. Devi, A. K. Shanker [et al.] // *Plant Soil.* – 2005. – Vol. 272. – P. 77–86.
15. Kong L. Selenium modulates the activities of antioxidant enzymes, osmotic homeostasis and promotes the growth of sorrel seedlings under salt stress / L. Kong, M. Wang, D. Bi // *Plant Growth Regul.* – 2005. – Vol. 45. – P. 155–163.
16. Nonsense mutations in folliculin presenting as isolated familial spontaneous pneumothorax in adults / R. V. Graham, M. Nolasco, B. Peterlin [et al.] // *Am J. Respir Crit Care Med.* – 2005. – Vol. 172, No 1. – P. 39–44.
17. Юркова И. Н. Влияние наночастиц селена и селенита натрия на рост и развитие растений пшеницы / И. Н. Юркова, А. В. Омельченко // Ученые записки Крымского федерального университета имени В. И. Вернадского. Серия: «Биология, химия». – 2015. – Т. 1 (67), № 3. – С. 99–106.
18. Kuznetsov V. I. Polyamines and plant adaptation to saline environments / V. I. Kuznetsov, N. I. Shevyakova // *Desert Plants* / Ed. Ramawat K. A. Heidelberg; Dordrecht; London; New York: Springer Verlag, 2010. – P. 261–298.
19. Взаимодействие наночастиц с биологическими объектами / А. П. Сарапульцев, С. В. Ремпель, Ю. В. Кузнецова // Вестник урал. мед. академ. науки. – 2016. – № 3. – С. 97–111.
20. Пат. РФ 159620 МПК6 А 61 К 33/38, А 61 К 31/00. Способ получения водорастворимой композиции наночастиц, содержащей наночастицы селена / Юркова И. Н., Панова Э. П.,

- Панов Д. А., Омельченко А. В.: патентообладатель Крымский федеральный университет им. В. И. Вернадского; – № 2015146880; заявл. 26.04.13; опубл. 10.02.16. Бюл. № 4.
21. ГОСТ 12038-84. Семена сельскохозяйственных культур. Методы определения всхожести. – Введ. 01.07.86. – Москва: Стандартинформ, 2011. – 64 с.
 22. Гончарова Э. А. Водный статус культурных растений и его диагностика. / Гончарова Э. А. – СПб.: ВИР, 2005. – 112 с.
 23. Prasad K. V. S. Concerted Action of Antioxidant Enzymes and Curtailed Growth under Zinc Toxicity in *Brassica juncea* / K. V. Prasad, P. P. Saradhi, P. Sharmila // Environ. Exp. Bot. – 1999. – V. 42. – P. 1–10.
 24. Бояркин А. Н. Быстрый метод определения активности пероксидазы / Бояркин А. Н. // Биохимия. – 1951. – Т. 16, Вып. 4. – С. 352.
 25. Bates L. S. Rapid determination of free proline for water-stress studies / L. S. Bates, R. P. Waldren, I. D. Teare // Plant and Soil. – 1973. – Vol. 39. – P. 205–207.
 26. Лакин Г. Ф. Биометрия / Г. Ф. Лакин. – М.: Высш. шк., 1990. – 352 с.
 27. Тарчевский И. А. Сигнальные системы клеток растений. / Тарчевский И. А. – М.: Наука, 2002. – 294 с.
 28. Чиркова Т. В. Физиологические основы устойчивости растений / Т. В. Чиркова. – СПб: СПбГУ, 2002. – 244 с.
 29. Кузнецов Вл. В. Пролин при стрессе: биологическая роль, метаболизм, регуляция / Кузнецов Вл. В., Шевякова Н. И. // Физиология растений. – 1999. – Т. 46, № 2. – С. 321–336.
 30. Sharma S. S. The Significance of Amino Acids and Amino Acid-Derived Molecules in Plant Responses and Adaptation to Heavy Metal Stress / Sharma S. S., Dietz K. J. // J. Exp. Bot. – 2006. – V. 57. – P. 711–726.
 31. Джавадиан Н. Вызванные холодом изменения активности ферментов и содержания пролина, углеводов и хлорофиллов у пшеницы / Н. Джавадиан, Г. Каримзаде, С. Мафузи, Ф. Ганати // Физиология растений. – 2010. – Т. 57 (4). – С. 580–588.
 32. Физиологические механизмы устойчивости растений *Solanum tuberosum* L. к хлоридному засолению / М. В. Ефимова, Л. В. Коломейчук, Е. В. Бойко [и др.] // Физиология растений. – 2018. – Т. 65, № 3. – С. 196–206.

INFLUENCE OF NANOSELENIUM ON THE ACTIVITY OF ANTIOXIDANT SYSTEM OF WHEAT COMPONENTS UNDER THE CONDITIONS OF THE COMBINED ACTION OF SALINATION AND DRAIN

Yurkova I. N., Omelchenko A. V., Panov D. A.

*V.I. Vernadsky Crimean Federal University, Simferopol, Crimea, Russia
E-mail: nanosilver@rambler.ru*

Environmental degradation associated with climate change and human activities leads to an increase in fresh water shortages and salinization of irrigated lands. The most dangerous for plants are osmotic stresses caused by salinization and water deficiency, which often occur simultaneously, reinforcing the effect of each other. Violation of the water regime of plants during salinization and drought leads to increased formation of reactive oxygen species (ROS). The most important components that neutralize ROS include antioxidant enzymes (catalase, superoxide dismutase, peroxidase) and the osmotically active compound – proline. In the adaptation of plants to stress, an important role is played by phytohormones. The content of some of them is affected by selenium. The aim of the work was to study the effect of the protective effect of the composition of nanoselenium on the activity of some components of the antioxidant plant protection system under the combined effects of salinization and drought.

The objects of study were winter wheat seeds (*Triticum aestivum* L.) and a water-soluble composition of selenium nanoparticles. Wheat seeds were soaked for 4 hours in a solution of selenium nanocomposition at a concentration of 10.0; 20.0 and 30.0 mg/l (selenium). The control was seeds soaked in distilled water. Wheat plants were grown for 10 days under controlled conditions in a climatic chamber in vessels with a capacity of 1.0 L, a 16-hour photoperiod, a temperature of 25/20 °C (day/night) and a relative humidity of 60±5 %. Well washed river sand was used as a substrate. The activity of peroxidase and catalase enzymes, the accumulation of free proline, and the dry matter mass were determined in wheat seedlings on the 10th day.

The results of the studies showed that the activity of peroxidase in the shoots and roots of wheat after seed treatment with nanoselenium was significantly lower than in the control version (without selenium, 100 mM NaCl). With an increase in the concentration, peroxidase activity in both shoots and roots decreased. The same pattern was observed with catalase activity. The distribution of universal proline osmolite in the shoots and roots of wheat differed from 4.1 to 6.5 times. In control 2 (without Se⁰, NaCl), proline accumulation in shoots and roots increased by 6.4 and 4.7 times, respectively, compared to control 1 (without Se⁰, without NaCl). With an increase in the concentration, the level of universal osmolite proline in the shoots decreased to the control value. Thus, it was shown that nanoselenium can affect the activity of the main antioxidant enzymes peroxidase and catalase, which regulate ROS levels in the cell, and inhibit proline synthesis, exhibiting pronounced antioxidant properties.

Keywords: nanoselenium, wheat, stress, drought, salinization, peroxidase, catalase, proline.

References

1. Sheveluha B. C., Problemy, priority i masshtaby sel'skhozajstvennoj biotekhnologii v XXI veke, *Vestnik RASHN*, **4**, 13 (2000).
2. Ivanov A. A., Sovmestnoe dejstvie vodnogo i solevogo stressov na fotosintetichesuju aktivnost' list'ev pshenicy raznogo vozrasta, *Fiziologija i biohimija kul't. rastenij*, **45**, (2), 163 (2013).
3. Bolwell G. P., Mechanisms for the Generation of Reactive Oxygen Species in Plant Defense – a Broad Perspective, *Physiol. Mol. Plant Pathol.*, **51**, 366 (1997).
4. Rizhsky L., Hallak-Herr E., Breusegem F. V., Double antisense plants lacking ascorbate peroxidase and catalase are less sensitive to oxidative stress than single antisense plants lacking ascorbate peroxidase or catalase, *Plant J.*, **32**, 342 (2002).
5. Polovnikova M. G., Voskresenskaja O. L., Aktivnost' komponentov antioksidantnoj zashhity i polifenoloksidazy u gazonnyh rastenij v ontogeneze v uslovijah gorodskoj sredy, *Fiziologija rastenij*, **55** (5), 785 (2008).
6. Bohnert H. J., Jensen R. G., Strategies for engineering water stress tolerance in plants, *Trends Biotechnol.*, **14**, 3 (1996).
7. Verslues P. E., Agarwal M., Katiyar-Agarwal S., Methods and concepts in quantifying resistance to drought, salt and freezing, abiotic stresses that affect plant water status, *Plant J.*, **45**, 4 (2006).
8. Efimova M. V., Savchuk A. L., Hasan Dzh. A. K., Fiziologicheskie mehanizmy povysheniya soleustojchivosti rastenij rapsa brassinosteroidami, *Fiziologija rastenij*, **61**, 6 (2014).
9. Nikonov I. N., Folmanis Ju. G., Kovalenko L. V., Biologicheskaja aktivnost' nanorazmernogo kolloidnogo selena, *Doklady akademii nauk*, **447**, 6 (2012).
10. Vihreva V. A., Vlijanie selena na rost, razvitie i adaptivnyj potencial kozljatnika vostochnogo (*Galera orientalis*): avtoref. dis. na soiskan. uchen.step. kand. biol. nauk (M., 2001).

11. Pennanen A., Xue T. L., Hartikainen H., Protective role of selenium in plants subjected to severe UV irradiation stress, *J. Appl. Bot.*, **76** (2002).
12. Kuznecov V. Vl., Zashhitnoe dejstvie selena pri adaptacii rastenij pshenicy k uslovijam zasuhi: avtoref. dis. na soiskan. uchen. step. kand. biol. nauk (M., 2004).
13. Golovackaja I. F., Kulagina Ju. M., Krahaleva A. V., Karnachuk R. A., Vlijanie selena na morfogenez i biohimicheskie parametry rastenij *Triticum aestivum* L. v zavisimosti ot selektivnogo sveta, *Agrohimija*, **5** (2013).
14. Djanaguiraman M., Devi D. D., Shanker A. K. et al., Selenium an antioxidative protectant in soybean during senescence *Plant Soil.*, **272** (2005).
15. Kong L., Wang, D. Bi, Selenium modulates the activities of antioxidant enzymes, osmotic homeostasis and promotes the growth of sorrel seedlings under salt stress, *Plant Growth Regul.*, **45** (2005).
16. Graham R. B., Nolasco M., Peterlin B. et al., Nonsense mutations in folliculin presenting as isolated familial spontaneous pneumothorax in adults, *Am J. Respir Crit Care Med.*, **172**, 1 (2005).
17. Yurkova I. N., Omel'chenko A. V., Vlijanie nanochastic selena i selenita natrija na rost i razvitie rastenij pshenicy, *Uchenye zapiski Krymskogo federal'nogo universiteta imeni V. I. Vernadskogo. Serija: «Biologija, himija»*, **1** (67), 3 (2015).
18. Kuznetsov Vl. V., Shevyakova N. I., Polyamines and plant adaptation to saline environments, *Desert Plants / Ed. Ramawat K.A.* p. 261–298 (Heidelberg; Dordrecht; London; New York: Springer Verlag, 2010).
19. Sarapul'cev A. P., Rempel' S. V., Kuznecova Ju. V., Vzaimodejstvie nanochastic s biologicheskimi obektami, *Vestnik ural. med. akadem. nauki*, **3** (2016).
20. Pat. RF 159620 MPK6 A 61 K 33/38, A 61 K 31/00. Sposob poluchenija vodorastvorimoj kompozicii nanochastic, sodержashhej nanochasticy selena / I. N. Jurkova, Je. P. Panova, D. A. Panov, A. V. Omel'chenko: patentoobladatel' Krymskij federal'nyj universitet im. V. I. Vernadskogo; – № 2015146880; zajavl. 26.04.13; opubl. 10.02.16. Bjul. № 4.
21. GOST 12038-84. *Semena sel'skohoz'jajstvennyh kul'tur. Metody opredelenija vshozhesti.* – Vved. 01.07.86., 64 p. (M.: Standartinform, 2011).
22. Goncharova Je. A., *Vodnyj status kul'turnyh rastenij i ego diagnostika*, 112 p. (SPb.: VIR, 2005).
23. Prasad K. V., Saradhi P. P., Sharmila P., Concerted Action of Antioxidant Enzymes and Curtailed Growth under Zinc Toxicity in *Brassica juncea*, *Environ. Exp. Bot.*, **42** (1999).
24. Bojarkin A. N., Bystryj metod opredelenija aktivnosti peroksidazy, *Biohimija*, **16**, 4 (1951).
25. Bates L. S., Waldren R. P., Teare I. D., Rapid determination of free proline for water-stress studies, *Plant and Soil.*, **39** (1973).
26. Lakin G. F., *Biometrija*, 352 p. (M.: Vyssh. shk., 1990).
27. Tarchevskij I. A., *Signal'nye sistemy kletok rastenij*, 294 p. (M.: Nauka, 2002).
28. Chirkova T. V., *Fiziologicheskie osnovy ustojchivosti rastenij*, 244 p. (SPb: SPbGU, 2002).
29. Kuznecov Vl. V., Shevyakova N. I., Prolin pri stresce: biologicheskaja rol', metabolizm, reguljacija, *Fiziologija rastenij*, **46**, 2 (1999).
30. Sharma S. S., Dietz K. J., The Significance of Amino Acids and Amino Acid-Derived Molecules in Plant Responses and Adaptation to Heavy Metal Stress, *J. Exp. Bot.*, **57** (2006).
31. Dzhavadian N., Karimzade G., Mafuzi S., Ganati F., Vyzvannye holodom izmenenija aktivnosti fermentov i sodержanija prolina, uglevodov i hlorofillov u pshenicy, *Fiziologija rastenij*, **57**, 4 (2010).
32. Efimova M. V., Kolomejchuk L. V., Bojko E. V. i dr., Fiziologicheskie mehanizmy ustojchivosti rastenij *Solanum tuberosum* L. k hlorldnomu zasoleniju, *Fiziologija rastenij*, **65**, 3 (2018).

Ученые записки Крымского федерального университета имени В. И. Вернадского
Биология. Химия. Том 5 (71). 2019. № 3. С. 226–235.

УДК 544.7

СИНТЕЗ НОВОГО НАНОБИОКОМПЗИТА СЕЛЕНА И ЕГО ВЛИЯНИЕ НА РОСТ ПШЕНИЦЫ В УСЛОВИЯХ ВОДНОГО И СОЛЕВОГО СТРЕССОВ

Панов Д. А., Юркова И. Н., Омельченко А. В.

*Таврическая академия (структурное подразделение) ФГАОУ ВО «Крымский федеральный университет им. В. И. Вернадского», Симферополь, Республика Крым, Россия
E-mail: nanosilver@rambler.ru*

Разработан способ получения нового биологически активного препарата на основе водорастворимого альгинат-хитозанового полиэлектролитного комплекса и наночастиц селена, полученных путем восстановления селенита натрия аминокислотой L-цистеином. Агрегативная устойчивость нанобиокомпозиата сохранялась в течение четырех месяцев.

Установлено, что полученный препарат наноразмерного селена повышает устойчивость проростков пшеницы к засухе и засолению.

Ключевые слова: альгинат натрия, хитозан, наноселен, полиэлектролитный комплекс, L-цистеин, селенит натрия, пшеница, стресс.

ВВЕДЕНИЕ

В последнее время в нашей стране и за рубежом возросло внимание к медико-биологическим свойствам микроэлемента селена. Он входит в состав многих ферментов, в частности, глутатионпероксидазы, которая нейтрализует активные формы кислорода и свободные радикалы в живых клетках. Недостаток селена в почвах и воде вызывает заболевания, связанные с окислительным стрессом в клетках животных и человека. Работы по исследованию и влиянию разных форм селена на рост и развитие растений начали активно проводиться в конце XX–начале XXI веков [1–4]. Большинство имеющихся научных исследований посвящено изучению стимуляции селеном урожайности или обогащению им культурных растений. Известны работы по влиянию ионных форм селена на устойчивость растений к засухе [4, 5]. Установлено положительное действие низких концентраций селена при обработке семян сельскохозяйственных культур на их продуктивность и адаптацию к стрессам. Один из механизмов адаптогенного действия селена связан с его участием в антиоксидантной системе защиты клеток [3, 6]. В ряде работ изучалось влияние селена на рост и развитие проростков озимой пшеницы и возможность повышения устойчивости растений к неблагоприятным факторам среды. Полученные результаты позволяют говорить о возможности

использования селена на ранних этапах развития озимой пшеницы в качестве стимулирующего экзогенного фактора [5, 7].

Согласно литературным данным, в основном, селен применяется в токсичной форме (селенит-, селенат-ионы), он вносится в почву или используется для замачивания семян [4–8]. В отличие от ионных форм высокодисперсный элементарный селен менее токсичен и обладает пролонгированным действием [9–11]. Показано, что стабилизированные частицы селена с размером 20–60 нм полностью сохраняют спектр биологической активности ионного селена, а, именно, стимулируют синтез селеносодержащих ферментов, но при этом в несколько раз менее токсичны, чем селенит натрия [12]. Наибольшей биодоступностью для растений обладают наночастицы, полученные методом «зеленой химии», когда в их синтезе используют вещества биологического происхождения. В качестве стабилизаторов наночастиц применяют природные полисахариды (альгинат, хитозан, арабиногалактан и другие), имеющие в своем составе различные функциональные группы. Полисахариды проявляют высокую эффективность в качестве полимерных матриц, стабилизирующих наночастицы, препятствуя их агрегации. Использование наночастиц селена (20–50 нм), стабилизированных биополимером морских водорослей – альгинатом натрия, стимулировало ростовую активность пшеницы, увеличивая энергию прорастания и всхожесть семян, а также накопление биомассы [13–15].

Биологическая активность наночастиц зависит от способа их получения и стабилизаторов, предотвращающих агрегацию частиц. Поэтому понятен интерес ученых к поиску новых биополимеров-стабилизаторов, обеспечивающих длительную устойчивость частиц. В литературе последних лет наблюдается рост публикаций по изучению и применению нового класса биополимеров – полиэлектролитных комплексов (ПЭК), разноименно заряженных полисахаридов. ПЭК биополимеров зачастую обладают другими физико-химическими свойствами. Использование их позволяет получать частицы небольших размеров, агрегативно устойчивых в течение длительного времени. В различных областях медицины, фармакологии, промышленности в качестве стабилизаторов широко применяются биоразлагаемые альгинат-хитозановые комплексы. Они образуются за счет электростатических взаимодействий между карбоксильными группами альгината натрия и аминогруппами хитозана, а также за счет водородных связей между молекулами [16–18]. В литературе отсутствуют данные об использовании альгинат-хитозановых комплексов в качестве стабилизаторов наночастиц селена.

Целью настоящей работы явилось изучение влияния водорастворимого альгинат-хитозанового полиэлектролитного комплекса на процесс формирования и устойчивость наночастиц селена и рост пшеницы в условиях водного и солевого стрессов.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Для получения элементарного селена в растворе были использованы селенит натрия (х.ч.) и аминокислота L-цистеин («Synex Pharma», Китай). Стабилизацию наночастиц селена осуществляли растворами биополимеров: низковязкий альгинат

натрия («BioPolymer», Норвегия) и водорастворимый хитозан со степенью дезацетилирования около 75 % (ЗАО «Биопрогресс», Россия). Ранее экспериментально были определены некоторые характеристические свойства этих полисахаридов. Вискозиметрическим методом определяли средневязкостные молекулярные массы: для альгината натрия она равна 150 кДа, для хитозана – 10 кДа. Потенциометрическим методом определяли содержание функциональных групп: свободные карбоксильные группы в альгинате натрия составляли 12,6 %, а содержание аминогрупп в хитозане – 6 %. Согласно ранее проведенным исследованиям, водорастворимый альгинат-хитозановый ПЭК (рН \approx 7) образуется при эквимольных соотношениях функциональных групп (карбоксильных- и аминогрупп) в растворах этих полимеров (хитозан:альгинат), равному 1:9 [18].

Нанобиокомпозиты селена и альгинат-хитозанового комплекса готовили следующим образом: к раствору альгината натрия (0,5–2,5 г/л) прибавляли рассчитанную навеску хитозана 0,05–0,25 г/л и перемешивали на магнитной мешалке. К полученной смеси добавляли цистеин (0,31 г/л) и селенит натрия (0,11 г/л). Все тщательно перемешивали в течение 30 минут. Концентрация селена оставалась постоянной и соответствовала 0,05 г/л, а менялась концентрация полисахаридов. Соотношения массовых концентраций (г/л) наноселена и полиэлектролитного комплекса (в пересчете на альгинат) находились в пределах 0,1–0,01. В результате окислительно-восстановительной реакции образовывался коллоидный раствор нанобиокомпозита селена красного цвета.

Вискозиметром Оствальда ($d = 0,73$ и $0,56$ мм) определяли относительные вязкости полученных биокомпозитов. Измерение проводили так, чтобы истечение растворителя составляло около 100 сек. На иономере АНИОН 4154 (с комбинированным стеклянным электродом «Эком-рН-ком», $\Delta pH = \pm 0,01$) измеряли значения рН. Оптическую плотность индивидуальных веществ (альгинат натрия, хитозан, селенит натрия и L-цистеин), смесей альгината с хитозаном и наноселена с альгинат-хитозановым комплексом измеряли на псевдо-двухлучевом сканирующем спектрофотометре Shimadzu UV-1280 (Япония) в интервале длин волн $\lambda = 210$ – 700 нм. Контроль агрегативной устойчивости наночастиц селена осуществляли спектрофотометрическим методом по изменению оптической плотности, относительной вязкости и рН. Растворы сохраняли в закрытых колбах при комнатной температуре не на прямом солнечном свете. Через каждые 7–8 дней в течение пяти месяцев отбирали пробы, измеряли относительную вязкость и рН растворов, затем после разбавления их в два раза проводили определение оптической плотности.

