

УЧЕНЫЕ ЗАПИСКИ

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

Научный журнал

Том 4 (70), № 4

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, 2018**

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 № 3 от 3 октября 2018 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 5.10.2018. Формат 70x100 1/16.

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

Дата выхода в свет «__» _____ 2018 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 4 (70). 2018. № 4. С. 3–18.

УДК 591.46:615.214.2:57.08

ХАРАКТЕР ВЛИЯНИЯ СУЛЬПИРИДА НА ПОКАЗАТЕЛИ ПОВЕДЕНИЯ ГОНАДЭКТОМИРОВАННЫХ САМЦОВ БЕЛЫХ КРЫС В БАТАРЕЕ ТЕСТОВ В ЗАВИСИМОСТИ ОТ ИСХОДНОГО УРОВНЯ АКТИВНОСТИ В ОТКРЫТОМ ПОЛЕ

Богданова С. А., Фролова Г. А.

ГОУ ВПО «Донецкий национальный университет», Донецк, Украина

E-mail: gal_alex_frolova@mail.ru

В экспериментах на самцах белых крыс исследовали влияние селективного блокатора пресинаптических дофаминовых рецепторов сульпирида на психоэмоциональное состояние самцов белых крыс с учетом индивидуально-типологических особенностей на фоне дисбаланса андрогенов. Установлено, что дисбаланс андрогенов, вызванный гонадэктомией, по-разному влияет на психоэмоциональные характеристики животных в зависимости от их исходного уровня активности. Так, гонадэктомия увеличивает проявления исследовательской и двигательной активности в 3,1 и 2,3 раза соответственно и не влияет на груминговую активность в открытом поле у исходно низкоактивных самцов белых крыс. Последующее введение сульпирида увеличивает частоту актов груминга не оказывая значимых влияний на поведенческую активность животных этой подгруппы. Гонадэктомия угнетает исследовательскую и двигательную активность у средне- (в 3,7 и 2,5 раза) и высокоактивных (в 5,1–5,4 раза) животных, а также груминговое поведение. Последующее блокирование ауторецепторов дофамина восстанавливает эти поведенческие показатели у самцов с исходно средним уровнем активности и в еще большей степени угнетает проявления исследовательской активности (в 4,5 раза) у высокоактивных крыс, не влияя на их двигательную и груминговую активность. Снижение уровня андрогенов после гонадэктомии оказывает анксиолитический эффект на низкоактивных самцов и не влияет по показателю тревожности в приподнятом крестообразном лабиринте у остальных животных. Сульпирид восстанавливает исходный уровень тревожности низкоактивных крыс. В тесте Порсолта гонадэктомия приводит к разнонаправленным эффектам на уровень депрессивности: у низкоактивных животных чувствительность к дефициту андрогенов отсутствует, у среднеактивных депрессивность сокращается в 2,1 раза, а у высокоактивных – увеличивается в 2,2 раза. Последующее введение сульпирида не оказало влияния на низкоактивных самцов и восстановило исходные показатели депрессивности у остальных подгрупп крыс. Дисбаланс андрогенов угнетает в 1,4–2,1 раза эмоциональность у самцов белых крыс независимо от их исходного уровня активности. Блокирование ауторецепторов дофамина усиливает данный эффект у среднеактивных крыс и не влияет на животных с крайними уровнями активности.

Ключевые слова: депрессивность, тревожность, исследовательская активность, эмоциональность, гонадэктомия, сульпирид.

ВВЕДЕНИЕ

Интерес исследователей в области физиологии к изучению функционирования нейромедиаторных систем не угасает в течение последних 20–30 лет. Данный факт связан с тем, что в основе развития таких широко распространенных социально-значимых заболеваний, как депрессия, тревожные и аффективные расстройства, шизофрения, деменция Альцгеймеровского типа, болезнь Паркинсона [1–3] лежат дисфункции именно этих нейрохимических систем.

Одним из ключевых нейромедиаторов головного мозга является дофамин. Система нейронов, вырабатывающих этот моноамин в качестве медиатора, и их аксоны принимают участие в реализации многих физиологических механизмов в животном организме. Так, дофаминергическая система принимает участие в реализации процессов обучения, памяти, сна и бодрствования, болевого синдрома и тревожно-депрессивных состояний [4–7]. Вследствие чего, нарушение адекватного функционирования системы дофаминергической трансмиссии является патогенетической основой в развитии ряда нервно-психических заболеваний, таких как болезнь Паркинсона, шизофрения, депрессия [8–10].

Вместе с тем установлено, что на развитие тех же нервно-психических заболеваний оказывают влияние и половые гормоны (эстрогены и андрогены) [11–14]. Так, тесная связь между дофаминергической и гонадной системой проявляется в том, что при колебаниях концентрации тестостерона наиболее значимые изменения происходят именно в этой нейромедиаторной системе мозга.

В связи с этим представляет особый интерес уточнение механизмов взаимного влияния андрогенов и дофаминергической системы на психоэмоциональный статус животного организма [15–17], поскольку на сегодняшний день данный вопрос изучен в недостаточной степени. Достаточно остро стоит вопрос поиска тех звеньев дофаминергической трансмиссии, которые являются наиболее уязвимыми при дисфункции гонадной системы, а так же поиск адекватных и эффективных методов коррекции психоэмоциональных расстройств, развитие которых связано с нарушением функционирования как дофаминергической системы, так и гонадной.

Поскольку половые гормоны модулируют синтез, выброс и метаболизм нейроактивных медиаторов и рецепторов к ним, то поиск способов модуляции дофаминергической нейротрансмиссии занимает одно из главных мест в нейрофармакологии [18].

Исходя из этого, целью данного фрагмента исследования явилось изучение влияния селективного блокатора пресинаптических дофаминовых рецепторов сульпирида на психоэмоциональное состояние самцов белых крыс с учетом индивидуально-типологических особенностей на фоне дисбаланса андрогенов.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Эксперимент выполнен на 40 половозрелых беспородных крысах-самцах массой 160–190 г, содержащихся в стандартных условиях вивария (световой режим 12/12, свободный доступ к еде и питью). Все исследования выполнялись в соответствии с «Руководством по уходу и использованию лабораторных животных» (публикация Национального института здоровья № 85-23, США) и «Руководством по

экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ» [19]. Поведенческие исследования производились в первой половине дня. Для оценки показателей поведения, отражающих психоэмоциональное состояние животных, использовалась батарея стандартных поведенческих тестов.

Поведенческую активность лабораторных крыс оценивали в открытом поле (ОП) [20] по количеству пересеченных квадратов (двигательная активность) и по суммарному количеству вертикальных стоек и заглядываний в отверстия-«норки» (исследовательская активность) за 5 минут тестирования. Кроме того, фиксировалось груминговое поведение (количество актов груминга).

Открытое поле представляет собой открытый пластиковый ящик размером 60×60 см и высотой 40 см. Пол ОП приподнят над дном ящика на высоту 3 см и разделен тонкими белыми линиями на 9 равных квадратов (20×20 см), по периметру которых просверлены отверстия-«норки» диаметром 3 см. Животное в процессе тестирования опускалось в центр поля, после чего в течение 5 минут регистрировались описанные выше поведенческие реакции. После каждого животного камера протиралась изнутри мокрыми и сухими салфетками, а также дезодорировалась раствором этилового спирта.

Тревожность подопытных животных определялась в приподнятом крестообразном лабиринте (ПКЛ) [21] по суммарному времени пребывания крысы на открытом пространстве лабиринта (открытые рукава и центральная площадка) за 5 минут тестирования, частоте повторных выходов на него и частоте выглядываний из закрытых рукавов.

Депрессивность животных оценивали в тесте Порсолта [22] по суммарному времени неподвижности самцов и количеству периодов полной неподвижности в течение 6 минут тестирования. Об эмоциональности животных судили по количеству фекальных болюсов.

При тестировании крыс опускали в стеклянный цилиндр емкостью 20 литров и высотой 30 см, наполненный водой ($t=27-28^{\circ}\text{C}$), и фиксировали описанные выше показатели поведения.

Приподнятый крестообразный лабиринт – приподнятая на опоре-ножке на 80 см над уровнем пола крестовина, имеющая два открытых, два закрытых рукава шириной 10 см и центральную площадку в месте пересечения рукавов (10×10 см). Лабиринт сконструирован из пластика, окрашенного в черный цвет. При тестировании крысы плавно опускались в центр лабиринта носом в открытый рукав, где визуально регистрировалось их поведение. После каждого животного установка протиралась изнутри мокрыми и сухими салфетками, а также дезодорировалась раствором этилового спирта.

Для учета индивидуально-типологических отличий лабораторных животных разработаны методики поведенческого фенотипирования, которые основаны на комплексной оценке поведенческих характеристик животных, отражающих не только моторно-двигательные реакции животных, но и особенности эмоционально-психической сферы [23, 24]. Такой подход позволяет более точно исследовать индивидуальную чувствительность лабораторных животных к тем или иным воздействиям. Физиологическую основу индивидуально-типологических отличий в

психоэмоциональной сфере определяют, по мнению ряда авторов [23, 25, 26], отличия в биохимических процессах, протекающих в разных отделах мозга.

По результатам исходного (контрольного) тестирования в батарее тестов исходная группа крыс была разделена на три подгруппы в соответствии с проявленным уровнем поведенческой активности в открытом поле.

Дефицит андрогенов моделировали с помощью двусторонней гонадэктомии, проведенной под эфирным наркозом по методу Я. Д. Киршенблад [27]. После крысы проходили повторное тестирование в батарее описанных тестов.

После проведения тестирования гонадэктомированных животных в батарее тестов, с целью исследования влияния стимуляции дофаминергической передачи проводили фармакологическое блокирование пресинаптических рецепторов дофамина с помощью блокирования рецепторов обратного захвата дофамина сульпиридом. Сульпирид относится к антипсихотическим препаратам бензамидного ряда, которые обладают умеренной нейролептической активностью в сочетании со стимулирующим и тимоаналептическим действием (эффект от лечения, приводящий к улучшению настроения и активации психики).

Изменение дофаминергической трансмиссии проводили с помощью избирательного блокирования пресинаптических центральных D2/D3-рецепторов мезолимбической и мезокортикальной систем головного мозга 14-х дневным внутрибрюшинным введением эглонила (сульпирида) в дозе 10 мг/кг [28]. По истечении 14 дней крыс тестировали повторно.

Исходную группу крыс разделяли на подгруппы согласно сигмального отклонения [25]. Обработка первичных данных производилась с использованием пакета программ Statistica 6.0. Поскольку нормальность распределения в тесте Колмогорова-Смирнова не подтвердилась, для работы были использованы непараметрические методы математической статистики (U-критерий Манна-Уитни для независимых переменных). Принятый уровень значимости составлял 0,05.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Контрольное (исходное) тестирование позволило установить, что у самцов, отличающихся по уровню исследовательской активности, имеются отличия и по степени выраженности двигательной активности в открытом поле (таблица 1). Обращает на себя внимание тот факт, что средне- и высокоактивные самцы не отличаются по уровню депрессивности в тесте Порсолта, а среднеактивным животным свойственна минимальная тревожность в приподнятом крестообразном лабиринте. Вместе с тем, у низкоактивных крыс выявлен минимальный уровень груминговой активности в открытом поле и максимальная частота периодов замираний в тесте Порсолта. Различий в уровне эмоциональности у экспериментальных животных в зависимости от их исходного уровня поведенческой активности установлено не было.

По мнению исследователей [14, 25, 26, 29], причиной подобных различий внутри однородной группы животных, выращенных в одинаковых условиях и получавших одинаковую пищу, являются такие генетически обусловленные факторы, как наследственно обусловленное соотношение активности

ХАРАКТЕР ВЛИЯНИЯ СУЛЬПИРИДА НА ПОКАЗАТЕЛИ ПОВЕДЕНИЯ ...

нейромедиаторных систем мозга, что определяет психоэмоциональный профиль особей [30–32].

Установлено, что недостаток андрогенов и последующее введение блокаторов ауторецепторов дофамина оказали разнонаправленные эффекты на поведенческие показатели экспериментальных животных в батарее используемых тестов.

Таблица 1
Показатели поведения у животных в исходных условиях ($\bar{X} \pm m$)

Поведенческие показатели	Уровни активности		
	низкий (n=16)	средний (n=14)	высокий (n=10)
Результаты тестирования в открытом поле			
Исследовательская активность	2,1±0,39 [#]	11,6±1,24	19,4±1,51 ^{#*}
Двигательная активность	3,6±0,86 [#]	19,1±1,77	24,2±1,54 ^{#*}
Количество актов груминга	0,0 [#]	1,7±0,36	1,2±0,20 [*]
Результаты тестирования в тесте Порсолта			
Время неподвижности, с	74,0±13,81 [#]	46,2±7,30	56,7±8,15
Время пассивного плавания, с	32,1±3,16 [#]	90,0±6,68	44,9±11,04 [#]
Время активного плавания, с	254,0±14,65	223,6±10,95	258,3±9,99 [#]
Общее количество периодов неподвижности	21,3±1,78 [#]	15,3±1,58	15,8±2,97 [*]
Количество фекальных болюсов	6,4±0,72	8,4±1,00	8,8±0,87
Результаты тестирования в приподнятом крестообразном лабиринте			
Открытые рукава, с	151,7±35,16 [#]	248,0±14,73	171,0±49,03 [#]
Количество выходов в открытое пространство	1,0±0,32 [#]	1,9±0,26	0,8±0,59 [#]

Примечание: # – различия статистически значимы в сравнении показателей условного контроля (средний тип выраженности показателей поведения) с группами высокого и низкого типа показателей поведения; * – различия статистически значимы при сравнении показателей группы с крайними типами выраженности показателей поведения.

Так, у исходно низкоактивных самцов гонадэктомия привела к увеличению как исследовательской, так и двигательной активности в 3,1 ($p < 0,05$) и 2,3 ($p < 0,05$) раза соответственно (рис. 1). Последующее введение сульпирида не оказала значимых влияний на численные значения данных показателей.

Крысы, показавшие в контрольном тестировании средний и высокий уровень поведенческой активности, выявили значительное угнетение исследовательской и двигательной активности на фоне дисбаланса андрогенов. Так, у среднеактивных

самцов количество пересеченных квадратов, характеризующее двигательную активность, сократилось в 2,5 раза ($p < 0,05$), а частота поведенческих актов, характеризующих исследовательское поведение – в 3,7 раза ($p < 0,05$). Степень угнетения данных видов активности у высокоактивных самцов составила 5,1 раза ($p < 0,05$) для двигательной активности и 5,4 раза ($p < 0,05$) для исследовательской. Следует отметить тот факт, что у самцов этих подгрупп после гонадэктомии в большей степени сокращалось количество вертикальных стоек (5,3–8,3 раза, $p < 0,05$), чем заглядываний в отверстия-«норки» (3,4–4,7 раза, $p < 0,05$), что в конечном итоге и определило выраженный поведенческий дефицит у высокоактивных животных на фоне дисбаланса андрогенов, указывающий на развитие депрессивно-подобного состояния, развившегося на фоне гонадэктомии. Последующее введение сульпирида повысило исследовательскую и двигательную активность среднеактивных крыс в 2,7 ($p < 0,05$) и 2,0 ($p < 0,05$) раза, соответственно, восстановив ее до исходных значений, в то время как в подгруппе высокоактивных животных блокирование ауторецепторов дофамина привело к еще большему угнетению исследовательского поведения (в 4,5 раза, $p < 0,05$) (см. рис. 1, А) и не повлияло на двигательное (см. рис. 1, Б).

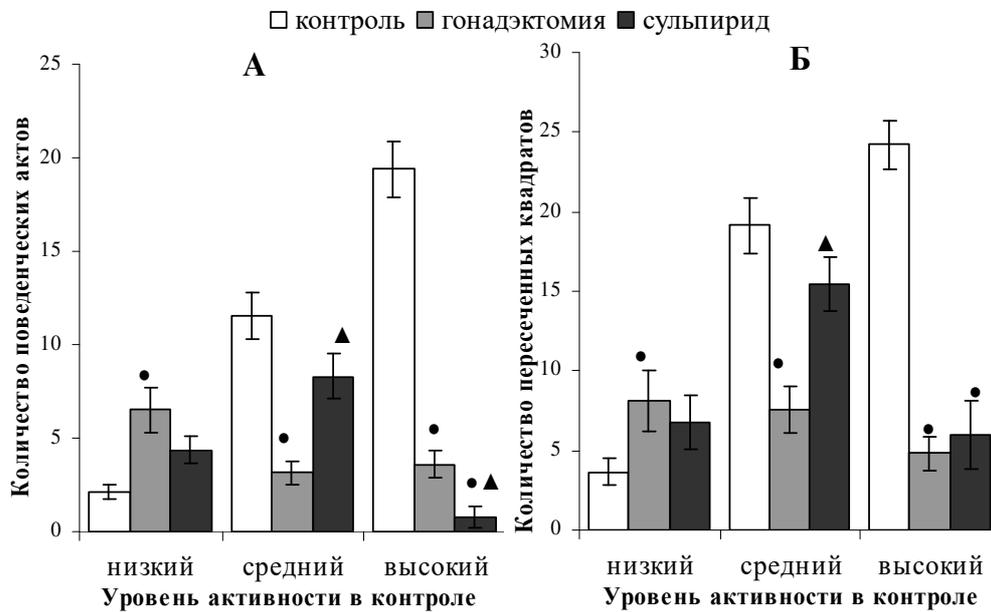


Рис. 1. Характер влияния дисбаланса андрогенов и последующего введения сульпирида самцам белых крыс на исследовательскую (А) и двигательную (Б) активность в открытом поле.

• – различия статистически значимы при сравнении показателей, полученных после гонадэктомии с исходными (контрольными), ▲ – различия статистически значимы при сравнении значений показателей, полученных после введения сульпирида с результатами гонадэктомии.

В литературе большинство авторов указывают на угнетение двигательной активности животных, связанное с дисбалансом андрогенов или же отсутствие достоверного влияния недостатка андрогенов на количество пересеченных квадратов в открытом поле [33–35]. В наших исследованиях двигательная активность сокращалась у средне- и высокоактивных самцов, в то время как у низкоактивных гонадэктомированных животных, напротив, возрастала.

Относительно эффектов дисбаланса андрогенов на проявления исследовательской активности мнения исследователей расходятся. Так, ряд авторов указывает на стимуляцию исследовательской активности самцов белых крыс после гонадэктомии [33, 35], что хорошо согласуется с полученными нами результатами у низкоактивных крыс; результаты других исследователей указывают на противоположные явления [34], нашедшие подтверждения у средне- и высокоактивных самцов белых крыс.

Относительно изменений грумингового поведения, вызванных гонадэктомией, следует отметить его полное угнетение ($p < 0,05$) после моделирования дефицита андрогенов у животных. Данный факт, по мнению Сашкова В. А [33], связан с изменением содержания нейроактивных стероидов в мозге и, как следствие, изменением их модулирующих эффектов на нейромедиаторные системы. Стимуляция дофаминергической системы сульпиридом привела к появлению ($p < 0,05$) груминга у низко- и среднеактивных самцов и не повлияла на его угнетение после гонадэктомии у высокоактивных крыс.

В тесте Порсолта установлено, что показатель депрессивности (суммарное время неподвижности) у низкоактивных самцов не изменился ни после гонадэктомии, ни после введения сульпирида (рис. 2, А). Вместе с тем, у самцов данной подгруппы выявлено увеличение общего времени пассивного плавания в 1,8 раза ($p < 0,05$) и сокращение активного в 1,2 раза ($p < 0,05$) на фоне дисбаланса андрогенов. Последующее введение блокатора ауторецепторов дофамина углубило данные тенденции (см. рис. 2, Б, В). У средне- и высокоактивных животных эффекты гонадэктомии в тесте Порсолта оказались разнонаправленными. Так, у самцов, показавших в открытом поле средний уровень активности, выявлено сокращение депрессивности в 2,1 раза ($p < 0,05$) за счет увеличения суммарного времени активного плавания в 1,2 раза ($p < 0,05$) и сокращения пассивного (однако некоторое уменьшение данного показателя достоверным не оказалось) в тесте Порсолта. Депрессивно-подобное состояние высокоактивных самцов, развившееся на фоне дисбаланса андрогенов, установленное в открытом поле (см. рис. 1), нашло свое подтверждение в условиях вынужденного плавания: общее время неподвижности у этих животных возросло в 2,1 раза ($p < 0,05$), а время активного плавания сократилось в 1,2 раза ($p < 0,05$).

Введение животным сульпирида привело к ряду следующих изменений поведения крыс, отличающихся по уровню поведенческой активности, в тесте Порсолта. Так, блокирование пресинаптических рецепторов дофамина сульпиридом привело к восстановлению исходного уровня депрессивности среднеактивных самцов, на что указывает увеличение в 2,1 раза ($p < 0,05$) суммарного времени неподвижности у них (см. рис. 2, А) и сокращение времени

активного плавания в 1,3 раза ($p < 0,05$) (см. рис. 2, В). У высокоактивных в контроле самцов установлен антидепрессивный эффект сульпирида, проявляющийся в сокращении времени неподвижности животных данной подгруппы в 1,5 раза ($p < 0,05$), что позволило достичь исходных значений. Данный эффект оказался возможным за счет увеличения времени пассивного плавания высокоактивными самцами в 2,3 раза ($p < 0,05$).

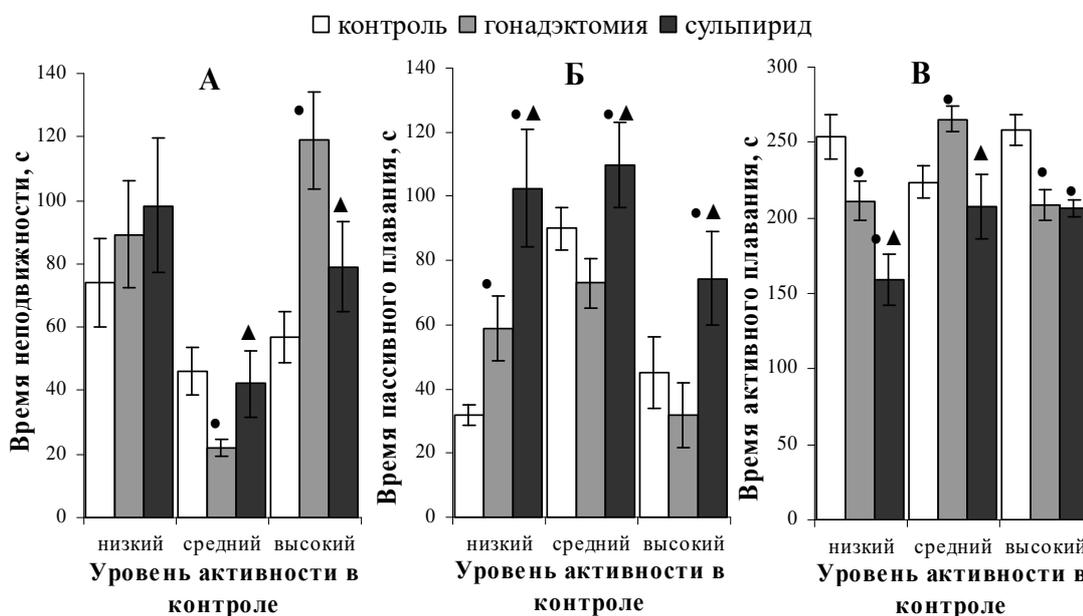


Рис. 2. Характер влияния дисбаланса андрогенов и последующего введения сульпирида самцам белых крыс на суммарное время неподвижности (А), пассивного (Б) и активного (В) плавания в тесте Порсолта.

● – различия статистически значимы при сравнении показателей, полученных после гонадэктомии с исходными (контрольными), ▲ – различия статистически значимы при сравнении значений показателей, полученных после введения сульпирида с результатами гонадэктомии.

Частота периодов замираний у экспериментальных животных менялась незначительно: гонадэктомия привела к сокращению количества периодов неподвижности у низко- и среднеактивных самцов в 1,4–1,5 раза ($p < 0,05$), последующее введение сульпирида животным значимо на данном показателе не отразилось.

Касательно изменения эмоциональности, устанавливаемой по количеству фекальных болюсов, при дисбалансе андрогенов и последующем введении сульпирида, выявлено, что реакция экспериментальных животных на данные воздействия не зависела от исходного уровня активности крыс (рис. 3, А): гонадэктомия привела к угнетению эмоциональности в 1,4–2,1 раза ($p < 0,05$), а сульпирид либо не повлиял на данный эффект недостатка мужских половых

гормонов, либо усилил его (у среднеактивных самцов количество фекальных болюсов продолжило сокращаться после инъекций сульпирида в 1,8 раза ($p < 0,05$)).

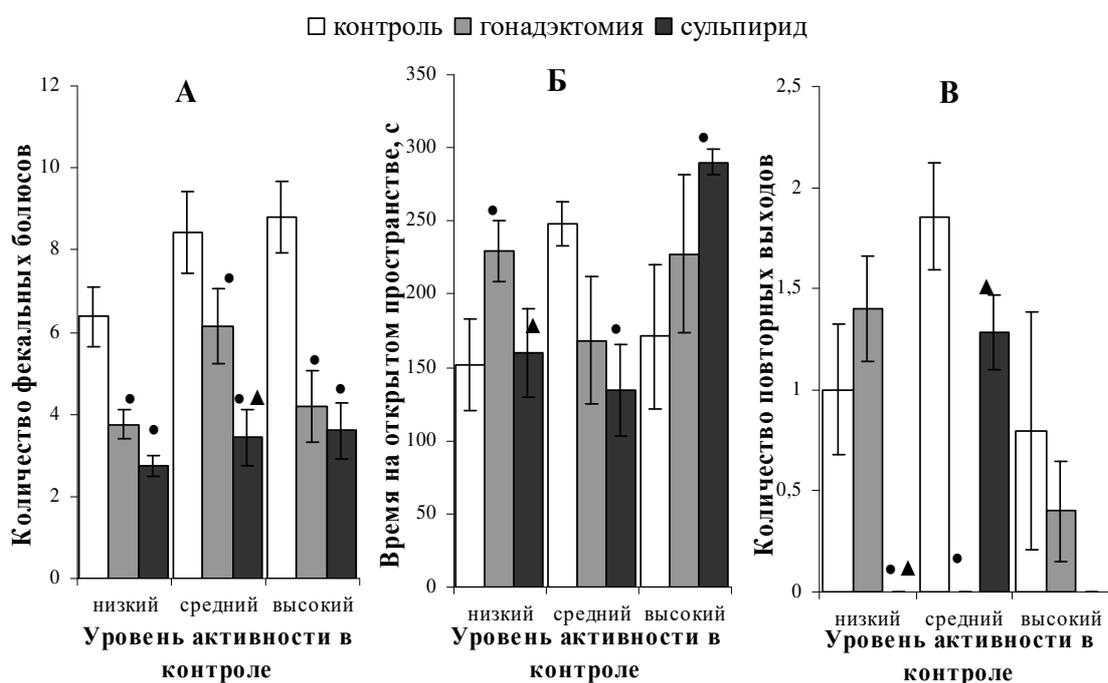


Рис. 3. Характер влияния дисбаланса андрогенов и последующего введения сульпирида самцам белых крыс на эмоциональность (А) в тесте Порсолта, время пребывания на открытом пространстве (Б) и частоте выходов на него (В) в приподнятом крестообразном лабиринте.

● – различия статистически значимы при сравнении показателей, полученных после гонадэктомии с исходными (контрольными), ▲ – различия статистически значимы при сравнении значений показателей, полученных после введения сульпирида с результатами гонадэктомии.

На тревожное поведение самцов, отличающихся по уровню поведенческой активности, дисбаланс андрогенов и сульпирид повлияли мало. Чувствительность к снижению андрогенов проявили низкоактивные самцы, уровень тревожности которых после гонадэктомии сократился в 1,5 раза ($p < 0,05$), на что указывает соответствующее увеличение времени пребывания на открытом пространстве лабиринта самцов этой подгруппы (см.рис. 3, Б). В данной части полученные результаты согласуются с литературными данными [33, 36]. Обусловлен анксиолитический эффект гонадэктомии, по мнению исследователей, средством тестостерона к ГАМК_A-рецепторам [36] и взаимным влиянием гонадной и ГАМК-ергической систем.

Как видно из рисунка, блокирование ауторецепторов дофамина восстановило

исходный уровень тревожности у низкоактивных самцов. На крыс других подгрупп активности гонадэктомия влияния не оказала, а последующее введение сульпирида привело к тому, что у среднеактивных крыс тревожность возросла относительно исходных ее значений, а у высокоактивных – сократилась относительно значений контрольного тестирования. При этом частота повторных выходов на открытое пространство после гонадэктомии изменилась только в подгруппе со средним уровнем активности – крысы перестали совершать повторные выходы. Сульпирид восстановил значения данного показателя до исходного уровня в этой подгруппе, в то время как у низкоактивных самцов полностью угнетал их (см. рис. 3, В).

Полученные результаты могут свидетельствовать о том, что пониженный уровень стероидных гормонов служит причиной нарушения функций регуляторных систем, что влечет изменения не только в вегетативных, но и в психоэмоциональных функциях [37–39]. Очевидно, что после гонадэктомии содержание тестостерона снижается не только в плазме крови, но и в гипоталамусе, миндалине и поясной извилине. При этом, как указывает Сашков В. А. [33], уровень данного стероида повышается в гиппокампе, что свидетельствует о способности к его синтезу данной областью головного мозга, что, возможно, частично компенсирует потребности нейрональных структур. Вместе с тем, нарушения высших психических функций мозга, связанных с недостатком половых гормонов после гонадэктомии, может быть обусловлено и рядом морфологических перестроек. Так, в литературе имеются данные касательно увеличения плотности нейронов и глиоцитов в коре мозга на фоне дисбаланса андрогенов [40].

Очевидно, что в ряде случаев, стимуляция дофаминергической системы с помощью блокирования ауторецепторов дофамина сульпиридом привела к компенсации некоторых поведенческих нарушений у гонадэктомированных животных. При этом подобный эффект находился в некоторой зависимости от индивидуально-типологических особенностей лабораторных животных. Среди причин положительного влияния сульпирида на психоэмоциональный статус самцов с дисбалансом андрогенов следует выделить следующие. Прежде всего, это участие тестостерона в биосинтезе дофамина, его хранении, высвобождении и обратном захвате. Как известно, гонадэктомия приводит к сокращению плотности рецепторов к дофамину [34, 41], что нарушает функционирование дофаминергического синапса, а блокирование пресинаптических рецепторов способствует увеличению количества медиатора в синаптической щели.

Таким образом, полученные данные дополняют имеющиеся в литературе сведения относительно участия гонадной системы в формировании психоэмоционального состояния животного организма с учетом его индивидуальных особенностей и возможности коррекции поведенческих нарушений, вызванных дисбалансом андрогенов, с помощью блокатора ауторецепторов дофамина.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

1. Дисбаланс андрогенов, вызванный гонадэктомией, увеличивает проявления исследовательской и двигательной активности в 3,1 и 2,3 раза соответственно и

не влияет на груминговую активность в открытом поле у исходно низкоактивных самцов белых крыс. Последующее введение сульпирида увеличивает частоту актов груминга, не оказывая значимых влияний на поведенческую активность животных этой подгруппы.

2. Гонадэктомия угнетает исследовательскую и двигательную активность у средне- (в 3,7 и 2,5 раза) и высокоактивных (в 5,1–5,4 раза) животных, а также груминговое поведение. Последующее блокирование ауторецепторов дофамина восстанавливает эти поведенческие показатели у самцов с исходно средним уровнем активности и в еще большей степени угнетает проявления исследовательской активности (в 4,5 раза) у высокоактивных крыс, не влияя на их двигательную и груминговую активность.
3. Снижение уровня андрогенов после гонадэктомии оказывает анксиолитический эффект на низкоактивных самцов и не влияет по показателю тревожности в приподнятом крестообразном лабиринте у остальных животных. Сульпирид восстанавливает исходный уровень тревожности низкоактивных крыс.
4. В тесте Порсолта гонадэктомия приводит к разнонаправленным эффектам на уровень депрессивности: у низкоактивных животных чувствительность к дефициту андрогенов отсутствует, у среднеактивных депрессивность сокращается в 2,1 раза, а у высокоактивных – увеличивается в 2,2 раза. Последующее введение сульпирида не оказало влияния на низкоактивных самцов и восстановило исходные показатели депрессивности у остальных подгрупп крыс.
5. Дисбаланс андрогенов угнетает в 1,4–2,1 раза эмоциональность у самцов белых крыс не зависимо от их исходного уровня активности. Блокирование ауторецепторов дофамина усиливает данный эффект у среднеактивных крыс и не влияет на животных с крайними уровнями активности.

Список литературы

1. Abeliovich A. Midbrain dopamine neuron differentiation: factors and fates / A. Abeliovich, R. Hammond // *Developmental Biology*. – 2007. – V. 304. – P. 447–454.
2. Ben-Jonathan N. Dopamine as prolactin (PRL) inhibitor / N. Ben-Jonathan, R. Hnasko // *Endocrine Reviews*. – 2001. – V. 22, № 6. – P. 724–763.
3. Guillin O. Neurobiology of Dopamine in Schizophrenia / O. Guillin, M. Laruelle // *Cell. Sci. Rev.* – 2005. – V. 2. – P. 72–78.
4. Beninger R. Dopamine D1-like receptors and reward-related incentive learning. / R. Beninger, R. Miller. // *Neurosci. Biobehav. Rev.* – 1998. – V. 22, № 2. – P. 335–345.
5. Kimberg D. Y. Cognitive effects of the dopamine receptor agonist pergolide / D. Y. Kimberg, M. D'Esposito // *Neuropsychol.* – 2003. – V. 41. – P. 1020–1027.
6. Previc F. H. Dopamine and the Origins of Human Intelligence / F. H. Previc // *Brain Cogni.* – 1999. – V. 41(3). – P. 299–350.
7. Силькис И. Г. Взаимовлияние серотонина и дофамина на функционирование дорзального стриатума и двигательную активность (гипотетический механизм) / И. Г. Силькис // *Нейрохимия*. – 2014. – Т. 31, № 3. – С. 185–199.
8. Chen N. Structure and function of dopamine transporter / N. Chen, M. E. Reith // *Eur. J. Pharmacol.* – 2000. – V. 405. – P. 329–339.
9. Miller G. Dopamine transporters and neuronal injury / G. Miller, R. Gainetdinov, A. Levey // *Trends Pharmacol. Sci.* – 1999. – V. 20. – P. 424–429.

10. Николишин А. Е. Алкогольная зависимость и депрессия: дофаминовая нейромедиация как ключ к изучению коморбидности / А. Е. Николишин, А. Г. Гофман, А. О. Кибитов // Наркология. – 2016. – №8. – С. 80–87.
11. Федотова Ю. О. Вовлечение D2-подтипа дофаминовых рецепторов в тревожное поведение овариоэктомированных крыс / Ю. О. Федотова // Пат. Физиол. Эксперимент. Терап. – 2008. – № 3. – С. 10–13.
12. Федотова Ю. О. Эффекты эстрогенов в центральной нервной системе / Ю. О. Федотова, Н. С. Сапронов // Усп. Физиолог. Наук. – 2007. – Т. 38. – С. 46–62.
13. McEwen B. S. Estrogen actions throughout the brain / B. S. McEwen // Rec. Progress Horm. Res. – 2002. – V. 57. – P. 357–384.
14. McEwen B. S. Genome and hormones: gender differences in physiology. Invited review: estrogens effects on the brain: multiple sites and molecular mechanisms / B. S. McEwen // J. Appl. Physiol. – 2001. V. 91. – P. 2785–2801.
15. Раевский К. С. Дофаминергические системы мозга: рецепторная гетерогенность, функциональная роль, фармакологическая регуляция / К. С. Раевский, Т. Д. Сотникова, Р. Р. Гайнетдинов // Успехи физиол. наук. – 1996. – № 4. – С. 3–30.
16. Раевский К. С. Дофаминовые рецепторы мозга: структура, функциональная роль, модуляция психотропными веществами / К. С. Раевский // Вопросы мед. Химии. – 1997. – Т. 43, Вып. 6. – С. 553–565.
17. Федотова Ю.О. Ефекти стимуляції та блокади дофамінових рецепторів на емоційні форми поведінки самиць щурів / Ю.О. Федотова, Г.О. Фролова // Фізіологічний журнал. – 2014. – Т. 60, №6. – С. 41–45.
18. Белова Е. И. Основы нейрофармакологии: Учеб. пособие для студентов вузов / Е. И. Белова. – М.: Аспект Пресс, 2010. – 176 с.
19. Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств / Под ред. А. Н. Миронова, Н. Д. Бунатян. – Москва: Минздрав РФ, ЗАО «Гриф и К», 2012. – 944 с.
20. Буреш Я. Методики и основные эксперименты по изучению мозга и поведения / Я. Буреш, О. Бурешова, Д. П. Хьюстон. – Москва: Высшая школа, 1991. – 399 с.
21. Kudryavtseva N. Social defeats, depression and anxiety / N. Kudryavtseva // Behavioural Pharmacology. – 1995. – V.6 (1). – P. 59.
22. Porsolt R. D. Behavioural despair in rats: a new model sensitive to antidepressant treatments / R. D. Porsolt, G. Anton, N. Blavet // Eur. J. Pharmacol. – 1978. – V. 47. – P. 379–391.
23. Амикишиева А.В. Поведенческое фенотипирование: современные методы и оборудование / А.В. Амикишиева // Вестник ВОГиС. –2009. – Т. 13 (3). – С. 529–542.
24. Sergutina A. V. The effects of L-DOPA on glutamate dehydrogenase activity in the cerebral neurons of rats with different motor activities / A. V. Sergutina // Neurochemical Journal. – 2010. – V.4 (1). – P. 25–29.
25. Шаляпина В. Г. Изменение приспособительного поведения активных и пассивных крыс вistar в водно-иммерсионной модели депрессии / В. Г. Шаляпина, Е. А. Вершинина, В. В. Ракицкая // Журнал ВНД им. И. П. Павлова. – 2006. – № 4. – С. 543–547.
26. Сапронов Н. С. Влияние L-триптофана на условный рефлекс активного избегания у крыс-самцов с повышенным уровнем тестостерона. / Н. С. Сапронов, Ю. О. Федотова // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. – 2000. – № 7. – С. 67–69.
27. Киршенблат Я. Д. Общая эндокринология: уч. пособие для студентов университетов / Я. Д. Киршенблат. – М.: Высш. школа, 1965. – 316 с.
28. Фролова Г. А. Поведенческие эффекты блокирования D2/D3-рецепторов дофамина у алкоголизированных самцов белых крыс с разным уровнем поведенческой активности / Г. А. Фролова // Крымский журнал экспериментальной и клинической медицины. – 2017. – Т. 7, № 4. – С. 75–84.
29. Судаков К. В. Экспериментальные подходы к индивидуальной медицине: зависимость эффектов фармакологического воздействия от характера поведения животных / К. В. Судаков, А. В. Котов, С. С. Перцов // Вестник Уральской медицинской академической науки. – 2004. – № 1. – С. 51–57.
30. Исмаилова Х. Ю. Индивидуальные особенности поведения (моноаминергические механизмы) / Х. Ю. Исмаилова, Т. М. Агаев, Т. П. Семенова. – Баку: Нурлан, 2007. – 228 с.

31. Анохина И. П. О единстве биологических механизмов индивидуальной предрасположенности к злоупотреблению различными психоактивными веществами / И. П. Анохина, А. Г. Веретинская, Г. Н. Васильева // Физиология человека. – 2000. – Т. 26, №6. – С. 74–81.
32. Доведова Е. Л. Особенности метаболизма нейромедиаторов в корково-подкорковых структурах мозга крыс, различающихся по поведенческим характеристикам / Е. Л. Доведова, М. Ю. Монакова // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. – 2000. – Т. 130, № 9. – С. 289–291.
33. Сашков В. А. Взаимосвязь уровня нейроактивных стероидов в мозге, поведения и тревожности у самцов крыс с разным гормональным статусом / В. А. Сашков // Нейрохимия. – 2009. – Т. 26, №2. – С. 117–126.
34. Федотова Ю. О. Влияние агониста и антагониста D2-типа дофаминовых рецепторов на обучение при разном уровне андрогенов у крыс / Ю. О. Федотова // Журнал «Орбиталь». – 2017. – №14. – С. 38–48.
35. Сапронов Н. С. Влияние пара-хлорфенилаланина на поведение гонадэктомированных крыс-самцов / Н. С. Сапронов, Ю. О. Федотова // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. – 2001. – Т. 131, № 2. – С. 141–143.
36. Амикшеева А. В. Тестостерон и поведение: участие гормона в психотропных эффектах баклофена / А. В. Амикшеева // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. – 2007. – Т. 143, №2. – С. 222–226.
37. De Kloet E. K. Hormones, Brain and Stress / E. K. De Kloet // Endocrine Regulations. – 2003. – Vol. 37. – P. 51.
38. Стеняева Н. Н. Половые стероиды и функции головного мозга / Н. Н. Стеняева, Д. Ф. Хритинин, В. Ю. Григорьев, А. А. Куземин // Гинекология. – 2017. – №2. – С. 9–14.
39. McHenry J. Sex differences in anxiety and depression: role of testosterone / J. McHenry, N. Carrier, E. Hull, M. Kabbaj // Front. Neuroendocrinol. – 2014 – Vol. 35 – P. 42–57.
40. Рыжавский Б. Я. Влияние гонадэктомии половозрелых крыс на численную плотность глиоцитов и нейронов в неокортексе и гиппокампе / Б. Я. Рыжавский, О. В. Демидова, Е. В. Васильева, И. Р. Еременко, Т. В. Соколова // Дальневосточный медицинский журнал. – 2013. – №4. – С. 64–67.
41. Beaulieu J. M. The physiology, signaling, and pharmacology of dopamine receptors / J. M. Beaulieu, R. R. Gainetdinov // Pharmacol. Rev. – 2011. – Vol. 63, № 1. – P. 182–217.

EFFECTS OF SULPIRIDE ON THE INDIVIDUAL DIFFERENCES IN BEHAVIORAL RESPONSES OF GONADEKTOMIZED MALE RATS IN A BEHAVIORAL TEST BATTERY DEPENDING ON BASELINE OF THEIR ACTIVITY IN THE OPEN FIELD

Bogdanova S. A., Frolova G. A.

*Donetsk national university, Donetsk, Ukraine
E-mail: gal_alex_frolova@mail.ru*

Research objective consisted in the studying of influence of the Sulpiride as selection blocker of presynaptic dopamine receptors on a psychoemotional condition of males of white rats taking into account individual and typological features against the background of an imbalance of androgens.

Method. The experiment is executed on two groups of sexually mature rats-males (160–190 g).

Locomotor and exploratory activity, grooming behavior of animals was assessed using open field within 5 minutes. The level of depressiveness of animals was determined using the standard Porsolt test counting the number and total duration of periods of

immobilization of the animal. The number of fecal boluses was tried about emotional animals. The anxiety level of rats was determined in the elevated plus-maze by the total time of stay of the animal in the open space of the maze for 5 minutes of testing and the frequency of repeated outputs on it.

After the initial (control) test battery in the above test animals were divided into three subgroups according to the severity of exploratory activity in the open field. Imbalance of androgens was modelled by means of a bilateral gonadectomy. 14 days later animals passed repeated test in the battery of tests for clarification of nature of influence of an imbalance of androgens on their behavior. After that rat received Sulpiride (10 mg/kg) injections within 14 days. After which the animals were again tested.

Results. It has been discovered that androgen imbalance caused by gonadectomy affects differently animals' psychoemotional characteristics depending on baseline of their activity. Thus, gonadectomy increases the manifestations of research and motor activity by 3.1 and 2.3 times respectively and does not affect the grooming activity of the initially low-active male white rats in the open field. Subsequent administration of sulpiride increases the frequency of grooming acts without significant influence on animals' behavioral activity in this subgroup. Gonadectomy depresses research and motor activity of medium-active animals (3.7 and 2.5 times) and high-active animals (5.1–5.4 times), as well as grooming behavior. Subsequent blocking of dopamine autoreceptors restores these behavioral parameters of the initially medium-active males and inhibits to a greater extent the manifestations of research activity of high-active rats (4.5 times) without affecting their motor and grooming activity. Retrogression of androgens due to gonadectomy has anxiolytic effect on low-active males and does not influence on anxiety indicators of other animals in elevated plus maze.

Sulpiride restores the initial anxiety indicator of low-active rats. In the Porsolt test, gonadectomy leads to multidirectional effects on the level of depression: low-active animals do not have sensitivity to androgen deficiency, depression of medium-active animals decreases by 2.1 times, and depression of high-active animals increases by 2.2 times. Subsequent administration of Sulpiride has not affected low-active males and has restored the initial depression parameters of other rats' subgroups. Androgen imbalance inhibits emotionality of male white rats by 1.4–2.1 times regardless of their initial level of activity. Blocking of dopamine autoreceptors increases this effect on medium-active rats and does not affect animals with extreme levels of activity.

Conclusion. Androgen imbalance causes psychoemotional disorders which are corrected by blocking of autoreceptors of dopamine, depending on individual characteristic of an animal organism.

Keywords: depressive, anxiety, exploratory activity, emotionality, emotional, gonadectomized, Sulpiride.

References

1. Abeliovich A., Hammond R. Midbrain dopamine neuron differentiation: factors and fates, *Developmental Biology*, **304**, 477 (2007).
2. Ben-Jonathan N., Hnasko R. Dopamine as prolactin (PRL) inhibitor, *Endocrine Reviews*, **22** (6), 724 (2001).

3. Guillin O., Laruelle M. Neurobiology of Dopamine in Schizophrenia, *Cell. Sci. Rev.*, **2**, 72 (2005).
4. Beninger R., Miller R. Dopamine D1-like receptors and reward-related incentive learning, *Neurosci. Biobehav. Rev.*, **22** (2), 335 (1998).
5. Kimberg D. Y., D'Esposito M. Cognitive effects of the dopamine receptor agonist pergolide, *Neuropsychology*, **41**, 1020 (2003).
6. Previc F. H. Dopamine and the Origins of Human Intelligence, *Brain Cogni.*, **41** (3), 299 (1999).
7. Silkis I. G. Mutual Influence of Serotonin and Dopamine on the Functioning of the Dorsal Striatum and Motor Activity (Hypothetical Mechanism), *Neurochemical Journal*, **31** (3), 185 (2014) (In Russian).
8. Chen N., Reith M. E. Structure and function of dopamine transporter, *Eur. J. Pharmacol.*, **405**, 329 (2000).
9. Miller G., Gainetdinov R., Levey A. Dopamine transporters and neuronal injury, *Trends Pharmacol. Sci.*, **20**, 424 (1999).
10. Nikolishin A. E., Gofman A. G., Kibitov A. Yu. Alcohol dependence and depression: dopamine neuromediation as the clue to the study of comorbidity, *Narkology*, **15** (8), 80 (2016) (In Russian)
11. Fedotova Yu. O. D2-subtype dopaminergic receptors is involved in anxiety behavior in ovariectomized rats, *Pathological physiology and experimental therapy*, **3**, 10 (2008) (In Russian)
12. Fedotova Yu. O., Saponov N. S. Effects of Estrogen in the CNS, *Advances of physiological sciences*, **38**, 46 (2007) (In Russian)
13. McEwen B. S. Estrogen actions throughout the brain, *Rec. Progress Horm. Res.*, **57**, 357 (2002).
14. McEwen B. S. Genome and hormones: gender differences in physiology. Invited review: estrogens effects on the brain: multiple sites and molecular mechanisms, *J. Appl. Physiol.*, **91**, 2785 (2001).
15. Raevsky K. S., Sotnikova T. D., Gainetdinov R. R. Dopaminergic brain systems: receptor heterogeneity, functional role, pharmacological regulation, *Advances of physiological sciences*, **4**, 3 (1996) (In Russian)
16. Raevsky K. S. Dopamine receptors of a brain: structure, the functional role, modulation by psychotropic substances, *Questions of medical chemistry*. **43** (6), 553 (1997) (In Russian)
17. Fedotova Yu. O., Frolova G. A. Effects of stimulation and blocking of dopamine receptors on emotional behaviors in female rats, *Physiological Journal*, **60** (6), 41 (2014) (In Ukrainian)
18. Belova E. I. Osnovi neurofarmakologii (Fundamental of neuropharmacology), 176 p. (Moscow: Aspect Press, 2010) (In Russian)
19. Mironova A. N., Bunatyan N. D. (reds.), Rukovodstvo po provedeniyu doklinicheskikh issledovaniy lekarstvennykh sredstv (Guide to carrying out preclinical trials of medicines), 944 p. (Moscow: Minzdrav RF, ZAO «Grif i K», 2012). (In Russian).
20. Buresh Ja., Bureshova O., Huston D. P. Metodiki i osnovnye jeksperimenty po izucheniju mozga i povedenija (Techniques and the basic experiments for the study of a brain and behavior), 399p. (Moscow: Higher School, 1991). (In Russian)
21. Kudryavtseva N. Social defeats, depression and anxiety, *Behavioural Pharmacology*, **6** (1), 59 (1995).
22. Porsolt R. D., Anton G., Blavet N. Behavioural despair in rats: a new model sensitive to antidepressant treatments, *Eur. J. Pharmacol.*, **47**, 379 (1978).
23. Amikishieva A. V. Behavioral phenotyping: up-to-date methods and equipment, *Proceedings VOGiS*, **13** (3), 259 (2009). (In Russian)
24. Sergutina A. V. The effects of L-DOPA on glutamate dehydrogenase activity in the cerebral neurons of rats with different motor activities, *Neurochemical Journal*, **4** (1), 25 (2010). (In Russian)
25. Shalyapina V. G., Vershinina E. A., Rakitskaya V. V., Rizhova L. Yu. Alteration of Active and Passive Wistar Rats Adaptive Behavior in Water-Immersion Model of Depression, *I. P. Pavlov Journal of Higher Nervous Activity*, **36** (4), 543 (2006). (In Russian)
26. Saponov N. S., Fedotova Yu. O. Effect of L-tryptophan on active avoidance response in male rats with increased testosterone level, *Bulletin of Experimental Biology and Medicine*, **129** (7), 67 (2000). (In Russian)
27. Kirshenblath Ya. D. Obshaya endocrinologiya (Common endocrinology). 316 p. (Moscow: Higher School, 1965) (In Russian)
28. Frolova G. A. Behavioural effects of blocking D2/D3-receptors of dopamine with alcoholized males of white rats at different levels of behavioural activity, *Crimean Journal of the experimental and clinical medicine*, **7** (4), 75 (2017) (In Russian)

29. Sudakov K. V., Kotov A. V., Pertcov S. S. Experimental approaches to personalized medicine: the dependence of the effects of pharmacological exposure to the nature of animal behavior. *Journal of Ural Medical Academic Science*, **1**, 51 (2004). (In Russian)
30. Ismailova H. Yu., Agaev T. M., Semenova T. P. Individual'nye osobennosti povedeniya (monoaminergicheskie mehanizmy) (Specific features of behavior (monoaminergic mechanisms)), 228 p. (Baky: Nyrlan, 2007). (In Russian)
31. Anohina I. P., Veretinskaya A. G., Vasilieva G. N. About unity of biological mechanisms of individual predisposition to abuse of various psychoactive substances, *Human physiology*, **26** (6), 74 (2000) (In Russian)
32. Dovedova E. L., Monakov M. Yu. Metabolism of neurotransmitters in cortical and subcortical brain structures in rats with different behavioral characteristics, *Bulletin of Experimental Biology and Medicine*, **130** (3), 861 (2000) (In Russian)
33. Sashkov V. F. Interrelation of level of the neurofissile steroids in a brain, behavior and uneasiness at males of rats with the different hormonal status, *Neurochemical Journal*, **26** (2), 117 (2009) (In Russian)
34. Fedotova Yu. O. Influence of agonist and antagonist for d2-type dopaminergic receptors on avoidance performance in rats with different androgens levels, *Orbital*, **14**, 38 (2017) (In Russian)
35. Sapronov N. S., Fedotova Yu. O. Influence of para-chlorophenylalanine on behavior of gonadectomized rats males, *Bulletin of Experimental Biology and Medicine*, **131** (2), 141 (2001). (In Russian)
36. Amiksheeva A. V. Testosterone and behavior: participation of hormone in psychotropic effects of Baclofenum, *Bulletin of Experimental Biology and Medicine*, **143** (2), 222 (2007). (In Russian)
37. De Kloet E. K. Hormones, Brain and Stress, *Endocrine Regulations*, **37**, 51 (2003).
38. Stenyaeva N. N., Chritinin D. F., Grigoriev V. Yu., Kusemin A. A. Sexual steroids and functions of the brain, *Gynecology*, **2**, 9 (2017) (In Russian)
39. McHenry J., Carrier N., Hull E., Kabbaj M. Sex differences in anxiety and depression: role of testosterone, *Front. Neuroendocrinol.*, **35**, 42 (2014).
40. Ryzhavskii B. Ya., Demidova O. V., Vasileva E. V., Yeremenko I. R., Sokolova T. V. The effect of gonadoectomy in mature rats on quantitative density of glyocytes and neurons in neocortex and hippocampus, *Far East medical magazine*, **4**, 64 (2014) (In Russian)
41. Beaulieu J. M., Gainetdinov R. R. The physiology, signaling, and pharmacology of dopamine receptors, *Pharmacol. Rev.*, **63** (1), 182 (2011).

УДК 616-006:574.52

ЛЕКАРСТВЕННЫЕ ПРОТИВООПУХОЛЕВЫЕ ПРЕПАРАТЫ ИЗ МОРСКИХ ОРГАНИЗМОВ (ОБЗОР)

Бочарова Е. А., Кравцова В. Н.

¹*ФГБУН «Институт морских биологических исследований им. А. О. Ковалевского РАН»,
Севастополь, Россия*

²*Государственная образовательная организация высшего профессионального образования
«Донецкий национальный медицинский университет им. М. Горького», Донецк, Украина
E-mail: eabocharova.inbum@gmail.com*

Морские вторичные метаболиты являются субстратами для значительного количества лекарств, большинство из которых находятся в доклиническом исследовании. Ограниченное их количество одобрены и применяются в лечебной практике. В работе представлены литературные данные о разрешенных к применению таких противоопухолевых препаратах морского происхождения, как Цитарабин, Гемцитабин, Трабектедин, Brentuxимаб ведотин, Эрибулин мезилат. Кратко описаны механизмы действия и отличительные особенности каждого из них. Данные литературы свидетельствуют о том, что природные противоопухолевые препараты морского происхождения обладают уникальными разнонаправленными механизмами воздействия на опухолевые процессы, имеют несколько конкретных мишеней с минимально приемлемыми побочными эффектами и представляют интерес благодаря их цитотоксической и хемосенсибилизирующей активности.