Для исследования протекторного действия нанобиокомпозита селена в условиях водного и солевого стрессов семена озимой пшеницы сорта «Жнея» замачивали в растворах с концентрацией 5,0; 10,0; 20,0 и 30,0 мг/л (по селену). Время экспозиции семян составляло 4 часа. Контролем служили семена, замоченные в течение 4 часов в дистиллированной воде. Для исследования в чашки Петри помещали фильтровальную бумагу, увлажненную дистиллированной водой (контроль), 5 % раствором ПЭГ-6000 (водный стресс) или 100 мМ раствором NaCl (солевой стресс). Семена проращивали в климатической камере Binder (Германия)

при температуре 24 °С. Объем выборки составлял 50 семян в трехкратной повторности. На 7 сутки определяли массу сухого вещества побегов и корней.

Биомассу корней и надземной части проростков измеряли гравиметрическим методом, фиксируя растительный материал в течение 5 мин. при 110 °С, доводя его до постоянной массы при 60 °С.

Биологические эксперименты проводили в 3-кратной повторности. Статистическую обработку полученных результатов проводили по Г. Ф. Лакину [19], в таблицах представлены средние арифметические значения и их стандартные ошибки.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Экспериментально было установлено, что наноселен с альгинат-хитозановым комплексом в интервале массовых соотношений (г/л) Se/Alg = 0,1–0,01 образует устойчивые растворы, так как в течение четырех месяцев не происходило никаких заметных изменений в системе (образование осадка или помутнения). При получении наночастиц и исследовании их физико-химических свойств анализируются прежде всего спектры поглощения, поскольку они несут в себе информацию о размере частиц, распределении их по размерам, степень их агрегации. На рис. 1 представлены спектры поглощения (в диапазоне $\lambda = 200\text{--}500$ нм) растворов элементарного селена с полиэлектролитным комплексом с массовыми соотношениями Se/Alg = 0,02 и 0,08.

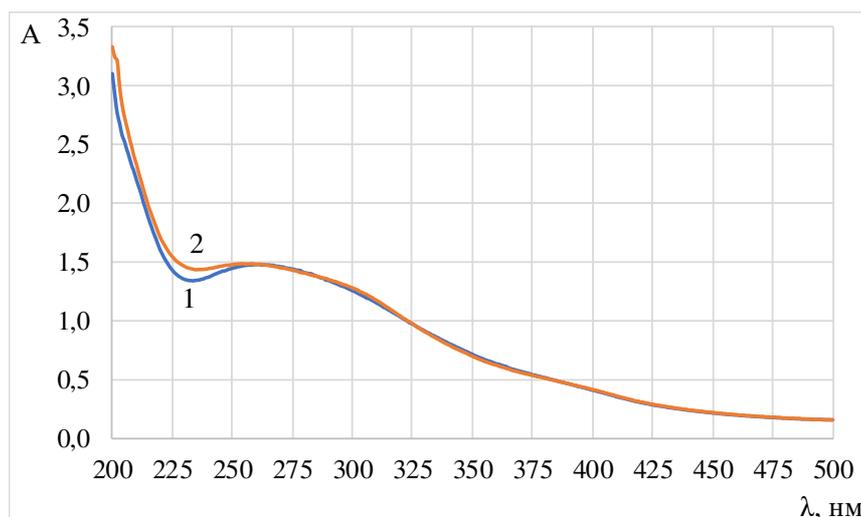


Рис. 1. Зависимость оптической плотности раствора нанобиокомпозита селена от длины волны.

1 – Se/Alg = 0,08.

2 – Se/Alg = 0,02.

Следует отметить, что в исследуемом диапазоне индивидуальные вещества (альгинат, хитозан, селенит натрия, L-цистеин) и водорастворимый альгинат-

хитозановый комплекс не поглощают кванты света. Появление характеристического пика поглощения раствора нанобиоконпозита в области 250–260 нм можно объяснить наличием наноселена в растворе с диаметром частиц 20–50 нм [18].

Положение, интенсивность и форма характеристической полосы поглощения наночастиц зависят от их размера, типа стабилизации и свойств окружающей жидкой среды. Концентрация стабилизатора оказывает существенное влияние на агрегативную устойчивость наночастиц. При изучении влияния альгинат-хитозанового комплекса на агрегативную устойчивость наноселена были приготовлены ряд растворов с различными массовыми соотношениями Se/Alg: 0,02; 0,04; 0,06; 0,08. Концентрация наноселена была постоянной во всех случаях, а концентрация смеси полисахаридов менялась. Затем проводили измерения оптической плотности полученных растворов при длине волны $\lambda = 250$ нм, относительной вязкости и рН через определенные промежутки времени в течение пяти месяцев. На основании проведенных исследований (Рис. 2) было установлено, что в течение четырех месяцев наблюдается стабильное состояние наноселена, так как в течение всего периода не наблюдалось изменения оптической плотности. Что касается величин относительной вязкости и рН, их значения несколько снизились.

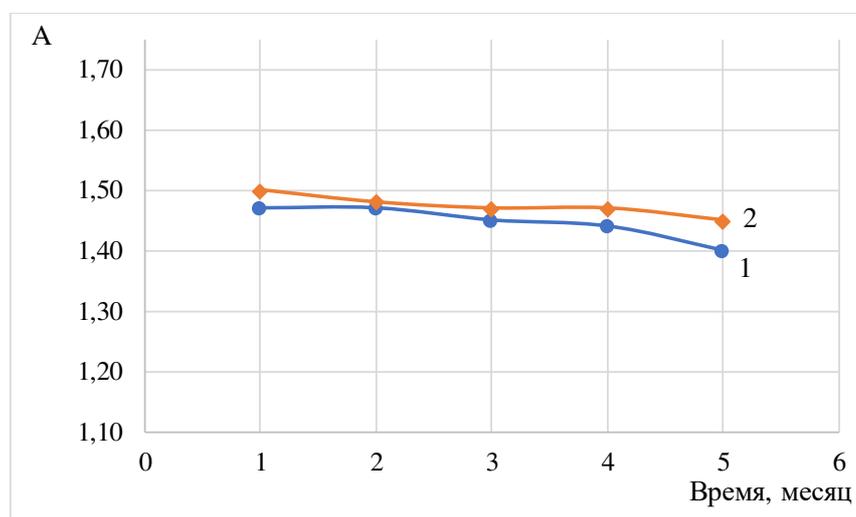


Рис. 2. Характеристика агрегативной устойчивости наночастиц селена в смеси с альгинат-хитозановым ПЭК во времени ($\lambda = 250$ нм).

1 – Se/Alg = 0,08.

2 – Se/Alg = 0,02.

Агрегативная устойчивость наночастиц селена в присутствии водорастворимого альгинат-хитозанового ПЭК можно объяснить гидрофобной адсорбцией биополимеров на поверхности наночастиц и, соответственно, гидрофилизацией их поверхности за счет ионизированных групп альгината и хитозана, а гидрофильные коллоиды в водных растворах более стабильны.

Полученный нанобиокомпозит селена проявлял высокую антистрессовую активность у 7-дневных проростков пшеницы при моделировании стресса засухи и засоления (табл. 1 и 2).

Таблица 1

Влияние обработки семян пшеницы наноконпозицией селена на накопление биомассы 7-дневных проростков в условиях водного стресса

$$(\bar{x} \pm S \bar{x})$$

Вариант опыта	Масса сухого вещества			
	корни, мг	побеги, мг	корни, %	побеги, %
Контроль (без наноселена, 100 мМ NaCl)	4,62±0,15	8,06±0,33	100,0	100,0
Наноселен 5,0 мг/л (100 мМ NaCl)	4,88±0,21	8,55±0,35	105,6	106,0
Наноселен 10,0 мг/л (100 мМ NaCl)	4,92±0,23	8,91±0,37	106,5	110,5
Наноселен 20,0 мг/л (100 мМ NaCl)	5,63±0,22	9,50±0,35	113,2	117,9
Наноселен 30,0 мг/л (100 мМ NaCl)	5,20±0,21	9,43±0,38	105,7	117,0

Таблица 2

Влияние обработки семян пшеницы наноконпозицией селена на накопление биомассы 7-дневных проростков в условиях солевого стресса

$$(\bar{x} \pm S \bar{x})$$

Вариант опыта	Масса сухого вещества			
	корни, мг	побеги, мг	корни, %	побеги, %
Контроль (без наноселена, 5 % ПЭГ-6000)	4,55±0,14	7,65±0,31	100,0	100,0
Наноселен 5,0 мг/л (5 % ПЭГ-6000)	4,80±0,20	8,65±0,36	105,5	113,1
Наноселен 10,0 мг/л (5 % ПЭГ-6000)	4,93±0,21	9,54±0,35	108,4	124,7
Наноселен 20,0 мг/л (5 % ПЭГ-6000)	5,45±0,23	9,93±0,37	119,8	129,8
Наноселен 30,0 мг/л (5 % ПЭГ-6000)	5,33±0,22	9,57±0,36	117,1	125,1

Предварительное замачивание семян в растворах наночастиц селена значительно уменьшало отрицательное воздействие 100 мМ NaCl на ростовую активность проростков по сравнению с контрольным опытом (без селена). Прирост массы сухого вещества корней и надземной части проростков увеличивался на 5,6–13,2 % и 6,0–17,9 % соответственно. Из приведенных результатов видно, что максимальный эффект наблюдался при концентрации наноселена 20,0 мг/л (табл. 1). Это хорошо согласуется с ранее полученными результатами стимуляции роста и стрессоустойчивости пшеницы при использовании нанобиокомпозиции селена, стабилизированного альгинатом натрия [14, 20].

Такая же зависимость наблюдалась и при моделировании водного стресса (табл. 2). Однако эффективность обработки семян наноселеном в этом случае было значительно выше, чем при солевом стрессе. Прирост массы сухого вещества корней и побегов увеличивался на 5,5–19,8 % и 13,1–29,8 % соответственно по сравнению с контролем.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

1. Получен биологически активный препарат на основе водорастворимого элементарного селена в матрице альгинат-хитозанового ПЭК с высокой агрегативной устойчивостью в течение четырех месяцев.
2. Обработка семян пшеницы нанобиокомпозитом селена уменьшала отрицательное воздействие водного и солевого стрессов на прирост сухого вещества корней и надземной части проростков на 5,5–19,8 % и 6,0–29,8 % соответственно по сравнению с контролем.

Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ и Совета Министров Республики Крым в рамках научного проекта № 19-44-910003 p_a «Исследование закономерностей влияния наноконпозиции селена на стрессоустойчивость пшеницы в условиях комбинированного действия засоления и засухи».

Работа выполнена с использованием оборудования Центра коллективного пользования «Спектральные методы анализа» ФГАОУ ВО КФУ им. В. И. Вернадского».

Список литературы

1. Громова О. А. Впечатляющие итоги и перспективы применения / О. А. Громова, И. В. Гоголева // Медицина неотложных состояний. – 2010. – Т. 6, № 31 – С. 124–128.
2. Голубкина Н. А. Селен в медицине и экологии / Н. А. Голубкина, А. В. Скальный, Я. А. Соколов [и др.] // М.: КМК, 2006. – 136 с.
3. Скрыпник Л. Н. Микроэлемент селен и антиоксидантный статус растительной пищи / Л. Н. Скрыпник, Г. Н. Чупахина // Вестник Балтийского ФУ им. Канта. – 2007. – № 7. – С. 73–78.
4. Hasanuzzaman M. Selenium pretreatment upregulates the antioxidant defense and methylglyoxal detoxification system and confers enhanced tolerance to drought stress in rapeseed seedlings / M. Hasanuzzaman, M. Fujita // Biol. Trace Elem. Res. – 2011. – Vol. 143. – P. 1758–1776.

5. Головацкая И. Ф. Влияние селенита и селената натрия на рост и продуктивность пшеницы Иргина в зависимости от способов обработки / И. Ф. Головацкая, Ю. М. Кулагина, А. В. Крахалева // Вестник ТГПУ (TSPU Bulletin). – 2012. – № 7 (122). – С. 111–115.
6. Вихрева В. А. Влияние селена на активность антиоксидантной системы растений / В. А. Вихрева, Т. Б. Лебедева, Г. В. Клеменова // Агрономия: Нива Поволжье. – 2019. – №1. – С. 1–3.
7. Щукин В. Б. Селен как экзогенный стимулирующий фактор в начальный период роста и развития растений озимой пшеницы / В. Б. Щукин, А. А. Громов, Н. В. Щукина // Известия ОГАУ. – 2005. – № 3. – С. 107–110.
8. Turakainen M. Effects of selenium treatments on potato (*Solanum tuberosum* L.) growth and concentrations of soluble sugars and starch / M. Turakainen, H. Hartikainen, M. M. Seppänen // J. Agric. Food Chem. – 2004. – Vol. 52. – P. 5378–5382.
9. Храпцов А. Г. Новый биологически активный препарат на основе наночастиц селена / А. Г. Храпцов, А. В. Серов, В. П. Тимченко [и др.] // Вестник Северо-Кавказского государственного технического университета. – 2010. – № 4. – С. 122–125.
10. Никонов И. Н. Влияние наноразмерного селена на рост сельскохозяйственно-значимых культур / И. Н. Никонов, А. И. Иванов, Л. В. Коваленко, Г. Э. Фоллик // Перспективные материалы. – 2009. – № 4. – С. 54–57.
11. Юркова И. Н. Влияние наночастиц селена и селенита натрия на рост и развитие растений пшеницы / И. Н. Юркова, А. В. Омельченко // Ученые записки Крымского федерального университета имени В.И. Вернадского. Биология. Химия. – 2015. – Т. 1 (67), № 3. – С. 99–106.
12. Zhang J. S. Biological effects of a nano red elemental selenium / J. S. Zhang, X. Y. Gao, L. D. Zhang, Y. P. Bao // BioFactors. – 2001. – Vol. 15. – P. 27–38.
13. Карпова Е. А. К вопросу о токсичности препаратов на основе наноселена / Е. А. Карпова, О. К. Демиденко, О. П. Ильина // Вестник КрасГАУ. – 2014. – № 14. – С. 207–210.
14. Юркова И. Н. Защитно-стимулирующие свойства наноселена при инкрустации семян пшеницы / И. Н. Юркова, А. В. Омельченко // Ученые записки Крымского федерального университета имени В. И. Вернадского. Биология. Химия. – 2016. – Т. 2(68), № 2. – С. 79–85.
15. Панов Д. А. Получение и свойства нанобиокомпозиата селена и альгината натрия / Д. А. Панов // Ученые записки Крымского федерального университета имени В. И. Вернадского. Биология, химия. – 2017. – Т. 3(69), № 1. – С. 91–98.
16. Бровко О. С. Гели полиэлектролитных комплексов на основе альгината натрия и хитозана / О. С. Бровко, И. А. Паламарчук, Н. А. Вальчук // Журнал физической химии. – 2017. – Т. 91, № 8 – С. 1420–1425.
17. Максимова С. Н. Перспективы охлаждения гидробионтов льдом с использованием хитозана и его полиэлектролитных комплексов / С. Н. Максимова, С. Ю. Суровцева, Е. В. Федосеева [и др.] // Известия ТИНРО. – 2016. – Т. 186 – С. 231–237.
18. Панов Д. А. Влияние хитозана на физико-химические свойства альгината натрия / Д. А. Панов // Ученые записки Крымского федерального университета имени В. И. Вернадского. Биология, химия. – 2018. – Т. 4 (70), № 4 – С. 311–319.
19. Лакин Г. Ф. Биометрия / Г. Ф. Лакин. – М.: Высш. шк., 1990. – 352 с.
20. Юркова И. Н. Наноселен как индуктор солеустойчивости зерновых и декоративных культурных растений / И. Н. Юркова, А. В. Омельченко, Е. С. Пидгайная // Ученые записки Крымского федерального университета имени В. И. Вернадского. Биология. Химия. – 2017. – Т. 3(69), № 2. – С. 215–222.

SYNTHESIS OF A NEW SELENIUM NANOBIOCOMPOSITE AND ITS INFLUENCE ON WHEAT GROWTH UNDER CONDITIONS OF WATER AND SALT STRESS

Panov D. A., Jurkova I. N., Omelchenko A. V.

*V. I. Vernadsky Crimean Federal University, Simferopol, Russia
E-mail: nanosilver@rambler.ru*

Recently, in our country and abroad increased attention to the biomedical properties of the trace element selenium. It is part of many enzymes, in particular, glutathione peroxidase, which neutralizes reactive oxygen species and free radicals in living cells. Lack of selenium in soils and water causes diseases associated with oxidative stress in animal and human cells. Known works on the influence of ionic forms of selenium on the resistance of plants to drought. In a number of studies, the effect of selenium on the growth and development of seedlings of winter wheat and the possibility of increasing the resistance of plants to adverse environmental factors were studied. The results obtained suggest the possibility of using selenium in the early stages of the development of winter wheat as a stimulating exogenous factor.

According to literature data, mainly selenium is used in toxic form (selenite, selenate ions), it is applied to the soil or used to soak seeds. In contrast to ionic forms, highly dispersed null-valent selenium is less toxic and has a prolonged action. The highest bioavailability for plants is possessed by nanoparticles obtained by the "green chemistry" method, when substances of biological origin are used in their synthesis. Natural polysaccharides (alginate, chitosan, arabinogalactan, etc.) are used as stabilizers of nanoparticles.

The aim of this work was to study the effect of a water-soluble alginate-chitosan polyelectrolyte complex on the formation and stability of selenium nanoparticles and wheat growth under conditions of water and salt stress.

To obtain elemental selenium in solution, sodium selenite and the amino acid L-cysteine were used. Selenium nanoparticles were stabilized by solutions of biopolymers: low-viscosity sodium alginate and water-soluble chitosan with a degree of deacetylation of about 75 %. Water-soluble alginate-chitosan PEC (pH \approx 7) is formed when the ratio of equimolar chitosan: alginate solutions is 1: 9. The aggregate stability of selenium nanoparticles was controlled by a spectrophotometric method by changing the optical density, relative viscosity, and pH. To study the protective effect of the selenium nanobiocomposite under water and salt stress, the seeds of winter wheat of the «Zhneya» variety were soaked in solutions with a concentration of 5.0; 10.0; 20.0 and 30.0 mg/l (in selenium). The seed exposure time was 4 hours. The control was seeds soaked for 4 hours in distilled water. The biomass of roots and aerial parts of seedlings was measured by the gravimetric method, fixing plant material for 5 min. at 110 °C, bringing it to constant mass at 60 °C.

A biologically active preparation based on water-soluble elemental selenium was synthesized in an alginate-chitosan PEC matrix with high aggregative stability for four months. The treatment of wheat seeds with selenium nanobiocomposite reduced the negative effect of water and salt stress on the growth of dry matter of roots and aerial parts of seedlings by 5.5–19.8 % and 6.0–29.8 %, respectively, compared with the control.

Keywords: sodium alginate, chitosan, nanoselen, the polyelectrolyte complex, L-cysteine, sodium selenite, wheat, stress.