Ключевые слова: противоопухолевые лекарственные препараты, морские организмы.

ВВЕДЕНИЕ

Анализ возможных коррелятов между индивидуальными особенностями паттерна ЭЭГ и уровнем развития интеллекта является одним из актуальных направлений исследований, посвященных поиску нейробиологических механизмов, лежащих в основе формирования когнитивных способностей у человека. К настоящему времени примеры наличия корреляционных зависимостей между индивидуальным уровнем развития интеллекта и различными параметрами ЭЭГ-активности продемонстрированы уже во многих исследованиях. Можно выделить две группы характеристик ЭЭГ, для которых были обнаружены такого рода соотношения: во-первых, показатели амплитуды ритмов, во-вторых, различные параметры коннективности ЭЭГ, такие, например, как когерентность. Мощность ЭЭГ, в целом, положительно коррелирует с уровнем общего интеллекта [1, 2]. В частности, данная закономерность имеет место для частотных диапазонов, соответствующих альфа- и бета-ритмам [3, 4]. В случае низкочастотной ЭЭГ (дельта- и тета-ритмы) более высоким показателям интеллекта соответствовала сниженная амплитуда данных ритмов в выборке детей, демонстрирующих трудности в обучении [1], чего, однако, не наблюдалось в выборке типично развивающихся детей [5]. Показана более сильная связь между интеллектом и

мощностью высокочастотного альфа-ритма (10–12 Гц), по сравнению с низкочастотным (8–9 Гц) [6, 7].

Одним из объектов в исследованиях нейрофизиологических коррелятов интеллекта может выступать активность системы зеркальных нейронов в связи с представлениями о ее роли в процессах социального научения через подражание [8, 9]. Опосредуя взаимосвязь между собственными действиями человека и его восприятием действий других, оптимальное развитие данной системы должно быть важным фактором формирования общего интеллекта. Популярна гипотеза о том, что активность сенсомоторного (мю-) ритма ЭЭГ можно рассматривать в качестве одного из функциональных маркеров процессов активации «зеркальной» системы мозга [10, 11]. Считается, что данный ритм отражает процессы активации и торможения в соматосенсорных и моторных корковых проекциях. В частности, при осуществлении движений правой рукой максимальная десинхронизация мю-ритма регистрируется в центральном отведении С3 [12]. Полагают, что связанная с событием десинхронизация, вызванная процессами таламокортикальной стимуляции, является надежным коррелятом активации нейронных ансамблей [13]. Люди, имеющие более высокие показатели интеллекта, как правило, демонстрируют более выраженную корковую активацию в задачах, предполагающих обработку визуо-пространственной информации [14].

Ранее нами уже была выявлена взаимосвязь между модуляциями мю-ритма в процессе наблюдения за действиями других и уровнем когнитивного развития у детей [15]. Группой других исследователей опубликованы данные о корреляции между уровнем невербального интеллекта и силой десинхронизации мю-ритма при осуществлении целенаправленных движений у взрослых испытуемых [16]. Целью настоящего исследования стал поиск возможных взаимосвязей между уровнем общего интеллекта и особенностями десинхронизации альфа-ритма при зрительном восприятии целенаправленных движений другого человека взрослыми. Рак - одно из самых серьезных смертельных заболеваний в современном мире, уносящее миллионы человеческих жизней ежегодно. Это одна из глобальных медицинских проблем, известных с древних времен, приобретающая все более угрожающие масштабы в 21-м столетии. Согласно данным статистики ВОЗ, ежегодно в мире диагностируется около 10 миллионов новых случаев рака, а на учете в специализированных учреждениях состоит более 35 миллионов человек. В текущем году, по оценкам экспертов ВОЗ, врачи диагностируют более 18 млн новых случаев онкологических заболеваний и около 9,6 млн человек скончаются от этой болезни. [1].

Несмотря на значительный прогресс в области диагностики и химиотерапии, рак остается второй из основных причин смерти в мире, унося каждую шестую жизнь. Новые подходы к борьбе с раком нередко терпят неудачу из-за частых генетических изменений и мутаций в онкологических геномах, что требует постоянного изучения механизмов развития разных типов рака и разработки новых препаратов для проведения эффективной химиотерапии. Так же, из-за высокой частоты побочных эффектов, вызванных современными химиотерапевтическими препаратами, для лечения больных раком по-прежнему требуются новые, более

эффективные противораковые средства. Для решения этих проблем разрабатываются лекарства на основе природных соединений, являющихся эффективными в отношении нескольких типов рака, влияющих на несколько мишеней, обладающих наименьшими побочными эффектами [2, 3].

Цель данной работы – представить обобщенные данные литературы об используемых в настоящее время, разрешенных к применению в лечебной практике, лекарственных противоопухолевых препаратах из морских организмов.

В настоящее время существует серьезная заинтересованность в исследовании природных химических соединений с противораковыми свойствами. Это объясняется тем, что, во-первых, растения продуцируют сложные биологически активные молекулы, эффективность которых превышает эффективность синтетических аналогов [4, 5]. Во-вторых, естественные противораковые соединения прекрасно вписываются в механизменный подход к разработке противоопухолевых средств. Убедительные доказательства показывают, что фитохимические вещества могут ингибировать раковые процессы, нарушая множественные механизмы, являющиеся центральными для развития рака [6, 7]. В третьих, на сегодняшний день доступны технологии, позволяющие выделять и идентифицировать второстепенные компоненты, которые могут быть столь же важны, как и основные фитохимические вещества. В-четвертых, природные соединения уже в течение длительного времени используются в практике, и зарекомендовали себя как высокоэффективные противораковые средства. [8]. В отличие от синтетических лекарств, которые действуют как молекулы-мишени, фитохимические вещества являются молекулами с несколькими мишенями, которые регулируют рост и прогрессирование рака [9].

Утверждение о преобладающей роли фитохимикатов в здравоохранении опирается на отчет Всемирной организации здравоохранения, в котором сообщается о том, что 80 % мирового населения использует лекарственные средства природного происхождения для первичной медико-санитарной помощи [10]. В настоящее время более 60 % коммерчески доступных противоопухолевых препаратов получают из природных источников, включая растения, морские организмы и микроорганизмы [10, 8].

Морские экосистемы содержат огромные, все еще неисследованные и таксономически разнообразные макро- и микроорганизмы. Хотя морские соединения представлены в современной фармакопее недостаточно, ожидается, что морская среда станет бесценным источником новых соединений в будущем, так как она представляет собой 95 % биосферы. В Национальном институте рака, США, скрининг доклинической цитотоксичности показал, что примерно 1 % испытываемых морских образцов продемонстрировали противоопухолевый потенциал по сравнению с 0,1 % испытываемых наземных образцов [11]. Этот 10-кратный перевес связан с большим химическим разнообразием морских организмов, что объясняется условиями обитания, присущими морской среде, такими как высокая соленость, высокое давление и относительно постоянная температура. Кроме того, считается, что огромная конкуренция за продукты питания и кислород стимулирует морские организмы к производству вторичных метаболитов для защиты и выживания [12].

Эти морские организмы способны создавать новые молекулы с большим структурным разнообразием и различными интересными фармакологическими свойствами [13–15].

Leal M. C. et al. [16] указывают на то, что подходящие природные источники для обнаружения новых потенциально биоактивных молекул многочисленны, и морская среда, укрывающая огромное разнообразие организмов, отличающихся своей физиологией и способностью к адаптации, становится одним из лучших мест для идентификации новых препаратов. Из-за технических ограничений эксплуатация морских организмов началась со сбора крупных существ, таких как красные водоросли, губки и мягкие кораллы, которые производят большое количество соединений с совершенно уникальными химическими структурами. Только беспозвоночные составляют приблизительно 60 % всех морских животных и были описаны как источник более 11 000 новых натуральных продуктов с 1990 года [17, 18].

Наиболее распространенные морские беспозвоночные – *Porifera*, *Cnidaria*, *Mollusca*, *Arthropoda* и *Echinodermata phyla*, обеспечивают значительное количество натуральных продуктов с фармакологическими свойствами, некоторые из которых уже находятся в клинических испытаниях [19]. В ответ на воздействие экстремальных и изменяющихся условий обитания они синтезируют большое количество вторичных метаболитов, которые не могут быть получены из других организмов. В дополнение к большой численности уникальных натуральных продуктов, создаваемых беспозвоночными, особым источником биоактивных соединений их делает и разнообразие группы [20]. Существует гипотеза о том, что высокое таксономическое разнообразие коррелирует с широким химическим разнообразием натуральных продуктов. Это разнообразие дает богатый источник химических соединений, являющихся достойными потенциальными кандидатами для производства противоопухолевых препаратов [21–24]. В настоящее время различные биологически активные вещества из разных беспозвоночных (конусные улитки, мягкие кораллы, губки, морские шприцы, морские черви, мшанки, морские слизняки и другие морские организмы) признаны важным источником противоопухолевых соединений [25, 14].

При изучении и эксплуатации морской среды внимание так же было обращено на такие микроорганизмы, как морские цианобактерии, морские грибы и ряд других групп морских бактерий, отличающихся способностью производить метаболиты с непревзойденными структурами. В настоящее время микроорганизмы являются крупным источником структурно разнообразных биоактивных метаболитов и некоторых других наиболее важных активных ингредиентов, известных на сегодняшний день. В последнее время было доказано, что многие соединения, ранее выделенные из морских макроорганизмов, таких как губки и оболочники, на самом деле являются продуктами метаболизма ассоциированных микроорганизмов [25].

Морские производные соединения охватывают широкий спектр химических классов, включая терпены, поликетиды, ацетогенины, пептиды, алкалоиды и многие другие. N. Sithranga Voopathy et al. [26] в своей работе отмечают, что морская флора богата химически активными веществами, преимущественно принадлежащими к

полифенолам и сульфатированным полисахаридам. Полифенолы и полисахариды являются преобладающей группой соединений, которые применимы в качестве антиоксидантов, иммуномодуляторов и антиканцерогенов, которые обладают и множеством других фармакологических свойств. Авторы указывают на то, что эти вещества активируют макрофаги, индуцируют апоптоз и предотвращают окислительное повреждение ДНК, тем самым контролируя канцерогенез.

Один из наиболее плодотворных подходов при терапии раковых заболеваний основан на поиске и применении природных ингибиторов важнейших внутриклеточных мишеней опухолевых клеток. Ведется активный поиск индукторов апоптоза опухолевых клеток, ингибиторов ангиогенеза, ингибиторов протеинкиназ различного типа, а также белков, регулирующих клеточный цикл.

Таким образом, идентификация новых структур и понимание их молекулярного механизма являются не только актуальными вопросами, но и могут в значительной степени способствовать конкретным стратегиям развития успешной химиотерапии раковых заболеваний.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Проведен поиск доступных литературных источников, опубликованных в базе данных Medline, Pubmed, Elibrary. В обзор включены публикации за период с 2003 года по 2018 года. Из 132 найденных источников литературы 78 были использованы для написания систематического обзора. В работе представлены сведения за последние 15 лет о разрешенных к применению в онкологической практике лекарственных противоопухолевых препаратах морского происхождения.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Многие морские соединения вызвали интерес в связи с их цитотоксичностью в отношении разных типов опухолей. Эти вещества могут проявлять противоопухолевый хемопревентивный или терапевтический эффект различными путями: прямым повреждающим действием на опухолевую клетку, замедлением скорости генерации опухолевых клеток настолько, что они практически перестают делиться, повреждением ДНК клеток и потерей ими основных свойств метастазирования и инвазивности, прерыванием клеточного цикла, индукцией апоптоза опухолевых клеток. На сегодняшний день из морских источников получено более 20 000 новых химических веществ, и это число растет с каждым годом. В последнее время морские вторичные метаболиты стали субстратами для значительного количества лекарств, большинство из которых находятся в доклиническом или раннем клиническом испытании, причем только ограниченное количество уже существует на рынке [20].

Пять лекарственных препаратов из морских беспозвоночных утверждены Управлением по санитарному надзору за качеством пищевых продуктов и медикаментов США (FDA) и Европейским агентством по лекарственным средствам (EMA) и зарегистрированы в качестве фармацевтических препаратов для лечения больных раковыми заболеваниями (табл. 1).

Таблица 1.
Противоопухолевые препараты из морских беспозвоночных, одобренные
ЕМЕА и FDA, доступные на рынке

Название препарата (аналоги)	Соединение / Морской организм	Механизм действия / Мишень	Химический класс / Активная концентрация	Впервые одобрено (организация /год/ производитель)	Ссылка
1	2	3	4	5	6
Цитарабин (Cytarabine, ARA-C, Cytosar-U [®] , Depocyt [®])	Spongothymidine/sponge <i>Cryptotethya crypta</i> Laubenfels, 1949	Ингибитор ДНК-полимеразы / Клетки острого миелоидного лейкоза (AML)	Нуклеозид / 272 нг/мл (IC ₅₀)	FDA/1969 / Bedford Laboratories, США, King Pharmaceuticals (Tenafly, NJ, США)	27, 28, 29, 25, 21
Гемцитабин (Gemcitabine, GEM, Gemzar)	Spongothymidine/sponge <i>Cryptotethya crypta</i> Laubenfels, 1949	Ингибитор рибонуклеотидредуктазы / Немелкоклеточный рак легкого, рак молочной железы, мочевого пузыря, яичников, поджелудочной железы, шейки матки	Нуклеозидный аналог дезоксицитидина	FDA / 2006 / ELI LILLY VOSTOK S.A. (Швейцария)	30, 21
Трабектедин (Ecteinascidin, Trabectedin, Yondelis [®])	Ecteinascidin 743/tunicate <i>Ecteinascidia turbinata</i> Herdman, 1880.	Ингибитор транскрипции генов. Взаимодействует с системой репарации нуклеотидов, связанной с транскрипцией / Клеточные линии карциномы человека MFC7 A549	Алкалоид / 0.6 нг/мл (IC ₇₀) 5.6 нг/мл (IC ₇₀)	ЕМЕА / 2007 / PharmaMar (Colmenar Viejo, Испания)	31, 25, 29, 21

Продолжение таблицы 1

1	2	3	4	5	6
Эрибулин мезилат Eribulin mesylate (Halaven®)	Halichondrin B / sponge <i>Halichodria okadai</i> Kadota, 1922	Ингибитор образования микротрубочек нетаксанового ряда/ Клетки рака толстой кишки DLD-1, андрогенчувствительные клетки аденокарциномы предстательной железы человека LNCaP клетки промиелоцитарной лейкемии HL-60	Макролид / 6.934 ng/mL (IC ₅₀) 0.365 ng/mL (IC ₅₀) 0.657 ng/mL (IC ₅₀)	FDA / 2010 / Eisai (Япония)	32, 25, 29, 21
Брентуксимаб ведотин (Brentuximab vedotin, Adcetris®)	Dolastatin 10/ <i>Dolabella auricularia</i> Lanark 1801 / <i>Symploca sp.</i> VP642 Kützing и Gomont, 1892	CD 30-направленный антителоцитотоксический лекарственный конъюгат / Неходжкинские лимфомы (Kagras 299)	Конъюгат антителолекарственной субстанции (КАТЛС) / 2.5 нг/мл (IC ₅₀)	FDA, 2011 / Seattle Genetics (Bothell, WA, США); Takeda GRDC (Япония)	33, 25, 29, 21

В своей работе Гелашвили Д. Б. и соавт. [34] указывают на то, что большой теоретический и практический интерес представляют антимикробные, цитотоксические и цитостатические вещества, выделенные из морских губок. Уже первые данные о противоопухолевом и цитостатическом действии биологически активных веществ губок стимулировали активный поиск новых соединений. В настоящее время из губок получен широкий спектр химических соединений, обладающих противоопухолевым действием. Так, из губок *Cryptotethia crypta* были получены нуклеозиды спонготимидин и спонгоуридин, а затем и ряд других, содержащих арабинозные остатки вместо рибозных или дезоксирибозных, как в большинстве соединений этого класса. Эти работы стимулировали появление в фармакологии концепции антиметаболитов [34]. Антиметаболиты включаются в биосинтез тех или иных биополимеров, чаще всего ДНК, и тормозят его, тем самым проявляя противоопухолевые свойства. На их основе были разработан арабинонуклеозидный медицинский препарат Цитарабин, который был синтезирован химическим путем в 1959 году, а затем продуцирован ферментацией *Streptomyces griseus*. Интересным является тот факт, что естественный аналог цитарабина позднее был выделен из коралла *Eunicella cavolini*, но, очевидно, выход извлечения 0,04 % превратил этот источник в экономически невыгодный [25]. Цитарабин по-прежнему является препаратом для лечения миелоидного лейкоза, неходжжинской лимфомы и

менингеальной лейкемии. Его можно использовать отдельно или в комбинации с другими противоопухолевыми агентами. Lichtman M. A. [35] считает, что даже спустя 40 лет после выхода на рынок цитарабина все еще нет лучшего подхода к лечению этих заболеваний, несмотря на исследовательские усилия по улучшению химиотерапии. Однако цитарабин обладает коротким периодом полувыведения, низкой стабильностью и ограниченной биодоступностью [36], причины, по которым терапевтические режимы состоят в непрерывной внутривенной инфузии в течение семи дней, в первые трое суток – в сочетании с другими препаратами, что может привести к передозировке и возникновению побочных эффектов. Поэтому, с целью недопущения побочных реакций и повышения эффективности цитарабина, разрабатываются разные пролекарственные стратегии и системы доставки. Первым шагом к улучшению биодоступности и стабильности цитарабина было понимание его механизма действия. Препарат обладает низкими скоростями пассивной диффузии через мембраны и входит в клетки, действующие как миметические субстраты для специализированных белков-переносчиков нуклеозидов. Хотя механизм действия еще не полностью изучен, доказано, что цитарабин внутриклеточно посредством дезоксицитидинкиназы превращается в активный трифосфат цитарабина. Активность происходит в результате ингибирования ДНК-полимеразы путем конкуренции с дезоксицитидинтрифосфатом, что приводит к ингибированию синтеза ДНК. Сообщалось также об ограниченном, но значительном включении цитарабина в ДНК и РНК, что так же может способствовать цитотоксическим эффектам [36]. Как и любые другие молекулы, натуральные морские соединения могут быть дополнительно улучшены либо путем усиления эффективности и селективности для мишени, либо достижением оптимальных фармакокинетических и фармакодинамических свойств. В случае цитарабина эти свойства улучшались путем модификации системы доставки, т.к. у пациентов с менингеальным лейкозом, например, цитарабин оказался неспособен проникать через гематоэнцефалический барьер, в результате чего его действие в головном мозге оказалось очень ограниченным [37]. Этот дефект был компенсирован составом липосомальной формы с медленным высвобождением цитарабина (DepoCyte[®]), которая обеспечивает его постепенное высвобождение, таким образом поддерживая длительные концентрации цитотоксических препаратов в спинномозговой жидкости. DepoCyte[®] одобрен в США и Европе. Как и в случае с другими известными одобренными препаратами, он по-прежнему используется более 40 лет после его первоначального одобрения. Существует немало работ, описывающих разные схемы применения цитарабина, интересной является статья David J. Newman, в которой рассматривается вопрос о применении высоких доз цитарабина во время ремиссии у взрослых пациентов с острой миелоидной лейкемией [38]. Цитарабин входит в Перечень основных лекарственных средств ВОЗ, наиболее эффективных и безопасных лекарственных средств, необходимых в системе здравоохранения.

Гемцитабин представляет собой нуклеозидный аналог противоопухолевого агента широкого спектра действия – дезоксицитидина, который обладает широким спектром противоопухолевой активности против солидных опухолей, оказывает антипролиферативное действие посредством «маскированного прекращения»

репликации ДНК и нацеливания на рибонуклеотидредуктазу – фермент, необходимый для репликации и восстановления ДНК, успешно сочетается с рядом различных иммунотерапевтических препаратов при раке [30, 24]. Гемцитабин, наряду с цитарабином, также относится к группе антиметаболитов – противоопухолевых препаратов, механизм действия которых реализуется как путем встраивания в молекулу ДНК (гемцитабин, цитарабин) и ингибирования фермента ϵ -ДНК-полимеразы (цитарабин), так и за счет особенностей метаболизма (капецитабин). В результате прекращается деление опухолевых клеток. Несмотря на структурное и фармакологическое сходство с цитарабином, гемцитабин обладает отличительными особенностями метаболизма и механизма действия. После прохождения через клеточную мембрану, при опосредовании переносчиков нуклеозидов, гемцитабин подвергается сложному внутриклеточному превращению в нуклеотиды гемцитабиндифосфат и гемцитабинтрифосфат, ответственный за его цитотоксические действия. Цитотоксическая активность гемцитабина может быть результатом нескольких действий, направленных на синтез ДНК. Он является пролекарством и, будучи перенесен в клетку, должен быть фосфорилирован дезоксицитидинкиназой в активную форму. Как гемцитабиндифосфат, так и гемцитабинтрифосфат ингибируют процессы, необходимые для синтеза ДНК. Включение гемцитабинтрифосфата в ДНК, скорее всего, является основным механизмом, посредством которого гемцитабин вызывает гибель клеток. После включения гемцитабинового нуклеотида на конце удлиняющейся цепи ДНК добавляется еще один дезоксинуклеотид, и после этого ДНК-полимеразы не могут действовать. Это действие, называемое «завершением маскированной цепи», похоже, блокирует лекарство в ДНК, потому что экзонуклеазы не могут удалить гемцитабиновый нуклеотид из этого предпоследнего положения. Включение гемцитабинтрифосфата в ДНК сильно коррелирует с ингибированием дальнейшего синтеза ДНК. По сравнению с цитарабином, гемцитабин служит лучшим транспортным субстратом, более эффективно фосфорилируется и медленнее элиминируется. Эти различия, а также само потенцирование, маскированное прекращение цепи и ингибирование рибонуклеотидредуктазы, которые не встречаются у цитарабина, могут объяснить, почему гемцитабин эффективен, а цитарабин не активен в солидных опухолях. [39]. Эта уникальная комбинация метаболических свойств и механических характеристик показывает, что гемцитабин может быть синергичным с другими лекарственными средствами, повреждающими ДНК. Более того, уникальные воздействия, которые метаболиты гемцитабина оказывают на клеточные регуляторные процессы, служат для повышения общей активности ингибирования клеточного роста. Это взаимодействие называется «самонаделение», этим эффектом обладает очень ограниченное число других противоопухолевых препаратов. Сообщается так же, что гемцитабин усиливает вакцинацию дендритных клеток в клинических и доклинических испытаниях, возможно, поощряя цитотоксический ответ Т-клеток против субдоминантных иммунных эпителиев [40–43]. По данным Suzuki E. et al. [44], гемцитабин выборочно удаляет миелоидные супрессорные клетки у мышей, и это может быть связано с потенцированием иммунотерапии, которое наблюдается в сочетании с данным

препаратом. Однако это не было широко изучено у людей, где имеются противоречивые сообщения о способности лечения с использованием гемцитабина для снижения процента Lin-DR-CD11b⁺MDSC у пациентов с запущенной аденокарциномой [45, 46]. В своих исследованиях Nowak A.K. et al. [47] указывают на то, что гемцитабин не ассоциируется с подавлением лимфатической активности у онкологических больных. Показано так же, что он увеличивает инфильтрацию опухоли у мышей, улучшая кросс-праймирование опухолеспецифических CD8⁺ Т-клеток. Кроме того, гемцитабин увеличивает абсолютные числа и процент периферических CD14⁺ моноцитов и DC у пациентов с раком поджелудочной железы [48, 49], а у мышей расширяет диапазон опухолевых антигенов путем смещения ответа Т-клеток CD8⁺ на субдоминантные эпитопы [50]. Гемцитабин одобрен для лечения больных с немелкоклеточным раком легкого, раком поджелудочной железы, мочевого пузыря, молочной железы [51].

Одним из современных подходов к разработке противоопухолевых средств является создание таргетных препаратов, обладающих направленным действием на раковые клетки при отсутствии агрессивного воздействия на здоровые клетки организма. С этой целью создаются конъюгаты противоопухолевых препаратов и веществ, которые специфичны для опухолевых клеток [49]. За последние несколько десятилетий конъюгаты антитело-лекарство (АЛК) произвели революцию в области химиотерапии рака. В отличие от обычных методов лечения, которые повреждают здоровые ткани при увеличении дозы, АЛК используют моноклональные антитела (мАт) для специфического связывания целевых опухолевых антигенов и доставки высокоэффективного цитотоксического агента. При внутривенном введении АЛК связываются с их целевыми антигенами и объединяются через рецептор-опосредованный эндоцитоз. Это облегчает последующее высвобождение цитотоксина, что в конечном итоге приводит к апоптотической гибели раковой клетки. Три компонента АЛК – мАт, линкер (2-х цепочный фрагмент ДНК) и цитотоксин влияют на эффективность и токсичность конъюгата. Оптимизация каждого из них, одновременно улучшая функциональность АЛК в целом, была одним из основных аспектов проектирования и разработки последнего. В дополнение к этому, выбор клинически значимых целей, а также положение и количество связей также являются ключевыми факторами эффективности АЛК. Среди одобренных к применению АЛК морского происхождения только брентуксимаб ведотин (БВ) продемонстрировал высокую эффективность как при лечении гематологических, так и солидных злокачественных опухолей [52, 53]. БВ представляет собой конъюгат антитело-лекарство, состоящее из анти-CD30 мАт, связанного с расщепляемым пептидом, с высокоэффективным ингибитором тубулина ТМАЕ. CD30 является членом семейства фактора некроза опухолей (TNF), идентифицированного на клетках Рида-Штернберга классической лимфомы Ходжкина (ЛХ). Связывание БВ с поверхностью клетки приводит к интернализации и лизосомальному протеолитическому расщеплению линкера, высвобождающего ТМАЕ. Он избирательно нацелен на опухолевые клетки, экспрессирующие антиген CD30, который специфически присутствует в раковых клетках типа ЛХ и анапластической крупноклеточной лимфомы (АКЛ). Он подает токсин-монометил ауристатин Е

(ТМАЕ) с токсинными микротрубочками в CD30-экспрессирующие клетки. ТМАЕ является синтетическим производным соединения, называемого доластатин 10, который выделен из морского моллюска *Dorabella auricularia* [54]. БВ получил одобрение для лечения пациентов с рецидивирующим или рефрактерным CD30 + HL после аутологичной трансплантации стволовых клеток (ASCT) или пациентов, не различимых для ASCT, у которых не было, по крайней мере, двух других методов химиотерапии. Он также был одобрен для пациентов с АКЛ в качестве второй линии. Степанова В. Н. и соавт. [55] представили обзор основных опубликованных за последние 10 лет клинических исследований эффективности БВ у взрослых пациентов с рецидивирующей или рефрактерной CD30-положительной ЛХ. В итоге проведенного литературного анализа авторами обнаружено, что частота полного ответа на терапию БВ, а также общая выживаемость и выживаемость без прогрессии при применении БВ у разных популяций пациентов отличаются; в большинстве случаев отмечен результат эффективности в пользу БВ [55].