References

1. Gromova O. A., Gogolev I. V. Impressive results and prospects of application, *Medicine of emergency conditions*, **6** (31), 124 (2010). (in Russ.)
2. Golubkina N. A., Skalny A. V., Sokolov Y. A. *Selenium in medicine and ecology*, 136 p. (KMK, Moscow, 2006). (in Russ.)
3. Skrypnyk L. N., Chupakhin G. N. Trace element selenium and antioxidant status of plant food, *Bulletin of the Baltic Federal University named after Kant*, **7**, 73 (2007). (in Russ.)
4. Hasanuzzaman M., Fujita M. Selenium pretreatment upregulates the antioxidant defense and methylglyoxal detoxification system and confers enhanced tolerance to drought stress in rapeseed seedlings, *Biol. Trace Elem. Res.*, **143**, 1758 (2011).
5. Golovatskaya I. F., Kulagina Yu. M., Krakhaleva A. V. The influence of selenite and sodium selenate on the growth and productivity of Irgin wheat, depending on the processing methods, *Bulletin of TSPU (TSPU Bulletin)*, **7** (122), 111 (2012). (in Russ.)
6. Vikhрева V. A., Lebedeva T. B., Vikhрева G. V. The effect of selenium on the activity of the antioxidant system of plants, *Agronomy: Niva Volga*, **1**, 1 (2019). (in Russ.)
7. Schukin V. B., Gromov A. A., Schukina N. V. Selenium as an exogenous stimulating factor in the initial period of growth and development of winter wheat plants, *News of the OGAU*, **3**, 107 (2005). (in Russ.)
8. Turakainen M., Hartikainen H., Seppänen M.M. Effects of selenium treatments on potato (*Solanum tuberosum* L.) growth and concentrations of soluble sugars and starch, *J. Agric. Food Chem.*, **52**, 5378 (2004).
9. Khramtsov A. G., Serov A. V., Timchenko V. P. A new biologically active preparation based on selenium nanoparticles, *Bulletin of the North Caucasus State Technical University*, **4**, 122 (2010). (in Russ.)
10. Nikonov I.N., Ivanov A.I., Kovalenko L.V., Follie G.E. The effect of nanosized selenium on the growth of agricultural crops, *Promising materials*, **4**, 54 (2009). (in Russ.)
11. Jurkova I. N., Omelchenko A. V. The influence of selenium nanoparticles and sodium selenite on the growth and development of wheat, *Scientific notes of the Crimean Federal University named after V. I. Vernadsky. Biology. Chemistry*, **1** (3), 99 (2015). (in Russ.)
12. Zhang J. S., Gao X. Y., Zhang L. D., Bao Y. P. Biological effects of a nano red elemental selenium, *BioFactors*, **15**, 27 (2001).
13. Karpova E. A., Demidenko O. K., Ilyina O. P. To the question of the toxicity of drugs based on nanoselen, *Bulletin of the KrasGAU*, **14**, 207 (2014). (in Russ.)
14. Jurkova I. N., Omelchenko A. V. Protective and stimulating properties of nanoselenium for incrustation of wheat seeds, *Scientific notes of the Crimean Federal University named after V. I. Vernadsky. Biology. Chemistry*, **2** (2), 79 (2016). (in Russ.)
15. Panov D. A. Selenium and sodium alginate nanocomposites producing and properties, *Scientific notes of the Crimean Federal University named after V.I. Vernadsky. Biology, Chemistry*, **3** (1), 91 (2017). (in Russ.)
16. Brovko O. S., Palamarchuk I. A., Valchuk N. A. Gels of polyelectrolyte complexes based on sodium alginate and chitosan, *Journal of Physical Chemistry*, **91** (8), 1420 (2017). (in Russ.)
17. Maksimova S. N., Surovtseva S. Yu., Fedoseeva E. V. Prospects for cooling aquatic organisms with ice using chitosan and its polyelectrolyte complexes, *News of TINRO*, **186**, 231 (2016). (in Russ.)
18. Panov D. A. Effect of chitosan on the physical and chemical properties of sodium alginate, *Scientific notes of the Crimean Federal University named after V. I. Vernadsky. Biology, Chemistry*, **4** (4), 311 (2018). (in Russ.)
19. Lakin G. F. *Biometrics*, 352 p. (Higher. school, Moscow, 1990). (in Russ.)
20. Jurkova I. N., Omelchenko A. V., Pidgaynaya E. S. Nanoselenium as an inducer of salt tolerance of cereals and ornamental plants, *Scientific notes of the Crimean Federal University named after V. I. Vernadsky. Biology. Chemistry*, **3** (2), 215 (2017). (in Russ.)

УДК 546.654 + 546.657 + 547.785.51

**СИНТЕЗ, СТРОЕНИЕ И ЛЮМИНЕСЦЕНЦИЯ СМЕШАННОЛИГАНДНОГО
КОМПЛЕКСА ЕВРОПИЯ(III) НА ОСНОВЕ N-ДОДЕЦИЛИМИНОДИУКСУСНОЙ
КИСЛОТЫ, АЦЕТИЛАЦЕТОНА И 1,10-ФЕНАНТРОЛИНА**

Сарнит Е. А.¹, Сайдахмедова Н. Н.¹, Мельникова Е. Д.²

¹*Таврическая академия (структурное подразделение) ФГАОУ ВО «Крымский федеральный университет им. В. И. Вернадского», Симферополь, Республика Крым, Россия*

²*Медицинская академия имени С. И. Георгиевского (структурное подразделение) ФГАОУ ВО «Крымский федеральный университет имени В. И. Вернадского», Симферополь, Республика Крым, Россия*

E-mail: easarnit@mail.ru

Получен и исследован смешаннолигандный комплекс европия(III) на основе N-додецилиминодиуксусной кислоты, 1,10-фенантролина и ацетилацетона, обладающий квантовым выходом люминесценции 9,66 %. Синтезированные соединения исследованы методами элементного анализа и термогравиметрии; способ координации определен по данным инфракрасной спектроскопии. **Ключевые слова:** смешаннолигандные комплексы европия(III), N-додецилиминодиуксусная кислота, ацетилацетон, 1,10-фенантролин, люминесценция.

ВВЕДЕНИЕ

Комплексообразование f-элементов с органическими реагентами используется для разделения, концентрирования и количественного определения катионов металлов в растворах. Успешное решение подобных химико-аналитических задач возможно при достаточно полной информации об оптимальных условиях образования данных комплексов. Явление люминесценции можно использовать как для исследования люминесцирующих комплексов металла с органическими реагентами, так и для определения малых концентраций металла [1–3]. Для синтеза смешаннолигандных комплексов подходящими лигандами выступают иминодиуксусная кислота и её производные, так как расположение донорных атомов азота и кислорода в молекуле кислоты благоприятно для образования устойчивых пятичленных хелатных циклов, а 1,10-фенантролин в составе комплекса выполняет роль своеобразной «фотоантенны» для передачи энергии излучения на орбитали центрального атома. Кроме этого, N-додецилиминодиуксусная кислота является перспективным объектом для получения пленок Лэнгмюра-Блоджетт, поскольку молекула кислоты имеет в составе достаточно длинный додецильный углеводородный радикал. Координационные соединения лантанидов способны к фото- и электролюминесценции, обусловленной f–f-переходами, поэтому сочетание свойств центрального атома и органического лиганда позволяет придавать подобным плёнкам заданные свойства [4, 5].

Целью работы был синтез и исследование смешаннолигандных комплексов европия(III) с N-додецилиминодиуксусной кислотой и дополнительными хелатообразующими лигандами (ацетилацетоном и 1,10-фенантролином).

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В работе использованы следующие реагенты: ацетилацетон (пентандион-2,4; х.ч.), моногидрат 1,10-фенантролина (х.ч.), этиловый спирт (х.ч.), N-додецилиминодиуксусная кислота (х.ч.), хлороформ (х.ч.), кристаллогидраты следующих солей: $\text{Eu}(\text{NO}_3)_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ (х.ч.); $\text{Eu}(\text{CH}_3\text{COO})_3 \cdot 5,5\text{H}_2\text{O}$ (х.ч.).

Элементный CHN-анализ выполнен на элементном CHN-анализаторе “Euro EA Elemental Analyser” (кафедра общей и физической химии ТА КФУ, г. Симферополь).

Инфракрасные спектры поглощения зарегистрированы на ИК-Фурье спектрометре “ООО Инфраспек” и ИК-Фурье спектрометре “Perkin Elmer” (кафедра общей и физической химии ТА КФУ, г. Симферополь).

Термогравиметрические исследования проведены на Q-дериватографе на базе Центра коллективного пользования «Биопозитивное строительство и ресурсосбережение» (Академия строительства и архитектуры КФУ, г. Симферополь).

Спектр возбуждения и люминесценции зарегистрирован с использованием спектрофлуориметра «Fluoromax-4» (HORIBA Scientific) с Хе-лампой (кафедра общей и физической химии ТА КФУ, г. Симферополь).

1) Методика синтеза комплекса на основе ацетилацетона, 1,10-фенантролина и нитрата европия(III) (схема 1а).

К раствору 225 мг (0,5 ммоль) нитрата европия ($\text{Eu}(\text{NO}_3)_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$) в 20 мл воды добавили 150 мг (1,5 ммоль) ацетилацетона и 100 мг (0,5 ммоль) моногидрата 1,10-фенантролина. Полученную смесь нагревали при перемешивании на магнитной мешалке до окончательного растворения исходных веществ, раствор выдержали 1 сутки. Затем добавляли по каплям водный раствор аммиака (10 %) до слабощелочной среды (pH 7–8). Полученный осадок отфильтровали, промыли водой и высушили на воздухе при комнатной температуре. Масса полученного комплекса 110 мг (выход 52 %).

2) Методика синтеза комплекса на основе ацетилацетона, 1,10-фенантролина и ацетата европия(III) (схема 1б).

К раствору 437 мг (0,1 ммоль) ацетата европия $\text{Eu}(\text{CH}_3\text{COO})_3 \cdot 5,5\text{H}_2\text{O}$ в 30 мл воды добавили 300 мг (0,3 ммоль) ацетилацетона и 200 мг (0,1 ммоль) моногидрата 1,10-фенантролина. Полученную смесь нагревали при перемешивании на магнитной мешалке до полного растворения исходных веществ, раствор выдержали 1 сутки. Затем добавляли по каплям раствор аммиака (10 %) до слабощелочной среды (pH 7–8). Полученный осадок отфильтровали, промыли водой и высушили на воздухе при комнатной температуре. Масса полученного комплекса 480 мг (выход 87 %).

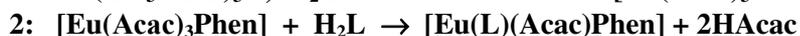
3) Методика синтеза комплекса европия(III) на основе ацетилацетона, 1,10-фенантролина, N-додецилиминодиуксусной кислоты (схема 2).

Синтез целевого координационного соединения осуществлен по следующей методике: в 20 мл хлороформа растворили 250 мг (0,4 ммоль) [Eu(Acac)₃Phen] (комплекс 1Б), добавили 120 мг (0,4 ммоль) N-додецилиминодиуксусной кислоты; смесь нагревали в колбе с обратным холодильником и перемешивали на магнитной мешалке до полного растворения реагентов; полученный раствор выдержали 1 сутки, затем упарили на воздухе и высушили в чашке Петри; масса полученного комплекса 250 мг (выход 84 %).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Для получения смешаннолигандных комплексов использована N-додецилиминодиуксусная кислота. Данные её элементного анализа приведены в таблице 1. ИК-спектр поглощения: ($\bar{\nu}_{\max}$, см⁻¹): 3020(сл.) $\nu(\text{OH})$; 2992 $\nu_s(\text{CH}_3)$; 2960 $\nu_{\text{as}}(\text{CH}_3)$; 2918 $\nu_{\text{as}}(\text{CH}_2)$; 2851 $\nu_s(\text{CH}_2)$; 1703 $\nu_{\text{C=O}}(\text{COOH})$; 1470 $\delta(\text{CH}_2)$; 1430 $\delta(\text{C-OH})$; 1386 $\tau(\text{CH}_2)$; 1338 $\nu(\text{C-N})$; 1293 $\nu_{\text{C-O}}(\text{COOH})$; 1156 $\omega(\text{CH}_2)$; 725 $\rho(\text{CH}_2)$; 606, 560, 490, 423 $\delta(\text{C-C-C})$.

Синтез координационных соединений осуществлен в две стадии: первая – получение смешаннолигандного комплекса европия(III) на основе ацетилацетона (HAcac) и 1,10-фенантролина (Phen) (схема 1). Показано, что при использовании ацетата европия(III) (схема 1а) выход продукта выше (87 %), чем при использовании нитрата европия(III) (схема 1б); выход продукта – 52 %. Вторая стадия – синтез с использованием соответствующего промежуточного комплекса и N-додецилиминодиуксусной кислоты (H₂L) в хлороформе в соотношении реагентов 1:1 (схема 2).



Полученные на основе N-додецилиминодиуксусной кислоты координационные соединения европия(III) представляют собой мелкокристаллические вещества бежевого цвета, нерастворимые в воде и малорастворимые в этаноле и хлороформе, данные элементного анализа промежуточных и итоговых комплексов представлены в таблице 1.

Для идентификации синтезированных комплексов получены инфракрасные спектры поглощения и проведено сравнение со спектром поглощения свободного 1,10-фенантролина, данные представлены в таблице 2.

Таблица 1

Состав и данные элементного анализа исходных и синтезированных соединений

Соединение (№)	Брутто-формула	Массовая доля, %, вычислено / найдено		
		C, %	H, %	N, %
H ₂ L – N-додецилиминодиуксусная кислота	C ₁₆ H ₃₁ NO ₄	63,91 / 63,76	10,04 / 10,37	4,27 / 4,65
[Eu(Асас) ₃ Phen] (комплекс 1-А) (исходная соль – нитрат европия(III))	C ₂₇ H ₂₉ N ₂ EuO ₆	51,51 / 50,31	4,61 / 4,09	4,45 / 4,41
[Eu(Асас) ₃ Phen] (комплекс 1-Б) (исходная соль – ацетат европия(III))	C ₂₇ H ₂₉ N ₂ EuO ₆	51,51 / 50,25	4,61 / 4,19	4,45 / 4,32
[Eu(L)(Асас)Phen] (комплекс 2)	C ₃₃ H ₄₄ N ₃ EuO ₆	55,78 / 55,25	3,38 / 3,49	5,92 / 5,16

Таблица 2

Данные ИК спектроскопии ($\bar{\nu}$ max, см⁻¹) смешаннолигандных комплексов европия(III) с ацетилацетоном (Асас) и 1,10-фенантролином (Phen)

Соединение	Полосы поглощения лигандов	
	Асас ⁻	1,10-фенантролин
[Eu(Асас) ₃ Phen] (комплекс 1-А) (исходная соль – нитрат европия(III))	$\nu(\text{C}=\text{O})$: 1620 $\nu(\text{C}-\text{O})$: 1139	$\nu(\text{C}_{\text{ар}}-\text{N})$: 1427 $\gamma(\text{C}_{\text{ар}}-\text{H})$: 844; 758; 725; 625
[Eu(Асас) ₃ Phen] (комплекс 1-Б) (исходная соль – ацетат европия(III))	$\nu(\text{C}=\text{O})$: 1630 $\nu(\text{C}-\text{O})$: 1135	$\nu(\text{C}_{\text{ар}}-\text{N})$: 1425 $\gamma(\text{C}_{\text{ар}}-\text{H})$: 858; 776; 725; 636

На основании полученных данных синтезированным комплексам можно приписать следующее строение: 1,10-фенантролин координирован катионом металла через атомы азота с образованием хелатного пятичленного цикла; ацетилацетон координирован в однократно депротонированной енольной форме через два атома кислорода с образованием шестичленного хелатного цикла, природа исходной соли не влияет на состав образующегося комплекса (рисунок 1а). Для идентификации смешаннолигандного комплекса, синтезированного на основе 1,10-фенантролина, ацетилацетона и N-додецилиминодиуксусной кислоты,

проведено сравнение положения полос поглощения валентных асимметричных и симметричных колебаний карбоксилат-аниона (таблица 3) и на основе данных [6] определен способ координации карбоксилатной группы (рисунок 2, б).

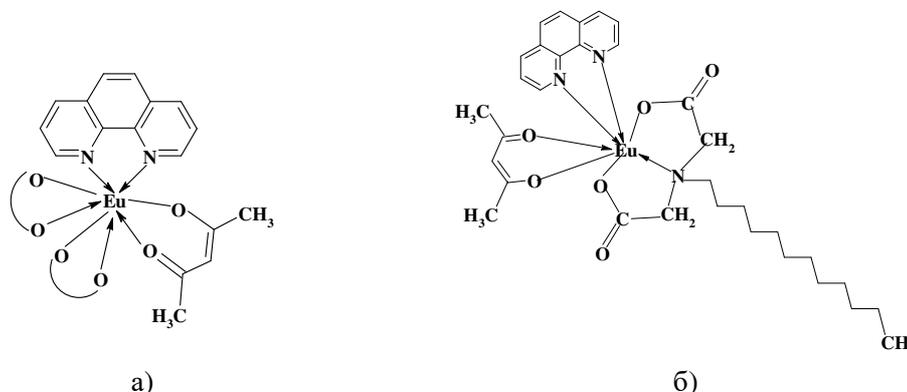


Рис. 1. Структура смешаннолигандного комплекса $[\text{Eu}(\text{L})(\text{Acac})_3\text{Phen}]$ (а) и $[\text{Eu}(\text{L})(\text{Acac})\text{Phen}]$ (б), H_2L – N-додecilиминодиуксусная кислота.

Данные инфракрасных спектров поглощения смешаннолигандного комплекса на основе N-додecilиминодиуксусной кислоты представлены в таблице 3.

Таблица 3

Данные ИК спектроскопии ($\bar{\nu}$ max, cm^{-1}) смешаннолигандного комплекса европия(III) с ацетилацетоном, 1,10-фенантролином и N-додecilиминодиуксусной кислотой (H_2L)

Тип колебания	H_2L	$[\text{Eu}(\text{L})(\text{Acac})\text{Phen}]$ (комплекс 2)
$\nu(\text{OH})$	3020	–
$\nu(\text{C}=\text{O})_{(-\text{COOH})}$	1703	–
$(\text{OH})_{(-\text{COOH})}$	1430	–
$\nu(\text{C}-\text{N})$	1338	1330
$\nu(\text{CO})_{(-\text{COOH})}$	1293	–
$\nu_{\text{as}}(\text{COO}^-)$	–	1587
$\nu_{\text{s}}(\text{COO}^-)$	–	1346
$\Delta\nu$	–	241

На основании полученных данных синтезированному комплексу 2 можно приписать следующее строение: 1,10-фенантролин координирован катионом металла через атомы азота с образованием хелатного пятичленного цикла;

ацетилацетон координирован в однократно депротонированной енольной форме через два атома кислорода с образованием шестичленного хелатного цикла; N-додецилиминодиуксусная кислота координирована через атомы кислорода однократно депротонированных карбоксильных групп, о чем свидетельствует значение разности асимметричных и симметричных валентных колебаний ($\Delta\nu=241 \text{ см}^{-1}$); в координации участвует также атом азота с образованием двух пятичленных хелатных циклов, о чем свидетельствует низкочастотное смещение полосы валентных колебаний связи C–N (от 1338 до 1330 см^{-1}).

Для определения термической устойчивости синтезированного соединения 2 был выполнен термогравиметрический анализ комплекса. Результаты анализа представлены в следующей таблице 4.

Таблица 4

Данные дифференциального термического и термогравиметрического анализа смешаннолигандного комплекса европия(III) на основе N-додецилиминодиуксусной кислоты (H₂L), ацетилацетона (HAcac) и 1,10-фенантролина (Phen)

Соединение	Интервал температур по кривой ДТА, °С	Экстремум по кривой ДТА, °С	$\Delta m, \%$ найдено/ вычислено	Процесс
[Eu(L)(Acac)Phen] (2)	100–210	–	6,94 / 6,78	– HAcac
	210–240	229,0 (+)	34,26 / 32,68	– 2CO ₂
	240–350	–	62,93 / 63,20	– Phen
	350–450	435,5 (+)	65,90 / –	выгорание органического остатка
	450–490	470,5 (+)		
	490–778	–	76,89 / –	окончательная потеря массы

Установлено, что данный комплекс устойчив до 100 °С, далее начинается потеря массы без видимого эффекта на кривой ДТА. Потеря массы в 6,94 % на кривой ТГА предположительно отвечает удалению одного остатка ацетилацетона от двух единиц комплекса: найдено 6,94 %, вычислено 6,78 %, процесс заканчивается при 210 °С. Далее в интервале температур от 210 до 240 °С с максимумом слабого экзоэффекта при 229 °С происходит декарбоксилирование координированной N-додецилиминодиуксусной кислоты; процент потери массы составляет 34,26 %, а вычислено 32,68 %. Далее происходит термоокислительная деструкция и выгорание органического остатка с максимумами при 435,5 и 470,5 °С. Окончательная потеря массы наступает при 778 °С, процент потери массы порядка 77 %.

В таблице 5 приведены значения положения максимумов и интенсивность полос возбуждения и люминесценции твердого образца комплекса европия(III), квантовый выход люминесценции Q_y составляет 9,66 %.

Таблица 5
Параметры спектров люминесценции твёрдого образца комплекса ([Eu(L)(Acac)Phen] (H₂L – N-додецилиминодиуксусная кислота)

Спектр возбуждения		Спектр люминесценции	
$\lambda_{\text{возб.}}$, нм	$I \times 10^{-6}$	$\lambda_{\text{люм.}}$, нм	$I_{\text{люм.}} \times 10^{-5}$
339	25,4	590	14,1
347	27,7	620	43,2
396	13,6	688	11,7
		700	18,2

На рисунке 2 приведена точка максимума люминесценции твердого образца комплекса на цветовой диаграмме, положение максимума отвечает красно-оранжевой области.

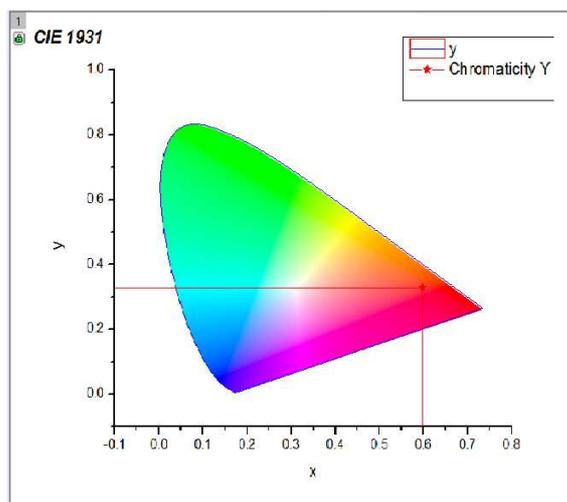


Рис. 2. Цветовая диаграмма люминесценции твердого образца комплекса [Eu(L)(Acac)Phen] ($x = 0,34$; $y = 0,60$).

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

1. В результате работы получены и исследованы смешаннолигандные комплексы европия(III) с N-додецилиминодиуксусной кислотой, ацетилацетоном и 1,10-фенантролином; показано, что соотношение металл : кислота составляет 1:1.
2. По данным инфракрасной спектроскопии определён способ координации N-додецилиминодиуксусной кислоты и дополнительных хелатообразующих лигандов.

3. Для синтезированного комплекса европия(III) [Eu(L)(Acac)Phen] изучены спектры возбуждения и люминесценции, определен квантовый выход люминесценции.

Список литературы

1. Люминесцентные методы исследования комплексных соединений / Л. А. Алакаева, Р. Д. Ульбашева. – Нальчик: Каб-Балк. ун-т, 2003. – 58 с.
2. Казгикин О. Н. Неорганические люминофоры / О. Н. Казгикин, Л. Я. Марковский, И. А. Миронов. – Л. : Химия, 1975. – 192 с.
3. Полуэктов Н. С. Спектрофотометрические и люминесцентные методы определения лантаноидов / Н. С. Полуэктов, Л. И. Кононенко, Н. П. Ефрюшина, С. В. Бельтюкова. – Киев: Наукова думка, 1989. – 255 с.
4. Каткова М. А. Координационные соединения редкоземельных металлов с органическими лигандами для электролюминесцентных диодов / М. А. Каткова, А. Г. Витухновский, М. Н. Бочкарёв // Успехи химии. – 2005. – Т. 74, № 12. – С. 1194–1214.
5. Чечель О. В. Использование пленок Ленгмюра-Блоджетт в качестве регистрирующих слоев оптических носителей информации. / О. В. Чечель, В. Н. Николаев // Успехи химии. – 1990. – С. 56–58.
6. Сильверстейн Р. Спектрометрическая идентификация органических соединений / Р. Сильверстейн, Г. Басслер, Т. Морил; [Пер. с англ. под ред. А.А. Мальцева]. – М. : Мир, 1977. – С. 125–215.

SYNTHESIS, STRUCTURE AND LUMINESCENCE OF EUROPIUM(III) MIXED-LIGAND COMPLEX BASED ON N-DODECYLIMINODIACETIC ACID, ACETYLACETONE AND 1,10-PHENANTHROLINE

Sarnit E. A.¹, Saidahmetova N. N.¹, Melnikova E. D.²

*V. I. Vernadsky Crimean Federal University, Simferopol, Russia
E-mail: easarnit@mail.ru*

Complexation of *f*-elements with organic reagents is used to separate, concentrate and quantify a metal cations in solutions. Successful solution of such chemical-analytical problems is possible with sufficient information about the optimal conditions for the formation of these complexes. The luminescence phenomenon can be used both for studying luminescent metal complexes with organic reagents, and for determining low concentrations of metal. Iminodiacetic acid and its derivatives are suitable ligands for the synthesis of mixed-ligand complexes because the arrangement of the donor atoms of nitrogen and oxygen in the acid molecule is favorable for the formation of stable five-membered chelate cycles; and 1,10-phenanthroline as part of the complex serves as a kind of “photoantenna” for transmitting energy to the orbitals of the central metal atom. Moreover, N-dodecyliminodiacetic acid is a perspective object for the production of Langmuir-Blodgett films, since the acid molecule contains a long hydrocarbon radical. The coordination compounds of lanthanides are capable of photo- and electroluminescence due to f-f-transitions; therefore, the combination of the properties of the cation of metal complexing agent and the organic ligand makes it possible to impart

specified properties to such films. As a result of the work, mixed-ligand complexes of europium (III) with N-dodecyliminodiacetic acid and additional chelating ligands were obtained. The composition of the complexes was determined on the base of the data of elemental analysis: the ratio of metal to N-dodecyliminodiacetic acid is 1:1. The method of coordination of N-dodecyliminodiacetic acid and additional chelating ligands was determined by infrared spectroscopy: N-dodecyliminodiacetic acid was coordinated through oxygen atoms and a nitrogen atom to form two five-membered chelate cycles. The maxima positions of the luminescence bands of the solid sample of the europium(III) complex are: 590; 620; 688 and 700 nm, respectively. According to the chromaticity coordinates, the resulting europium(III) complex gives a characteristic red glow; the quantum yield of luminescence is 9.66 %.

Keywords: mixed-ligand complexes of europium(III), N-dodecyliminodiacetic acid, acetylacetone, 1,10-phenanthroline, luminescence.

References

1. Alakaeva L. A., Ulbasheva R. D., *Luminescent methods of investigation of complex compounds*, 58 p. (Kab-Balk. Univ. Press, Nalchik, 2003). (in Russ).
2. Kazgikin O. N., Markovsky L. Ya., Mironov I. A., *Inorganic luminophores*, 192 p. (Chemistry, Leningrad, 1975). (in Russ).
3. Poluektov N. S., Kononenko L. I., Efyushina N. P., Beltyukova S. V., *Spectrophotometric and luminescent methods for determining lanthanides*, 255 p. (Naukova Dumka, Kiev, 1989). (in Russ).
4. Katkova M. A., Vitukhnovsky A. G., Bochkarev M. N., Coordination compounds of rare-earth metals with organic ligands for electroluminescent diodes, *Advances in Chemistry*, **74** (12), 1194 (2005). (in Russ).
5. Chechel O. V., Nikolaev V. N., The use of Langmuir-Blodgett films as recording layers of optical information carriers, *Advances in Chemistry*, 56 (1990). (in Russ).
6. Silverstein R., Bassler G., Moril T., *Spectrometric identification of organic compounds*, 590 p. (Mir, Moscow, 1977). (in Russ).

УДК 547.917 + 542.97

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ РАЗЛИЧНЫХ ПОДХОДОВ В ПОЛУЧЕНИИ БЕНЗИЛ-2-АЦЕТАМИДО-3,4,6-ТРИ-О-АЦЕТИЛ-2-ДЕЗОКСИ-β-D- ГЛЮКОПИРАНОЗИДА

Цикалова В. Н., Гайчук В. В.

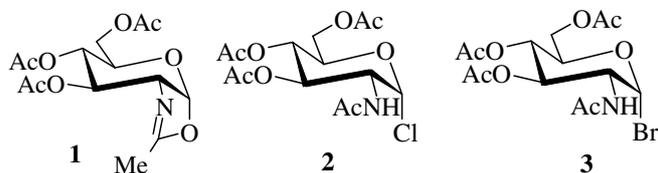
Таврическая академия (структурное подразделение) ФГАОУ ВО «Крымский федеральный университет им. В. И. Вернадского», Симферополь, Республика Крым, Россия
E-mail: vika.tim@list.ru

Проведено экспериментальное сравнение синтеза перацетата β-бензил-N-ацетил-D-глюкозамина из перацетата α-D-глюкозаминилхлорида следующими методами синтеза: оксазолиновым; в присутствии кислот Льюиса (HgI₂ и ZnCl₂) при комнатной температуре и в присутствии промотора ZnCl₂ и «сопромоторов» TlCl, Bu₄NBr, Bu₄NI, взятых по отдельности или совместно в условиях кипения растворителя – дихлорметана.

Ключевые слова: β-гликозиды N-ацетилглюкозамина, оксазолиновый синтез, кислоты Льюиса, промотор, сопромотор.

ВВЕДЕНИЕ

Классическими подходами в синтезе 1,2-*транс*-алкил- или алкиларилгликозидной связи являются оксазолиновый метод, различные модификации получения в присутствии кислот Льюиса и прямой синтез без катализаторов, который применим только для ограниченного ряда спиртов [1]. Оксазолиновый метод получения N-ацилглюкозаминидов широко используется в химии углеводов, поскольку он обеспечивает образование строго *транс*-гликозидной связи. Сам оксазолин синтезируют действием на перацетат N-ацетил-D-глюкозамина избыточных количеств метансульфохлорида и 2,4,6-триметилпиридина (*симм*-коллидина) или 2,6-диметилпиридина (2,6-лутидина) или, как в методе Лемье, действием на перацетаты N-ацетилгликозилбромидов или хлоридов четвертичных аммонийных солей с безводным бикарбонатом натрия [2, 3]. Полученный оксазолин **1** используют в качестве гликозил-донора при взаимодействии со спиртами в присутствии безводных органических кислот в условиях кипения сухого растворителя, например дихлорэтана [4, 5].



Другим классическим вариантом получения β -гликозидов является метод Кенигса-Кнорра и его модификации, которые предполагают использование перацелированных гликозилгалогеноз **2**, **3** и кислот Льюиса в качестве акцепторов галогеноводородных кислот, выделяющихся при взаимодействии гликозил-доноров со спиртами. Среди них часто используют свежеприготовленный высушенный оксид серебра или соли серебра, безводный хлорид цинка, различные соли ртути(II), олова(IV), железа(III) [6–9].

В последнее время приобрела широкую популярность каталитическая система промоторов и сопромоторов для совместного применения в синтезах. В качестве промоторов используют различные кислоты Льюиса, а сопромоторов – галогенсодержащие соли различной природы, например трифенилхлорметан (третилхлорид, TrCl), KCl совместно с 18-краунэфиром-6, $(\text{CH}_3)_3\text{SiCl}$ и различные аммонийные соли в сухом дихлорметане при комнатной температуре и в условиях кипения растворителя [10, 11].

Целью данной работы явилось экспериментальное сравнение трех подходов, а именно оксазолинового синтеза, использования кислот Льюиса HgI_2 и ZnCl_2 и каталитической системы промотор–сопромотор в условиях кипения растворителя на модельной реакции получения перацетата β -бензил-*N*-ацетил-*D*-глюкозамина из гликозил-донора перацетата α -*D*-глюкозаминилхлорида.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В работе использованы реактивы: бензиловый спирт, *n*-толуолсульфокислота, иодид ртути(II), хлорид цинка, бромид и иодид тетрабутиламмония, третилхлорид, 2-ацетамидо-3,4,6-три-*O*-ацетил-2-дезоксид- α -*D*-глюкопиранозилхлорид [12].

Анализ состава реакционных смесей, чистоты синтезированных соединений, а также контроль хода реакций осуществляли методом тонкослойной хроматографии (ТСХ) на пластинках Kieselgel 60-F254 (Merck) в системе растворителей бензол–пропан-2-ол, 10:1 (А). Вещества обнаруживали визуальным способом по люминесценции в УФ (254 нм), и 5 % раствором серной кислоты в этаноле с последующим нагреванием хроматограмм до 200–300°C.

Спектр ^1H ЯМР получен на приборе Varian VXR-400 (400 МГц) (Институт живых систем Северо-Кавказского федерального университета, г. Ставрополь), внутренний стандарт – тетраметилсилан, химические сдвиги приведены в δ -шкале. ESI⁺-MS снят на TSQ Quantum Access MAX (Thermo Scientific, Anton Paar).

Метод 1. Получение бензил-2-ацетамидо-3,4,6-три-*O*-ацетил-2-дезоксид- β -*D*-глюкопиранозиды **4 оксазолиновым методом.**

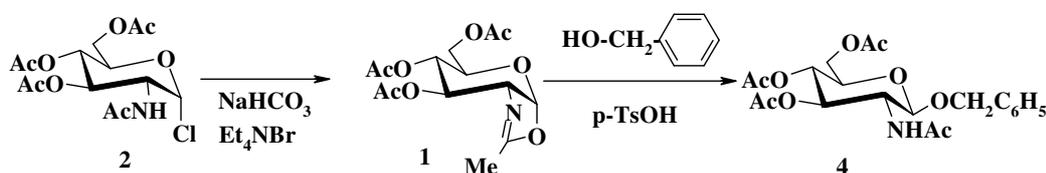


Рис. 1. Схема оксазолинового синтеза перацетата **4**.

2-Метил-(3,4,6-три-*O*-ацетил-1,2-дидезокси- α -D-глюкопирано)-[2,1-d]-2-оксазолин. Реакционную смесь, состоящую из 500 мг (1,37 ммоль) перацетата α -D-глюкозаминилхлорида **2**, избыточного количества гидрокарбоната натрия 250 мг (2,98 ммоль) и тетраэтиламмоний бромидом 360 мг (1,12 ммоль) в 15 мл ацетонитрила, перемешивали на магнитной мешалке в течение 2-х часов. По окончании синтеза реакционную смесь упаривали; полученный сырец растворяли в 15 мл хлороформа, отмывали 2×5 мл воды. Органический слой высушивали и упаривали.

Бензил-2-ацетамидо-3,4,6-три-*O*-ацетил-2-дезоксид- β -D-глюкопиранозид (4). Эквивалентные количества оксазолина **1** (1,36 ммоль) и бензилового спирта кипятили в 15 мл дихлорэтана в присутствии каталитических количеств *n*-толуолсульфокислоты. Синтез протекал в течение 3-х часов. После исчезновения гликозил-донора по данным ТСХ, синтез обрабатывали отмыванием органического слоя в делительной воронке 2×5 мл воды. Далее органический слой осушали безводным сульфатом натрия и упаривали. Конечное вещество кристаллизовали из изопропилового спирта. Выход: 75 % относительно массы исходного α -хлорида **2**. Т. пл. 200–201 °С (с разложением); $[\alpha]_{546}^{+25}$ (с 1,0; хлороформ).

^1H ЯМР (400 МГц, растворитель CDCl_3 , хим. сдвиги δ , м.д., КССВ J, Гц): 1,92 с; 2,03 с; 2,03 с; 2,18 с; (12H, NAc, 3 OAc), 3,68 дд (1H, H-5, $J_{5,6a}$ 4,8, $J_{5,6b}$ 2,4), 3,98 дд (1H, H-2, $J_{2,3}$ 10,4), 4,29 дд и 4,5 дд (2H, H-6a, H-6b, $J_{6b,6b}$ 12,9), 4,5 д (1H, H-1, $J_{1,2}$ 8,8), 4,60 д и 4,91 д (2H, O-CHa, O-CHb, $J_{O-CHa, O-CHb}$ 12,4), 5,11 дд (1H, H-4, $J_{4,5}$ 9,6), 5,21 дд (1H, H-3, $J_{3,4}$ 9,6), 5,36 д (1H, NHAc, $J_{2, NH}$ 8,8), 7,27–7,45 м (5H, CH аром.).

ESI⁺-MS m/z 438,47 $[\text{M}+\text{H}]^+$, рассчитано для $\text{C}_{20}\text{H}_{25}\text{NO}_9$ 438,01; 460,47 $[\text{M}+\text{Na}]^+$, рассчитано для $\text{C}_{20}\text{H}_{25}\text{NO}_9\text{Na}$ 460,45; 476,63 $[\text{M}+\text{K}]^+$, рассчитано для $\text{C}_{20}\text{H}_{25}\text{NO}_9\text{K}$ 476,56.

Метод 2. Получение бензил-2-ацетамидо-3,4,6-три-*O*-ацетил-2-дезоксид- β -D-глюкопиранозид **4 в присутствии кислот Льюиса HgI_2 и ZnCl_2 при комнатной температуре.**

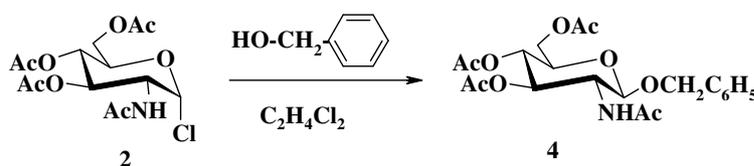


Рис. 2. Схема синтеза перацетата **4** в присутствии кислот Льюиса HgI_2 и ZnCl_2 при комнатной температуре.

Вариант А. К раствору 300 мг (0,82 ммоль) α -D-глюкопиранозилхлорида **2** в 15 мл сухого дихлорэтана, добавили 89 мг (0,82 ммоль) бензилового спирта и 432 мг (0,95 ммоль) HgI_2 . Реакционная смесь перемешивалась при комнатной температуре в течение 70 часов до исчезновения гликозил-донора (контроль ТСХ). Соли ртути отфильтровали, осадок промыли 2 мл дихлорэтана. Затем органический слой

промыли насыщенным раствором $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ (2x2 мл), а затем 2 мл воды. Органический слой осушили безводным Na_2SO_4 , отфильтровали и упарили. Гликозид **4** закристаллизовали из изопропилового спирта. Выход: 11 %.

Вариант Б. Реакция протекала в присутствии 167 мг (1,23 ммоль) ZnCl_2 . Выход: 20 %.

Метод 3. Синтез в присутствии ZnCl_2 и сопромоторов в условиях кипения растворителя – дихлорметана.

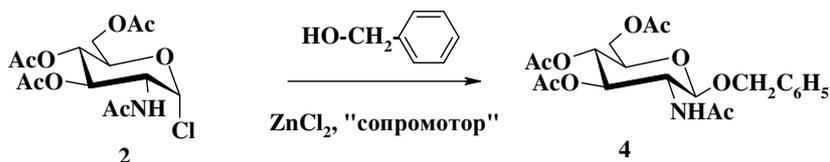


Рис. 3. Схема синтеза гликозида **4** в присутствии ZnCl_2 и сопромоторов в условиях кипения растворителя – дихлорметана.

Общий метод получения.

К раствору 300 мг (0,82 ммоль) α -D-глюкопиранозилхлорида **2** в 15 мл сухого дихлорметана, добавили 89 мг (0,82 ммоль) бензилового спирта, 168 мг (1,23 ммоль) хлорида цинка, 0,82 ммоль аммонийной соли (или тритилхлорида) или по 0,82 ммоль солей в смеси. Реакционную смесь перемешивали в течение 2-х часов в условиях кипения дихлорметана до исчезновения гликозил-донора (контроль ТСХ). После окончания реакции органический слой отмыли водой (2x5 мл.). Осушили безводным сульфатом натрия, упарили и закристаллизовали из изопропилового спирта.

Вариант А.

Реакция протекала в присутствии 0,82 ммоль тритилхлорида. Выход: 47 %.

Вариант Б.

Реакция протекала в присутствии 0,82 ммоль тритилхлорида и 0,82 ммоль бромида тетрабутиламмония. Выход: 80 %.

Вариант В.

Реакция протекала в присутствии 0,82 ммоль бромида тетрабутиламмония. Выход: 44 %.

Вариант Г.

Реакция протекала в присутствии 0,82 ммоль иодида тетрабутиламмония. Выход: 1 %.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

На модельной реакции гликозил-донора перацетата α -D-глюкозаминилхлорида **2** с бензиловым спиртом было опробовано три различных метода: оксазолиновый синтез; получение перацетата β -бензил-N-ацетил-D-глюкозамина в присутствии кислот Льюиса (HgI_2 и ZnCl_2) при комнатной температуре и реакцией

гликозилирования в присутствии промотора и сопромоторов в условиях кипения растворителя.

В качестве гликозил-донора в оксазолиновом синтезе использовали оксазолин **1**, полученный, в свою очередь, из перацетата α -D-глюкозаминилхлорида по методу Лемье. После обработки, выделенный оксазолин реагировал в эквимольном соотношении с бензиловым спиртом в условиях кипения дихлорэтана в присутствии каталитических количеств *n*-толуолсульфокислоты. Выход целевого гликозида **4** составил 75 % по отношению к массе α -D-глюкозаминилхлорида **2**. Хотя метод представляет собой два этапа, однако он позволяет стереоселективно синтезировать 1,2-*транс*-гликозид. Кроме того, выход был не меньше, чем приведено в [3].

Следующий подход в получении гликозида заключался в эквимольном взаимодействии гликозил-донора **2**, бензинового спирта в растворителе дихлорэтано при комнатной температуре и перемешивании в присутствии кислот Льюиса иодида ртути(II) и хлорида цинка(II), взятых в небольшом избытке по отношению к α -хлориду **2**. После обработки и кристаллизации из изопропилового спирта выходы β -бензилгликозида **4** соответственно составили 11 % и 20 %. В сравнении с предыдущим методом эти варианты синтеза требуют более длительного времени и по выходам менее эффективны.

Третий подход является модификацией метода, предложенного в научных работах Кумара [10], и заключается в изменении условий реакции, а именно кипении растворителя – дихлорметана при совместном использовании промоторов и сопромоторов. Гликозил-донор, α -D-глюкозаминилхлорид **2** и гликозил-акцептор, бензиловый спирт, брали в эквимольном соотношении. В качестве промотора в работе использовали $ZnCl_2$ в соотношении 1,5:1 к веществу **2**, а в качестве сопромоторов – бромид тетрабутиламмония, тритилхлорид по отдельности и совместно, а также иодид тетрабутиламмония. Все сопромоторы использовались в эквимольных количествах по отношению к гликозил-донору и гликозил-акцептору. В случае с иодидом тетрабутиламмония удалось выделить лишь незначительные количества гликозида **4**, что возможно связано с разрушением иодной соли при нагревании. В случае использования тритилхлорида и бромида тетрабутиламмония, взятых по отдельности, выходы целевого гликозида **4** составили соответственно 47 % и 44 %. Самый высокий выход, 80 %, был достигнут в результате применения тритилхлорида и бромида тетрабутиламмония совместно.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

1. Из представленных для сравнения методов синтеза бензил-2-ацетиамидо-3,4,6-три-*O*-ацетил-2-дезоксид- β -D-глюкопиранозиды наиболее эффективными оказались оксазолиновый синтез, выход в котором составил 75 %, и вариант синтеза в системе промотор и сопромотор в случае использования бромида тетрабутиламмония и тритилхлорида одновременно (80 %).
2. Не выявлено различий в действии отдельно взятых тритилхлорида и бромида тетрабутиламмония, так как выходы в варианте использования каталитической системы промотор и сопромотор были примерно равны.