Одновременно с развитием таргетного направления в лекарственном лечении сарком мягких тканей появился новый препарат трабектедин, получивший одобрение ЕМЕА в качестве варианта терапии для ранее леченных пациентов с распространенными саркомами мягких тканей. За последние 25 лет это явилось первым одобрением нового лекарственного средства регуляторными органами по данному показанию. Трабектедин является тритетрагидроизохинолиновым производным, выделенным из морского хордового подтипа оболочников — асцидии *Ecteinascidia turbinata*. В настоящее время препарат производится синтетическим путем. Его молекула включает три тетрагидроизохинолоновых кольца и образует ковалентные, но обратимые связи в малой бороздке ДНК. Два кольца связываются с азотом во втором положении гуаниновых оснований, преимущественно в последовательностях G-C. Это изгибает ДНК в направлении большой бороздки, причем третье кольцо выходит за контур молекулы ДНК, нарушая связывание с ней различных белков репарации. Этот механизм объясняет противоопухолевое действие трабектедина [56, 9]. Кроме того, как указывает Reichardt P. [57], некоторые особенности клинической эффективности трабектедина отличаются от свойств других онкологических агентов. К ним относятся длительная стабилизация роста опухоли, благоприятные исходы при саркомах с генетическими мутациями, долговечность ответа (даже после возобновления терапии после ее прерывания) и отсутствие кумулятивной токсичности. Трабектедин связывается с N2 аминогруппой гуаниновых остатков в малой бороздке двойной спирали ДНК и вызывает двухцепочечные разрывы [58, 59]. Он прерывает клеточный цикл, вызывает апоптоз раковых клеток и подавляет аномальную экспрессию транскрипционного фактора, такую как FUS-CHOP или EWS-CHOP. Ингибирует выделение цитокинов моноцитами и макрофагами в микроокружении опухоли посредством его прямого цитотоксического воздействия на связанные с опухолью макрофаги [60]. D'Incalci M. et al. [31] акцентируют внимание на том, что воздействие этого лекарственного средства на микроокружение опухоли считается критически важным в терапии рака из-за результирующего ингибирования неоангиогенеза и метастатического потенциала раковых клеток. Подробный анализ

достигнутых эффектов, описанных в работе George D. D. [61], показал большую эффективность трабектедина при липо- и лейомиосаркомах. В обзоре автор приводит данные о результатах исследования трабектедина для разных типов рака. Отсутствие перекрестной резистентности трабектедина с другими химиотерапевтическими агентами может объясняться его сложными уникальными механизмами действия, что дает большой потенциал для его обширного применения в практике. [58–60, 31]. Так, более 70 клинических испытаний, зарегистрированных в базе данных Национального института США по здравоохранению, в настоящее время продолжают оценивать трабектедин в исследованиях фазы I / III, особенно для рецидивирующего рака яичников и саркомы мягких тканей [62, 57]. Препарат одобрен для лечения больных с неоперабельной или метастатической липосаркомой или лейомиосаркомой, получавших предварительную схему, содержащую антрациклин. В мае 2015 года трабектедин получил полное маркетинговое одобрение для лечения пациентов с раком яичников и саркомами мягких тканей от Европейской комиссии [63].

Мезилат эрибулина (эрибулин) представляет собой синтетический аналог галихондрина В, экстрагированного из *Porifera Halichondria okadai*. Галихондрин В вызвал интерес в качестве перспективного соединения с противоопухолевыми эффектами, но его сложная структура и низкий выход из природных источников сильно ограничивали его возможности для клинического развития. Прорыв произошел в 1992 году, когда лаборатории Kishi Y. удалось добиться полного синтеза галихондрина В [64]. Это позволило разработать, синтезировать и испытать многие аналоги этого соединения, один из которых, эрибулин (ER-086526, E7389, NSC-707389). В работе Yu MJ et al. [65] описал, как из сложного, трудоемкого химического синтеза эрибулина, состоящего из 63 этапов, процесс производства был сделан экономически целесообразным. Эрибулин представляет собой дестабилизирующий микротрубочек агент, который увеличивает образование aberrантных митотических веретен, что приводит к необратимой митотической остановке [66]. Он обладает мощными микротрубочки-деполимеризующими свойствами, которые отличают его от других агентов, нацеленных на микротрубочки. Дестабилизирующие микротрубочки препараты, по мнению Darcy Bates and Alan Eastman [67], гораздо больше, чем просто антимиотические противоопухолевые средства. Они по-прежнему являются одними из наиболее эффективных противоопухолевых препаратов, возможно, потому, что их действия на сети микротрубочек простираются далеко за пределы способности останавливать клетки в митозе и включают индукцию апоптоза на всех этапах клеточного цикла. Кроме того, имеются данные о том, что эрибулин оказывает глубокое воздействие на микроокружение опухоли, которое отличается от такового паклитаксела и, возможно, других противоопухолевых средств [68]. Препарат так же воздействует на аномальную сосудистую сеть опухоли, где она увеличивает образование микрососудов и, следовательно, перфузию опухоли [69, 70]. Еще одним свойством эрибулина, положительно влияющим на исход опухолевого процесса, является способность влиять на процесс перехода эпителия в мезенхиму. Во время этого процесса эпителиальные клетки принимают мезенхимальный фенотип, связанный с лекарственной устойчивостью, инвазией,

метастазами и изменениями фенотипа стволовых клеток [71]. Эрибулину удалось остановить этот переход в трех трехцепочечных клеточных линиях рака молочной железы, уменьшив их мезенхимальный ген и профили белка в пользу эпителиального [72, 73]. Исследования Kolb E. A. et al. [74] показали, что в доклинических исследованиях эрибулин проявлял противоопухолевую активность в отношении многих видов рака, таких как рак молочной железы, яичника, толстой кишки, поджелудочной железы, головы и шеи, немелкоклеточный и мелкоклеточный рак легкого, лейомиосаркома, фибросаркома, глиобластома, меланома и острый лимфоцитарный лейкоз. В клинических испытаниях, проведенных на пациентах с местно-распространенным или метастатическим раком, эрибулин увеличивал без прогрессирования общую выживаемость по сравнению с эталонным препаратом с управляемыми побочными эффектами, такими как нейтропения, недомогание и периферическая невропатия [75, 76]. Клиническое исследование EMBRACE так же показало преимущество выживаемости пациентов с рецидивирующим или метастатическим раком молочной железы, которые получали лечение эрибулином по сравнению с лечением выбора врача (который включал другие тубулин-таргетирующие агенты) [77]. Эрибулин был одобрен для лечения метастатического рака молочной железы или местного рака молочной железы в качестве терапии третьей линии после двух химиотерапевтических режимов с антрациклином и таксаном, для метастатической или неоперабельной липосаркомы в качестве химиотерапии второй линии после предшествующей терапии, содержащей антрациклин [57, 47, 78].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Морские организмы, являясь неисчерпаемым источником множества химических соединений с разнообразными фармакологическими свойствами, в том числе противоопухолевыми, могут использоваться не только в качестве лечебных препаратов, но и в качестве канцеропреventивных средств. Их биологические эффекты реализуются посредством различных биохимических путей: воздействие на развитие клеточного цикла, апоптотические механизмы, дезактивация свободнорадикальных реакций, процессы индукции противоопухолевого иммунитета, ингибирование опухолевого иммунитета, потенцирование противовоспалительных механизмов и т.д. По этой причине данные соединения представляют большой практический интерес для разработки биологически активных веществ с противоопухолевой активностью для применения в профилактических целях людям, относящимся к группам риска по возникновению раковых заболеваний. Они способны действовать синергично с другими природными антиканцерогенами с иными механизмами действия. Однако, их применение с целью профилактики онкологических заболеваний требует дальнейшего изучения и проведения соответствующих клинических испытаний.

Многие подходы к борьбе с раковыми заболеваниями часто неэффективны из-за неблагоприятных реакций, резистентности к лекарственным средствам или неадекватной специфичности целевых отдельных противораковых агентов. Природные морские соединения, которые, как полагают, имеют несколько

конкретных мишеней с минимально приемлемыми побочными эффектами, представляют интерес для многих исследователей благодаря их цитотоксической и хемосенсибилизирующей активности.

Таким образом, представленные на рынке и описанные в литературе противоопухолевые препараты морского происхождения, благодаря широкой панели биоактивности, являются исключительно интересными высокоценными ингредиентами для применения в фармацевтической промышленности. Хотя существуют новые подходы к открытию лекарств, такие как комбинаторная химия и компьютерное молекулярное моделирование, естественные биологически активные соединения все еще играют и будут продолжать играть ведущую роль в обнаружении эффективных лекарств для лечения и профилактики рака.

Работа выполнена по теме государственного задания ФГБУН ИМБИ РАН № госрегистрации 0828-2019-0004 «Исследование механизмов управления продукционными процессами в биотехнологических комплексах с целью разработки научных основ получения биологически активных веществ и технических продуктов морского генезиса».

Список литературы

1. World Health Organization Media Centre. Cancer. Fact Sheet No. 297. Available at: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs297/en/> (accesses by 08.09.2018).
2. Millimouno F. M. Targeting apoptosis pathways in cancer and perspectives with natural compounds from mother nature / F. M. Millimouno, J. Dong, L. Yang [et al.] // *Cancer Prev Res (Phila)*. – 2014. – Vol. 7. – P. 1081–102.
3. Thazin Nwe Aung. Understanding the Effectiveness of Natural Compound Mixtures in Cancer through Their Molecular Mode of Action / Thazin New Aung, Zhipeng Qu, R. Daniel Kortschak [et al.] // *Int J Mol Sci*. – 2017. – Vol. 18(3). – P. 656.
4. Monks N. R. Natural products genomics: A novel approach for the discovery of anticancer therapeutics / N. R. Monks, B. Li, S. Gunjan [et al.] // *J Pharmacol Toxicol Methods*. – 2011. – Vol. 64. – P. 217–25.
5. Veeresham C. Natural products derived from plants as a source of drugs / C. Veeresham // *J. Adv. Pharm Technol Res*. – 2012. – Vol. 3, issue 4. – P. 200–201.
6. Ghantous A. Parthenolide: from plant shoots to cancer roots / A. Ghantous, A. Sinjab, Z. Herceg [et al.] // *Drug Discov. Today*. – 2013. – Vol. 18. – P. 894–905.
7. Schumacher M. Gold from the sea: Marine compounds as inhibitors of the hallmarks of cancer / M. Schumacher, M. Kelkel, M. Dicato [et al.] // *Biotechnol. Adv.* – 2011. – Vol. 29. – P. 531–547.
8. Mohamed Salah I. Abaza. Methylferulate from *Tamarix aucheriana* inhibits growth and enhances chemosensitivity of human colorectal cancer cells: possible mechanism of action / Mohamed Salah I. Abaza, Mohammad Afzal, Raja'a J. Al-Attayah [et al.] // *BMC Complement Altern Med*. – 2016. – Vol. 16. – P. 384.
9. Rahmani A. H. Therapeutic implications of black seed and its constituents thymoquinone in the prevention of cancer through inactivation and activation of molecular pathways / A. H. Rahmani, M. A. Alzohairy, M. A. Khan [et al.] // *Evid Based Complement Alternat Med*. – 2014. – Vol. 2014: 724658. – 13 p.
10. Dall'Acqua S. Natural products as antimetabolic agents / S. Dall'Acqua // *Curr Top Med Chem*. – 2014. – Vol. 14. – P. 2272–85.
11. Montaser R. Marine natural products: A new wave of drugs? / R. Montaser, H. Luesch // *Future Med. Chem*. – 2011. – Vol. 3(12). – P. 1475–1489.
12. Michelle S. Liberio. Identification of Eusynstyelamide B as a Potent Cell Cycle Inhibitor Following the Generation and Screening of an Ascidian-Derived Extract Library Using a Real Time Cell Analyzer /

- S. Michelle Liberio, Martin C. Sadowski, C. Colleen [et al.] // *Mar Drugs*. – 2014. – Vol. 12(10). – P. 5222–5239.
13. Nourhan Hisham Shady. Bioactive Natural Products of Marine Sponges from the Genus *Hyrtios* / Shady Nourhan Hisham, Ebaa M. El-Hossary, A. Mostafa Fouad [et al.] // *Molecules*. – 2017. – Vol. 22(5). – P. 781.
 14. Sherry Haynes. Anticancer Drugs From Marine Sources / Haynes Sherry // *Marine Biology*. – 2018. Available at: <https://owlcation.com/stem/Marine-Sources-for-Anticancer-Drugs>. [accessed 02.10.2018].
 15. Mishra B. B. Natural products: An evolving role in future drug discovery / B. B. Mishra, V. K. Tiwari // *Eur. J. Med. Chem.* – 2011. – Vol. 46. – P. 4769–4807.
 16. Leal M. C. Trends in the discovery of new marine natural products from invertebrates over the last two decades — Where and what are we bioprospecting? / M. C. Leal, J. Puga, J. Serodio [et al.] // *PLoS One*. – 2012. – Vol. 7. – e 30580.
 17. Blunt J. W. Marine natural products / J. W. Blunt, B. P. Copp, R. A. Keyzers [et al.] // *Nat. Prod. Rep.* – 2013 – Vol. 30. – P. 237–323.
 18. Blunt J. W. Marine natural products / J. W. Blunt, B. R. Copp, R. A. Keyzers [et al.] // *Nat. Prod. Rep.* – 2014. – Vol. 31. – P. 160–258.
 19. Gerwick W. H. Lessons from the past and charting the future of marine natural products drug discovery and chemical biology / W. H. Gerwick, B. S. Moore // *Chem. Biol.* – 2012. – Vol. 19. – P. 85–98.
 20. Blunt J. W. Marine natural products / J. W. Blunt, B. R. Copp, R. A. Keyzers [et al.] // *R. Nat. Prod. Rep.* – 2015. – Vol. 32. – P. 116–211.
 21. Ruiz-Torres V. An Updated Review on Marine Anticancer Compounds: The Use of Virtual Screening for the Discovery of Small-Molecule Cancer Drugs / V. Ruiz-Torres, J. A. Encinar, M. H. Lopez [et al.] // *Molecules*. – 2017. – Vol. 22 (7). – P. 1037.
 22. Nikapitiya C. Bioactive secondary metabolites from marine microbes for drug discovery / C. Nikapitiya // *Food and Nutrition Research*. – 2012. – Vol. 65. – P. 363–387.
 23. Senthilkumar K. Marine invertebrate natural products for anti-inflammatory and chronic diseases / K. Senthilkumar, S.-K. Kim // *Evid. Based Complement. Altern. Med.* – 2013. – Vol. 2013. – P. 572859.
 24. Tao X. M. Enhanced anticancer activity of gemcitabine coupling with conjugated linoleic acid against human breast cancer in vitro and in vivo / X. M. Tao, J. C. Wang, J. B. Wang [et al.] // *Eur. J. Pharm Biopharm.* – 2012. – Vol. 82(2) – P. 401–409.
 25. Martins A. Marketed Marine Natural Products in the Pharmaceutical and Cosmeceutical Industries: Tips for Success / A. Martins, H. Vieira, H. Gaspar, S. Santos // *Mar Drugs*. – 2014. – Vol. 12(2). – P. 1066–1101.
 26. Sithranga Boopathy N. Anticancer Drugs from Marine Flora: An Overview / N. Sithranga Boopathy, K. Kathiresan // *Journal of Oncology*. – 2010. – Vol. 2010, Article ID 214186. – 18 p.
 27. Mayer A. M. S. The odyssey of marine pharmaceuticals: A current pipeline perspective / A. M. S. Mayer, K. B. Glaser, C. Cuevas [et al.] // *Trends Pharmacol. Sci.* – 2010. – Vol. 31. – P. 255–265.
 28. Desai U. Enhancement of the cytotoxic effects of Cytarabine in synergism with Hesperidine and Silibinin in Acute Myeloid Leukemia: An in-vitro approach / U. Desai, K. Shah, S. J. Mirza [et al.] // *Cancer Res. Ther.* – 2015. – Vol. 11. – P. 352–357.
 29. Kevin A. Martínez Andrade. Marine Microalgae with Anti-Cancer Properties / Andrade Kevin A. Martínez, Lauritano Chiara, Romano Giovanna [et al.] // *Mar. Drugs*. – 2018. – Vol. 16(5). – P. 165.
 30. Gravett A. M. N. Gemcitabine alters the proteasome composition and immunopeptidome of tumour cells / A. M. N. Gravett, S. Trautwei, A. G. StevanoviA [et al.] // *Oncoimmunology*. – 2018. – Vol. 7(6). – e1438107.
 31. D’Incalci M. Trabectedin, a drug acting on both cancer cells and the tumour microenvironment / M. D’Incalci, N. Badri, C. Galmarini [et al.] // *Br J Cancer*. – 2014. – Vol. 111. – P. 646–650.
 32. Jordan M. A. The primary antimetabolic mechanism of action of the synthetic halichondrin e7389 is suppression of microtubule growth / M. A. Jordan, K. Kamath, T. Manna [et al.] // *Mol. Cancer Ther.* – 2005. – Vol. 4(7). – P. 1086–1095.
 33. Newland A. M. Brentuximab vedotin : a CD30-directed antibody-cytotoxic drug conjugate / A. M. Newland, J. X. Li, L. E. Wasco [et al.] // *Pharmacotherapy*. – 2013. – Vol. 33. – P. 93–104.
 34. Гелашвили Д. Б. Зоотоксикология: биоэкологические и биомедицинские аспекты [Учебное пособие] / Д. Б. Гелашвили, В. Н. Крылов, Е. Б. Романова. – Нижний Новгород : Изд-во ННГУ, 2015. – 770 с.

35. Lichtman M. A. A historical perspective on the development of the cytarabine (7 days) and daunorubicin (3 days) treatment regimen for acute myelogenous leukemia: 2013 the 40th anniversary of 7+3 / M. A. A. Lichtman // *Blood Cells Mol. Dis.* – 2013. – Vol. 50. – P. 119–130.
36. Chhikara B. S. Development of cytarabine prodrugs and delivery systems for leukemia treatment / B. S. Chhikara, K. Parang // *Expert Opin. Drug Deliv.* – 2010. – Vol. 7. – P. 1399–1414.
37. Kripp M. Treatment of lymphomatous and leukemic meningitis with liposomal encapsulated cytarabine / M. Kripp, R. D. Hofheinz // *Int. J. Nanomed.* – Vol. 2008. – Vol. 3. – P. 397–401.
38. David J. Newman. Marine-Sourced Anti-Cancer and Cancer Pain Control Agents in Clinical and Late Preclinical Development / Newman David J., M. Cragg Gordon // *Mar Drugs.* – 2014. – Vol. 12(1). – P. 255–278.
39. Mini E. Cellular pharmacology of gemcitabine / E. Mini, S. Nobili, B. Caciagli [et al.] // *Ann Oncol.* – 2006. – Vol. 17, Suppl 5. – V. 7–12.
40. Ghansah T. Dendritic cell immunotherapy combined with gemcitabine chemotherapy enhances survival in a murine model of pancreatic carcinoma / T. Ghansah, N. Vohra, K. Kinney [et al.] // *Cancer Immunol Immunother.* – 2013. – Vol. 62. – P. 1083–109.
41. Kimura Y. Clinical and immunologic evaluation of dendritic cell-based immunotherapy in combination with gemcitabine and/or S-1 in patients with advanced pancreatic carcinoma / Y. Kimura, J. Tsukada, T. Tomoda [et al.] // *Pancreas.* – 2012. – Vol. 41. – P. 195–205.
42. Hirooka Y. A combination therapy of gemcitabine with immunotherapy for patients with inoperable locally advanced pancreatic cancer / Y. Hirooka, A. Itoh, H. Kawashima [et al.] // *Pancreas.* – 2009. – Vol. 38(3). – e 69–74.
43. Mayanagi S. Phase I pilot study of Wilms tumor gene 1 peptide-pulsed dendritic cell vaccination combined with gemcitabine in pancreatic cancer / S. Mayanagi, M. Kitago, T. Sakurai [et al.] // *Cancer Sci.* – 2015. – Vol. 106. – P. 397–406.
44. Suzuki E. Gemcitabine selectively eliminates splenic Gr-1+/CD11b+ myeloid suppressor cells in tumor-bearing animals and enhances antitumor immune activity / E. Suzuki, V. Kapoor, A. S. Jassar [et al.] // *Clin Cancer Res.* – 2005. – Vol. 11. – P. 6713–6721.
45. Le H. K. Gemcitabine directly inhibits myeloid derived suppressor cells in BALB/c mice bearing 4T1 mammary carcinoma and augments expansion of T cells from tumor-bearing mice / H. K. Le, L. Graham, E. Cha [et al.] // *Int Immunopharmacol.* – 2009. – Vol. 9(7-8). – P. 900–909.
46. Annels N. E. The effects of gemcitabine and capecitabine combination chemotherapy and of low-dose adjuvant GM-CSF on the levels of myeloid-derived suppressor cells in patients with advanced pancreatic cancer / N. E. Annels, V. E. Shaw, R. F. Gabitass [et al.] // *Cancer Immunol Immunother.* – 2014. – Vol. 63 (2). – P. 175–183.
47. Nowak A. K. Induction of tumor cell apoptosis in vivo increases tumor antigen cross-presentation, cross-priming rather than cross-tolerizing host tumor-specific CD8 T cells / A. K. Nowak, R. A. Lake, A. L. Marzo [et al.] // *J Immunol.* – 2003. – Vol. 170(10). – P. 4905–4913.
48. Plate J. M. Effect of gemcitabine on immune cells in subjects with adenocarcinoma of the pancreas / J. M. Plate, A. E. Plate, S. Shott [et al.] // *Cancer Immunol Immunother.* – 2005. – Vol. 54. – P. 915–925.
49. Steinestel K. Clinical significance of epithelial-mesenchymal transition / K. Steinestel, S. Eder, A. J. Schrader [et al.] // *Clin. Transl. Med.* – 2014. – Vol. 3. – P. 17.
50. Jackaman C. Chemotherapy broadens the range of tumor antigens seen by cytotoxic CD8(+) T cells in vivo / C. Jackaman, D. Majewski, S. A. Fox [et al.] // *Cancer Immunol Immunother.* – 2012. – Vol. 61. – P. 2343–2356.
51. Kuo W.-T. Development of gelatin nanoparticles conjugated with phytohemagglutinin erythroagglutinating loaded with gemcitabine for inducing apoptosis in non-small cell lung cancer cells / W.-T. Kuo, J.-Y. Huang, M.-H. Chen [et al.] // *J. Mater. Chem. B.* – 2016. – Vol. 4. – P. 2444–2454.
52. Christina Peters. Antibody–drug conjugates as novel anti-cancer chemotherapeutics / Peters Christina, Brown Stuart // *Biosci Rep.* – 2015. – Vol. 35(4). – e00225.
53. Nikolaos Diamantis. Antibody-drug conjugates—an emerging class of cancer treatment / Diamantis Nikolaos, Banerji Udai // *Br J Cancer.* – 2016. – Vol. 114(4). – P. 362–367.
54. Saikia S. Marine steroids as potential anticancer drug candidates: In silico investigation in search of inhibitors of Bcl-2 and CDK-4/Cyclin D1 / S. Saikia, B. Kolita, P. P. Dutta [et al.] // *Steroids.* – 2015. – Vol. 102. – P. 7–16.

55. Степанова В. Н. Таргетный препарат Брентуксимаб ведотин для лечения рецидивирующей или рефрактерной CD30-положительной лимфомы Ходжкина / В. Н. Степанова, М. Э. Холонья-Волоскова, Д. А. Андреев [и др.] // Злокачественные опухоли. – 2017. – № 7(4). – С. 63–76.
56. Горбунова В. А. Новые подходы в лекарственном лечении сарком мягких тканей / В. А. Горбунова // Поволжский онкологический вестник. – 2012. – № 2. Доступно из: <http://oncovestnik.ru/index.php/opukholi-kozhi-i-mygkikh-tkanej/item/621-novye-podkhody-v-lekarstvennom-lechenii-sarkom-mygkikh-tkanej> [дата обращения 02.10.2018].
57. Reichardt P. Beyond clinical trials in advanced soft tissue sarcoma: what to expect from trabectedin treatment? / P. Reichardt // *Futur Oncol.* – 2015. – Vol. 11. – 11 s.
58. Partridge A. H. Chemotherapy and targeted therapy for women with human epidermal growth factor receptor 2-negative (or unknown) advanced breast cancer: American society of clinical oncology clinical practice guideline / A. H. Partridge, R. B. Rumble, L. A. Carey [et al.] // *J. Clin. Oncol.* – 2014. – Vol. 32. – P. 3307–3329.
59. D’Incalci M. A review of trabectedin (ET-743): a unique mechanism of action / M. D’Incalci, C. M. Galmarini // *Mol Cancer Ther.* – 2010. – Vol. 9. – P. 2157–2163.
60. Germano G. Antitumor and anti-inflammatory effects of trabectedin on human myxoid liposarcoma cells / G. Germano, R. Frapolli, M. Simone [et al.] // *Cancer Res.* – 2010. – Vol. 70(6). – P. 2235–2244.
61. George D. D. Efficacy and safety of trabectedin in patients with advanced or metastatic liposarcoma or leiomyosarcoma after anthracyclines and ifosfamide: results of a randomized phase II study of two different schedules / D. D. George, P. Chawla Sant, Margaret von Mehren [et al.]. – 2009. – *J. Clin. Oncol.* – Vol. 27, № 25. – P. 4188–4196.
62. Khalid El Bairi. Starvation tactics using natural compounds for advanced cancers: pharmacodynamics, clinical efficacy, and predictive biomarkers / Khalid El Bairi, Amrani Mariam, Afqir Said // *Cancer Med.* – 2018. – Vol. 7(6). – P. 2221–2246.
63. Erlinda M. Trabectedin for Soft Tissue Sarcoma: Current Status and Future Perspectives / M. Erlinda, K. Gordon, Sankhala Kumar [et al.] // *Adv Ther.* – 2016. – Vol. 33. – P. 1055–1071.
64. Aicher T. D. Total synthesis of halichondrin B and norhalichondrin B / T. D. Aicher, K. R. Buszek, F. G. Fang [et al.] // *J Am Chem Soc.* – 1992. – 114. – P. 3162–3164.
65. Yu M. J. From micrograms to grams: scale-up synthesis of eribulin mesylate / M. J. Yu, W. Zheng, B. M. Seletsky // *Nat Prod Rep.* – 2013. – Vol. 30(9). – P. 1158–1164.
66. Towle M. J. Broad spectrum preclinical antitumor activity of eribulin (halaven(r)): Optimal effectiveness under intermittent dosing conditions / M. J. Towle, K. Nomoto, M. Asano // *Anticancer Res.* – 2012. – Vol. 32(5). – P. 1611–1619.
67. Darcy Bates. Microtubule destabilising agents: far more than just antimetabolic anticancer drugs / Bates Darcy, Eastman Alan // *Br J Clin Pharmacol.* – 2017. – Vol. 83(2). – P. 255–268.
68. Nicholas F. Dybdal-Hargreaves. Eribulin Mesylate: Mechanism of Action of a Unique Microtubule Targeting Agent / F. Nicholas Dybdal-Hargreaves, L. April Risinger, L. Susan Mooberry // *Clin Cancer Res.* – 2015. – Vol. 1, № 21(11). – P. 2445–2452.
69. Agoulnik S. I. Eribulin mesylate exerts specific gene expression changes in pericytes and shortens pericyte-driven capillary network in vitro / S. I. Agoulnik, S. Kawano, N. Taylor [et al.] // *Vasc. Cell.* – 2014. – Vol. 6. – P. 3.
70. Funahashi Y. Eribulin mesylate reduces tumor microenvironment abnormality by vascular remodeling in preclinical human breast cancer models / Y. Funahashi, K. Okamoto, Y. Adachi [et al.] // *Cancer Sci.* – 2014. – Vol. 105. – P. 1334–1342.
71. Soeda A. Regular dose of gemcitabine induces an increase in CD14+ monocytes and CD11 c+ dendritic cells in patients with advanced pancreatic cancer / A. Soeda, Y. Morita-Hoshi, H. Makiyama [et al.] // *Jpn J Clin Oncol.* – 2009. – Vol. 39(12). – P. 797–806.
72. Yoshida T. Eribulin mesilate suppresses experimental metastasis of breast cancer cells by reversing phenotype from epithelial-mesenchymal transition (emt) to mesenchymal-epithelial transition (met) states / T. Yoshida, Y. Ozawa, T. Kimura [et al.] // *Br. J. Cancer.* – 2014. – Vol. 110. – P. 1497–1505.
73. Towle M. J. Eribulin induces irreversible mitotic blockade: Implications of cell-based pharmacodynamics for in vivo efficacy under intermittent dosing conditions / M. J. Towle, K. A. Salvato, B. F. Wels [et al.] // *Cancer Res.* – 2011. – Vol. 71. – P. 496–505.