Список литературы

1. Ross P. McGeary. Conversion of Glucosamine to Galactosamine and Allosamine Derivatives: Control of Inversions of Stereochemistry at C-3 and C-4 / P. McGeary Ross, Karen Wright, Toth. J. Istvan // *Org. Chem.* – 2001. – Vol. 66 – P. 5102–5105.
2. Бовин Н. В. Удобный метод синтеза 2-метил-глико[2,1-d]-2-оксазолинов / Н. В. Бовин, С. Э. Зурабян, А. Я. Хорлин // *Изв. АН СССР. Сер. Химия.* – 1981. – № 12. – С. 2806–2808.
3. Lemieux R. U. The chemical synthesis of 2-acetamido-2-deoxy-4-O-(L-fucopyranosyl)-3-O-(D-galactooxyranosyl)-D-glucose. The Lewis blood-group antigenic determinant / R. U. Lemieux, H. Driguez // *J. Amer. Chem. Soc.* – 1975. – Vol. 97, № 14 – P. 4063–4068.
4. Земляков А. Е. Синтез β -циклоалкилгликозидов мурамоилдипептида / А. Е. Земляков, В. Н. Цикалова, В. В. Цикалов // *Химия природных соединений.* – 2017. – № 5. – С. 225–231.
5. Земляков А. Е. Синтез и биологическое действие липофильных β -алкилгликозидов мурамилпептида / А. Е. Земляков, В. Н. Цикалова, В. В. Цикалов [и др.] // *Журнал орг. та фарм. хімії.* – 2005. – Т. 3, вип. 3 (11) – С. 52–56.
6. Kuhn R. β -Glucoside des *N*-Acetyl-D-glycosamins / R. Kuhn, W. Kirschenlohr // *Chem. Ber.* – 1953. – В. 86, № 10. – S. 1331–1333.
7. Virnon J. Synthesis of 6-amino-1-hexyl-2-acetamido-2-deoxy-3-, -4-, and -6-O- β -D-galactopyranosyl- β -D-glucopyranosides / J. Virnon, S. Roseman, Y. C. Lee // *Carbohydr. Res.* – 1980. – Vol. 82, № 1. – P. 59–69.
8. Lipshutz B. H. Chemistry of β -trimethylsilylethanol. II. A new method for protection of an anomeric center in pyranosides / B. H. Lipshutz, J. J. Pegram, M. C. Morey // *Tetrahedron Lett.* – 1981. – Vol. 22, № 46. – P. 4603–4806.
9. 2-(Trimethylsilyl)ethyl glycosides. Synthesis, anomeric deblocking, and transformation into 1,2-trans 1-O-acyl sugars / K. Jansson, S. Ahlfors, T. Frejd, J. Kihlberg [et al.] // *J. Org. Chem.* – 1988. – Vol. 53, № 24. – P. 5629–5647.
10. Kumar E. R. Preparation of ether-linked 2-Acetamido-2-deoxy β -Glycolipids via zinc chloride promoted coupling of Ac₄GlcNAc-Cl with lipid hydroxy groups / E. R. Kumar, H.-S. Byun, S. Wang [et al.] // *Tetrahedron Letters.* – 1994. – Vol. 35, № 4. – P. 505–515.
11. Земляков А. Е. Гликозирование перацетатом α -D-глюкозаминилхлорида в присутствии кислот Льюиса / А. Е. Земляков, В. Н. Цикалова, С. А. Земляков [и др.] // *Ученые записки Таврического национального университета им. В. И. Вернадского. Серия «Биология, химия».* – 2010. – Том 23(62), №2. – С. 225–231.
12. Голодников Г. В. Практикум по органическому синтезу: Учебное пособие. / Г. В. Голодников, Т. В. Мандельштам. – Л.: Издательство Ленинградского университета, – 1976. – С. 179.

USE OF VARIOUS METHODS IN OBTAINING OF BENZYL-2-ACETAMIDO-3,4,6-TRI-O-ACETHYL-2-DESOXY- β -D-GLUCOPYRANOSIDE

Tsikalova V. N., Gaichuk V. V.

*V. I. Vernadsky Crimean Federal University, Simferopol, Russia
E-mail: vika.tim@list.ru*

Three different methods were tested on the model synthesis of peracetate of β -benzyl-*N*-acetyl-D-glucosamine: oxazoline synthesis; getting in the presence of Lewis acids (HgI₂ and ZnCl₂) at room temperature and glycosylation in the presence of a promoter and “co-promoters” under the conditions of boiling solvent. Obtained from α -D-glucosaminyl chloride peracetate by the Lemieux method oxazoline was used as a glycosyl donor in

oxazoline synthesis. It reacted in equimolar ratio with benzyl alcohol under conditions of dichloroethane boiling in the presence of catalytic amounts of *p*-toluenesulfonic acid. The substance was crystallized from isopropyl alcohol. The yield of target glycoside was 75 % based on the weight of α -D-glucosaminyl chloride. Although the method consists of two steps, it nevertheless allows the synthesis of 1,2-*trans*-glycoside uniquely. The second approach was the interaction of a glycosyl donor, benzyl alcohol in a dichloroethane solvent at room temperature and stirring in the presence of Lewis acids mercury (II) iodide or zinc (II) chloride, taken in a small excess to α -D-glucosaminyl chloride peracetate. The yields of β -benzyl glycoside were respectively 11 % and 20 %. Compared with the previous method, these synthesis options require a longer time and are less effective in yields. The third approach is a modification of the method proposed in scientific articles by Kumar. It consists in changing the reaction conditions, namely the boiling of a dichloromethane solvent, with the sharing of promoters (Lewis acids) and "co-promoters" (group of halogenated salts or hydrocarbons). Glycosyl donor, α -D-glucosaminyl chloride and glycosyl acceptor, benzyl alcohol were taken in an equimolar ratio. Lewis acid $ZnCl_2$ in the ratio of 1,5:1 to the glycosyl donor was used as a promoter. Tetrabutylammonium bromide, tritylchloride separately and together, as well as tetrabutylammonium iodide were used as "co-promoters". In the presence of tetrabutylammonium iodide a small amount of the final substance was obtained, which is possibly associated with the destruction of the iodine salt when heated. In the case of the using of tritylchloride and tetrabutylammonium bromide separately, the yields of the target glycoside were respectively 47 % and 44 %. The highest glycoside yield of 80 % was obtained as a result of the use of tritylchloride and tetrabutylammonium bromide together.

The structure of the obtained benzyl-2-acetamido-3,4,6-tri-O-acetyl-2-deoxy- β -D-glucopyranoside was confirmed by 1H -NMR spectroscopy. The signals of the carbohydrate fragment and the alkylaromatic fragment of aglycon were identified on the spectrum of this glycoside. A mass spectroscopy method was also used to identification of the same substance. Thus, the molecular weight was confirmed. In the mass spectrum, numerical values m/z of peaks of cluster ions $[M + H]^+$, $[M + Na]^+$ and $[M + K]^+$ amounted respectively 438,47; 460,47; 476,63. These data determine the molecular weight of the substance as 437 atomic mass units and correspond to the gross formula of the synthesized compound.

Keywords: β -glycosides of *N*-acetylglucosamine, oxazoline synthesis, Lewis acid, promoter, co-promoter.

References

1. Ross P. McGeary, Karen Wright, Toth. J. Istvan. Conversion of Glucosamine to Galactosamine and Allosamine Derivatives: Control of Inversions of Stereochemistry at C-3 and C-4, *Org. Chem.*, **66**, 5102, (2001).
2. Bovin N. V., Zurabyan S. E., Horlin A. Ya. A convenient method for the synthesis of 2-methylglyco[2,1-d]-2-oxazolines, *Izvestiya Academy of Sciences of the USSR. Chemistry Series*, **12**, 2806, (1981). (*in Russ.*)
3. Lemieux R. U., Driguez H. The chemical synthesis of 2-acetamido-2-deoxy-4-O-(-L-fucopyranosyl)-3-O-(-D-galactopyranosyl)-D-glucose. The Lewis blood-group antigenic determinant, *J. Amer. Chem. Soc.*, **97(14)**, 4063, (1975).

- Zemlyakov A. E., Tsikalova V. N., Tsikalov V. V. Synthesis of β -cycloalkyl glycosides of muramoyl dipeptide, *Chemistry of Natural Compounds*, **5**, 225, (2017). (in Russ.)
- Zemlyakov A. E., Tsikalova V. N., Tsikalov V. V., Chirva V. Ya., Malygina V. Yu., Katsev A. M., Krivorutchenko Yu. L. Synthesis and biological effect of lipophilic β -alkyl glycosides of muramyl peptide, *Journal of Org. and Pharm. Chem.*, **3** (3), 52, (2005). (in Russ.)
- Kuhn R., Kirschenlohr W. β -Glucoside des *N*-Acetyl-D-glycosamins, *Chem. Ber.*, **86**(10), 1331, (1953).
- Virnon J., Roseman S., Lee Y. C. Synthesis of 6-amino-1-hexyl-2-acetamido-2-deoxy-3-, -4-, and -6-O- β -D-galactopyranosyl- β -D-glucopyranosides, *Carbohydr. Res.*, **82**(1), 59, (1980).
- Lipshutz B. H., Pegram J. J., Morey M. C. Chemistry of β -trimethylsilylethanol. II. A new method for protection of an anomeric center in pyranosides, *Tetrahedron Lett.*, **22**(46), 4603, (1981).
- Jansson K., Ahlfors S., Frejd T., Kihlberg J., Magnusson G., Danmen J., Noori G., Stenvall K. 2-(Trimethylsilyl)ethyl glycosides. Synthesis, anomeric deblocking, and transformation into 1,2-*trans*-1-O-acyl sugars, *J. Org. Chem.*, **53**(24), 5629, (1988).
- Kumar E., Byun H., Wang S., and Bittman R. Preparation of Ether-linked 2-Acetamido-2-deoxy β -Glycolipids via Zinc Chloride Promoted Coupling of Ac4GlcNAc-Cl with Lipid Hydroxy Groups, *Tetrahedron Letters.*, **35**(4), 505, (1994).
- Zemlyakov A. E., Tsikalova V. N., Zemlyakov S. A., Chirva V. Ya. Glycosylation of α -D-glucosaminyl chloride with peracetate in the presence of Lewis acids, *Scientific notes of Taurida National University named after V. I. Vernadsky. Series "Biology, Chemistry"*, **23**(2), 225, (2010). (in Russ.)
- Golodnikov G. V., Mandelstam T. V. (1976) *Workshop on organic synthesis*. Leningrad: Publishing House of the Leningrad University. (in Russ.)

УДК 539.194

ВНУТРЕННЕЕ ВРАЩЕНИЕ В МОЛЕКУЛАХ ЭТИЛЕНА

Шейх-Заде М. И.

*ГБОУВО РК «Крымский инженерно-педагогический университет», Симферополь,
Республика Крым, Россия
E-mail: ems@kipu-rc.ru*

С использованием геометрических данных молекул этилена рассчитан приведенный момент инерции этилена. В рамках модели полужесткой молекулы с привлечением частоты $\tau(\text{CH}_2)$ торсионного перехода $0 \rightarrow 1$, рассчитана потенциальная функция внутреннего вращения $V(\alpha) = V_2 \cdot (1 - \cos 2\alpha) / 2$ молекул этилена и определены значения торсионных уровней энергии E_0 , E_1 двумя методами: из решения уравнения Матье и из решения одномерного уравнения Шредингера для внутреннего вращения с применением квантовомеханической теории возмущений. Данные, полученные двумя методами, практически совпадают между собой.

Ключевые слова: этилен, внутреннее вращение, потенциальная функция.

ВВЕДЕНИЕ

В многоатомных молекулах возможен поворот одной части молекулы относительно другой части молекулы вокруг химической связи между ними. Такое движение называют внутренним вращением в молекуле. Одну часть молекулы называют волчком, другую часть – остовом. Обычно в качестве волчка выбирают более легкую часть, а в качестве остова – более тяжелую. Химическая связь между волчком и остовом может быть σ -связью (как, например, в этане) или π -связью (как, например, в этилене). Взаимодействие атомов, не расположенных вдоль σ -связи, вокруг которой происходит внутреннее вращение, приводит к тому, что внутреннее вращение оказывается не свободным. В этом случае говорят о заторможенном внутреннем вращении. Хотя внутреннее вращение вокруг σ -связи является заторможенным, энергия, необходимая для такого вращения, имеет не очень большую величину. Например, экспериментальное значение барьера внутреннего вращения для этана по данным разных работ находится в интервале от 735 см^{-1} до 1008 см^{-1} [1]. Согласно [2], наиболее точные измерения, основанные на анализе ИК-спектров, дают для высоты барьера внутреннего вращения в этане значение $1024 \pm 9 \text{ см}^{-1}$.

Двойная связь $\text{C}=\text{C}$ представляет собой сочетание σ - и π -связей. Такая связь обладает максимальной прочностью, когда молекула имеет плоскую конфигурацию [3], как, например, в этилене. Это объясняется тем, что при такой конфигурации молекулы, максимально перекрываются p -орбитали обоих атомов углерода. Для поворота в молекуле этилена одной CH_2 -группы относительно другой CH_2 -группы вокруг связи $\text{C}=\text{C}$ требуется уже достаточно большая энергия. Согласно [4], теоретический расчет дает для этилена энергию активации реакции поворота CH_2 -

группы вокруг С=C связи 22040 см⁻¹, а экспериментальное значение этой энергии составляет 14000–16800 см⁻¹ [4]. По данным [2] барьер внутреннего вращения вокруг С=C связи в этилене и других еновых соединениях составляет 1·10⁴–1,7·10⁴ см⁻¹. Неэмпирический (*ab initio*) расчет высоты барьера внутреннего вращения в этилене дает значения от 22280 см⁻¹ до 29110 см⁻¹, а экспериментальное значение составляет 22740 см⁻¹ (цитируется по [5]). Как видно из приведенных данных, высота барьера внутреннего вращения в этилене оценивается не однозначно и находится в интервале 1·10⁴–2,9·10⁴ см⁻¹.

Целью данной работы было определение потенциальной функции внутреннего вращения (ПФВВ), расчет уровней энергии E₀, E₁ крутильных колебаний и оценка высоты барьера внутреннего вращения в молекулах этилена.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Для определения ПФВВ необходимо знать приведенный момент инерции I_{np} молекулы и частоту торсионного перехода 0→1. Значение I_{np} было рассчитано по формуле, приведенной в [6] с использованием геометрических параметров молекулы этилена, которые приведены в [7] и оказалось равным 0,86886 аем·(Å)². Полоса, соответствующая торсионным колебаниям СН₂-группы в ИК-спектре этилена не наблюдается в силу симметрии молекулы. Действительно, расчет интенсивности полосы торсионных колебаний СН₂-группы этилена, проведенный в работе [8] показал, что интенсивность этой полосы в ИК-спектре равна нулю. Поэтому было использовано расчетное значение частоты торсионных колебаний τ (СН₂) = 1024 см⁻¹ этилена, приведенное в [7]. В работах [8, 9] для τ (СН₂) этилена были получены расчетные значения 1020 и 1017 см⁻¹ соответственно.

Определение ПФВВ проводилось двумя методами: с использованием решения уравнения Матве и решения одномерного уравнения Шредингера для внутреннего вращения с применением квантомеханической теории возмущений.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

При решении задачи о внутреннем вращении в молекулах этилена были сделаны следующие допущения: 1 – применялась модель полужесткой молекулы, когда жесткий волчок совершает заторможенное внутреннее вращение (торсионные колебания) относительно жесткого остова; 2 – значение вращательной постоянной $F = h^2/(8\pi^2 \cdot I_{np})$ не зависит от угла внутреннего вращения α и от торсионного квантового числа ν; 3 – торсионные колебания не взаимодействуют с другими колебаниями молекулы. При этих допущениях ПФВВ будет только функцией угла α и одномерное уравнение Шредингера для внутреннего вращения имеет вид:

$$F \cdot \frac{d^2\psi(\alpha)}{d\alpha^2} + [E - V(\alpha)] \cdot \psi(\alpha) = 0, \quad (1)$$

где E – полная энергия торсионных колебаний. Так как остов и волчок в молекуле этилена обладают осью симметрии второго порядка C₂, то V(α) можно представить в виде:

$$V(\alpha) = V_2 \cdot (1 - \cos 2\alpha) / 2 \quad (2)$$

В [1, 5] показано, что одночленная ПФВВ (2) весьма удовлетворительно описывает зависимость потенциальной энергии заторможенного внутреннего вращения от угла α для молекул с относительно высоким двукратным барьером. Подстановкой функции (2) в уравнение (1) и заменой $x = \alpha + \pi/2$, $b = E/F$, $s = V_2/F$ можно уравнение (1) привести к уравнению Матье:

$$\frac{d^2 y(x)}{dx^2} + (b - s \cdot \cos^2 x) \cdot y(x) = 0 \quad (3)$$

Решение уравнения (3) применительно к внутреннему вращению относительно оси симметрии второго порядка дает для каждого торсионного квантового числа ν два подуровня в соответствии со свойствами четности функций Матье для этих подуровней. Используя значение частоты τ (CH_2) = 1024 cm^{-1} , значение I_{np} и таблиц [10] собственных значений уравнения Матье, были рассчитаны значения V_2 и торсионных уравнений энергии E_0 , E_1 , которые оказались равными 14038, 517 и 1541 cm^{-1} соответственно. Как следует из таблиц [10], расщепление торсионных уровней E_0 , E_1 на подуровни равно нулю с точностью до пяти десятичных знаков, что намного превышает точность измерения волновых чисел в ИК спектрах. Поэтому расщепление торсионных уровней E_0 , E_1 можно не учитывать. По этим данным получена ПФВВ в молекулах этилена, график которой приведен на рис. 1.

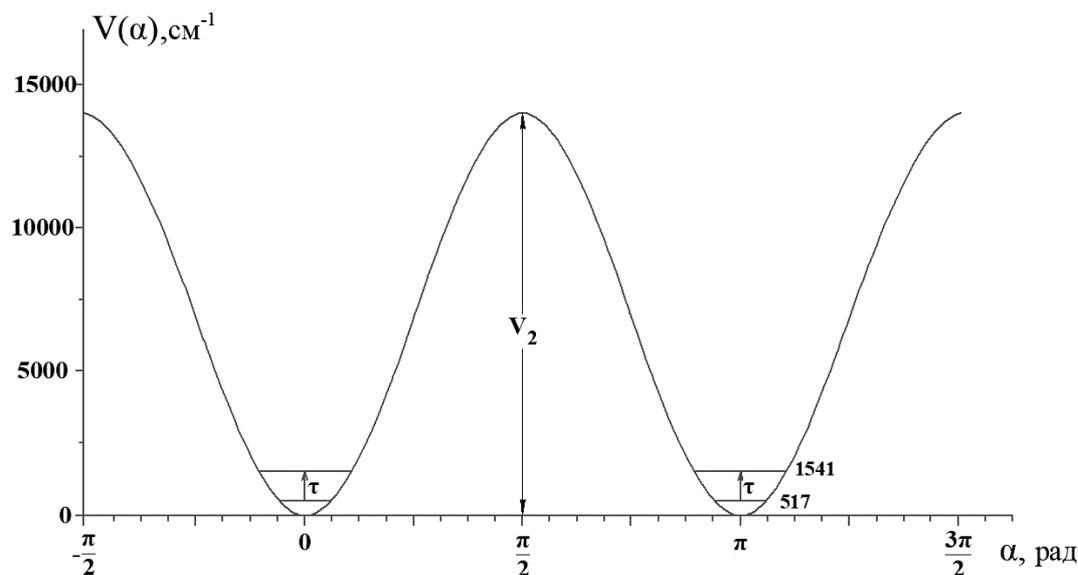


Рис. 1. Зависимость потенциальной энергии $V(\alpha)$ от угла внутреннего вращения α для этилена.

Если барьер внутреннего вращения отсчитывать от дна потенциальной ямы, как это обычно делается [1, 5], то для этилена этот барьер равен 14038 см^{-1} и является весьма высоким. Для сравнения: барьер внутреннего вращения в этане равен 1024 см^{-1} [2], в феноле равен 1143 см^{-1} [1, 5].

В случае относительно высоких барьеров внутреннего вращения значение V_2 можно найти и другим методом. Уравнение (1) с ПФВВ (2) можно привести к виду:

$$\frac{d^2\psi(\alpha)}{d\alpha^2} + (b - s \cdot \sin^2 \alpha) \cdot \psi(\alpha) = 0$$

Разложим $\sin^2 \alpha$ в ряд по α и сохраним в разложении члены до α^6 включительно. Тогда получим:

$$\frac{d^2\psi(\alpha)}{d\alpha^2} + [b - s \cdot (\alpha^2 - \frac{\alpha^4}{3} + \frac{2\alpha^6}{45})] \cdot \psi(\alpha) = 0 \quad (4)$$

Уравнение (4) можно решить, применив квантово-механическую теорию возмущений [5, 11]. Тогда с учетом второго порядка теории возмущений для α^4 и первого порядка для α^6 , получаются для этилена значения $E_0 = 516,8 \text{ см}^{-1}$, $E_1 = 1540,4 \text{ см}^{-1}$, $V_2 = 14038 \text{ см}^{-1}$, что практически совпадает со значениями этих величин, найденными из решения уравнения Матье.

В работе [12] был предложен метод решения одномерного волнового уравнения Шредингера для внутреннего вращения с ПФВВ вида:

$$V(n, x) = \frac{\hbar^2 m^2}{8 \cdot I} \cdot \left[(n+1) \cdot \xi (1 - \cos mx) + \frac{1}{8} \cdot \xi^2 (1 - \cos 2mx) \right],$$

где x – угол внутреннего вращения, m – кратность барьера внутреннего вращения, I – момент инерции волчка относительно оси внутреннего вращения, n, ξ – положительные целые числа. Для этилена в [12] были получены значения $E_0 = 412,5 \text{ см}^{-1}$, $E_1 = 1237,5 \text{ см}^{-1}$. При этом высота потенциального барьера составляла 4209 см^{-1} . Эти данные заметно отличаются от значений E_0, E_1, V_2 , полученных в настоящей работе.

Тот факт, что значения E_0, E_1, V_2 , полученные в настоящей работе двумя независимыми методами, практически совпадают между собой, а значение барьера внутреннего вращения в этилене согласуется с экспериментальным значением энергии активации реакции поворота СН_2 – группы вокруг связи $\text{С}=\text{С}$, полученным из термодинамических данных [4], позволяет считать, что полученные в настоящей работе данные являются достоверными в рамках использованной полужесткой модели молекулы и принятых исходных допущений.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

1. Рассчитан приведенный момент инерции молекул этилена.
2. Получена ПФВВ, рассчитаны значения торсионных уровней энергии E_0 , E_1 , найдено значение высоты барьера внутреннего вращения этилена.

Список литературы

1. Финч А. Применение длинноволновой ИК-спектроскопии в химии / А. Финч, П. Гейтс, К. Редклиф [и др.]. – М.: Мир, 1973. – 284 с.
2. Дашевский В. Г. Конформационный анализ органических молекул / В. Г. Дашевский. – М.: Химия, 1982. – С. 14–50.
3. Петров А. А. Органическая химия / А. А. Петров, Х. В. Бальян, А. Т. Трощенко. – М.: ВШ, 1965. – С. 30–31.
4. Волькенштейн М. В. Колебания молекул / М. В. Волькенштейн, М. А. Ельяшевич, Б. И. Степанов. – М.: ГИТТЛ, 1949. – Т.2.– С. 310–357.
5. Внутреннее вращение молекул / Под ред. В. Дж. Орвилл-Томаса. – М.: Мир, 1977.– 510 с.
6. Марголин Л. Н. Вычисление приведенных моментов инерции для внутреннего вращения в симметричных молекулах / Л. Н. Марголин, Ю. А. Пентин, В. И. Тюлин // Опт. и спектр. – 1973.– Т.35, №5.– С. 824–827.
7. Свердлов Л. М. Колебательные спектры многоатомных молекул / Л. М. Свердлов, М. А. Конвер, Е. П. Крайнов. – М.: Наука, 1970.– С. 218–224.
8. Дементьев В. А. Моделирование колебательных состояний молекул / В. А. Дементьев. – Саарбрюккен: Palmarium Academic Publishing, 2012. – 448 с.
9. Волькенштейн М. В. Колебания молекул / М. В. Волькенштейн, Л. А. Грибов, М. А. Ельяшевич, Б. И. Степанов. – [2-е изд.]. – М.: Наука, 1972.– С. 416–424.
10. Goldstein S. Mathieu functions / S. Goldstein // Trans. Cambr. Phil. Soc. – 1927. – Т.23, №11. – P. 303–336.
11. Cunliffe A. V. Analysis of infrared torsional data / A. V. Cunliffe // J. Mol. Struct. – 1970. – Vol.6, №1. – P. 9–22.
12. Razavy M. A Potential model for torsional vibrations of molecules / M. Razavy // Phys, Lett. – 1981. – Vol. 82A, №1. – P. 7–9.

INTERNAL ROTATION IN ETHYLENE MOLECULES

Sheikh-Zade M.-I.

*Crimean Engineering and Pedagogical University, Simferopol, Crimea, Russian Federation
E-mail: ems@kipu-rc.ru*

Using the geometrical data of ethylene molecules, the reduced moment of inertia of ethylene with respect to the axis of internal rotation, coinciding with the C=C bond, is calculated. In solving the problem of internal rotation in ethylene, the following assumption were made: 1 – a semi-rigid molecule model was used, when a rigid top performs a retarded internal rotation relative to a rigid framework; 2 – the value of the rotational constant $F = h^2/(8\pi^2 \cdot I_{np})$ does not depend on the angle of internal rotation α and on the torsional quantum number ν ; 3 – torsional vibrations do not interact with other vibrations of the molecule. With these assumptions and using the calculated frequency of the torsional transition $0 \rightarrow 1$, the potential function of the internal rotation

$V(\alpha) = V_2 \cdot (1 - \cos 2\alpha)/2$ for ethylene and the values of the torsional energy levels E_0 and E_1 were calculated by two methods: from solving the Mathieu equation and from solving the one-dimensional Schrödinger equation for internal rotation using quantum mechanical perturbation theory. The values of V_2 , E_0 , E_1 , obtained by two methods, practically coincide with each other.

It is shown that the splitting of the torsional energy levels E_0 and E_1 into sublevels is zero to five decimal places. Obtained value of the height of the barrier of internal rotation in ethylene.

Keywords: ethylene, internal rotation, potential function.

References

1. Finch A., Gates P. N., Radcliffe K., Dickson F. N., Bentley F. F., Chemical applications of far infrared spectroscopy, 284 p. (Mir, Moscow, 1973). (in Russ.).
2. Dashevskii V. G., Conformational analysis of organic molecules, P. 14. (Chemistry, Moscow, 1982). (in Russ.).
3. Petrov A. A., Bal`yan H. V., Troshhenko A. T., Organic chemistry, P. 30. (Higher school, Moscow, 1965). (in Russ.).
4. Vol`kenshtejn M. V., El`yashevich M. A., Stepanov B. I., Vibrations of molecules, **2**, P. 310. (GITTL, Moscow, 1949). (in Russ.).
5. Internal rotation in molecules, Ed. By Orville –Thomas W-J., 510 p. (Mir, Moscow, 1977). (in Russ.).
6. Margolin L. N., Pentin Yu. F., Tyulin V. I., Calculation of reduced moments of inertia for internal rotation in symmetric molecules, *Opt. and Spectr.*, **35** (5), 824 (1973). (in Russ.).
7. Sverdlov L. M., Kovner M. A., Krajnov E. P., Vibrational spectra of polyatomic molecules, P. 218. (Nauka, Moscow, 1970). (in Russ.).
8. Dement`ev V. A., Modeling of vibrational states of molecules, 448 p. (Palmarium Academic Publishing, Saarbruecken, 2012). (in Russ.).
9. Vol`kenshtejn M. V., Gribov L. A., El`yuashevich M. A., Stepanov B. I., Vibrations of molecules, 2 ed., P. 416. (Nauka, Moscow, 1972). (in Russ.).
10. Goldstein S., Mathieu functions, *Trans. Cambr. Phil. Soc.*, **23** (11), 303 (1927).
11. Cunliffe A. V. Analysis of infrared torsional data, *J. Mol. Struct.*, **6** (1), 9 (1970).
12. Razavy M. A Potential model for torsional vibrations of molecules, *Phys. Lett.*, **82A** (1), 7 (1981).

УДК 543.42:615.074:547.918

ЛЕКАРСТВЕННЫЕ ПРЕПАРАТЫ НА ОСНОВЕ ПЛЮЩА: ИК-ФУРЬЕ-СПЕКТРОСКОПИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ

Яковишин Л. А.¹, Бажан П. И.¹, Ратников В. Д.¹, Гришкова В. И.²

¹ФГАОУ ВО «Севастопольский государственный университет», Севастополь,
Республика Крым, Россия

²Таврическая академия (структурное подразделение) ФГАОУ ВО «Крымский федеральный университет им. В.И. Вернадского», Симферополь, Республика Крым, Россия
E-mail: chemsevntu@rambler.ru

Проведен ИК-Фурье-спектроскопический анализ лекарственных препаратов Геделикс, Проспан, Пектолван плющ и Гедерин плющ, а также фитокомплекса Хедерикс+ на основе листьев плюща обыкновенного *Hedera helix* L. (Araliaceae Juss.). Установлено, что в ИК-спектрах препаратов имеются одинаковые полосы поглощения, но наблюдаются некоторые отличия в их количестве, интенсивности и положении. Наиболее схожи ИК-спектры у препаратов Геделикс, Пектолван и Гедерин.

Ключевые слова: плющ обыкновенный, Геделикс, Проспан, Пектолван плющ, Гедерин плющ, Хедерикс+, хедерасапонин С, ИК-Фурье-спектроскопия.

ВВЕДЕНИЕ

Плющ обыкновенный *Hedera helix* L. (Araliaceae Juss.) издавна применяется для лечения кашля [1, 2]. Фармакологический эффект лекарственных препаратов на основе листьев плюща обыкновенного объясняется наличием тритерпеновых гликозидов [1, 3]. Среди сапонинов листьев плюща преобладает тритерпеновый гликозид хедерасапонин С (гедерасапонин С, хедеракозид С, гедеракозид С, 3-*O*- α -*L*-рамнопиранозил-(1 \rightarrow 2)-*O*- α -*L*-арабинопиранозил-28-*O*- α -*L*-рамнопиранозил-(1 \rightarrow 4)-*O*- β -*D*-глюкопиранозил-(1 \rightarrow 6)-*O*- β -*D*-глюкопиранозид хедерагенина; рис. 1) [1].

На основе листьев плюща обыкновенного выпускается несколько лекарственных препаратов [1, 2, 4]. Это монокомпонентные препараты Геделикс (Германия) [2, 4, 5–7], Проспан (Германия) [1, 2, 4, 8, 9], Пектолван плющ (Украина) [10–12] и Гедерин плющ (Украина) [4, 13, 14]. Разработан российский комбинированный фитокомплекс Хедерикс+, содержащий экстракты листьев плюща обыкновенного, листьев мать-и-мачехи обыкновенной *Tussilago farfara* L. (Asteraceae Bercht. & J. Presl) и травы тимьяна ползучего (чабреца) *Thymus serpyllum* L. (Lamiaceae Lindl.) [15, 16]. В России и странах СНГ препараты на основе листьев плюща являются одними из наиболее популярных лекарственных средств для лечения кашля [17, 18]. Недавно сообщалось, что по объему продаж среди препаратов плюща лидирует Геделикс [18]. Ему немного уступает Проспан.

В настоящее время для фармацевтического анализа лекарственных препаратов и субстанций широко используют различные физико-химические и физические

методы исследования [19]. В частности, тритерпеновые гликозиды в экстрактах плюща определяют методами ТСХ или ВЭЖХ (согласно Европейской Фармакопеи 8.0) [20]. С помощью данных методов также чаще всего проводится и фарманализ готовых лекарственных форм на основе листьев *Hedera helix* [6, 7, 14]. ИК-Фурье-спектроскопия начала активно использоваться для оценки лекарственного растительного сырья [21, 22]. Она нашла широкое применение и для анализа отдельных тритерпеновых гликозидов и их молекулярных комплексов с различными биологически активными веществами [23, 24]. Однако метод ИК-Фурье-спектроскопии еще недостаточно задействован для фармацевтического анализа лекарственного растительного сырья и препаратов на его основе.

Данная статья посвящена сравнительному ИК-спектроскопическому анализу лекарственных средств и фитокомплекса на основе листьев плюща обыкновенного и соотнесению его результатов с их составом.

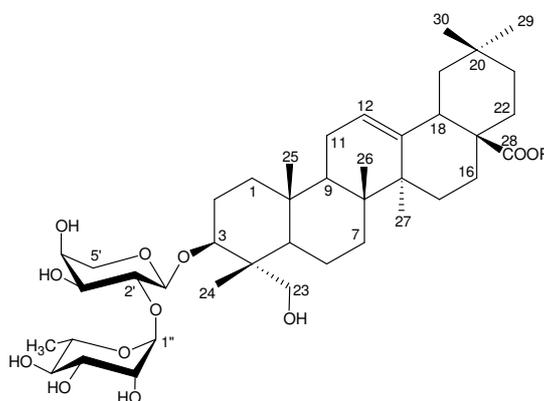


Рис. 1. Строение хедерасопонина С – главного тритерпенового гликозида листьев плюща обыкновенного ($R = \leftarrow\beta\text{Glc}-(6\leftarrow 1)-\beta\text{Glc}-(4\leftarrow 1)-\alpha\text{Rhap}$).

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Использовали образцы следующих лекарственных средств: Геделикс капли для приема внутрь (производитель Krewel Meuselbach, Германия), Проспан сироп от кашля (производитель Engelhard Arzneimittel, Германия), Пектолван плющ сироп (производитель «Фармак», Украина), Гедерин плющ сироп (производитель ООО «ДКП «Фармацевтическая фабрика», Украина) и фитокомплекса Хедерикс+ (производитель ООО «Витаукт-пром», Россия).

Гликозид хедерасопонин С был выделен из листьев плющей обыкновенного *Hedera helix* L. и канарского *Hedera canariensis* Willd. (*Araliaceae* Juss.). Его строение устанавливали химическими (кислотный и щелочной гидролиз, метилирование диазометаном) и физическими (спектроскопия ЯМР ^1H и ^{13}C) методами [25, 26].

Все ИК-спектры сняты на ИК-Фурье-спектрометре ФТ-801 (СИМЕКС, Россия). Для лекарственных средств использовали специальную жидкостную кювету с регулируемой толщиной слоя исследуемой жидкости (СИМЕКС, Россия). Спектры получены в области 4000–550 см⁻¹ (спектральное разрешение 4 см⁻¹; 50 сканов). ИК-спектр хедерасапониина С получен с помощью универсальной оптической приставки НПВО-А (нарушенного полного внутреннего отражения) с алмазным элементом и встроенным мини-монитором (верхнее расположение образца) в области 4000–550 см⁻¹ (спектральное разрешение 4 см⁻¹; 25 сканов). Для работы с ИК-спектрометром ФТ-801 использовали программу ZaiR 3.5 (СИМЕКС, Россия).

ИК-спектр препарата Геделикс (ν , см⁻¹): 3363 (ОН), 2970 (СН), 2934 (СН), 2885 (СН), 1651 (Н–О–Н, С=О, С=C), 1455 (СН), 1415 (СН), 1379 (СН), 1337 (СН), 1292 (СН), 1235 (СН), 1141 (С–О–С, С–ОН), 1079 (С–О–С, С–ОН), 1044 (С–О–С, С–ОН), 924 (моносахаридное кольцо), 839 (СН), 657 (Н–О–Н, ОН).

ИК-спектр препарата Проспан (ν , см⁻¹): 3382 (ОН), 2939 (СН), 2897 (СН), 1648 (Н–О–Н, С=О, С=C), 1418 (СН), 1319 (СН), 1219 (СН), 1083 (С–О–С, С–ОН), 1046 (С–О–С, С–ОН), 928 (моносахаридное кольцо), 889 (СН), 750 (моносахаридное кольцо), 616 (Н–О–Н, ОН).

ИК-спектр препарата Пектолван плющ (ν , см⁻¹): 3384 (ОН), 2975 (СН), 2937 (СН), 2885 (СН), 1650 (Н–О–Н, С=О, С=C), 1459 (СН), 1415 (СН), 1380 (СН), 1337 (СН), 1294 (СН), 1235 (СН), 1137 (С–О–С, С–ОН), 1080 (С–О–С, С–ОН), 1044 (С–О–С, С–ОН), 992 (СН), 924 (моносахаридное кольцо), 839 (СН), 682 (Н–О–Н, ОН).

ИК-спектр препарата Гедерин (ν , см⁻¹): 3384 (ОН), 2977 (СН), 2941 (СН), 2895 (СН), 1643 (Н–О–Н, С=О, С=C), 1457 (СН), 1412 (СН), 1338 (СН), 1294 (СН), 1235 (СН), 1134 (С–О–С, С–ОН), 1082 (С–О–С, С–ОН), 1044 (С–О–С, С–ОН), 923 (моносахаридное кольцо), 838 (СН), 683 (Н–О–Н, ОН).

ИК-спектр фитокомплекса Хедерикс+ (ν , см⁻¹): 3403 (ОН), 2942 (СН), 2895 (СН), 1653 (Н–О–Н, С=О, С=C), 1457 (СН), 1419 (СН), 1084 (С–О–С, С–ОН), 1046 (С–О–С, С–ОН), 669 (Н–О–Н, ОН).

ИК-спектр хедерасапониина С (ν , см⁻¹): 3329 (ОН), 2918 (СН), 1722 (С=О), 1630 (С=C), 1461 (СН), 1433 (СН), 1380 (СН), 1357 (СН), 1342 (СН), 1255 (СН), 1231 (СН), 1201 (СН), 1024 (С–О–С, С–ОН), 983 (=СН), 912 (моносахаридное кольцо), 835 (СН), 812 (СН), 779 (моносахаридное кольцо).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

В состав всех препаратов входят экстракты листьев плюща, содержащие комплексы тритерпеновых гликозидов, среди которых преобладает хедерасапониин С. Среди вспомогательных веществ широко используются многоатомные спирты, являющиеся загустителями и стабилизаторами и обладающие сладким вкусом (глицерин Е422, пропиленгликоль Е1520, сорбит Е420), консервант сорбат калия Е202, загуститель и стабилизатор ксантановая камедь Е415, регулятор кислотности и консервант лимонная кислота Е330 и ароматизаторы (табл. 1).

Наличие в составе препаратов воды, сапонинов, многоатомных спиртов, полисахаридов, карбоновых кислот и их солей определяют характерный вид их ИК-

спектров (рис. 2). В ИК-спектрах всех препаратов наблюдаются широкие интенсивные полосы валентных колебаний ОН-связей в области 3360–3400 см⁻¹.

Связи СН поглощают в области около 2900 см⁻¹ (валентные колебания). В области 1400–1200 см⁻¹ находятся полосы поглощения деформационных колебаний СН-связей.

Таблица 1

Лекарственные препараты и фитокомплекс на основе листьев плюща обыкновенного *Hedera helix* L.

№ п/п	Название и производитель	Состав	Литература
1	Геделикс капли для приема внутрь (Krewel Meuselbach, Германия)	Действующее вещество: экстракт листьев плюща (0,04 г/мл). Вспомогательные вещества: пропиленгликоль, глицерин, ароматизатор (масло аниса звездчатого, масло эвкалиптовое, левоментол), масло мяты перечной	[5]
2	Проспан сироп от кашля (Engelhard Arzneimittel, Германия)	Действующее вещество: сухой экстракт листьев плюща (7 мг/мл). Вспомогательные вещества: сорбат калия, лимонная кислота, сорбит, ксантановая камедь, ароматизатор вишневый, вода очищенная	[8]
3	Пектолван плющ сироп (Фармак, Украина)	Действующее вещество: сухой экстракт листьев плюща (7 мг/мл). Вспомогательные вещества: цитрат натрия, лимонная кислота, сорбит, сорбат калия, ксантановая камедь, ароматизатор пищевой «Вишня 667» (растворитель пропиленгликоль), вода очищенная	[10, 12]
4	Гедерин плющ сироп (Фармацевтическая фабрика, Житомир, Украина)	Действующее вещество: сухой экстракт листьев плюща (4,5 мг/мл; содержание хедерасапонина С – 14,5 %). Вспомогательные вещества: сорбит, ксантановая камедь, натрия карбоксиметилцеллюлоза, сорбат калия, ароматизатор, вода очищенная	[13, 14]
5	Фитокомплекс Хедерикс+ (Витаукт-пром, Россия)	Активные компоненты: полиэкстракт (листья мать-и-мачехи обыкновенной <i>Tussilago farfara</i> L. 0,12 г/мл, травы тимьяна ползучего <i>Thymus serpyllum</i> L. 0,12 г/мл, листьев плюща обыкновенного 0,06 г/мл). Вспомогательные вещества: сорбит, сорбат калия, лимонная кислота, вода очищенная	[15]

Интенсивные полосы поглощения валентных колебаний связей С–О в группах С–ОН и С–О–С обнаруживаются при 1084–1079 см⁻¹ и при 1044 или 1046 см⁻¹. При этом полоса 1044 см⁻¹ в спектрах Геделикса, Пектолвана и Гедерина более

интенсивна, чем при 1079–1082 см^{-1} , а в спектре Проспана, наоборот, полоса 1083 см^{-1} более интенсивна, чем 1046 см^{-1} . В спектре Хедерикса+ полосы при 1084 и 1046 см^{-1} имеют примерно одинаковую интенсивность. В ИК-спектрах препаратов Геделикс, Пектолван и Гедерин для связей С–О найдены дополнительные менее интенсивные полосы поглощения при 1141, 1137 и 1134 см^{-1} , соответственно. В спектре индивидуального хедерасапонина С указанные выше полосы колебаний найдены при 3329 см^{-1} (валентные колебания О–Н) и 1024 см^{-1} (валентные колебания С–О в группах С–ОН и С–О–С).

В области 1650–1640 см^{-1} в спектрах всех препаратов имеется достаточно интенсивная полоса поглощения, отнесенная к деформационным колебаниям молекул воды. В этой же области поглощают связи С=О и С=C. Кроме того, в области 680–620 см^{-1} идентифицирована широкая полоса неплоских деформационных колебаний ассоциированных связей О–Н органических компонентов препаратов и деформационных колебаний воды.

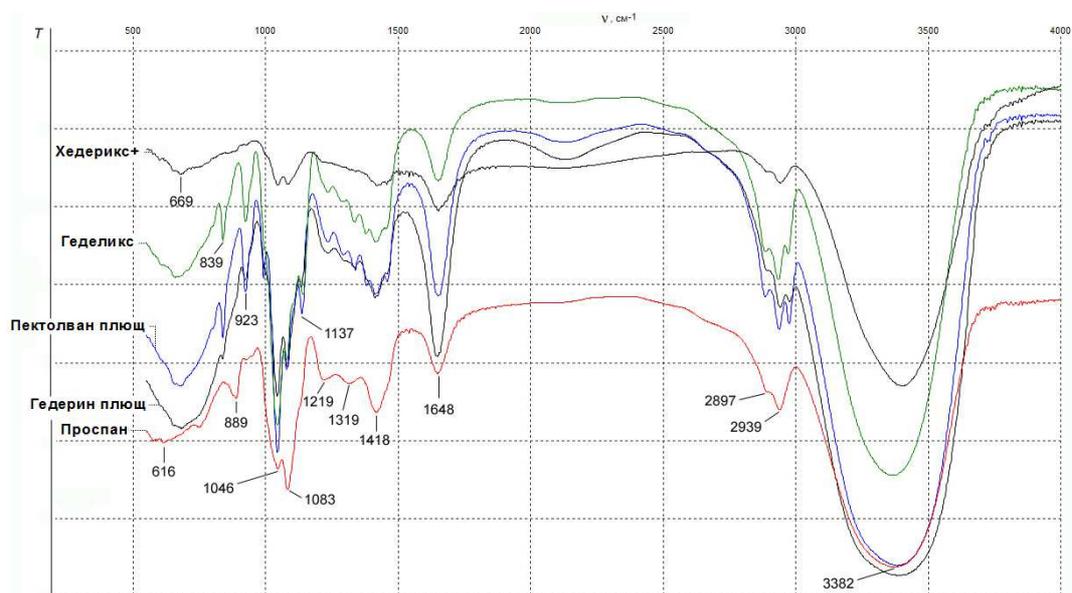


Рис. 2. ИК-спектры лекарственных препаратов и фитокомплекса на основе листьев плюща обыкновенного.