74. Kolb E. A. Initial testing (stage 1) of eribulin, a novel tubulin binding agent, by the pediatric preclinical testing program / E. A. Kolb, R. Gorlick, C. P. Reynolds [et al.] // *Pediatr. Blood Cancer*. – 2013. – Vol. 60. – P. 1325–1332.
75. Ro J. Asian Working Group for Eribulin Clinical Patient management with eribulin in metastatic breast cancer: A clinical practice guide / J. Ro, F. T. Cheng, V. Sriuranpong [et al.] // *J. Breast Cancer*. – 2016. – Vol. 19. – P. 8–17.
76. Kaufman P. A. Phase iii open-label randomized study of eribulin mesylate versus capecitabine in patients with locally advanced or metastatic breast cancer previously treated with an anthracycline and a taxane / P. A. Kaufman, A. Awada, C. Twelves [et al.] // *J. Clin. Oncol.* – 2015. – Vol. 33. – P. 594–601.
77. Cortes J. Eribulin monotherapy versus treatment of physician's choice in patients with metastatic breast cancer (EMBRACE): a phase 3 open-label randomised study / J. Cortes, J. O'Shaughnessy, D. Loesch [et al.] // *Lancet*. – 2011. – Vol. 377. – P. 914–923.
78. Cinzia Calcabrini. Marine Sponge Natural Products with Anticancer Potential: An Updated Review / Calcabrini Cinzia, Catanzaro Elena, Bishayee Anupam [et al.] // *Mar Drugs*. – 2017. – Vol. 15(10) – P. 310.

MEDICINAL ANTICANCER DRUGS FROM MARINE ORGANISMS (REVIEW)

Bocharova E. A., Kravtsova V. N.

¹*A. O. Kovalevsky Institute of Marine Biological Research, RAS, Sevastopol, Russian Federation*

²*State educational organization of higher professional education «Donetsk national medical University by M. Gorky, Donetsk», Ukraine*

E-mail: eabocharova.inbum@gmail.com

New approaches to fighting cancer often fail due to frequent genetic changes and mutations in cancer genomes and the high frequency of side effects caused by modern chemotherapeutic drugs, which requires constant study of the mechanisms of development of different types of cancer and the development of new drugs for effective chemotherapy. To address these problems, medicines are being developed based on natural compounds of marine origin, which are effective against several types of cancer, affecting several targets with the least side effects. To date, over 20,000 new chemicals have been obtained from marine sources. In recent years, marine secondary metabolites have become substrates for a significant amount of drugs, most of which are in preclinical or early clinical research, and only a limited amount of them are on the market. Five drugs from marine organisms approved by the Food and Drug Administration of the United States and the European Medicines Agency are registered as pharmaceuticals for the treatment of cancer patients. The purpose of this work is to present literature data on the antitumor preparations of marine origin currently used and permitted for use in medical practice. The paper highlights the information on anticancer drugs from marine organisms used in oncology over the past 10 years – Cytarabine, Gemcitabine, Trabectedin, Eribulin mesylate, Brentuximab vedotin. Cytarabine (ARA-C, Cytosar-U®, Depocyt®), isolated from sponge *Cryptotethya crypta* Laubenfels, 1949, nucleoside, spongothymidine, a DNA polymerase inhibitor, the target is an acute myeloid leukemia cell; Gemcitabine (GEM, Gemzar) isolated from the sponge *Cryptotethya crypta* Laubenfels, 1949, a nucleoside analog of deoxycytidine, spongothymidine, ribonucleotide reductase inhibitor, the target –

non small cell lung cancer, breast cancer, bladder, ovary, pancreas, cervix; Trabectedin (Ecteinascidin, Yondelis®) isolated from Ecteinascidia turbinata Herdman, 1880, alkaloid, ecteinascidin 743, a gene transcription inhibitor, the target is the human carcinoma cell line MFC7 A549; Eribulin mesilate Eribulin mesylate (Halaven®), isolated from the sponge Halichodria okadai Kadota, 1922, macrolide, Halichondrin B, a non-taxane microtubule inhibitor, the target is colon cancer cells DLD-1, androgen and the susceptible cell adenocarcinoma, and the protégisty's in-year-olds. HL-60; Brentuximab vedotin (Adcetris®), isolated from Dolabella auricularia Lanark 1801 and Symploca sp. VP642 Kützing and Gomont, 1892, antibody-drug substance conjugate, Dolastatin 10, CD 30-directed antibody-cytotoxic drug conjugate, targets – Non-Hodgkin's lymphoma cells (Karpas 299). The literature suggests that natural antitumor preparations of marine origin have unique multidirectional mechanisms of influence on tumor processes, have several specific targets with minimally acceptable side effects and are of interest to many researchers due to their cytotoxic and chemosensitizing activity. Owing to a broad panel of bioactivities presented on the market and described in the literature, anticancer drugs of marine origin are extremely interesting, promising, and highly valuable ingredients for use in the pharmaceutical industry.

Keywords: anticancer drugs, marine organisms.

References

1. World Health Organization Media Centre. *Cancer. Fact Sheet* No. 297. Available at: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs297/en/> (accesses by 08.09.2018).
2. Millimouno F. M, Dong J., Yang L., Li J., Li X. Targeting apoptosis pathways in cancer and perspectives with natural compounds from mother nature. *Cancer Prev Res (Phila)*, **7**, 1081 (2014). <https://doi.org/10.1158/1940-6207.CAPR-14-0136>.
3. Thazin New Aung, Zhipeng Qu, R. Daniel Kortschak, David L. Adelson. Understanding the Effectiveness of Natural Compound Mixtures in Cancer through Their Molecular Mode of Action. *Int J Mol Sci.*, **18(3)**, 656 (2017). <https://doi.org/10.3390/ijms18030656>.
4. Monks N. R, Li B., Gunjan S., Rogers D. T., Kulshrestha M., Falcone D. L., Littleton J. M. Natural products genomics: A novel approach for the discovery of anticancer therapeutics. *J Pharmacol Toxicol Methods*, **64**, 217 (2011). <https://doi.org/10.1016/j.vascn.2011.04.002>.
5. Veeresham C. Natural products derived from plants as a source of drugs. *J Adv Pharm Technol Res.*, **3, 4**, 200 (2012). <https://doi.org/10.4103/2231-4040.104709>.
6. Ghantous A., Sinjab A., Herceg Z., Darwiche N. Parthenolide: from plant shoots to cancer roots. *Drug Discov. Today*, **18**, 894 (2013). <https://doi.org/10.1016/j.drudis.2013.05.005>.
7. Schumacher M., Kelkel M., Dicato M., Diederich M. Gold from the sea: Marine compounds as inhibitors of the hallmarks of cancer. *Biotechnol. Adv.*, **29**, 531 (2011). <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2011.02.002>.
8. Mohamed Salah I. Abaza, Mohammad Afzal, Raja'a J. Al-Attayah, Radhika Guleri BMC. Methylferulate from Tamarix aucheriana inhibits growth and enhances chemosensitivity of human colorectal cancer cells: possible mechanism of action. *BMC Complement. Altern Med.*, **16**, 384 (2016). <https://doi.org/10.1186/s12906-016-1358-8>.
9. Rahmani A. H., Alzohairy M. A., Khan M. A., Aly S. M. Therapeutic implications of black seed and its constituents thymoquinone in the prevention of cancer through inactivation and activation of molecular pathways. *Evid Based Complement Alternat Med.*, **724658**, 13 (2014). <https://doi.org/10.1155/2014/724658>.
10. Dall'Acqua S. Natural products as antimitotic agents. *Curr Top Med Chem.*, **14**, 2272 (2014). <https://doi.org/10.2174/1568026614666141130095311>.

11. Montaser R., Luesch H. Marine natural products: A new wave of drugs? *Future Med. Chem.*, **3(12)**, 1475 (2011). <https://doi.org/10.4155/fmc.11.118>.
12. Michelle S. Liberio, Martin C. Sadowski, Colleen C. Nelson, Rohan A. Davis. Identification of Eusynstyelamide B as a Potent Cell Cycle Inhibitor Following the Generation and Screening of an Ascidian-Derived Extract Library Using a Real Time Cell Analyzer. *Mar Drugs*, **12(10)**, 5222 (2014). <https://doi.org/10.3390/md12105222>.
13. Nourhan Hisham Shady, Ebaa M. El-Hossary, Mostafa A. Fouad, Tobias A. M. Gulder, Mohamed Salah Kamel, Usama Ramadan Abdelmohsen. Bioactive Natural Products of Marine Sponges from the Genus Hyrtios. *Molecules*, **22(5)**, 781 (2017). <https://doi.org/10.3390/molecules22050781>.
14. Sherry Haynes. Anticancer Drugs From Marine Sources. *Marine Biology*. 2018. Available at: <https://owlcation.com/stem/Marine-Sources-for-Anticancer-Drugs>. (accessed 02.10.2018).
15. Mishra B. B., Tiwari V. K. Natural products: An evolving role in future drug discovery. *Eur. J. Med. Chem.*, **46**, 4769 (2011). <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2011.07.057>.
16. Leal M. C., Puga J., Serodio J., Gomes N. C. M., Calado R. Trends in the discovery of new marine natural products from invertebrates over the last two decades — Where and what are we bioprospecting? *PLoS One*, **7**, 30580 (2012). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0030580>.
17. Blunt J. W., Copp B. R., Keyzers R. A., Munro M. H., Prinsep M. R. Marine natural products. *Nat. Prod. Rep.*, **30**, 237 (2013). <https://doi.org/10.1039/c2np20112g>.
18. Blunt J. W., Copp B. R., Keyzers R. A., Munro M. H., Prinsep M. R. Marine natural products. *Nat. Prod. Rep.*, **31**, 160 (2014). <https://doi.org/10.1039/c3np70117d>.
19. Gerwick W. H., Moore B. S. Lessons from the past and charting the future of marine natural products drug discovery and chemical biology. *Chem. Biol.*, **19**, 85 (2012). <https://doi.org/10.1016/j.chembiol.2011.12.014>.
20. Blunt J. W., Copp B. R., Keyzers R. A., Munro M. H. G., Prinsep M. R. Marine natural products. *Nat. Prod. Rep.*, **32**, 116 (2015). <https://doi.org/10.1039/c4np00144c>.
21. Ruiz-Torres V., Encinar J. A., Lopez M. H., Sanchez A. P., Galiano V., Catalan E. B., Micol V. An Updated Review on Marine Anticancer Compounds: The Use of Virtual Screening for the Discovery of Small-Molecule Cancer Drugs. *Molecules* **22** (7), 1037 (2017). <https://doi.org/10.3390/molecules22071037>.
22. Nikapitiya C. Bioactive secondary metabolites from marine microbes for drug discovery. *Food and Nutrition Research*, **65**, 363 (2012). <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-416003-3.00024-X>.
23. Senthilkumar K., Kim S.-K. Marine invertebrate natural products for anti-inflammatory and chronic diseases. *Evid. Based Complement. Altern. Med.*, **2013**, 572859 (2013). <http://dx.doi.org/10.1155/2013/572859>.
24. Tao X. M., Wang J. C., Wang J. B., Feng Q., Gao S. Y., Zhang L. R., Zhang Q. Enhanced anticancer activity of gemcitabine coupling with conjugated linoleic acid against human breast cancer in vitro and in vivo. *Eur J Pharm Biopharm.*, **82(2)**, 401 (2012). <https://doi.org/10.1016/j.ejpb.2012.06.007>.
25. Martins A., Vieira H., Gaspar H., Santos S. Marketed Marine Natural Products in the Pharmaceutical and Cosmeceutical Industries: Tips for Success. *Mar Drugs*, **12(2)**, 1066 (2014). <https://doi.org/10.3390/md12021066>.
26. Sithranga Boopathy N., Kathiresan K. Anticancer Drugs from Marine Flora: An Overview. *Journal of Oncology*, **2010**, 18 (2010). <http://dx.doi.org/10.1155/2010/214186>.
27. Mayer A. M. S., Glaser K. B., Cuevas C. Jacobs R. S., Kem W., Little R. D., McIntosh J. M., Newman D. J., Potts B. C., Shuster D. E. The odyssey of marine pharmaceuticals: A current pipeline perspective. *Trends Pharmacol. Sci.*, **31**, 255 (2010). <https://doi.org/10.1016/j.tips.2010.02.005>.
28. Desai U., Shah K., Mirza S., Panchal D., Parikh S., Rawal R. Enhancement of the cytotoxic effects of Cytarabine in synergism with Hesperidine and Silibinin in Acute Myeloid Leukemia: An in-vitro approach. *J. Cancer Res. Ther.*, **11**, 352 (2015). <https://doi.org/10.4103/0973-1482.157330>.
29. Kevin A. Martínez Andrade, Chiara Lauritano, Giovanna Romano and Adrianna Ianora. Marine Microalgae with Anti-Cancer Properties. *Mar. Drugs*, **16(5)**, 165 (2018). <https://doi.org/10.3390/md16050165>.
30. Gravett A. M. N., Trautwein S., Stevanović A. G., Dalgleish and J. Copier. Gemcitabine alters the proteasome composition and immunopeptidome of tumour cells. *Oncoimmunology*. **7(6)**, 1438107 (2018). <https://doi.org/10.1080/2162402X.2018.1438107>.

31. D'Incalci M., Badri N., Galmarini C. M., Allavena P. Trabectedin, a drug acting on both cancer cells and the tumour microenvironment. *Br J Cancer*, **111**, 646 (2014). <https://doi.org/10.1038/bjc.2014.149>.
32. Jordan M. A., Kamath K., Manna T., Okouneva T., Miller H. P., Davis C., Littlefield B. A., Wilson L. The primary antimitotic mechanism of action of the synthetic halichondrin e7389 is suppression of microtubule growth. *Mol. Cancer Ther.* **4(7)**, 1086 (2005). <https://doi.org/10.1158/1535-7163.MCT-04-0345>.
33. Newland A. M., Li J. X., Wasco L. E., Aziz M. T., Lowe D. K. Brentuximab vedotin : a CD30-directed antibody-cytotoxic drug conjugate. *Pharmacotherapy*, **33**, 93 (2013). <https://doi.org/10.1002/phar.1170>.
34. Gelashvili D. B., Krylov V. N., Romanova E. B. Zootoksikologiya: bioehkologicheskie i biomeditsinskie aspekty. Uchebnoe posobie: Nizhnij Novgorod: Izd-vo NNGU, 2015. 770 s. (in Russ.).
35. Lichtman M. A. A historical perspective on the development of the cytarabine (7 days) and daunorubicin (3 days) treatment regimen for acute myelogenous leukemia: 2013 the 40th anniversary of 7+3. *Blood Cells Mol. Dis.*, **50**, 119 (2013). <https://doi.org/10.1016/j.bcmd.2012.10.005>.
36. Chhikara B. S., Parang K. Development of cytarabine prodrugs and delivery systems for leukemia treatment. *Expert Opin. Drug Deliv.*, **7**, 1399 (2010). <https://doi.org/10.1517/17425247.2010.527330>.
37. Kripp M., Hofheinz R. D. Treatment of lymphomatous and leukemic meningitis with liposomal encapsulated cytarabine. *Int. J. Nanomed.*, **3**, 397 (2008).
38. David J. Newman, Gordon M. Cragg. Marine-Sourced Anti-Cancer and Cancer Pain Control Agents in Clinical and Late Preclinical Development. *Mar Drugs.*, **12(1)**, 255 (2014). <https://doi.org/10.3390/md12010255>.
39. Mini E., Nobili S., Caciagli B., Landini I., Mazzei T. Cellular pharmacology of gemcitabine. *Ann Oncol.*, **17**, 5, 7 (2006). <https://doi.org/10.1093/annonc/mdj941>.
40. Ghansah T., Vohra N., Kinney K., Weber A., Kodumudi K., Springett G., Sarnaik A. A., Pilon-Thomas S. Dendritic cell immunotherapy combined with gemcitabine chemotherapy enhances survival in a murine model of pancreatic carcinoma. *Cancer Immunol Immunother*, **62**, 1083 (2013). <https://doi.org/10.1007/s00262-013-1407-9>.
41. Kimura Y., Tsukada J., Tomoda T., Takahashi H., Imai K., Shimamura K., Sunamura M., Yonemitsu Y., Shimodaira S., Koido S., Homma S., Okamoto M. Clinical and immunologic evaluation of dendritic cell-based immunotherapy in combination with gemcitabine and/or S-1 in patients with advanced pancreatic carcinoma. *Pancreas*, **41**, 195 (2012). <https://doi.org/10.1097/MPA.0b013e31822398c6>.
42. Hirooka Y., Itoh A., Kawashima H., Hara K., Nonogaki K., Kasugai T., Ohno E., Ishikawa T., Matsubara H., Ishigami M., Matsubara H., Ishigami M., Katano Y., Ohmiya N., Niwa Y., Yamamoto K., Kaneko T., Nieda M., Yokokawa K., Goto H. A combination therapy of gemcitabine with immunotherapy for patients with inoperable locally advanced pancreatic cancer. *Pancreas*, **38(3)**, 69 (2009). <https://doi.org/10.1097/MPA.0b013e318197a9e3>.
43. Mayanagi S., Kitago M., Sakurai T., Matsuda T., Fujita T., Higuchi H., Taguchi J., Takeuchi H., Itano O., Aiura K., Hamamoto Y., Takaishi H., Okamoto M., Sunamura M., Kawakami Y., Kitagawa Y. Phase I pilot study of Wilms tumor gene 1 peptide-pulsed dendritic cell vaccination combined with gemcitabine in pancreatic cancer. *Cancer Sci.*, **106**, 397 (2015). <https://doi.org/10.1111/cas.12621>.
44. Suzuki E., Kapoor V., Jassar A. S., Kaiser L. R., Albelda S. M. Gemcitabine selectively eliminates splenic Gr-1+/CD11b+ myeloid suppressor cells in tumor-bearing animals and enhances antitumor immune activity. *Clin Cancer Res.*, **11**, 6713 (2005). <https://doi.org/10.1158/1078-0432.CCR-05-0883>.
45. Le H. K., Graham L., Cha E., Morales J. K., Manjili M. H., Bear H. D. Gemcitabine directly inhibits myeloid derived suppressor cells in BALB/c mice bearing 4T1 mammary carcinoma and augments expansion of T cells from tumor-bearing mice. *Int Immunopharmacol*, **9(7-8)**, 900 (2009). <https://doi.org/10.1016/j.intimp.2009.03.015>.
46. Annels N. E., Shaw V. E., Gabitass R. F., Billingham L., Corrie P., Eatock M., Valle J., Smith D., Wadsley J., Cunningham D., Pandha H., Neoptolemos J. P., Middleton G. The effects of gemcitabine and capecitabine combination chemotherapy and of low-dose adjuvant GM-CSF on the levels of myeloid-derived suppressor cells in patients with advanced pancreatic cancer. *Cancer Immunol Immunother*, **63(2)**, 175 (2014). <https://doi.org/10.1007/s00262-013-1502-y>.
47. Nowak A. K., Lake R. A., Marzo A. L., Scott B., Heath W. R., Collins E. J., Frelinger J. A., Robinson B. W. Induction of tumor cell apoptosis in vivo increases tumor antigen cross-presentation, cross-priming rather than cross-tolerizing host tumor-specific CD8 T cells. *J Immunol*, **170(10)**, 4905 (2003).

48. Plate J. M., Plate A. E., Shott S., Bodgrad S., Harris J. E. Effect of gemcitabine on immune cells in subjects with adenocarcinoma of the pancreas. *Cancer Immunol Immunother*, **54**, 915 (2005). <https://doi.org/10.1007/s00262-004-0638-1>.
49. Steinestel K., Eder S., Schrader A. J., Steinestel J. Clinical significance of epithelial-mesenchymal transition. *Clin. Transl. Med.*, **3**, 17 (2014). <https://doi.org/10.1186/2001-1326-3-17>.
50. Jackaman C., Majewski D., Fox S. A., Nowak A. K., Nelson D. J. Chemotherapy broadens the range of tumor antigens seen by cytotoxic CD8(+) T cells in vivo. *Cancer Immunol Immunother*, **61**, 2343 (2012). <https://doi.org/10.1007/s00262-012-1307-4>.
51. Kuo W.-T., Huang J.-Y., Chen M.-H., Chen C.-Y., Shyong Y.-J., Yen K.-C., Sun Y.-J., Ke C.-J., Cheng Y.-H., Lin F.-H. Development of gelatin nanoparticles conjugated with phytohemagglutinin erythroagglutinating loaded with gemcitabine for inducing apoptosis in non-small cell lung cancer cells. *J. Mater. Chem. B.*, **4**, 2444 (2016). <https://doi.org/10.1039/C5TB02598B>.
52. Christina Peters, Stuart Brown. Antibody–drug conjugates as novel anti-cancer chemotherapeutics. *Biosci Rep.*, **35**(4), 00225 (2015). <https://doi.org/10.1042/BSR20150089>.
53. Nikolaos Diamantis, Udai Banerji. Antibody-drug conjugates—an emerging class of cancer treatment. *Br J. Cancer*, **16**, 114(4), 362 (2016). <https://doi.org/10.1038/bjc.2015.435>.
54. Saikia S., Kolita B., Dutta P. P., Dutta, D. J. Neipihoi, Nath S., Bordoloi M., Quan P. M., Thuy T. T., Phuong D. L., Pham Quoc Long. Marine steroids as potential anticancer drug candidates: In silico investigation in search of inhibitors of Bcl-2 and CDK-4/Cyclin D1. *Steroids*, **102**, 7 (2015). <https://doi.org/10.1016/j.steroids.2015.06.012>.
55. Stepanova V. N., KHolovnya-Voloskova M. EH., Andreev D. A., Ermolaeva A. D., Davydovskaya M. V., Kokushkin K. A. Targetnyj preparat Brentuksimab vedotin dlya lecheniya retsidiviruyushhej ili refrakternoj CD30-polozhitel'noj limfomy KHodzhkina. *Zlokachestvennye opukholi*. **7**(4). 63 (2017). (in Russ.). <https://doi.org/10.18027/2224-5057-2017-7-4-63-76>.
56. Gorbunova V. A. Novye podkhody v lekarstvennom lechenii sarkom myagkikh tkanej. *Povolzhskij onkologicheskij vestnik*, 2012, №2. Available at: <http://oncovestnik.ru/index.php/opukholi-kozhi-i-myagkikh-tkanej/item/621-novye-podkhody-v-lekarstvennom-lechenii-sarkom-myagkikh-tkanej> [accessed 02.10.2018. (in Russ.)].
57. Reichardt P. Beyond clinical trials in advanced soft tissue sarcoma: what to expect from trabectedin treatment? *Futur Oncol.*, **11**, 11 (2015). <https://doi.org/10.2217/fon.15.77>
58. Partridge A. H., Rumble R. B., Carey L. A., Come S. E., Davidson N. E., Di Leo A., Gralow J., Hortobagyi G. N., Moy B., Yee D., Brundage S. B., Danso M. A., Wilcox M., Smith I. E. Chemotherapy and targeted therapy for women with human epidermal growth factor receptor 2-negative (or unknown) advanced breast cancer: American society of clinical oncology clinical practice guideline. *J. Clin. Oncol.*, **32**, 3307 (2014). <https://doi.org/10.1200/JCO.2014.56.7479>.
59. D'Incalci M, Galmarini C. M. A review of trabectedin (ET-743): a unique mechanism of action. *Mol Cancer Ther.*, **9**, 2157 (2010). <https://doi.org/10.1158/1535-7163.MCT-10-0263>.
60. Germano G., Frapolli R., Simone M., Tavecchio M., Erba E., Pesce S., Pasqualini F., Grosso F., Sanfilippo R., Casali P. G., Gronchi A., Virdis E., Tarantino E., Pilotti S., Greco A., Nebuloni M., Galmarini C. M., Tercero J. C., Mantovani A., D'Incalci M., Allavena P. Antitumor and anti-inflammatory effects of trabectedin on human myxoid liposarcoma cells. *Cancer Res.*, **70**(6), 2235 (2010). <https://doi.org/10.1158/0008-5472.CAN-09-2335>.
61. George D. D., Sant P. Chawla, Margaret von Mehren, Paul Ritch, Laurence H. Baker, Jean Y. Blay, Kenneth R. Hande, Mary L. Keohan, Brian L. Samuels, Scott Schuetze, Claudia Lebedinsky, Yusri A. Elsayed, Miguel A. Izquierdo, Javier Gómez, Youn C. Park, Axel Le Cesne. Efficacy and safety of trabectedin in patients with advanced or metastatic liposarcoma or leiomyosarcoma after anthracyclines and ifosfamide: results of a randomized phase II study of two different schedules. *J. Clin. Oncol.*, **27**, **25**, 4188 (2009). <https://doi.org/10.1200/jco.2008.21.0088>.
62. Khalid El Bairi, Mariam Amrani, Said Afqir. Starvation tactics using natural compounds for advanced cancers: pharmacodynamics, clinical efficacy, and predictive biomarkers. *Cancer Med.*, **7**(6), 2221 (2018). <https://doi.org/10.1002/cam4.1467>.
63. Erlinda M., Gordon K. Kumar Sankhala, Neal Chawla, Sant P. Chawla. Trabectedin for Soft Tissue Sarcoma: Current Status and Future Perspectives. *Adv Ther.*, **33**, 1055 (2016). <https://doi.org/10.1007/s12325-016-0344-3>.

64. Aicher T. D., Buszek K. R., Fang F. G., Forsyth C. J., Jung S. H., Kishi Y., Matelich M. C., Scola P. M., Spero D. M., Yoon S. K. Total synthesis of halichondrin B and norhalichondrin B. *J Am Chem Soc.*, **114**, 3162 (1992). <https://doi.org/10.1021/ja00034a086>.
65. Yu M. J., Zheng W., Seletsky B. M. From micrograms to grams: scale-up synthesis of eribulin mesylate. *Nat Prod Rep.* **30(9)**, 1158 (2013). <https://doi.org/10.1039/c3np70051h>.
66. Towle M. J., Nomoto K., Asano M., Kishi Y., Yu M. J., Littlefield B. A. Broad spectrum preclinical antitumor activity of eribulin (halaven(r)): Optimal effectiveness under intermittent dosing conditions. *Anticancer Res.*, **32(5)**, 1611 (2012).
67. Darcy Bates and Alan Eastman. Microtubule destabilising agents: far more than just antimetabolic anticancer drugs. *Br J Clin Pharmacol.*, **83(2)**, 255 (2017). <https://doi.org/10.1111/bcp.13126>.
68. Nicholas F. Dybdal-Hargreaves, April L. Risinger, Susan L. Mooberry. Eribulin Mesylate: Mechanism of Action of a Unique Microtubule Targeting Agent. **1**, **21(11)**, 2445 (2015). <https://doi.org/10.1158/1078-0432.CCR-14-3252>.
69. Agoulnik S. I., Kawano S., Taylor N., Oestreicher J., Matsui J., Chow J., Oda Y., Funahashi Y. Eribulin mesylate exerts specific gene expression changes in pericytes and shortens pericyte-driven capillary network in vitro. *Vasc. Cell.*, **6**, 3 (2004). <https://doi.org/10.1186/2045-824X-6-3>.
70. Funahashi Y., Okamoto K., Adachi Y., Semba T., Uesugi M., Ozawa Y., Tohyama O., Uehara T., Kimura T., Watanabe H., Asano M., Kawano S., Tizon X, McCracken PJ, Matsui J, Aoshima K, Nomoto K, Oda Y. Eribulin mesylate reduces tumor microenvironment abnormality by vascular remodeling in preclinical human breast cancer models. *Cancer Sci.*, **105**, 1334 (2014). <https://doi.org/10.1111/cas.12488>.
71. Soeda A., Morita-Hoshi Y., Makiyama H., Morizane C, Uno H, Ikeda M, Okusaka T, Yamagata S, Takahashi N, Hyodo I, Takaue Y, Heike Y. Regular dose of gemcitabine induces an increase in CD14+ monocytes and CD11 c+ dendritic cells in patients with advanced pancreatic cancer. *Jpn J Clin Oncol.*, **39(12)**, 797 (2009). <https://doi.org/10.1093/jco/hyp112>.
72. Yoshida T., Ozawa Y., Kimura T., Sato Y., Kuznetsov G., Xu S., Uesugi M., Agoulnik S., Taylor N., Funahashi Y., Matsui J. Eribulin mesilate suppresses experimental metastasis of breast cancer cells by reversing phenotype from epithelial-mesenchymal transition (emt) to mesenchymal-epithelial transition (met) states. *Br. J. Cancer*, **110**, 1497 (2014). <https://doi.org/10.1038/bjc.2014.80>
73. Towle M. J., Salvato K. A., Wels B. F., Aalfs K. K., Zheng W., Seletsky B. M., Zhu X., Lewis B. M., Kishi Y., Yu M. J., Littlefield B. A. Eribulin induces irreversible mitotic blockade: Implications of cell-based pharmacodynamics for in vivo efficacy under intermittent dosing conditions. *Cancer Res.*, **71**, **496** (2011). <https://doi.org/10.1158/0008-5472.CAN-10-1874>.
74. Kolb E. A., Gorlick R., Reynolds C. P., Kang M. H., Carol H., Lock R., Keir S. T., Maris J. M., Billups C. A., Desjardins C., Kurmasheva R. T, Houghton P. J, Smith M. A. Initial testing (stage 1) of eribulin, a novel tubulin binding agent, by the pediatric preclinical testing program. *Pediatr. Blood Cancer*, **60**, 1325 (2013). <https://doi.org/10.1002/psc.24517>.
75. Ro J., Cheng F. T., Sriuranpong V., Villalon A., Smruti B. K., Tsang J., Yap Y. S., Asian Working Group for Eribulin Clinical Patient management with eribulin in metastatic breast cancer: A clinical practice guide. *J. Breast Cancer*, **19**, 8 (2016). <https://doi.org/10.4048/jbc.2016.19.1.8>
76. Kaufman P. A., Awada A., Twelves C., Yelle L., Perez E. A., Velikova G., Olivo M. S., He Y., Dutcus C. E., Cortes J. Phase iii open-label randomized study of eribulin mesylate versus capecitabine in patients with locally advanced or metastatic breast cancer previously treated with an anthracycline and a taxane. *J. Clin. Oncol.*, **33**, 594 (2015). <https://doi.org/10.1200/JCO.2013.52.4892>.
77. Cortes J., O'Shaughnessy J., Loesch D., Blum J. L., Vahdat L. T., Petrakova K., Chollet P., Manikas A., Diéras V., Delozier T., Vladimirov V., Cardoso F., Koh H., Bougnoux P., Dutcus C. E., Seegobin S., Mir D., Meneses N., Wanders J., Twelves C. Eribulin monotherapy versus treatment of physician's choice in patients with metastatic breast cancer (EMBRACE): a phase 3 open-label randomised study. *Lancet*, **377**, 914 (2011). [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(11\)60070-6](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(11)60070-6).
78. Cinzia Calcabrini, Elena Catanzaro, Anupam Bishayee, Eleonora Turrini, Carmela Fimognari. Marine Sponge Natural Products with Anticancer Potential: An Updated Review. *Mar Drugs*, **15(10)**, 310 (2017). <https://doi.org/10.3390/md15100310>.

УДК 612.821

КОГНИТИВНОЕ РАЗВИТИЕ ДЕТЕЙ РАННЕГО ВОЗРАСТА: СВЯЗЬ С ПАРАМЕТРАМИ ФОНОВОЙ ЭЭГ

*Дягилева Ю. О.¹, Михайлова А. А.¹, Белалов В. В.², Орехова Л. С.¹,
Куличенко А. М.¹, Павленко В. Б.¹*

¹*Таврическая академия (структурное подразделение) ФГАОУ ВО «Крымский федеральный университет имени В. И. Вернадского», Симферополь, Республика Крым, Россия*
²*Медицинская академия (структурное подразделение) ФГАОУ ВО «Крымский федеральный университет имени В. И. Вернадского», Симферополь, Республика Крым, Россия*
E-mail: anna.kulenkova@gmail.com

Исследованы особенности когнитивного развития детей раннего возраста и их фоновой ЭЭГ. В исследовании приняли участие 62 ребенка в возрасте от 18 до 42 месяцев (27 девочек и 35 мальчиков). Показано, что 59,7% детей из исследованной группы имели средний уровень когнитивного развития, 30,6 % высокий уровень когнитивного развития, а у 9,7 % детей был диагностирован низкий уровень когнитивного развития. Уровень когнитивного развития ребенка коррелирует с относительной мощностью (ОМ) тета-, альфа- и бета-ритмов. Выявлены статистически значимые отрицательные корреляции уровня когнитивного развития с ОМ тета- и бета-ритмов, а так же статистически-значимые положительные корреляции с ОМ альфа-ритма.

Ключевые слова: электроэнцефалограмма, относительная мощность, когнитивное развитие, дети раннего возраста.

ВВЕДЕНИЕ

Изучение взаимосвязи индивидуальных особенностей паттерна ЭЭГ и уровня когнитивного развития у детей является актуальным направлением современной нейро- и психофизиологии. Отставание в развитии когнитивных функций детей является одной из причин, препятствующих самореализации личности. Дети с отставанием в развитии характеризуются сниженной способностью к социальному взаимодействию, коммуникации, стереотипностью поведения. В последние годы все большее внимание привлекает метод биологической обратной связи (БОС) по ЭЭГ применяемый для коррекции когнитивных функций и эмоционального состояния [1–3]. Однако эффективность применения данной методики может существенно различаться в зависимости от подвергаемых тренировке параметров ЭЭГ. Это может быть связано с необходимостью использования более специфичного подхода при подборе индивидуальных протоколов ЭЭГ-БОС с учётом уровня когнитивного развития и возраста.

Критическим периодом развития когнитивных функций считают ранний возраст, поскольку в этот период происходит активное взаимодействие ребенка с окружающим миром. В первые годы жизни продолжается созревание структур

головного мозга ребенка [4, 5]. Известно, что после года происходит расширение ассоциативных ансамблеобразующих слоев неокортекса, происходят морфофункциональные преобразования в височной, теменной и затылочной областях коры больших полушарий [6]. В этот период происходит наиболее активная миелинизация нервных волокон и элиминация синапсов. Избыточные синаптические структуры конкурируют за ограниченное постсинаптическое пространство, и синапсы, не поддерживаемые средовым входом (не функционирующие), в дальнейшем подвергаются конкурентной элиминации. Этот процесс приводит к более эффективному набору взаимосвязей, которые непрерывно реконструируются на протяжении всей жизни [7, 8]. Все эти изменения могут отражаться в характеристиках электрической активности мозга ребенка. Обладая более полным знанием о специфичности паттернов ЭЭГ у детей раннего возраста с разным уровнем когнитивного развития, можно кардинально повысить эффективность нейротерапевтических методик. Однако в литературе имеются немногочисленные данные о связи когнитивного развития с характеристиками ЭЭГ у детей в первые годы жизни.

В связи с этим целью нашей работы было:

1. Оценить уровень развития когнитивных функций у детей в возрасте от 18 до 42 месяцев. 2. Выявить взаимосвязь уровня когнитивного развития с параметрами фоновой ЭЭГ детей.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В исследовании приняли участие 62 ребенка в возрасте от 18 до 42 месяцев (27 девочек и 35 мальчиков). В обследованную группу не были включены дети: с массой тела при рождении менее 2,5 кг, с наличием генетических заболеваний, с наличием записей в медицинской карточке о заболеваниях ЦНС и с зарегистрированным фетальным алкогольным синдромом, а также левши (рисующие левой рукой).

Регистрацию ЭЭГ осуществляли у детей в условиях относительного покоя с помощью компьютерного телеметрического электроэнцефалографа «Эксперт» (Тредекс). Запись проводили монополярно от локусов Fp1, Fp2, F3, F4, F7, F8, C3, C4, T3, T4, T5, T6, P3, P4, O1 и O2 в соответствии с международной системой «10-20» (полоса пропускания 0,5 – 74,5 Гц, частота дискретизации 250 Гц). Во время записи дети сидели на коленях у родителей с открытыми глазами. При отведении ЭЭГ использовали 16-канальную детскую электроэнцефалографическую шапочку ШЭУ-16 «Полина» («Тредекс»), со встроенным хлорсеребряными электродами. В качестве референтного использовался виртуальный электрод, сигнал которого был равен усредненному по всем отведениям потенциалу (усредненный референт).

Фрагменты ЭЭГ подвергались быстрому преобразованию Фурье с перекрытием 50% и использованием фильтра Баттерворта (порядок 4) с полосой пропускания 2 – 25 Гц. Применялось сглаживание окном Блэкмена. Известно, что у детей раннего возраста частотные диапазоны ритмов ЭЭГ значительно отличаются от частотных диапазонов ЭЭГ взрослых. Поэтому, исходя из данных литературы о возрастных особенностях формирования ЭЭГ у детей в возрасте от 24 до 42 мес., мы

определяли значения ОМ ЭЭГ в следующих частотных диапазонах, соответствующих: тета_ (3–5 Гц) [9, 10], альфа_ (6–9 Гц) [11], бета_ (10–25 Гц) [12, 13] ритмам. Поскольку не было полной уверенности в отсутствии артефактов от движений и электрической активности мышц в частотной полосе дельта- и гамма-ритмов, данные ритмы в работе не рассматривались.

Относительная мощность (ОМ) для каждого ритма ЭЭГ рассчитывалась как отношение мощности отдельного ритма к сумме мощностей всех исследованных ритмов диапазона 3–45 Гц в данном отведении, подобно тому, как это делали в ряде работ [14, 15]. 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 [9].

Психологическое тестирование с целью определения уровня когнитивного развития было проведено с помощью когнитивной шкалы теста Бейли III (BSID-III) [16]. В соответствии с инструкцией к тесту Бейли ребенку представляли комплекс заданий, сложность которых была подобрана соответственно возрасту.

Независимо от возраста ребенок мог набрать по соответствующим шкалам в сумме от 55 до 145 баллов. Норма когнитивного развития согласно тесту Бейли составляет от 90 до 110 баллов.

Результаты психологического и электрофизиологического исследований количественно обрабатывались с использованием стандартных приемов вариационной статистики. Поскольку распределение данных в ряде случаев отличалось от нормального, применяли непараметрический критерий Спирмена.

Для участия в исследовании дети были приглашены с помощью объявлений, размещенных в детских садах г. Симферополя. Родителям этих детей были предоставлены все необходимые сведения о процедуре исследования, и они дали письменное согласие на бесплатное участие ребенка в экспериментах. Настоящее исследование соответствовало этическим принципам Хельсинкской декларации 1964 г. и было одобрено этическим комитетом Крымского федерального университета им. В. И. Вернадского.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

В результате проведенного исследования с помощью теста Бейли показано, что 59,7% детей из исследованной группы имели средний уровень когнитивного развития. У 30,6 % детей был определен высокий уровень когнитивного развития, а у 9,7 % детей был диагностирован низкий уровень (рис.1).

Показано, что уровень когнитивного развития связан с параметрами фоновой ЭЭГ ребенка. Выявлены статистически значимые отрицательные корреляции между уровнем когнитивного развития ребенка с одной стороны и ОМ тета-ритма ЭЭГ с другой. Такие корреляции достигали значимого уровня в левых лобных отведениях (Fp1 и F3). Так же была выявлена положительная корреляция уровня когнитивного развития ребенка с мощностью альфа-ритма ЭЭГ. Однако такая связь достигала статистически значимого уровня только в левом центральном отведении (рис.2).

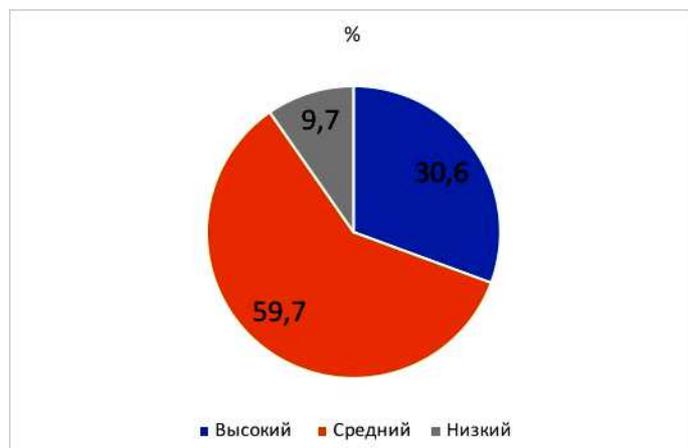


Рис. 1. Гистограмма, описывающая распределение детей в исследованной группе по уровню когнитивного развития в % от общей выборки.

В исследовании показано, что уровень когнитивного развития отражается в мощности бета-ритма ЭЭГ. Были выявлены статистически значимые отрицательные корреляции с ОМ бета-ритма в левом переднелобном (Fp1) и правом височном отведении (T4) (рис.2).

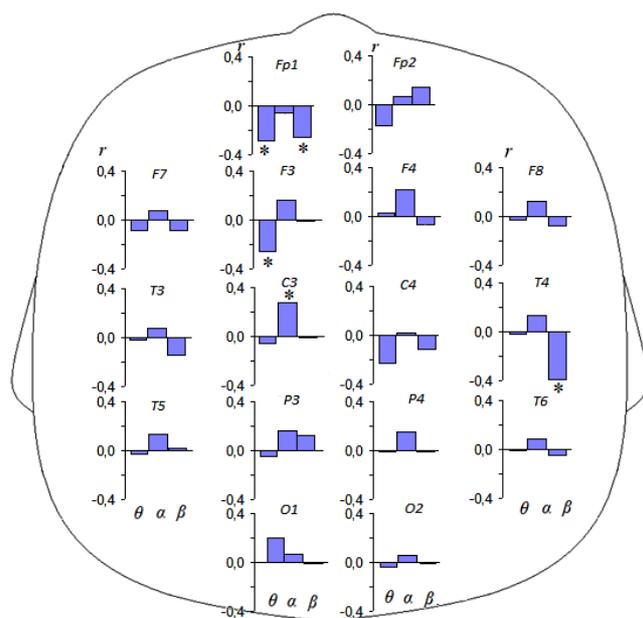


Рис. 2. Величина коэффициентов корреляции между ОМ ритмов ЭЭГ и уровнем когнитивного развития ребенка.

*- $p < 0,05$

Ранее группой исследователей [1] обнаружено влияние значений локальных амплитуд в тета- и альфа-диапазонах ЭЭГ, зарегистрированной в условиях устойчивого внимания, на оценки интеллекта детей в возрасте 5-6 лет. Кроме этого многочисленными исследованиями показано, что у детей с синдромом дефицита внимания с гиперактивностью наблюдается увеличение тета-ритма ЭЭГ на фоне снижения альфа-ритма [17]. В связи с этим, данные, полученные в нашем исследовании: отрицательные корреляции уровня когнитивного развития с ОМ тета-ритма, а так же положительные корреляции с ОМ альфа-ритма выглядят вполне закономерно.

Что касается отрицательных корреляций уровня когнитивного развития с ОМ бета-ритма, то они кажутся несколько неожиданными, поскольку известно, что развитие головного мозга ребенка сопровождается увеличением частоты ритмической активности и появлением высокочастотных колебаний. В то же время, как отмечают некоторые исследователи, функциональная роль бета-колебаний, зачастую менее анализируется по сравнению с другими полосами частот [18, 19]. Бета-ритм классически считался связанным с соматосенсорными и двигательными функциями [20]. С другой стороны, Wtóbel [21] показал, что активность бета-диапазона отражает возбуждение зрительной системы во время повышенного зрительного внимания. Недавние исследования также показали повышенные реактивности бета-ритма при предъявлении эмоционально-негативных стимулов [22, 23]. Роль бета-ритма в когнитивных процессах изучалась несколькими группами [24-27], но полученные данные выглядят достаточно противоречиво. В то же время, нами ранее обнаружено, что у взрослых молодых людей мощность бета-ритма в покое положительно коррелирует с уровнем личностной и ситуативной тревожности [28]. Можно предположить, что дети с повышенной ОМ бета-ритма в покое также могли иметь повышенный уровень тревожности. Повышенная тревожность негативно сказывалась на выполнении ими заданий теста Бейли, что отражалось в более низких показателях когнитивного развития у таких детей и обусловило отрицательные корреляции данного показателя и ОМ бета-ритма.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

1. Показано, что 59,7% детей из исследованной группы имели средний уровень когнитивного развития, 30,6 % высокий уровень когнитивного развития, а у 9,7 % детей был диагностирован низкий уровень когнитивного развития.
2. Уровень когнитивного развития ребенка коррелирует с ОМ тета-, альфа- и бета-ритмов.
3. Выявлены статистически значимые отрицательные корреляции уровня когнитивного развития с ОМ тета- и бета-ритмов, а так же статистически-значимые корреляции с ОМ альфа-ритма.

Исследование поддержано грантом РФФИ 17-415-92001 р_а «Особенности паттерна электроэнцефалограммы у детей с разными уровнями развития когнитивных функций».

Список литературы

1. Новикова С.И. Ритмы ЭЭГ и когнитивные процессы / С.И. Новикова // Современная зарубежная психология. – 2015. – Том 4, № 1. – С. 91–108.
2. Simkin D.R. Quantitative EEG and neurofeedback in children and adolescents: anxiety disorders, depressive disorders, comorbid addiction and attention-deficit/hyperactivity disorder, and brain injury / D.R. Simkin, R.W. Thatcher, J. Lubar // Child and Adolescent Psychiatric Clinics of North America. – 2014. – 23(3) – P. 427-64.
3. Луцок Н.В. О возможности применения метода биологической обратной связи по электроэнцефалограмме с детьми-сиротами трехлетнего возраста / Н.В. Луцок, А.А. Куленкова, Е.В. Эйсмонт [и др.] // Ученые записки Крымского федерального университета имени В.И. Вернадского. Биология. Химия. – 2015. – Т. 1, № 1 (67). – С. 60-70.
4. Casey B.J. Structural and functional brain development and its relation to cognitive development / B.J. Casey, J.N. Giedd, K.M. Thomas // Biological Psychology. – 2000. – V. 54. – P. 241-257.
5. 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.
6. Васильева В.А. Структурные преобразования коры большого мозга и мозжечка у детей от рождения до 6 лет как морфологическая основа развития зрительной функции в постнатальном онтогенезе / В.А. Васильева, Т.А. Цехмистренко // Физиология человека. – 1996. – Т. 22, № 5. – С. 68-74.
7. Строганова Т.А. Психофизиология индивидуальных различий в младенчестве: современное состояние проблемы / Т.А. Строганова, Е.В. Орехова // Вопросы психологии. – 1998. – №1. – С. 128-144.
8. Toga A.W. Mapping brain maturation / A.W. Toga, P.M. Thompson, E.R. Sowell // Trends in Neurosciences. – 2006. – V. 29. – P. 148-159.
9. McLaughlin K.A., Fox N.A., Charles H.Z., Sheridan M.A., Marshall P., Nelson C.A. Delayed maturation in brain electrical activity partially explains the association between early environmental deprivation and symptoms of attentiondeficit/hyperactivity disorder // Biol. Psychiatry. – 2010. – V. 68, № 4. – P. 329-336.
10. Cuevas K., Raj V., Bell M.A. A frequency band analysis of two year olds`memory processes // Int. J. Psychophysiol. – 2012. V. 83, № 3. – P. 315-322.
11. Marshall P.J., Bar-Haim Y., Fox N.A. Development of the EEG from 5 months to 4 years of age // Clin. Neurophysiol. – 2002. – V.113. – P. 1199-1208.
12. Jennekens W., Niemarkt H.J., Engels M., Pasma J.W., van Pul C., Andriessen P. Topography of maturational changes in EEG burst spectral power of the preterm infant with a follow up at 2 years of age // Clin. Neurophysiol. – 2012. V. 123, № 11. – P. 2130-2138.
13. Saby J.N., Marshall P.J. The utility of EEG band power analysis in the study of infancy and early childhood // Dev. Neuropsychol. – 2012. V. 37, № 3. – P. 253-273.
14. Marshall P.J., 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. – 2004. –V. 16, № 8. – P.1327-1338.
15. Marshall P.J., Reeb B.C., Fox N.A., Nelson C.A., Zeanah C.H. Effects of early intervention on EEG power and coherence in previously institutionalized children in Romania // Dev. Psychopathol. – 2008. – V. 20, № 3. –P. 861-880.
16. Bayley N., Bayley Scales of Infant and Toddler Development, TX Harcourt Assessment Inc., San Antonio (2006).
17. Kubik A. Electroencephalography in children with ADHD started with neurofeedback therapy / A. Kubik, M. Bogotko-Szarszewska, M. Tutaj [et al.] // Przegl Lek. – 2010. – V.67(9) – P.677-81.
18. Engel A.K. Beta-band oscillations – signalling the status quo? / A.K. Engel, P. Fries // Current Opinion in Neurobiology. – 2010. – V.20 – P. 156-165.
19. Huster R.J. Electroencephalography of response inhibition tasks: functional networks and cognitive contributions / R.J. Huster, S. Enriquez Geppert, C.F. Lavallee [et al.] // International Journal of Psychophysiology. – 2013. – V.87. – P.217-233.

20. Pfurtscheller G. Post-movement beta synchronization. A correlate of an idling motor area? / G. Pfurtscheller, A. Stancák Jr., C. Neuper // *Electroencephalography and Clinical Neurophysiology*. – 1996. – V. 98. – P.281-293.
21. Wróbel A. Beta activity: a carrier for visual attention / A. Wróbel // *Acta neurobiologiae Experimentalis*. – 2000. – V.60. – P.247-260
22. Güntekin B. Emotional face expressions are differentiated with brain oscillations / B. Güntekin, E. Başar // *International Journal of Psychophysiology*. – 2007. – V.64. – P.91-100.
23. Woodruff C.C. Electroencephalographic alpha-band and beta-band correlates of perspective-taking and personal distress / C.C. Woodruff, R. Daut, M. Brower [et al.] // *Neuroreport*. – 2011. – V.22. – P.744-748.
24. Cacace A.T. Spectral dynamics of electroencephalographic activity during auditory information processing / A.T. Cacace, D.J. McFarland // *Hearing Research*. – 2003. – V.176. – P.25-41.
25. Ishii R. Cortical oscillatory power changes during auditory oddball task revealed by spatially filtered magnetoencephalography / R. Ishii, L. Canuet, A. Herdman [et al.] // *Clinical Neurophysiology*. – 2009. – V.120. – P.497-504
26. Kukleta M. Beta 2-band synchronization during a visual oddball task / M. Kukleta, P. Bob, M. Brázdil [et al.] // *Physiological Research*. – 2009. – V.58. – P.725-732
27. Mazaheri A. EEG spectral dynamics during discrimination of auditory and visual targets / A. Mazaheri, T.W. Picton // *Brain Research. Cognitive Brain Research*. – 2005. – V.24. – P.81-96.
28. Павленко В. Б. ЭЭГ-корреляты тревоги, тревожности и эмоциональной стабильности у взрослых здоровых испытуемых / В. Б. Павленко, С. В. Черный, Д. Г. Губкина // *Нейрофизиология / Neurophysiology*. – 2009. – Т. 41, № 5. – С. 400-408.

COGNITIVE DEVELOPMENT OF TODDLER: CORRELATION WITH EEG PARAMETERS IN REST STATE

***Dyagileva Yu. O., Mikhailova A. A., Belalov V. V., Orekhova L. S.,
Kulichenko A. M., Pavlenko V. B.***

*V.I. Vernadsky Crimean Federal University, Simferopol, Crimea, Russia
E-mail: anna.kulenkova@gmail.com*

The features of the cognitive development of toddler and their EEG parameters in rest state are investigated. Psychological testing to determine the level of cognitive development was carried out using the Bailey III test cognitive scale. EEG was recorded in a rest state with open eyes in 16 locus. The study involved 62 children aged 18 to 42 months (27 girls and 35 boys). It was shown that 59.7% of children from the studied group had an average level of cognitive development, 30.6% had a high level of cognitive development, and 9.7% of children were diagnosed with a low level of cognitive development.

It is shown that the level of cognitive development is correlated with child's rest EEG parameters. Statistically significant negative correlations between the level of the child's cognitive development on the one hand and the EEG theta rhythm on the other were revealed. Such correlations reached a significant level in the left frontal leads (Fp1 and F3). A positive correlation of the level of cognitive development with the power of EEG alpha rhythm was also revealed. However, such a relationship reached a statistically significant level only in the left central lead (C3). The study showed that the level of

cognitive development is reflected in the power of the EEG beta rhythm. Statistically significant negative correlations were found with power beta rhythm in the left prefrontal (Fp1) and right temporal lead (T4).

Keywords: electroencephalogram, rhythm power, cognitive development, toddler.