В спектрах Геделикса, Пектолвана и Гедерина в области 1000–800 см^{-1} наблюдаются две полосы поглощения средней интенсивности при 924 (923) и 839 (838) см^{-1} , которые могут быть вызваны, соответственно, колебаниями моносахаридных колец гликозидов и деформационными колебаниями связей С–Н аномерных центров моносахаридных остатков. В данной области в спектре Проспана присутствует малоинтенсивная полоса поглощения 928 см^{-1} и полоса средней интенсивности 889 см^{-1} , а у Хедерикса+ практически не наблюдаются

полосы поглощения. Таким образом, наиболее похожи ИК-спектры у Геделикса, Пектолвана и Гедерина.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

1. Методом ИК-Фурье-спектроскопии без предварительной пробоподготовки проведен анализ лекарственных препаратов Геделикс, Проспан, Пектолван плющ и Гедерин плющ, а также фитокомплекса Хедерикс+. Установлено, что в ИК-спектрах препаратов имеются одинаковые полосы поглощения, но наблюдаются некоторые отличия в их количестве, интенсивности и положении.
2. Сравнение интенсивностей полос поглощения валентных колебаний связей С–О в группах С–ОН и С–О–С показало, что полоса 1044 см⁻¹ в спектрах Геделикса, Пектолвана и Гедерина более интенсивна. В ИК-спектре Проспана, наоборот, полоса 1083 см⁻¹ более интенсивна, чем 1046 см⁻¹. В спектре Хедерикс+ полосы при 1084 и 1046 см⁻¹ имеют примерно одинаковую интенсивность.
3. В ИК-спектрах препаратов Геделикс, Пектолван и Гедерин для валентных колебаний связей С–О в группах С–ОН и С–О–С найдены дополнительные полосы поглощения при 1141, 1137 и 1134 см⁻¹, соответственно.
4. Наиболее схожи ИК-спектры у препаратов Геделикс, Пектолван и Гедерин.

Список литературы

1. Hostettmann K. Saponins / K. Hostettmann, A. Marston. – Cambridge: Cambridge University Press, 1995. – 548 p.
2. Зузук Б. М. Плющ вьющийся *Hedera helix* L. (аналитический обзор) / Б. М. Зузук, Р. В. Куцик, Л. И. Зузук // Провизор. – 2003. – № 12. – С. 13–14.
3. α -Hederin, but not hederacoside C and hederagenin from *Hedera helix*, affects the binding behavior, dynamics, and regulation of β_2 -adrenergic receptors / A. Sieben, L. Prenner, T. Sorkalla [et al.] // Biochemistry. – 2009. – Vol. 48, № 15. – P. 3477–3482.
4. Луценко Ю. О. Маркетингове та фармакоеконімічне дослідження ринку лікарських засобів України на основі плюща звичайного / Ю. О. Луценко, Г. Д. Гасюк, Р. Є. Дармограй // Клініч. фармац., фармакотер. та мед. стандартиз. – 2009. – № 1–2. – С. 170–174.
5. Инструкция по медицинскому применению лекарственного препарата Геделикс® [Электронный ресурс]. URL: <https://krewelmeuselbach.ru/upload/iblock/08c/08c7ecd834bf7adebcc170441ef1b74d.pdf> (дата обращения: 02.09.2019).
6. Яковишин Л. А. Комплекс тритерпеновых гликозидов лекарственного препарата Hedelix® / Л. А. Яковишин, В. И. Гришковец // Химия природ. соедин. – 2003. – № 5. – С. 417–418.
7. Яковишин Л. О. Визначення тритерпенових глікозидів у препараті «Геделікс» за допомогою тонкошарової хроматографії / Л. О. Яковишин, Г. Л. Кузнецова, М. А. Рубінсон, О. М. Корж // Фармац. журн. – 2006. – № 6. – С. 62–65.
8. Инструкция по применению препарата Проспан® [Электронный ресурс]. URL: https://proprospan.ru/assets/content/images/syrop_instrukciya.pdf (дата обращения: 02.09.2019).
9. Исследование тритерпеновых гликозидов лекарственного препарата проспан® / Яковишин Л. А., Вожжова М. А., Кузнецова А. Л., Гришковец В. И. // Журн. орг. и фарм. химии. – 2005. – Т. 3, вып. 1 (9). – С. 57–59.
10. Інструкція для медичного застосування лікарського засобу Пектолван® плющ [Електронний ресурс]. URL: <https://farmak.ua/wp-content/uploads/2017/11/Pektolvan-Plyushh.jpg.pdf> (дата обращения: 02.09.2019).
11. Когут Ю. Терапия кашля у детей с применением препаратов на растительной основе: отечественный опыт / Ю. Когут // Совр. педиатрия. – 2013. – № 2. – С. 70–73.

12. Яковішин Л. О. Тритерпенові глікозиди лікарського препарату «Пектолван плющ» / Л. О. Яковішин, В. І. Гришкорець, О. М. Корж // Фармац. журн. – 2010. – № 3. – С. 56–60.
13. Инструкция по медицинскому применению препарата Гедерин плющ [Электронный ресурс]. URL: <http://www.vishpha.ua/ru/drugs/catalogue/vishpha/emulsions/hederin> (дата обращения: 02.09.2019).
14. Яковішин Л. А. Тритерпеновые гликозиды лекарственного препарата «Гедерин» / Л. А. Яковішин, В. И. Гришкорець, И. А. Жолудь // Методы и объекты хим. анализа. – 2011. – Т. 6, № 2. – С. 119–123.
15. ХЕДЕРИКС+ (HEDERIX+) раствор для приема внутрь [Электронный ресурс]. URL: <http://vitauct.ru/index.php/produksiya/khederiks-detail> (дата обращения: 02.09.2019).
16. Яковішин Л. А. Сапонины фитокомплекса «Хедерикс+» / Л. А. Яковішин, В. И. Гришкорець, Е. Н. Корж // Ученые записки Крымского федерального университета им. В. И. Вернадского. Биология. Химия. – 2015. – Т. 1 (67), № 4. – С. 163–169.
17. Розничный рынок препаратов для устранения симптомов простуды и кашля (R05) в России и странах СНГ // Ремедиум. – 2007. – № 8. – С. 62–64.
18. Прожерина Ю. Место современных фитопрепаратов в терапии кашля / Ю. Прожерина // Ремедиум. – 2018. – № 10. – С. 17–19.
19. Фармацевтический анализ: монография / Под ред. Г. К. Будникова и С. Ю. Гармонова. – М.: Аргамак-медиа, 2013. – 778 с.
20. European pharmacopoeia. – 8th ed. – Strasbourg: Council of Europe, 2013. – Vol. 1. – P. 1282–1283.
21. Применение ИК-спектроскопии в анализе лекарственного растительного сырья / О. В. Тринеева, М. А. Рудая, А. А. Гудкова, А. И. Сливкин // Вестник ВГУ. Серия: Химия. Биология. Фармация. – 2018. – № 4. – С. 187–194.
22. Изучение возможности применения ИК-спектроскопии для идентификации сорта плодов облепихи крушиновидной (*Hippophaes rhamnoides* L.) / О. В. Тринеева, М. А. Рудая, Е. Ф. Сафонова, А. И. Сливкин // Химия растит. сырья. – 2019. – № 1. – С. 301–308.
23. Yakovishin L. A. Ivy and licorice triterpene glycosides: promising molecular containers for some drugs and biomolecules / L. A. Yakovishin, V. I. Grishkovets // Studies in natural products chemistry; ed. Attatur-Rahman. – Amsterdam: Elsevier, 2018. – Vol. 55. – Chapter 11. – P. 351–383.
24. Yakovishin L. A. Molecular complex of quercetin with glycyram / L. A. Yakovishin, E. N. Korzh // AIP Conference Proceeding. – 2019. – Vol. 2063. – P. 040066.
25. Тритерпеновые гликозиды *Hedera canariensis* I. Строение гликозидов L-A, L-B₁, L-B₂, L-C, L-D, L-E₁, L-G₁, L-G₂, L-G₃, L-G₄, L-H₁, L-H₂ и L-I₁ из листьев *Hedera canariensis* / В. И. Гришкорець, Д. Ю. Сидоров, Л. А. Яковішин [и др.] // Химия природ. соедин. – 1996. – № 3. – С. 377–383.
26. Тритерпеновые гликозиды *Hedera helix* I. Строение гликозидов L-1, L-2a, L-2b, L-3, L-4a, L-4b, L-6a, L-6b, L-6c, L-7a и L-7b из листьев плюща обыкновенного / Гришкорець В. И., Кондратенко А. Е., Толкачева Н. В. [и др.] // Химия природ. соедин. – 1994. – № 6. – С. 742–746.

IVY-CONTAINING DRUGS: FT-IR SPECTROSCOPY ANALYSIS

Yakovishin L. A.¹, Bazhan P. I.¹, Ratnikov V. D.¹, Grishkovets V. I.²

¹Sevastopol State University, Sevastopol, Crimea, Russia

²V. I. Vernadsky Crimean Federal University, Simferopol, Russia

E-mail: chemsevntu@rambler.ru

Ivy leaves have been used in folk medicine in several centuries. It is known that ivy contains triterpene glycosides. They explain the pharmacological effect of ivy and drugs based on it. Triterpene glycoside hederasaponin C (hederacoside C, hederagenin 3-*O*- α -*L*-rhamnopyranosyl-(1 \rightarrow 2)-*O*- α -*L*-arabinopyranosyl-28-*O*- α -*L*-rhamnopyranosyl-(1 \rightarrow 4)-*O*-

β -D-glucopyranosyl-(1 \rightarrow 6)-O- β -D-glucopyranoside) is the dominant saponin in the ivy leaves.

By FT-IR spectroscopy without prior sample preparation was analyzed drugs Hedelix, Prospan, Pectolvan Hedera helix, Hederin ivy and phytocomplex Hederix+. It was established that the IR spectra of the drugs have the same absorption bands, but some differences are observed in their quantity, intensity, and position.

A comparison of the intensities of the stretching vibrations absorption bands of C–O bonds in C–OH and C–O–C groups showed that the band at 1044 cm⁻¹ in the spectra of Hedelix, Pectolvan and Hederin is more intense. In the IR spectrum of Prospan, on the contrary, the band at 1083 cm⁻¹ is more intense than 1046 cm⁻¹. In the Hederix+ spectrum the bands at 1084 and 1046 cm⁻¹ have approximately the same intensity.

In the IR spectra of drugs Hedelix, Pectolvan and Hederin for stretching vibrations of C–O bonds in C–OH and C–O–C groups were found additional absorption bands at 1141, 1137 and 1134 cm⁻¹, respectively.

The most similar infrared spectra of the drugs Hedelix, Pectolvan and Hederin.

Keywords: common ivy, Hedelix, Prospan, Pectolvan Hedera helix, Hederin ivy, Hederix+, hederasaponin C, FT-IR spectroscopy.

References

1. Hostettmann K., Marston A., *Saponins*, 548 p. (Cambridge University Press, Cambridge, 1995).
2. Zuzuk B. M., Kutsik R. V., Zuzuk L. I., Ivy creeping *Hedera helix* L. (analytical review), *Provizor*, 12, 13 (2003). (in Russ.).
3. Sieben A., Prenner L., Sorkalla T., Wolf A., Jakobs D., Runkel F., Häberlein H., α -Hederin, but not hederacoside C and hederagenin from *Hedera helix*, affects the binding behavior, dynamics, and regulation of β_2 -adrenergic receptors, *Biochemistry*, **48** (15), 3477 (2009).
4. Lutsenko Yu. O., Gasjuk A. D., Darmohray R. Ye., Marketing and pharmaco-economic investigations of the medicines, based on the *Hedera helix* content, in ukrainian market, *Clinic. Pharm., Pharmacother. & Med. Standardiz.*, 1–2, 170 (2009). (in Ukr.).
5. Instructions for the medical use of the drug Hedelix[®], <https://krewelmeuselbach.ru/upload/iblock/08c/08c7ecd834bf7adebcc170441ef1b74d.pdf> (Accessed September 02, 2019). (in Russ.).
6. Yakovishin L. A., Grishkovets V. I., Triterpene glycosides of the medicinal preparation Hedelix[®], *Khim. Prirod. Soedin.* 5, 417 (2003). (in Russ.).
7. Yakovishin L. A., Kuznetsova A. L., Rubinson M. A., Korzh E. N., Determination of the triterpene glycosides in the medicinal preparation hedelix by TLC, *Pharm. Zhurn.*, 6, 62 (2006). (in Ukr.).
8. Instructions for the use of the drug Prospan[®], https://proprospan.ru/assets/content/images/syrop_instrukciya.pdf (Accessed September 02, 2019). (in Russ.).
9. Yakovishin L. A., Vozhzhova M. A., Kuznetsova A. L., Grishkovets V. I., Study of triterpene glycosides of the drug prospan[®], *Zhurn. Org. Farm. Khim.*, **3** (1), 57 (2005). (in Russ.).
10. Instructions for the medical use of the drug Pectolvan Hedera helix, <https://farmak.ua/wp-content/uploads/2017/11/Pectolvan-Plyushh.jpg.pdf> (Accessed September 02, 2019). (in Ukr.).
11. Kogut Yu., Cough therapy in children with plant-based drugs: domestic experience, *Sovr. Pediatriya*, 2, 70 (2013). (in Russ.).
12. Yakovishin L. A., Grishkovets V. I., Korzh E. N., Triterpene glycosides of the medicinal preparation “Pectolvan Hedera helix”, *Pharm. Zhurn.*, 3, 56 (2010). (in Ukr.).
13. Instructions for the medical use of the drug Hederin ivy, <http://www.vishpha.ua/ru/drugs/catalogue/vishpha/emulsions/hederin> (Accessed September 02, 2019). (in Russ.).

14. Yakovishin L. A., Grishkovets V. I., Zholud I. A., Triterpene glycosides of the medicinal preparation "Hederin", *Metody i Ob'ekty Himicheskogo Analiza*, **6** (2) 119 (2011). (in Russ.).
15. HEDERIX+ oral solution, <http://vitauct.ru/index.php/produktsiya/khederiks-detail> (Accessed September 02, 2019). (in Russ.).
16. Yakovishin L. A., Grishkovets V. I., Korzh E. N., Saponins of the phytocomplex Hederix+, *Scientific Notes of V.I. Vernadsky Crimean Federal University. Biology. Chemistry*, **1** (4) 163 (2015). (in Russ.).
17. The retail market for drugs to eliminate the symptoms of colds and cough (R05) in Russia and CIS countries, *Remedium*, **8**, 62 (2007). (in Russ.).
18. Prozherina J., The role of modern herbal remedies in the management of cough, *Remedium*, **10**, 17 (2018). (in Russ.).
19. *Pharmaceutical analysis: Monograph*, edited by G. K. Budnikov and S. Y. Garmonov, 778 p. (Argamak-media, Moscow, 2013). (in Russ.).
20. *European pharmacopoeia*, 8th ed., **1**, p. 1282–1283 (Council of Europe, Strasbourg, 2013).
21. Trineeva O. V., Rudaya M. A., Gudkova A. A., Slivkin A. I., Application of IR-spectroscopy in the analysis of vegetable plant raw material, *Proceeding of Voronezh State University. Series: Chemistry. Biology. Pharmacy*, **4**, 187 (2018). (in Russ.).
22. Trineeva O. V., Rudaya M. A., Safonova E. F., Slivkin A. I., Study of the possibility of using IR-spectroscopy for the identification of a sea buckthorn fruit (*Hippophaes rhamnoides* L.), *Khimiya Rastitel'nogo Syr'ya*, **1**, 301 (2019) (in Russ.).
23. Yakovishin L. A., Grishkovets V. I., Ivy and licorice triterpene glycosides: promising molecular containers for some drugs and biomolecules, in *Studies in natural products chemistry*, edited by Atta-ur-Rahman, **55**, p. 351–383 (Elsevier, Amsterdam, 2018).
24. Yakovishin L. A., Korzh E. N., Molecular complex of quercetin with glycyram, *AIP Conference Proceeding*, **2063**, 040066 (2019).
25. Grishkovets V. I., Sidorov D. Yu., Yakovishin L. A., Arnautov N. N., Shashkov A. S., Chirva V. Ya., Triterpene glycosides of *Hedera canariensis* I. Structures of glycosides L-A, L-B₁, L-B₂, L-C, L-D, L-E₁, L-G₁, L-G₂, L-G₃, L-G₄, L-H₁, L-H₂, and L-I₁ from the leaves of *Hedera canariensis*, *Khim. Prirod. Soedin.*, **3**, 377 (1996). (in Russ.).
26. Grishkovets V. I., Kondratenko A. E., Tolkacheva N. V., Shashkov A. S., Chirva V. Ya., Triterpene glycosides of *Hedera helix* I. The structures of glycosides L-1, L-2a, L-2b, L-3, L-4a, L-4b, L-6a, L-6b, L-6c, L-7a, and L-7b from the leaves of common ivy, *Khim. Prirod. Soedin.*, **6**, 742 (1994). (in Russ.).

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

Бажан Полина Игоревна	ФГАОУ ВО «Севастопольский государственный университет», студента 4 курса
Белоус Оксана Геннадьевна	Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Всероссийский научно-исследовательский институт цветоводства и субтропических культур», доктор биологических наук, доцент, зав. лабораторией физиологии и биохимии растений, e-mail: oksana191962@mail.ru
Браилко Валентина Анатольевна	ФГБУН «Ордена Трудового Красного Знамени Никитский ботанический сад – Национальный научный центр РАН», кандидат биологических наук, старший научный сотрудник, заведующая лабораторией геномики растений и биоинформатики, e-mail: labgennbs@yandex.ru
Булавин Илья Владимирович	ФГБУН «Ордена Трудового Красного Знамени Никитский ботанический сад – Национальный научный центр РАН», кандидат биологических наук, научный сотрудник лаборатории геномики растений и биоинформатики, e-mail: labgennbs@yandex.ru
Гайчук Виктория Викторовна	Таврическая академия (структурное подразделение) ФГАОУ ВО «Крымский федеральный университет им. В. И. Вернадского», обучающаяся 1 курса магистратуры по направлению подготовки 04.04.01 Химия факультета биологии и химии
Голинач Олег Валентинович	ГБПОУ «Крымское среднее профессиональное училище (техникум) олимпийского резерва», директор
Горина Валентина Милентьевна	ФГБУН «НБС – ННЦ», доктор биологических наук, главный научный сотрудник лаборатории южных плодовых и орехоплодных культур, e-mail: valgorina@yandex.ru
Гришковец Владимир Иванович	Таврическая академия (структурное подразделение) ФГАОУ ВО «Крымский федеральный университет им. В. И. Вернадского», доктор химических наук, профессор кафедры общей и физической химии
Джелдубаева Эльвиза Рашидовна	Таврическая академия (структурное подразделение) ФГАОУ ВО «Крымский федеральный университет имени В. И. Вернадского», кандидат биологических наук, доцент кафедры физиологии человека и животных и биофизики

- Икоева
Лариса Петровна** ФГБНУ Федеральный научный центр «Владикавказский научный центр Российской академии наук – Северо-Кавказский научно-исследовательский институт горного и предгорного сельского хозяйства», канд. с.-х. наук, старший научный сотрудник отдела рационального использования горных кормовых угодий, e-mail: ikoeval@bk.ru
- Кайда
Анна Ивановна** Таврическая академия (структурное подразделение) ФГАОУ ВО «Крымский федеральный университет им. В. И. Вернадского», аспирант 4-го года по специальности 03.03.01. Физиология, e-mail: kaydaanna@gmail.com
- Колесников
Сергей Ильич** Академия биологии и биотехнологии им Д. И. Ивановского ЮФУ, доктор с.-х. наук, профессор, заведующий кафедрой экологии и природопользования
- Кузьминова
Наталья
Станиславовна** Институт морских биологических исследований имени А. О. Ковалевского РАН, кандидат биологических наук, старший научный сотрудник, e-mail: kunast@rambler.ru
- Кузьмина
Татьяна Николаевна** Федеральное государственное бюджетное учреждения науки «Ордена Трудового Красного Знамени Никитский ботанический сад – Национальный научный центр РАН». Сектор структурной ботаники и репродуктивной биологии растений. Лаборатория биохимии, физиологии и репродуктивной биологии растений, кандидат биологический наук, старший научный сотрудник, e-mail: tnkuzmina@rambler.ru
- Мельникова
Елена Борисовна** Институт природно-технических систем ФГБУН, кандидат биологических наук, старший научный сотрудник, e-mail: helena_melnikova@mail.ru
- Мельникова
Екатерина Дмитриевна** Медицинская академия имени С. И. Георгиевского (структурное подразделение) ФГАОУ ВО «Крымский федеральный университет им. В. И. Вернадского», доцент кафедры медицинской и фармацевтической химии
- Минникова
Татьяна Владимировна** Академия биологии и биотехнологии им Д. И. Ивановского ЮФУ, кандидат биологических наук, младший научный сотрудник кафедры экологии и природопользования
- Митрофанова
Ирина Вячеславовна** ФГБУН «Ордена Трудового Красного Знамени Никитский ботанический сад – Национальный научный центр РАН», доктор биологических наук, главный научный сотрудник, заведующая отделом биологии развития растений, биотехнологии и биобезопасности, e-mail: irimitrofanova@yandex.ru