References

1. Novikova S.I. EEG rhythms and cognitive processes. *Modern foreign psychology*. **4**, 91 (2015).
2. Simkin D.R., Thatcher R.W., Lubar J. Quantitative EEG and neurofeedback in children and adolescents: anxiety disorders, depressive disorders, comorbid addiction and attention-deficit/hyperactivity disorder, and brain injury. *Child and Adolescent Psychiatric Clinics of North America*. **23**, 427 (2014).
3. Lutsyuk N.V., Kulenkova A.A., Eismont E.V. On the possibility of applying the biofeedback method for an electroencephalogram with orphans of three years of age. *Scientific notes of the Crimean Federal University named after V.I. Vernadsky. Biology. Chemistry*. **1**, 60 (2015).
4. Casey B.J., Giedd J.N., Thomas K.M. Structural and functional brain development and its relation to cognitive development. *Biological Psychology*. **54**, 241 (2000).
5. Semenova O.A. Formation of an arbitrary regulation of activity and its brain mechanisms in ontogenesis. *Human Physiology*. **33**, 115 (2007).
6. Vasilyeva V.A., Tsehmistrenko T.A. Structural transformations of the cerebral cortex and cerebellum in children from birth to 6 years as a morphological basis for the development of visual function in postnatal ontogenesis. *Human physiology*. **22**, 68 (1996).
7. Stroganova, T.A., Orekhova E.V. Psychophysiology of individual differences in infancy: current state of the problem. *Questions of psychology*. **1**, 128 (1998).
8. Toga A.W., Thompson P.M., Sowell E.R. Mapping brain maturation. *Trends in Neurosciences*. **29**, 148 (2006).
9. McLaughlin K.A., Fox N.A., Charles H.Z., Sheridan M.A., Marshall P., Nelson C.A. Delayed maturation in brain electrical activity partially explains the association between early environmental deprivation and symptoms of attentiondeficit/hyperactivity disorder. *Biol. Psychiatry*. **68**, 329 (2010).
10. Cuevas K., Raj V., Bell M.A. A frequency band analysis of two year olds memory processes. *Int. J. Psychophysiol.* **83**, 315 (2012).
11. Marshall P.J., Bar-Haim Y., Fox N.A. Development of the EEG from 5 months to 4 years of age. *Clin. Neurophysiol.* **113**, 1199 (2002).
12. Jennekens W., Niemarkt H.J., Engels M., Pasma J.W., van Pul C., Andriessen P. Topography of maturational changes in EEG burst spectral power of the preterm infant with a follow up at 2 years of age. *Clin. Neurophysiol.* **123**, 2130 (2012).
13. Saby J.N., Marshall P.J. The utility of EEG band power analysis in the study of infancy and early childhood. *Dev. Neuropsychol.* **37**, 253 (2012).
14. Marshall P.J., 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**, 1327 (2004).
15. Marshall P.J., Reeb B.C., Fox N.A., Nelson C.A., Zeanah C.H. Effects of early intervention on EEG power and coherence in previously institutionalized children in Romania. *Dev. Psychopathol.* **20**, 861 (2008).
16. Bayley N., Bayley Scales of Infant and Toddler Development, *TX Harcourt Assessment Inc., San Antonio* (2006).
17. Kubik A., Bogotko-Szarszewska M., Tutaj M. Electroencephalography in children with ADHD started with neurofeedback therapy. *Przegl Lek.* **67**, 677 (2010).
18. Engel A.K., Fries P. Beta-band oscillations – signalling the status quo? *Current Opinion in Neurobiology*. **20**, 156 (2010).
19. Huster R.J., Geppert S.E., Lavalley C.F. Electroencephalography of response inhibition tasks: functional networks and cognitive contributions. *International Journal of Psychophysiology*. **87**, 217 (2013).
20. Pfurtscheller G. A., Stancák Jr., Neuper C. Post-movement beta synchronization. A correlate of an idling motor area? *Electroencephalography and Clinical Neurophysiology*. **98**, 281 (1996).

21. Wróbel A. Beta activity: a carrier for visual attention. *Acta neurobiologiae Experimentalis*. **60**, 247 (2000).
22. Güntekin B., Başar E. Emotional face expressions are differentiated with brain oscillations. *International Journal of Psychophysiology*. **64**, 91 (2007).
23. Woodruff C.C., Daut R., Brower M. Electroencephalographic alpha-band and beta-band correlates of perspective-taking and personal distress. *Neuroreport*. **22**, 722 (2011).
24. Cacace A.T., McFarland D.J. Spectral dynamics of electroencephalographic activity during auditory information processing. *Hearing Research*. **176**, 25 (2003).
25. Ishii R., Canuet L., Herdman A. [et al.] Cortical oscillatory power changes during auditory oddball task revealed by spatially filtered magnetoencephalography. *Clinical Neurophysiology*. **120**, 497 (2009).
26. Kukleta M., B. M. Brázdil [et al.] Beta 2-band synchronization during a visual oddball task. *Physiological Research*. **58**, 725 (2009).
27. Mazaheri A., Picton T.W. EEG spectral dynamics during discrimination of auditory and visual targets. *Brain Research. Cognitive Brain Research*. **24**, 81 (2005).
28. Pavlenko V. B., Cherny S. V., Gubkina D. G. EEG-correlates of anxiety, anxiety and emotional stability in adult healthy subjects. *Neurophysiology / Neurophysiology*. **41**, 400 (2009).

УДК 634.71 : 631.532/535

ВЛИЯНИЕ ГОРМОНАЛЬНОГО СОСТАВА ПИТАТЕЛЬНОЙ СРЕДЫ НА ИНТЕНСИВНОСТЬ РОСТА ЕЖЕВИКИ *IN VITRO*

Иванова-Ханина Л. В.

*Академия биоресурсов и природопользования (структурное подразделение) ФГАОУ ВО
«Крымский федеральный университет имени В.И. Вернадского», Симферополь,
Республика Крым, Россия
E-mail: lidaivanova-khanina@rambler.ru*

В результате исследований выявлены особенности влияния гормонального состава питательной среды на процессы приживаемости, роста и развития микропобегов ежевики на 1–3 этапах микроклонального размножения. Установлено, что для сорта 'Рубен' оптимальной концентрацией гормонов на этапе введения в культуру *in vitro* является введение БАП (0,5 мг/л) и ГК₃ (0,2 мг/л), для сорта 'Triple Crown' – несколько выше концентрация указанных гормонов – 1,0 и 0,5 мг/л соответственно. На этапе мультипликации для обоих сортов оптимальным было введение БАП и ГК₃ по 0,5 мг/л, что позволило получить 1,6–2,2 побега высотой 42,6–45,5 мм. Для индукции ризогенеза оптимальным было использование ИМК в концентрации 0,2 мг/л для сорта 'Triple Crown' и 0,5 мг/л для сорта 'Рубен'. Проведенные исследования являются основой для оптимизации методики микроклонального размножения ежевики в культуре *in vitro*.

Ключевые слова: микроклональное размножение, ежевика, *in vitro*, питательная среда, эксплант

ВВЕДЕНИЕ

Большой интерес к посадочному материалу ежевики обусловлен не только привлекательным внешним видом ягод, но и их уникальными полезными свойствами. Ягоды ежевики содержат каротиноиды, витамины группы В, провитамин А, витамины С, Е и Р, органические кислоты, микроэлементы. Употребление ягод ежевики способствует повышению иммунитета, активизации процессов мышления, благоприятно воздействует на сердечно-сосудистую и нервную системы, улучшает процессы метаболизма [1].

Культивирование ежевики, особенно ремонтантных форм, обеспечивающих конвейер продукции в курортный сезон – с первых чисел июня и до конца октября, представляет значительный интерес для экономики аграрного сектора Крыма. Однако, специфические климатические условия: скудные осадки, повышенные температуры и низкая влажность воздуха в летний период, а также возвратные весенние заморозки ограничивают возможности производства посадочного материала ягодных растений [2].

В связи с этим актуально использование методов размножения *in vitro*. Наиболее часто для получения однородного посадочного материала используют метод микроклонального размножения. По сравнению с традиционным методом вегетативного размножения он имеет ряд несомненных преимуществ: сокращение

сроков получения посадочного материала, высокий коэффициент размножения и возможность оздоровления растений от патогенов [3, 4].

Вопросам оптимизации технологии микрклонального размножения ягодных растений уделено немало внимания, что прослеживается в работах Волосевич Н. Н. [5], Эрст А. А., Вечерниной Н. А. [6] и др. авторов. Отдельные этапы разработаны и для размножения ежевики *in vitro* [7–9], однако в большинстве работ подчеркивается, что видовая и сортовая специфичность эксплантов вызывает необходимость подбора и усовершенствования состава питательной среды на каждом из этапов микрклонального размножения.

Целью данных исследований являлось выявление влияния гормонального состава питательной среды на уровень регенерации, рост и развитие микропобегов ежевики *in vitro*.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Материалом для исследований служили перспективные для южных регионов сорта ежевики 'Triple Crown' и 'Рубен', характеризующиеся комплексом ценных признаков.

При проведении исследований использовали общепринятые методики по культуре изолированных клеток, тканей и органов растений [10–12]. Эксплантами для введения в асептическую культуру служили пазушные почки ежевики. Стерилизация растительного материала заключалась в последовательной обработке 70 % этанолом (40 с) и 50 % раствором Domestos (10 мин.), с последующей промывкой в трех сменах стерильной воды. С почек удаляли кроющие листья и высаживали их на питательную среду. Экспланты культивировали на модификациях агаризованной питательной среды Мурасиге и Скуга (МС), с добавлением 6-бензиламинопурина (БАП), кинетина (кин.) и гибберелловой кислоты (ГК₃). Условия культивирования эксплантов: температура 25±2 °С, 16-ти часовой фотопериод при освещенности 2,0–3,0 тыс. люкс и относительной влажности воздуха 70 %.

На этапе мультипликации регенерировавшие в условиях *in vitro* микропобеги ежевики разделяли на сегменты длиной 6–10 мм и высаживали на свежую питательную среду. Для культивирования использовали модификации питательной среды МС с добавлением 6-бензиламинопурина (БАП) и гибберелловой кислоты (ГК₃) в разных концентрациях.

Для укоренения использовали питательную среду с половинным количеством макро- и микросолей (½ МС), с добавлением β-индолил-3-уксусной кислоты (ИУК) или β-индолил-3-масляной кислоты (ИМК). Укореняемые микропобеги имели 3–5 пазушных почек и высоту побега не менее 20 мм.

Статистическую обработку экспериментальных данных проводили с использованием пакета программ Excel 7.0 для Microsoft Windows®. В таблицах приведены средние значения и их стандартные ошибки.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Эффективность процессов регенерации эксплантов на первом этапе микроклонального размножения в значительной степени обусловлена составом питательной среды. Оптимизацию гормонального состава осуществляли на базе питательной среды МС, добавляя цитокинины (БАП, кинетин) и гибберелловую кислоту (ГК₃) в различных концентрациях.

Выбор в качестве экспланта почки (организованной структуры) и включение в состав питательной среды цитокининов позволяли стимулировать образование побегов. Анализ полученных данных показал, что культивирование на питательной среде с добавлением БАП способствовало получению более высоких биометрических показателей (табл. 1). Так, у сорта 'Triple Crown' уровень приживаемости при культивировании на среде с добавлением кинетина (0,2–0,5 мг/л) и ГК₃ (0,1–0,2 мг/л) составил 62,0–78,6 %, частота регенерации – 54,1–66,4 %. При использовании сочетания БАП (0,2–0,5 мг/л) и ГК₃ (0,1–0,2 мг/л) эти показатели были незначительно выше (67,3–80,0 % и 46,6–72,4 %).

Таблица 1

Влияние гормонального состава питательной среды на развитие эксплантов на этапе введения в культуру *in vitro* (30 сут. культивирования)

Параметры роста	Содержание и концентрация гормонов, мг/л						
	кин. 0,2 ГК ₃ 0,1	кин. 0,5 ГК ₃ 0,1	кин. 0,5 ГК ₃ 0,2	БАП 0,2 ГК ₃ 0,1	БАП 0,5 ГК ₃ 0,1	БАП 0,5 ГК ₃ 0,2	БАП 1,0 ГК ₃ 0,5
'Triple Crown'							
Уровень приживаемости, %	75,5±5,2	78,6±5,8	62,0±3,6	67,3±5,2	68,5±5,5	80,0±3,5	85,1±5,3
Частота регенерации, %	54,1±4,9	66,4±4,4	58,6±4,1	46,6±2,9	56,2±4,6	72,4±2,9	76,0±4,2
Высота побега, мм	22,6±1,4	24,8±1,3	30,2±1,7	42,7±1,2	28,4±2,1	35,5±1,3	40,4±2,4
Количество побегов, шт.	1,8±0,6	2,0±0,4	2,3±0,2	2,3±0,1	2,6±0,1	2,6±0,5	3,0±0,2
'Рубен'							
Уровень приживаемости, %	60,0±2,5	75,0±5,8	68,5±3,8	72,2±5,1	70,5±4,3	88,1±2,1	90,9±3,6
Частота регенерации, %	46,1±2,2	54,9±4,6	54,6±4,3	65,0±5,5	62,5±3,9	76,5±3,0	84,8±6,2
Высота побега, мм	24,2±1,3	20,6±1,1	28,9±1,3	33,8±1,4	33,5±1,3	38,1±2,1	36,5±2,0
Количество побегов, шт.	2,1±0,2	2,2±0,6	2,2±0,4	2,2±0,4	2,4±0,3	2,5±0,1	2,8±0,4

В то же время Мытницкая Ю. Ф. и др. [13] при культивировании ремонтантных форм малины *in vitro* отмечали существенную разницу в выживаемости эксплантов на средах с разными видами цитокининов. В наших исследованиях во всех вариантах отмечалось формирование сразу нескольких побегов, но частота множественного побегообразования была различной, количество

сформировавшихся побегов варьировало от 1,8 до 2,3 шт. на среде с добавлением кинетина и от 2,3 до 3,0 шт. на средах с добавлением БАП. В эксперименте учитывали высоту одного (основного) побега. Отмечено, что культивирование на питательных средах с добавлением БАП обеспечивало большую высоту побегов (28,4–42,7 мм). Оптимальным для сорта 'Triple Crown' является вариант с БАП (1,0 мг/л) и ГК₃ (0,5 мг/л), что способствовало формированию 3,0±0,2 шт. побегов высотой 40,4±2,4 мм.

Для сорта 'Рубен' наблюдалась аналогичная тенденция в реакции на разные виды цитокининов, но оптимальным оказалось введение БАП и ГК₃ в меньшей концентрации (0,5 мг/л и 0,2 мг/л соответственно).

На этапе мультипликации основная цель заключается в достижении максимального коэффициента размножения. На коэффициент размножения в культуре *in vitro* влияет совокупность факторов: генотип растения, состав питательной среды, физические условия культивирования, стабильность процесса размножения при субкультивировании микропобегов.

Приступать ко второму этапу микроклонального размножения исследуемых сортов ежевики можно уже через 30 суток после эксплантации почек, т. к. за этот период из одного экспланта формируется, в среднем, 2–3 побега высотой 30–40 мм (см. табл. 1). Кроме того, при увеличении длительности культивирования возрастает возможность механического травмирования побегов при извлечении их из пробирки.

После разделения микропобегов на черенки с одной-двумя пазушными почками культивирование осуществляли на питательных средах с добавлением БАП и ГК₃ в разных концентрациях. Через 3–5 суток после черенкования наблюдали некоторое утолщение базальной части микрочеренков, затем – пробуждение пазушной почки и рост микропобегов. Частота регенерации побегов во всех вариантах эксперимента была высокой и составляла 80,0–96,0 % (табл. 2).

При анализе изменения высоты основного побега в зависимости от концентрации регуляторов роста выявлена динамика повышения значения этого параметра с увеличением концентрации ГК₃ с 0,1 мг/л до 0,5 мг/л на фоне БАП (0,5 мг/л). Повышение концентрации ГК₃ до 1,0 мг/л, как и повышение концентрации БАП, не оказывало существенного влияния на высоту и количество сформировавшихся побегов. Таварткиладзе О. К. и Вечернина Н. А. [7] при культивировании перспективной формы ежевики садовой бесшипой на средах с содержанием БАП выше 5 мкМ отмечали наибольшее количество регенерировавших почек (коэффициент размножения был равен 15), но они были гипергидратированы и не пригодны для дальнейшего размножения. Таким образом, на этапе мультипликации оптимальным из исследуемых вариантов является добавление в состав питательной среды БАП и ГК₃ по 0,5 мг/л, что позволяет получить, в среднем, 1,6–2,2 побега высотой 42,6–45,5 мм.

Исследованиями многих авторов [3, 10, 11] показано, что под действием цитокининов, используемых на первых этапах размножения *in vitro*, у многих растений ингибируется образование корневой системы и необходимым является этап укоренения микропобегов. Для индукции процессов ризогенеза в состав

ВЛИЯНИЕ ГОРМОНАЛЬНОГО СОСТАВА ПИТАТЕЛЬНОЙ СРЕДЫ ...

питательной среды вводят ауксины (ИУК, ИМК, НУК, ИПК) в различных концентрациях. Под влиянием цитокининов стимулируется процесс деления клеток паренхимы побега и дифференциация корневых зачатков в основании микропобега. Исследованиями [7, 8, 14] показано, что для укоренения ягодных растений *in vitro* эффективным является использование ИМК или ИУК.

Таблица 2
Влияние гормонального состава питательной среды на развитие микропобегов ежевики на этапе мультипликации (30 сут. культивирования)

Параметры роста	Содержание и концентрация гормонов, мг/л				
	БАП 0,5 ГК ₃ 0,1	БАП 0,5 ГК ₃ 0,3	БАП 0,5 ГК ₃ 0,5	БАП 1,0 ГК ₃ 0,5	БАП 0,5 ГК ₃ 1,0
'Triple Crown'					
Частота регенерации, %	84,0±4,5	88,4±2,6	90,6±3,7	90,1±4,5	88,4±6,2
Высота побега, мм	38,6±1,4	42,2±1,8	45,5±1,3	46,4±1,8	46,6±1,3
Количество побегов, шт.	1,8±0,2	2,4±0,6	2,2±0,5	2,2±0,2	1,9±0,4
'Рубен'					
Частота регенерации, %	92,3±5,1	95,5±2,5	96,0±2,0	84,0±4,7	80,0±3,0
Высота побега, мм	32,6±0,7	38,2±1,4	42,6±1,0	44,2±1,3	44,1±1,8
Количество побегов, шт.	1,2±0,4	1,6±0,2	1,6±0,5	1,5±0,2	1,4±0,6

Для укоренения микропобеги ежевики высаживали на питательную среду с половинным количеством макро- и микросолей (½ МС), содержащую полный набор витаминов и ауксины (ИМК или ИУК в концентрациях 0,2–1,0 мг/л). Частота ризогенеза в эксперименте была высокой независимо от генотипа, вида ауксина и его концентрации в питательной среде и составляла 74,8–86,0 % у микропобегов сорта 'Triple Crown' и 84,2–88,0 % у сорта 'Рубен' (табл. 3).

Таблица 3
Влияние концентрации ауксинов на развитие микропобегов ежевики на этапе укоренения *in vitro* (30 сут. культивирования)

Параметры роста	Концентрация ауксинов, мг/л					
	ИУК			ИМК		
	0,2	0,5	1,0	0,2	0,5	1,0
'Triple Crown'						
Частота ризогенеза, %	74,8±5,6	86,0±3,5	77,9±3,2	80,0±2,5	76,4±3,0	79,2±4,4
Прирост побегов, мм	22,5±2,1	21,2±1,6	16,3±2,8	19,4±2,0	21,3±1,6	16,2±2,3
Количество корней, шт.	3,3±0,5	4,6±0,3	3,7±0,2	4,2±0,1	4,7±0,6	4,6±0,5
Длина корней, мм	32,2±1,4	35,8±2,1	36,7±1,6	41,8±2,1	43,2±1,7	43,0±1,6
'Рубен'						
Частота ризогенеза, %	84,2±3,9	85,0±2,0	85,2±2,2	86,4±4,6	88,0±3,0	87,5±2,4
Прирост побегов, мм	21,9±1,6	19,5±1,5	18,4±2,1	22,3±1,8	24,0±1,5	22,8±1,6
Количество корней, шт.	3,0±0,5	4,5±0,2	4,7±0,4	3,9±0,6	4,8±0,5	5,0±0,2
Длина корней, мм	28,4±2,1	26,5±2,2	27,3±1,6	24,8±2,1	31,5±1,8	28,0±1,8

Волосевич Н. Н. с соавторами [14] отмечают, что появление корней у ежевики наблюдали даже на средах, содержащих цитокинины, но оптимальной для укоренения была среда с добавлением 0,5 мг/л ИМК на фоне 1,0 мг/л ГК₃. Анализ данных, представленных в таблице 3, позволяет отметить, что в обоих вариантах использования ауксинов наблюдалось интенсивное укоренение микропобегов и развитие корней. Анализ биометрических показателей сорта 'Triple Crown' показал, что варианты с добавлением ИУК в концентрации 0,5 мг/л и ИМК в концентрации 0,2 мг/л и 0,5 мг/л не имеют существенных различий. В связи с этим оптимальным для данного сорта является добавление в среду ИМК в концентрации 0,2 мг/л. Для сорта 'Рубен' выделен вариант с добавлением ИМК в концентрации 0,5 мг/л, поскольку длина корней была существенно выше, чем при добавлении ИМК в концентрации 0,2 мг/л. Кроме того, в процессе культивирования отмечена тенденция к снижению величины прироста при увеличении концентрации ауксинов, что, вероятно, связано с ингибирующим воздействием ауксинов на процессы роста побегов.

Таким образом, в результате проведенных исследований оптимизирован гормональный состав питательной среды для введения почек исследуемых сортов ежевики в культуру *in vitro*, подобраны оптимальные модификации питательной среды МС для этапа мультипликации и укоренения микропобегов.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

1. На первом этапе микроклонального размножения на уровень регенерации, рост и развитие микропобегов исследуемых сортов ежевики значительное влияние оказывает гормональный состав питательной среды. Для сорта 'Triple Crown' на этапе введения в культуру *in vitro* оптимальным является добавление в среду БАП (1,0 мг/л) и ГК₃ (0,5 мг/л), что способствует формированию 3,0±0,2 шт. побегов высотой 40,4±2,4 мм. Для сорта 'Рубен' – БАП (0,5 мг/л) и ГК₃ (0,2 мг/л).
2. На этапе мультипликации уровень регенерации микропобегов ежевики после черенкования достаточно высокий и составляет 80,0–96,0 %.
3. Оптимальной модификацией питательной среды МС на этапе мультипликации является вариант с добавлением БАП и ГК₃ по 0,5 мг/л, что позволяет получить, в среднем 1,6–2,2 побега высотой 42,6–45,5 мм.
4. Для индукции ризогенеза *in vitro* у микропобегов исследуемых сортов ежевики оптимальным является использование в качестве ауксина ИМК в концентрации 0,2 мг/л для сорта 'Triple Crown' и 0,5 мг/л для сорта 'Рубен'.

Список литературы

1. Ягодные культуры: учебное пособие / В. В. Даньков, М. М. Скрипниченко, С. Ф. Логинова, Н. Н. Горбачева, Г. В. Щербакова, Т. В. Долженко – СПб.: Изд-во «Лань», 2015 г. – 192 с.
2. Копылов В. И. Плодоводство Крыма в XXI веке / В. И. Копылов, В. В. Шевченко, Н. М. Щербатко // Агропромышленный комплекс Крыма в XXI веке : научн. труды КГАУ – Симферополь, 2002. – Вып. 68. – С. 68–77.
3. Калашникова Е. А. Клеточная инженерия растений : учебное пособие / Е. А. Калашникова. – М.: Изд-во РГАУ-МСХА, 2012. – 318 с.

4. Иванова-Ханина Л. В. Основы биотехнологии растений: клеточные технологии в селекции и размножении : учебное пособие / Л. В. Иванова-Ханина. – Симферополь: ИТ «АРИАЛ», 2015. – 144 с.
5. Волосевич Н. Н. Размножение *in vitro* и оздоровление от вирусов малины / Н. Н. Волосевич, С. Э. Семенов, Н. В. Кухарчик // Биология клеток растений *in vitro* и биотехнология : тезисы IX Междунар. конф. – Звенигород, 2008. – С. 78–79.
6. Эрст А. А. Введение в культуру смородины золотистой / А. А. Эрст, Н. А. Вечернина // Биология клеток растений *in vitro* и биотехнология : тезисы IX Междунар. конф. – Звенигород, 2008. – С. 450–451.
7. Таварткиладзе О. К. Размножение ежевики в культуре *in vitro* / О. К. Таварткиладзе, Н. А. Вечернина // Эл. журнал «Известия Алтайского государственного университета». Биологические науки [Электронный ресурс], 2007. – № 3 (55). – Режим доступа: <http://izvestia.asu.ru/2007/3/biol/TheNewsOfASU-2007-3-biol-06.pdf>
8. Соловых Н. В. Клональное размножение ягодных культур *in vitro* / Н. В. Соловых, С. А. Муратова, М. Б. Янковская // «Актуальные проблемы размножения ягодных культур и пути их решения» : мат. Междунар. научн.-метод. дистанционной конф. [Электронный ресурс], 2010. – Режим доступа: <http://konferenc2010.narod.ru>
9. Ташматова Л. В. Особенности клонального микроразмножения ежевики с различной формой роста / Л. В. Ташматова, Л. А. Грюнер, О. В. Мацева // Эл. журнал «Современное садоводство» [Электронный ресурс], 2014. – № 4. – Режим доступа: <http://journal.vniispk.ru>
10. Калинин Ф. Л. Методы культуры тканей в физиологии и биохимии растений / Ф. Л. Калинин, В. В. Сарнацкая, В. Е. Полищук. – К.: Наукова думка, 1980. – 488 с.
11. Бутенко Р. Г. Культура изолированных тканей и физиология морфогенеза растений / Р. Г. Бутенко. – М.: Наука, 1964. – 272 с.
12. Kartha K. K. Meristem culture / K. K. Kartha // Plant tissue culture methods / Ed. by O.L. Gamborg, L.R. Wetter. – Canada, Saskatoon, 1975. – P. 39–43.
13. Мытницкая Ю. Ф. Эффективность различных цитокининов при введении в культуру *in vitro* новых сортов ремонтантной малины / Ю. Ф. Мытницкая, В. В. Заякин, С. Н. Евдокименко, И. Я. Нам // В сб.: «Биотехнологические приемы в сохранении биоразнообразия и селекции растений». Сб. статей Междунар. науч. конф. – Минск, 2014. – С. 180–183.
14. Волосевич Н. Н. Ризогенез ягодных культур *in vitro* / Н. Н. Волосевич, С. Э. Семенов, Е. В. Колбанова // В сб.: «Теоретические и прикладные аспекты биохимии и биотехнологии растений». Сб. науч. тр. III Междунар. науч. конф. к 50-летию отдела биохимии и биотехнологии растений, Минск: Издательский центр БГУ, 2008. – С. 222–226.

INFLUENCE OF THE HORMONAL COMPOSITION OF NUTRIENT MEDIUM ON INTENSITY OF BLACKBERRY GROWTH *IN VITRO*

Ivanova-Khanina L. V.