Михайлова Анна Андреевна	Таврическая академия (структурное подразделение) ФГАОУ ВО «Крымский федеральный университет им. В. И. Вернадского», кандидат биологических наук, старший преподаватель кафедры физиологии человека и животных и биофизики факультета биологии и химии, e-mail: anna.kulenkova@gmail.com
Можаровская Ирина Алексеевна	Таврическая академия (структурное подразделение) ФГАОУ ВО «Крымский федеральный университет имени В. И. Вернадского», обучающаяся 1 курса магистратуры кафедры физиологии человека и животных и биофизики факультета биологии и химии
Нагаева Елена Ивановна	Таврическая академия (структурное подразделение) ФГАОУ ВО «Крымский федеральный университет им. В. И. Вернадского», кандидат биологических наук, доцент кафедры медико-биологических основ физической культуры
Овсяный Евгений Иванович	Морской гидрофизический институт РАН, научный сотрудник отдела биогеохимии моря, e-mail: eugeneovsyany@yandex.ru
Омельченко Александр Владимирович	Таврическая академия (структурное подразделение) ФГАОУ ВО «Крымский федеральный университет имени В.И. Вернадского», кандидат биологических наук, доцент кафедры ботаники и физиологии и биотехнологий
Орехова Лилия Сергеевна	Таврическая академия (структурное подразделение) ФГАОУ ВО «Крымский федеральный университет имени В.И. Вернадского», ведущий специалист по научно-аналитической работе отдела организации научной работы, e-mail: lili_psy@mail.ru
Орехова Наталья Александровна	Морской гидрофизический институт РАН, кандидат географических наук, ведущий научный сотрудник, зав.отделом биогеохимии моря, e-mail: natalia.orekhova@mhi-ras.ru
Палаевская Мария Викторовна	Таврическая академия (структурное подразделение) ФГАОУ ВО «Крымский федеральный университет имени В. И. Вернадского», магистрант 1 курса кафедры физиологии человека и животных и биофизики факультета биологии и химии
Палий Анфиса Евгеньевна	ФГБУН «НБС – ННЦ», кандидат биологических наук, ведущий научный сотрудник, зав. лабораторией биохимии, физиологии и репродуктивной биологии растений, e-mail: onlabor@yandex.ru
Палий Иван Николаевич	ФГБУН «НБС – ННЦ», кандидат биологических наук, старший научный сотрудник лаборатории биохимии, физиологии и репродуктивной биологии растений, e-mail: runastep@yandex.ru

Панов Денис Алесксандрович	Таврическая академия (структурное подразделение) ФГАОУ ВО «Крымский федеральный университет имени В. И. Вернадского», кандидат химических наук, доцент кафедры общей и физической химии факультета биологии и химии, e-mail: despanov@gmail.com
Пилькевич Руслана Адольфовна	ФГБУН «НБС – ННЦ», кандидат биологических наук, старший научный сотрудник лаборатории биохимии, физиологии и репродуктивной биологии растений, e-mail: pilkevich-r@mail.ru
Платонова Наталья Борисовна	Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Всероссийский научно-исследовательский институт цветоводства и субтропических культур», аспирант, младший научный сотрудник лаборатории физиологии и биохимии растений, e-mail: natali1875@bk.ru
Попов Максим Николаевич	Гуманитарно-педагогической академии (филиал) Крымского федерального университета им. В. И. Вернадского, кандидат педагогических наук, доцент, зав. кафедрой здоровья и реабилитации
Раваева Марина Юрьевна	Таврическая академия (структурное подразделение) ФГАОУ ВО «Крымский федеральный университет имени В. И. Вернадского», кандидат биологических наук, доцент кафедры физиологии человека и животных и биофизики
Ратников Владимир Дмитриевич	ФГАОУ ВО «Севастопольский государственный университет», студента 4 курса
Сайдахмедова Нияра Насибовна	Таврическая академия (структурное подразделение) ФГАОУ ВО «Крымский федеральный университет им. В. И. Вернадского», магистр кафедры общей и физической химии
Салашинский Алексей Алексеевич	Таврическая академия (структурное подразделение) ФГАОУ ВО «Крымский федеральный университет имени В. И. Вернадского», студент 5 курса факультета физической культуры и спорта, кафедры медико-биологических основ физической культуры
Сарнит Елена Александровна	Таврическая академия (структурное подразделение) ФГАОУ ВО «Крымский федеральный университет им. В. И. Вернадского», доцент кафедры общей и физической химии, e-mail: easarnit@mail.ru
Севрюкова Галина Александровна	Волгоградский государственный технический университет, доктор биологических наук, доцент, профессор кафедры промышленной экологии и безопасности жизнедеятельности, профессор кафедры биологии, e-mail: sevrykova2012@yandex.ru
Севрюкова Полина Леонидовна	Волгоградский государственный технический университет, магистр специальной психологии; e-mail: psevrukova@gmail.com

Смаилова Эльвира Эдемовна	ГБПОУ «Крымское среднее профессиональное училище (техникум) олимпийского резерва», методист
Соболев Валерий Иванович	Институт педагогики, психологии и инклюзивного образования Гуманитарно-педагогической академии (филиал) Крымского федерального университета им. В.И. Вернадского, доктор биологических наук, профессор, профессор кафедры здоровья и реабилитации, e-mail: v.sobolev@mail.ru
Судына Людмила Владимировна	Академия биологии и биотехнологии им Д.И. Ивановского ЮФУ, аспирант кафедры экологии и природопользования, e-mail: Malusik_07@inbox.ru
Темурьянц Наталья Арменаковна	Таврическая академия (структурное подразделение) ФГАОУ ВО «Крымский федеральный университет имени В. И. Вернадского», доктор биологических наук, профессор кафедры физиологии человека и животных и биофизики
Тихонова Елена Андреевна	ФГБУН ФИЦ «Институт биологии южных морей имени А. О. Ковалевского РАН», кандидат биологических наук, старший научный сотрудник отдела морской санитарной гидробиологии, e-mail: tihonoval@mail.ru
Товмасын Лаура Андреевна	Волгоградский государственный университет, магистр биологии, ассистент кафедры биологии, e-mail: laura7709@yandex.ru
Трибрат Александр Георгиевич	Медицинская академия имени С. И. Георгиевского (структурное подразделение) ФГАОУ ВО «Крымский федеральный университет им. В. И. Вернадского», кандидат биологических наук, ассистент кафедры нормальной физиологии
Трибрат Наталья Сергеевна	Таврическая академия (структурное подразделение) ФГАОУ ВО «Крымский федеральный университет имени В.И. Вернадского», кандидат биологических наук, доцент кафедры физиологии человека и животных и биофизики
Труш Вера Владимировна	Донецкий национальный университет, кандидат медицинских наук, доцент, зав. кафедрой физиологии человека и животных
Туманянц Каринэ Николаевна	Таврическая академия (структурное подразделение) ФГАОУ ВО «Крымский федеральный университет имени В. И. Вернадского», кандидат биологических наук, директор Центра коллективного пользования научным оборудованием «Экспериментальная физиология и биофизика», e-mail: timur328@gmail.com
Тюменцева Елена Владимировна	Волгоградский государственный технический университет, кандидат филологических наук, доцент, заместитель декана факультета подготовки иностранных специалистов, e-mail: ltiumentzeva@yandex.ru

- Усова Виктория** Таврическая академия (структурное подразделение) ФГАОУ ВО «Крымский федеральный университет имени В.И. Вернадского», выпускница кафедры физиологии человека и животных и биофизики
- Хаева Оксана Эльбрусовна** ФГБОУ ВО «Северо-Осетинский государственный университет имени Коста Левановича Хетагурова», кандидат химических наук, доцент кафедры общей и неорганической химии, e-mail: oksana_haeva@mail.ru
- Хусаинов Денис Рашидович** Таврическая академия (структурное подразделение) ФГАОУ ВО «Крымский федеральный университет имени В. И. Вернадского», кандидат биологических наук, доцент кафедры физиологии человека и животных и биофизики. ГБПОУ «Крымское среднее профессиональное училище (техникум) олимпийского резерва», преподаватель, e-mail: gangliu@yandex.ru
- Цепина Наталья Игоревна** Академия биологии и биотехнологии им Д.И. Ивановского ЮФУ, аспирант кафедры экологии и природопользования
- Цикалова Виктория Николаевна** Таврическая академия (структурное подразделение) ФГАОУ ВО «Крымский федеральный университет имени В.И. Вернадского», кандидат химических наук, доцент кафедры органической и биологической химии
- Цугкиев Борис Георгиевич** ФГБОУ ВО «Горский государственный аграрный университет», доктор с.-х. наук, профессор, директор НИИ биотехнологии, зав. кафедрой биологической и химической технологии, e-mail: Zugkiev@mail.ru
- Чайка Андрей Владимирович** Таврическая академия (структурное подразделение) ФГАОУ ВО «Крымский федеральный университет имени В. И. Вернадского», специалист по учебно-методической работе кафедры физиологии человека и животных и биофизики. ГБПОУ «Крымское среднее профессиональное училище (техникум) олимпийского резерва», преподаватель, e-mail: andrew.chajka@yandex.ru
- Черетаев Игорь Владимирович** Таврическая академия (структурное подразделение) ФГАОУ ВО «Крымский федеральный университет имени В.И. Вернадского», кандидат биологических наук, доцент кафедры физиологии человека и животных и биофизики, e-mail: cheretaev86@yandex.ru
- Чуян Елена Николаевна** Таврическая академия (структурное подразделение) ФГАОУ ВО «Крымский федеральный университет имени В. И. Вернадского», доктор биологических наук, профессор кафедры физиологии человека и животных и биофизики

Шайхутдинова Анастасия Анатольевна	Институт клеточного и внутриклеточного симбиоза Оренбургского федерального исследовательского центра УрО РАН, лаборатория водной микробиологии, старший научный сотрудник, Оренбургский государственный университет, кандидат технических наук, старший преподаватель кафедры экологии и природопользования, e-mail: varvarushka@yandex.ru
Шейх-Заде Мамет-Исмет	ГБОУВО РК КИПУ «Крымский инженерно-педагогический университет», кандидат физико-математических наук, доцент кафедры «Электромеханика и сварка», e-mail: ems@kipu-rc.ru
Шейхмамбетов Нариман	Таврическая академия (структурное подразделение) ФГАОУ ВО «Крымский федеральный университет имени В. И. Вернадского», обучающийся 4 курса кафедры физиологии человека и животных и биофизики факультета биологии и химии
Шепитько Лариса Семеновна	ГБУЗ РК Крымская республиканская клиническая психиатрическая больница № 1 им. Н. И. Балабана, логопед высшей категории
Шульгин Виктор Фёдорович	Таврическая академия (структурное подразделение) ФГАОУ ВО «Крымский федеральный университет имени В. И. Вернадского», доктор химических наук, профессор, заведующий кафедрой общей и физической химии, e-mail: shulvic@gmail.com
Эйсмонт Евгения Владимировна	Таврическая академия (структурное подразделение) ФГАОУ ВО «Крымский федеральный университет имени В. И. Вернадского», кандидат биологических наук, доцент кафедры физиологии человека и животных и биофизики
Юркова Ирина Николаевна	ФГАОУ ВО «Крымский федеральный университет им. В.И. Вернадского», кандидат технических наук, старший научный сотрудник научного отдела Ботанического сада, e-mail: nanosilver@rambler.ru
Яковишин Леонид Александрович	ФГАОУ ВО «Севастопольский государственный университет», кандидат химических наук, доцент, заведующий кафедрой «Химия», e-mail: chemsevntu@rambler.ru
Ярмолук Наталья Сергеевна	Таврическая академия (структурное подразделение) ФГАОУ ВО «Крымский федеральный университет имени В. И. Вернадского», кандидат биологических наук, доцент кафедры медико-биологических основ физической культуры, e-mail: nat_yarm@mail.ru
Яценко Инна Юрьевна	ГБПОУ «Крымское среднее профессиональное училище (техникум) олимпийского резерва», заместитель директора по учебной работе

СОДЕРЖАНИЕ

БИОЛОГИЧЕСКИЕ НАУКИ

- Булавин И. В., Браилко В. А., Митрофанова И. В.**
ГИСТОХИМИЧЕСКОЕ ВЫЯВЛЕНИЕ ЭФИРНЫХ МАСЕЛ В ЛИСТЬЯХ
ЛАВАНДИНА И КАЧЕСТВО ВЫДЕЛЕННОЙ ДНК В СВЯЗИ С
АНАТОМИЧЕСКИМИ ОСОБЕННОСТЯМИ3
- Кайда А. И., Михайлова А. А., Эйсмонт Е. В., Орехова Л. С., Шепитько Л. С.**
ОСОБЕННОСТИ ЭЭГ У ДЕТЕЙ С ЗАДЕРЖКАМИ РЕЧЕВОГО РАЗВИТИЯ12
- Кузьмина Т. Н.**
ХАРАКТЕРИСТИКА И ВСХОЖЕСТЬ СЕМЯН *JASMINUM FRUTICANS* L.
(OLEACEAE)22
- Мельникова Е. Б., Кузьминова Н. С.**
ИНДИВИДУАЛЬНЫЙ РОСТ И ПРОДУКЦИОННЫЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ СТАД
СТАВРИДЫ *TRACHURUS MEDITERRANEUS*, ОБИТАЮЩИХ НА ЮГО-
ЗАПАДНОМ ШЕЛЬФЕ КРЫМА33
- Орехова Н. А., Овсяный Е. И., Тихонова Е. А.**
ОРГАНИЧЕСКОЕ ВЕЩЕСТВО И ОКИСЛИТЕЛЬНО-ВОССТАНОВИТЕЛЬНЫЕ
УСЛОВИЯ В ДОННЫХ ОТЛОЖЕНИЯХ БАЛАКЛАВСКОЙ БУХТЫ49
- Палий И. Н., Пилькевич Р. А., Палий А. Е., Горина В. М.**
СРАВНИТЕЛЬНАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ФИЗИОЛОГО-БИОХИМИЧЕСКИХ
ПОКАЗАТЕЛЕЙ РАСТЕНИЙ АБРИКОСА В УСЛОВИЯХ ЛЕТНЕГО ДЕФИЦИТА
ВЛАГИ НА ЮЖНОМ БЕРЕГУ КРЫМА65
- Платонова Н. Б., Белоус О. Г.**
ФОТОСИНТЕТИЧЕСКИЕ ПИГМЕНТЫ, КАК ЭЛЕМЕНТ ФОРМИРОВАНИЯ
АДАПТИВНОСТИ РАСТЕНИЙ ЧАЯ76
- Севрюкова Г. А., Тюменцева Е. В., Севрюкова П. Л., Товмасын Л. А.**
НЕСПЕЦИФИЧЕСКАЯ РЕЗИСТЕНТНОСТЬ ОРГАНИЗМА ИНОСТРАННЫХ
СТУДЕНТОВ ПРИ АДАПТАЦИИ К НОВЫМ КЛИМАТИЧЕСКИМ УСЛОВИЯМ
ВОЛГОГРАДСКОГО РЕГИОНА85
- Соболев В. И., Попов М. Н., Труш В. В.**
ФЕНОМЕН НЕЗАВИСИМОСТИ ВРЕМЕНИ ЗРИТЕЛЬНО-МОТОРНОЙ РЕАКЦИИ
ПРОСТОГО ВЫБОРА (МОДЕЛЬ «GO / NO-GO») ОТ ЧИСЛА И МОДАЛЬНОСТИ
ДИФФЕРЕНЦИРОВАННЫХ ТОРМОЗНЫХ СТИМУЛОВ95
- Судьина Л. В., Цепина Н. И., Минникова Т. В., Колесников С. И.**
ВЛИЯНИЕ ЗАГРЯЗНЕНИЯ ВИСМУТОМ НА ФИТОТОКСИЧНОСТЬ ПОЧВ ЮГА
РОССИИ110
- Трибрат Н. С., Джелдубаева Э. Р., Чуюн Е. Н., Трибрат А. Г.**
ДИНАМИКА ПОКАЗАТЕЛЕЙ ОКИСЛИТЕЛЬНОГО МЕТАБОЛИЗМА ПРИ
ВОЗДЕЙСТВИИ НИЗКОИНТЕНСИВНОГО ЭЛЕКТРОМАГНИТНОГО ИЗЛУЧЕНИЯ
МИЛЛИМЕТРОВОГО ДИАПАЗОНА122

Туманянц К. Н., Ярмолюк Н. С., Чуян Е. Н., Темурьянц Н. А. УЧАСТИЕ ЭЛЕКТРОМАГНИТНЫХ ФАКТОРОВ ЕСТЕСТВЕННОГО ПРОИСХОЖДЕНИЯ В ОРГАНИЗАЦИИ ИНФРАДИАННОЙ РИТМИКИ У БЕСПОЗВОНОЧНЫХ ЖИВОТНЫХ.....	131
Хаева О. Э., Икоева Л. П., Цугкиев Б. Г. ИДЕНТИФИКАЦИЯ И ОСНОВНЫЕ БИОЛОГИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА ПРОПИОНОВОКИСЛЫХ БАКТЕРИЙ.....	148
Хусаинов Д. Р., Туманянц К. Н., Можаровская И. А., Усова В. В. ДИНАМИКА ОБЩЕЙ ДВИГАТЕЛЬНОЙ АКТИВНОСТИ КРЫС-САМЦОВ В УСЛОВИЯХ ЧЕТЫРНАДЦАТИДНЕВНОГО ЭЛЕКТРОМАГНИТНОГО ЭКРАНИРОВАНИЯ	155
Чайка А. В., Салашинский А. А., Нагаева Е. И., Хусаинов Д. Р., Яценко И. Н., Смаилова Э. Э., Голинач О. В. ОСОБЕННОСТИ ПСИХОФУНКЦИОНАЛЬНОЙ ПОДГОТОВЛЕННОСТИ ФУТБОЛИСТОВ ЮНОШЕСКОГО ВОЗРАСТА.....	167
Черетаев И. В., Чуян Е. Н., Раваева М. Ю., Шульгин В. Ф. ВЛИЯНИЕ БИС(2-ПИРИДИЛ-1,2,4-ТРИАЗОЛИЛ-3)ПРОПАНА НА ПОВЕДЕНИЕ САМЦОВ И САМОК КРЫС В ТЕСТАХ «ОТКРЫТОЕ ПОЛЕ» И «ПРИПОДНЯТЫЙ КРЕСТООБРАЗНЫЙ ЛАБИРИНТ»	186
Черетаев И. В., Раваева М. Ю., Джелдубаева Э. Р., Чуян Е. Н., Шульгин В. Ф., Шейхмамбетов Н., Палаевская М. В. СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ ПРОТИВОБОЛЕВОЙ АКТИВНОСТИ 1-ГИДРОКСИ- 1,1-ЭТИЛИДЕНДИФОСФОНОВОЙ КИСЛОТЫ, БИС(2-ПИРИДИЛ-1,2,4- ТРИАЗОЛИЛ-3)ПРОПАНА И ИХ АДДУКТА У САМЦОВ КРЫС (ЧАСТЬ 2)	199
Шайхутдинова А. А. ЭКОЛОГИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ХЛОРИДНО-НАТРИЕВЫХ МИНЕРАЛЬНЫХ ИСТОЧНИКОВ УРОЧИЩА ТУЗЛУККОЛЬ.....	207
Юркова И. Н., Омельченко А. В., Панов Д. А. ВЛИЯНИЕ НАНОСЕЛЕНА НА АКТИВНОСТЬ КОМПОНЕНТОВ АНТИОКСИДАНТНОЙ СИСТЕМЫ ПШЕНИЦЫ В УСЛОВИЯХ КОМБИНИРОВАННОГО ДЕЙСТВИЯ ЗАСОЛЕНИЯ И ЗАСУХИ	216
ХИМИЧЕСКИЕ НАУКИ	
Панов Д. А., Юркова И. Н., Омельченко А. В. СИНТЕЗ НОВОГО НАНОБИОКОМПОЗИТА СЕЛЕНА И ЕГО ВЛИЯНИЕ НА РОСТ ПШЕНИЦЫ В УСЛОВИЯХ ВОДНОГО И СОЛЕВОГО СТРЕССОВ.....	226
Сарнит Е. А., Сайдахмедова Н. Н., Мельникова Е. Д. СИНТЕЗ, СТРОЕНИЕ И ЛЮМИНЕСЦЕНЦИЯ СМЕШАННОЛИГАНДНОГО КОМПЛЕКСА ЕВРОПИЯ(III) НА ОСНОВЕ N-ДОДЕЦИЛИМИНОДИУКСУСНОЙ КИСЛОТЫ, АЦЕТИЛАЦЕТОНА И 1,10-ФЕНАНТРОЛИНА	236
Цикалова В. Н., Гайчук В. В. ИСПОЛЬЗОВАНИЕ РАЗЛИЧНЫХ ПОДХОДОВ В ПОЛУЧЕНИИ БЕНЗИЛ-2-АЦЕТАМИДО-3,4,6-ТРИ-О-АЦЕТИЛ-2-ДЕЗОКСИ-β-D- ГЛЮКОПИРАНОЗИДА.....	245

Шейх-Заде М. И.	
ВНУТРЕННЕЕ ВРАЩЕНИЕ В МОЛЕКУЛАХ ЭТИЛЕНА	253
Яковишин Л. А., Бажан П. И., Ратников В. Д., Гришковец В. И.	
ЛЕКАРСТВЕННЫЕ ПРЕПАРАТЫ НА ОСНОВЕ ПЛЮЩА: ИК-ФУРЬЕ-СПЕКТРОСКОПИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ.....	259
СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ.....	268
СОДЕРЖАНИЕ	275