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

The method of microclonal propagation is characterized by a high multiplication factor and the possibility to obtain a homogeneous planting material, improved from pathogens. Much attention has been paid to the issues of optimizing the microclonal propagation technology of soft-berry plants, but most of the studies point that the species and varietal specificity of explants necessitate to select and optimize the nutrient medium composition for different stages of microclonal reproduction *in vitro*.

The purpose of these studies was to identify the effect of the hormonal composition of the nutrient medium on the regeneration level, growth and development blackberry microshoot in vitro.

The blackberry varieties 'Triple Crown' and 'Ruben', promising the southern regions, were used for this study. Blackberry axillary buds were used for *in vitro* culture. Analysis of the obtained data showed cultivation on a nutrient medium with the addition of BAP (0,2–0,5 mg/l) forwarded to higher biometric indicators than the additional kinetin (0,2–0,5 mg/l). The optimal option of the nutrient medium for the 'Triple Crown' variety is the addition of BAP (1,0 mg/l) and HA (0,5 mg/l), which contributes to formation of $3,0 \pm 0,2$ pcs. shoots height $40,4 \pm 2,4$ mm. For the Ruben variety turned out that the administration of BAP and HA in a lower concentration (0,5 mg/l and 0,2 mg/l, respectively) was optimal.

At the stage of multiplication, the frequency of shoots regeneration in all experiment variants of the was high and amounted to 80,0–96,0 %. Optimal for the studied varieties is the adding to the nutrient medium of BAP and HA at 0,5 mg/l, which makes it possible to obtain, on average, 1,6–2,2 shoots with a height of 42,6–45,5 mm.

At the rooting stage, microshoots of blackberry were planted on depleted nutrient medium MS ($\frac{1}{2}$ MS) containing IBA or IAA in concentrations of 0,2–1,0 mg/l. The frequency of rhizogenesis in the experiment was high regardless of the genotype, the type of auxin and its concentration in the nutrient medium and was 74,8–86,0 % for the Triple Crown variety, and for 'Ruben' formed 84,2–88,0 %. Analysis of roots number and length of the studied varieties made it possible to reveal the optimal type and concentration of auxins. For the Triple Crown variety, it is optimal to add an IBA at a concentration of 0,2 mg/l to the medium – 4,2 units are formed. roots 41,8 mm long. For the 'Ruben' adding 0,5 mg/l IBA contribute in formation of 4,8 pcs. roots with a length of 31,5 mm.

Thereby, as a result of the research, the hormonal composition of the nutrient medium for the introduction of the buds of the studied blackberry varieties into an in vitro culture has been optimized.

Keywords: microclonal reproduction, blackberry, in vitro, nutrient medium, explant

References

1. Dan'kov V. V., Skripnichenko M. M., Loginova S. F., Gorbacheva N. N., Shcherbakova G. V. and Dolzhenko T. V. Soft-berry varieties: Textbook, 192 (SPb.: Publ. House "Lan", 2015).
2. Kopylov V. I., Shevchenko V. V. and Scherbatko N. M. Horticulture of Crimea in the XXI century, *Agro-industrial complex of the Crimea in the 21st century: Sci. Works of the CSAU*, **68**, 68 (2002)
3. Kalashnikova E. A. Cell engineering of plants: Textbook, 318 (M.: Publ. office: Russian State Agrarian University – Moscow Timiryazev Agricultural Academy (RGAU-MSHA), Moscow, 2012).
4. Ivanova-Khanina L. V. Basics of Plant Biotechnology: Cell Technologies in Breeding and Reproduction: Textbook, 144 (Simferopol: Publ. office: "ARIAL", 2015).
5. Volosevich N. N., Semenas S. E. and Kukharchik N. V. Reproduction in vitro and improvement raspberry from viruses, *Biology of plant cells in vitro and biotechnology: theses IX International. conf.*, 78 (2008).
6. Erst A. A. and Vechernina N. A. Introduction in culture the golden currant, *Biology of plant cells in vitro and biotechnology: theses of the IX International. conf.*, 450 (2008).
7. Tavartkiladze O. K. and Vechernina N. A. Blackberry reproduction *in vitro* culture [Electronic resource]: *El. magazine "News of Altai State University". Biological Sciences*, **3 (55)** (2007), Access Mode: URL: <http://izvestia.asu.ru/2007/3/biol/TheNewsOfASU-2007-3-biol-06.pdf>
8. Solovikh N. V., Muratova S. A. and Yankovskaya M. B. Clonal propagation soft-fruit crops *in vitro* [Electronic resource]: «*Relevant problems of berry cultures reproduction and ways of their solution*»:

- Proceedings of the International Scientific-Methodological Conference*, 2010. – Access Mode: URL: <http://konferenc2010.narod.ru>.
9. Tashmatova L. V., Gryuner L. A. and Matsneva O. V. Features of blackberry clonal micropropagation with different form of growth, *El. Journal of Modern Horticulture*, **4**, 60 (2014). – Access mode: URL: <http://journal.vniispk.ru>
 10. Kalinin F. L., Sarnatskaya V. V. and Polishchuk V. E. The culture of tissue methods in plant physiology and biochemistry, 488 (Kiev: Naukova Dumka, 1980).
 11. Butenko R. G. The culture of isolated tissues and plant morphogenesis physiology, 272 (Moscow: Science, 1964).
 12. Kartha K. K. Meristem culture : Plant tissue culture methods, 39 (Saskatoon: N.R.C. Canada, 1975).
 13. Mytnitskaya Yu. F., Zayakin V. V., Evdokimenko S. N. and Nam I. Ya. The effect of using diferent cytokinins for introducing *in vitro* culture the new remontant raspberries, *Biotechnological techniques to preserve a biodiversity and for plant breeding. Collection of articles of the International scientific conference*, 180 (2014).
 14. Volosevich N. N., Semenas S. E. and Kolbanova E. V. Rhizogenesis soft-berries *in vitro*, *Theoretical and applied aspects of plant biotechnology and biochemistry. Collection of scientific report*, 222 (2008).

УДК 612.821

СВЯЗЬ РЕАКТИВНОСТИ СЕНСОМОТОРНОГО РИТМА ЭЭГ ПСИХОЛОГИЧЕСКИМИ ПОКАЗАТЕЛЯМИ У ДЕТЕЙ 6-9 ЛЕТ

Кайда А. И., Эйсмонт Е. В.

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

Исследовались особенности реактивности индивидуально рассчитанного частотного диапазона сенсомоторного ритма ЭЭГ, а также связи реактивности с уровнем когнитивного развития и состоянием эмоциональной сферы у детей 6-9 лет (N=60). Статистически значимое снижение мощности сенсомоторного ритма при выполнении детьми самостоятельных движений правой рукой относительно состояния двигательного покоя наблюдалось в отведении С3. Большим значениям индекса десинхронизации сенсомоторного ритма соответствовали более высокие показатели по невербальным шкалам и более низкие показатели по вербальному субтесту «Арифметический» теста Векслера. Также были выявлены отрицательные корреляции со значениями по шкалам «депрессивность», «трудности общения» и «чувство неполноценности», определяемым с помощью проективной методики «Дом-Дерево-Человек».

Ключевые слова: ЭЭГ, сенсомоторный ритм, мю-ритм, альфа-ритм, зеркальная система мозга, дети.

ВВЕДЕНИЕ

В последние годы наблюдается увеличение числа детей и подростков, имеющих целый ряд различных психологических нарушений, в связи с чем все большую актуальность приобретает психологическое здоровье подрастающего поколения [1]. Большое значение также имеет проблема исследования и оценки когнитивного развития. Несмотря на то, что изучением интеллекта и внимания занимаются в течение долгих лет, многое по-прежнему сомнительно и противоречиво. Важным направлением в этой области является изучение сенсомоторного ритма (мю-ритма) ЭЭГ (8-13 Гц), который регистрируется в состоянии двигательного покоя над локусами С3, Сз и С4 [2]. Амплитуда данного ритма снижается как при выполнении действия, так и при наблюдении за этим действием. У индивидов, страдающих расстройствами аутистического спектра, подобного падения сенсомоторного ритма при наблюдении за действием другого лица зарегистрировано не было [3].

Проведенные ранее исследования с использованием метода ЭЭГ продемонстрировали прямую зависимость между амплитудой альфа-волн и показателями интеллекта [4]. Также было выявлено, что снижение мощности в альфа диапазоне (8-13 Гц) было связано с меньшим количеством ошибок при решении семантических задач и лучшим запоминанием информации [5]. Экспериментальные данные также свидетельствуют в пользу того, что реакция десинхронизации в диапазоне альфа-ритма положительно коррелирует не только с

восприятием и обработкой информации [6], но и с активностью корковых сетей, связанных с обработкой социальной информации высшего порядка [7].

При этом особенности реактивности индивидуально рассчитанного частотного диапазона сенсомоторного ритма, а также связь его реактивности с уровнем когнитивного развития и состоянием эмоциональной сферы у детей остаются мало изученными. Также, важным представляется выделение индивидуального частотного диапазона сенсомоторного ритма, что может уменьшить эффект смещения мю- и альфа-ритмов. В связи с вышеизложенным, целью настоящей работы является выявление связей между реактивностью сенсомоторного ритма ЭЭГ и психологическими показателями у детей 6-9 лет.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В исследовании приняли участие 60 детей в возрасте 6–9 лет (41 мальчик и 19 девочек) с уровнем когнитивного развития, соответствующим возрастной норме. Регистрация, обработка и анализ ЭЭГ осуществлялись по общепринятой методике с помощью автоматизированного комплекса, состоящего из электроэнцефалографа «Нейрон-Спектр – 3» и двух персональных компьютеров. 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, однако в дальнейшем анализе использовались лишь фронтальные, центральные и теменные отведения. 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.

Запись ЭЭГ производилась во время выполнения испытуемыми серии заданий длительностью по 30 секунд. Испытуемый и экспериментатор располагались за стоящими рядом столами (экспериментатор справа), на каждом из которых находился монитор и компьютерная мышь. На мониторе перед испытуемым с помощью веб-камеры демонстрировалась рабочая плоскость стола экспериментатора с расположенной на ней мышью.

Задачей исследования была регистрация паттернов ЭЭГ в рамках четырех экспериментальных блоков: (1) выполнение самостоятельных движений мышью по кругу, (2) наблюдение за аналогичными движениями, выполняемыми экспериментатором, (3) имитация движений экспериментатора и (4) аудиальное восприятие детьми при закрытых глазах движений мыши экспериментатора). Каждый блок включал в себя предварительный этап расслабления с закрытыми глазами, чтобы обеспечить относительное единообразие исходного психофизиологического состояния.

Далее для каждого этапа рассчитывалось среднее значение мощности ЭЭГ в диапазоне индивидуально рассчитанного сенсомоторного ритма в центральных отведениях C3, C4 и Cz. В качестве эпох анализа использовались временные интервалы по 3 секунды с перекрытием 50%. Методика расчета индивидуального

частотного диапазона основывалась на выделении отрезка ЭЭГ в диапазоне от 6 до 13 Гц шириной 2 Гц, которому соответствует максимальная реакция десинхронизации (падения) в отведении С3 при совершении самостоятельно контролируемых движений правой рукой относительно условия зрительной фиксации на видеоизображении неподвижно лежащей на столе компьютерной мыши. Сравнивались усредненные мощности биопотенциалов, зарегистрированные на протяжении одной минуты (2 x 30 секунд), соответствующие экспериментальным ситуациям фиксации взгляда на неподвижной компьютерной мыши и самостоятельных движений. Для этого полный частотный диапазон сенсомоторного ритма разбивался на отрезки шириной в один Гц, каждый из которых оценивался с целью поиска реакции максимальной десинхронизации. В зависимости от ее величины выбирались два смежных отрезка, демонстрирующие максимальное падение относительно других. Далее они рассматривались как индивидуальный частотный диапазон сенсомоторного ритма.

Рассчитывались индексы синхронизации/десинхронизации сенсомоторного ритма для каждого экспериментального блока по отношению к исходному состоянию. Для блоков (1) и (2) это была ситуация наблюдения за видеоизображением неподвижно лежащей компьютерной мыши; для блока (3) – самостоятельные движения компьютерной мышью; для блока (4) – расслабленное состояние с закрытыми глазами. Положительные значения индекса десинхронизации свидетельствовали о снижении мощности сенсомоторного ритма относительно исходного состояния, а отрицательные – об увеличении мощности исследуемого ритма.

Для оценки уровня интеллектуального развития детей использовали тест Векслера (WISC) [8]. Тест состоит из 5 вербальных и 5 невербальных субтестов, которые измеряют разные способности, а в сумме дают коэффициент умственного развития ребенка (показатель IQ).

Для оценки уровня развития внимания использовали go/no-go-тест. Испытуемым предъявляли пары (30 пар) слуховых стимулов разной тональности (высокая-высокая, высокая-низкая, низкая-низкая, низкая-высокая) с интервалами по 2 с внутри пары и по 4 с между парами. Длительность низкого и высокого сигналов составляла 200 мс. Частота низкого тона составляла 400 Гц, высокого – 1000 Гц. Пары тонов предъявлялись в случайном порядке с одинаковой вероятностью (приближающейся к 50%) появления как низкого, так и высокого тона. Задача испытуемых заключалась в том, чтобы нажать на кнопку ведущей рукой со временем реакции не более эталонного в ответ на предъявление второго стимула пары, состоящей из двух стимулов одинаковой частоты, высокой или низкой, и не реагировать на пары сигналов, имеющих разную тональность. В результате проведения go/no-go-теста для каждого испытуемого определяли среднее время реакции (в мс), количество ошибок пропуска значимых стимулов, когда испытуемый не нажимал на кнопку при предъявлении пар стимулов, требующих нажатия, и количество ошибочных нажатий, когда испытуемый нажимал на кнопку в случае предъявления стимулов разной тональности.

Также применяли проективный тест «Дом – Дерево – Человек» [9]. При использовании данной методики ребенку дается лист бумаги размера А4, сложенный

пополам, на котором он, согласно инструкции, должен нарисовать дом, дерево и человека. Каждый заданный объект рисуется на отдельной части листа. Данная методика позволяет производить количественную оценку уровня таких показателей, как «незащищенность», «тревожность», «недоверие к себе», «чувство неполноценности», «враждебность», «фрустрация», «трудности общения» и «депрессивность» в баллах в зависимости от наличия в рисунке ряда определенных качественных показателей (например, наличие облаков и выраженная штриховка в рисунках, интенсивно затушеванные волосы у нарисованного человека и др., относящихся по данной методике к симптомокомплексу «тревожность»).

Данные электрофизиологического исследования и показатели психологических тестов количественно обрабатывались посредством стандартных методов вариационной статистики. Для расчета корреляций использовали коэффициент корреляции Спирмена.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

В результате проведенного исследования были получены следующие данные. При выполнении испытуемыми самостоятельных произвольных движений компьютерной мышью наиболее значимое падение сенсомоторного ритма наблюдалось в отведении С3, в сравнении с предыдущей фоновой записью ЭЭГ при открытых глазах в состоянии двигательного покоя. В локусе Cz было зарегистрировано незначительное снижение мощности сенсомоторного ритма. Также наблюдалось возрастание мощности сенсомоторного ритма в отведении С4 (рис. 1).

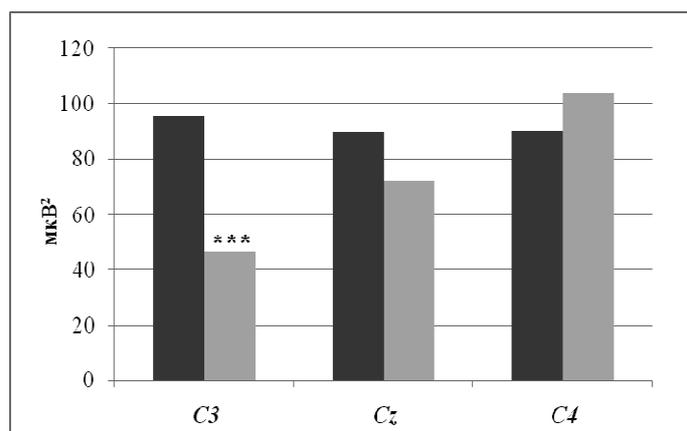


Рис. 1. Диаграммы значений мощности сенсомоторного ритма при открытых глазах в состоянии двигательного покоя (темные столбцы) и при выполнении испытуемыми самостоятельных движений (светлые столбцы). По горизонтали – локусы отведений, по вертикали – мощность сенсомоторного ритма (мкВ²). Звездочками отмечен случай значимости изменения мощности сенсомоторного ритма при $P < 0,001$.

Десинхронизация сенсомоторного ритма в отведении С3 является логичной, поскольку контроль над движениями правой руки осуществляет моторная зона контралатерального, т.е. левого, полушария. Кроме того, имеются сведения об усилении десинхронизации ЭЭГ-активности при когнитивной обработке испытуемыми озвученного экспериментатором задания [10]. Синхронизация мю-активности в правом полушарии может рассматриваться как компенсаторное снижение активности сенсомоторной зоны ипсилатерального полушария, что, как правило, сопровождается увеличением мощности ритма «холостого хода», т.е. альфа-ритма [11].

В остальных экспериментальных блоках статистически значимых изменений мощности анализируемого ритма обнаружено не было.

Результаты корреляционного анализа показали наличие статистически значимых связей между индексом десинхронизации индивидуально рассчитанного сенсомоторного ритма, с одной стороны, и показателями, характеризующими уровень развития когнитивных функций, а также состояние эмоциональной сферы детей, с другой стороны. Так, было выявлено, что большим значениям индекса десинхронизации сенсомоторного ритма в отведении Cz при выполнении испытуемыми самостоятельных движений, соответствовали большие значения по шкале «Недоверие к себе» проективной методики «Дом-Дерево-Человек» ($r = 0,33, p = 0,01$).

Чем больше был процент падения сенсомоторного ритма в отведениях Cz и C3 в данной экспериментальной ситуации, тем выше были значения по невербальному субтесту «Последовательные картинки» в тесте Векслера (рис. 2). Полученные результаты согласуются с исследованием, проведенным в 2015 году, где было показано, что у испытуемых с высоким уровнем невербального интеллекта депрессия сенсомоторного ритма была более выражена, чем у людей с низким уровнем невербального интеллекта в тесте Векслера [12].

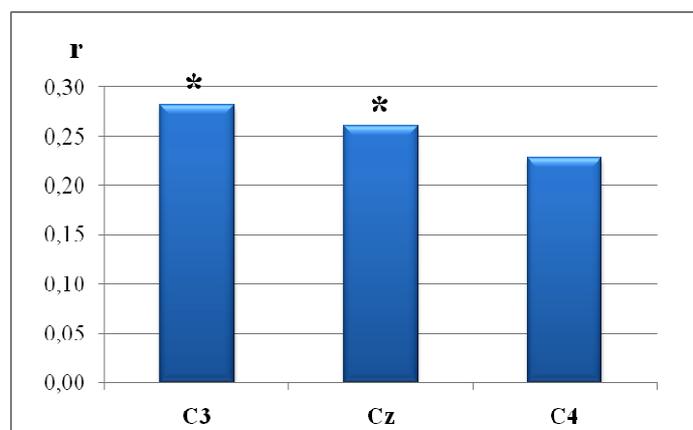


Рис. 2. Значения коэффициентов корреляции (r) величины индекса десинхронизации сенсомоторного ритма в отведениях C3, Cz и C4 при выполнении испытуемыми самостоятельных движений с показателями по невербальному субтесту «Последовательные картинки» в тесте Векслера. Звездочками отмечены случаи значимости корреляционной зависимости: * $P < 0,05$.

Также, чем выше был индекс десинхронизации сенсомоторного ритма в отведении С3 при выполнении испытуемыми самостоятельных движений, тем ниже были значения по вербальному субтесту «Арифметический» ($r = -0,33$, $p = 0,01$). Можно выдвинуть предположение, что для детей с меньшей реактивностью зеркальной системы мозга в срединной центральной области характерна лучшая сосредоточенность на выполняемом задании. Также можно предположить, что более сильный эмоциональный резонанс одного лица с другим может приводить к увеличению времени, затрачиваемому на выполнение заданий, требующих достаточно высокой концентрации произвольного внимания, например, таких как арифметический счет.

Большим значениям индекса десинхронизации сенсомоторного ритма в отведении С4 при выполнении испытуемыми самостоятельных движений, соответствовали большие значения общего уровня интеллекта в тесте Векслера (рис. 3).

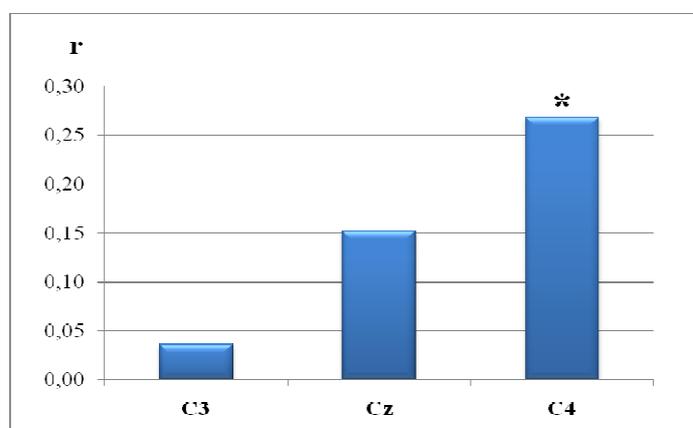


Рис. 3. Значения коэффициентов корреляции (r) величины индекса десинхронизации сенсомоторного ритма в отведениях С3, Сz и С4 при выполнении испытуемыми самостоятельных движений с показателем «Общий интеллект» теста Векслера. Остальные обозначения те же, что на рис. 2.

Чем выше был индекс десинхронизации сенсомоторного ритма в отведении Сz при наблюдении испытуемым движений, выполняемых экспериментатором, тем были выше значения по невербальному субтесту «Последовательные картинки» в тесте Векслера (рис. 4).

Чем выше был индекс десинхронизации сенсомоторного ритма в отведении С4 при имитации испытуемым движений экспериментатора, тем большее число ошибок наблюдалось при выполнении теста «go/no-go» ($r = 0,26$, $p = 0,04$).

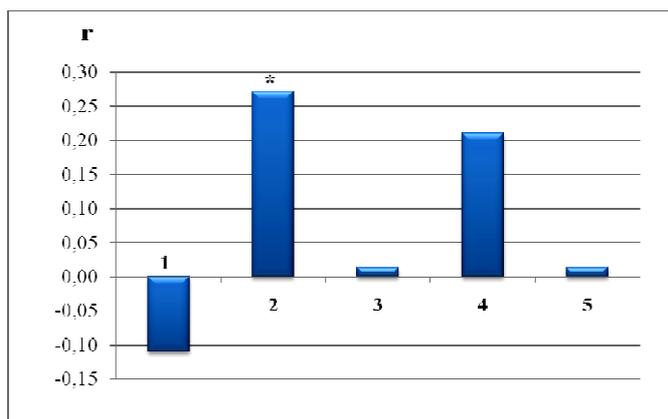


Рис. 4. Значения коэффициентов корреляции (r) величины индекса десинхронизации сенсомоторного ритма в отведении Cz при наблюдении испытуемым движений, выполняемых экспериментатором с показателями по невербальным шкалам теста Векслера: 1 – «Недостающие детали», 2 – «Последовательные картинки», 3 – «Кубики Кооса», 4 – «Складывание фигур», 5 – «Шифровка». Остальные обозначения те же, что на рис. 2.

Также, большим значениям индекса десинхронизации сенсомоторного ритма в отведении С4 в данной экспериментальной ситуации, соответствовали большие значения по невербальному субтесту «Складывание фигур» (рис. 5).

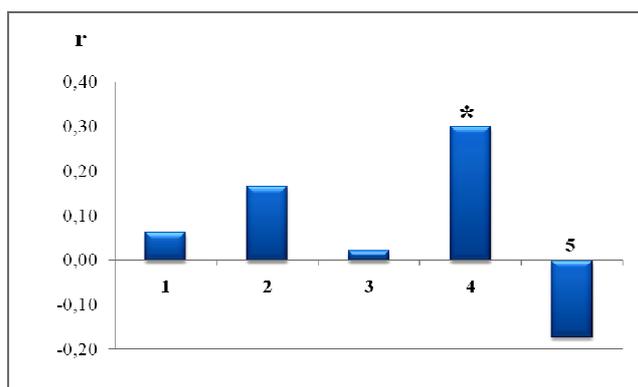


Рис. 5. Значения коэффициентов корреляции (r) величины индекса десинхронизации сенсомоторного ритма в отведении С4 при имитации испытуемым движений экспериментатора с показателями по невербальным шкалам теста Векслера: 1 – «Недостающие детали», 2 – «Последовательные картинки», 3 – «Кубики Кооса», 4 – «Складывание фигур», 5 – «Шифровка». Остальные обозначения те же, что на рис. 2.

Большим значениям индекса десинхронизации сенсомоторного ритма в отведении Сз при восприятии испытуемыми на слух при закрытых глазах звуков, сопровождающих движения мышью, совершаемых экспериментатором, соответствовали меньшие значения по шкале «депрессивность» проективной методики «Дом-Дерево-Человек» ($r = -0,28, p = 0,03$).

Чем выше был индекс десинхронизации сенсомоторного ритма в отведении С3 в данной экспериментальной ситуации, тем ниже были значения по шкале «трудности общения» проективной методики «Дом-Дерево-Человек» (рис. 6).

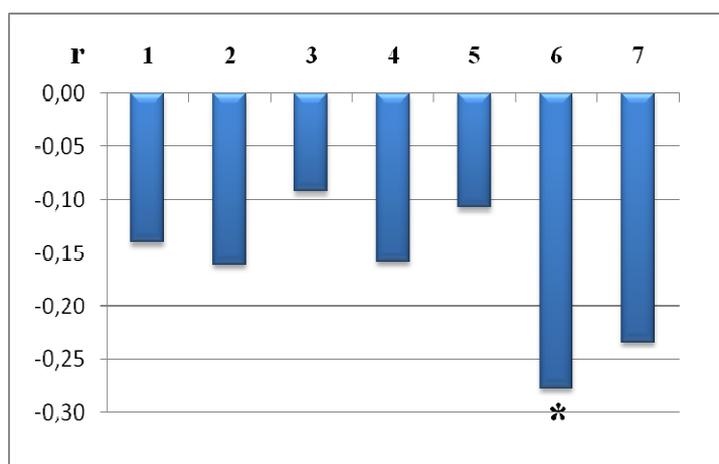


Рис. 6. Значения коэффициентов корреляции (r) величины индекса десинхронизации сенсомоторного ритма в отведении С3 при восприятии испытуемыми на слух при закрытых глазах звуков, сопровождающих движения мышью, совершаемых экспериментатором, с показателями теста «Дом-Дерево-Человек»: 1 – «незащищенность», 2 – «недоверие к себе», 3 – «чувство неполноценности», 4 – «враждебность», 5 – «фрустрация», 6 – «трудности общения», 7 – «депрессивность». Остальные обозначения те же, что на рис. 2.

Также, чем выше был индекс десинхронизации сенсомоторного ритма в отведении С4 при восприятии испытуемыми на слух при закрытых глазах звуков, сопровождающих движения мышью, совершаемых экспериментатором, тем ниже были значения по шкале «чувство неполноценности» ($r = -0,26, p = 0,04$) проективной методики «Дом-Дерево-Человек».

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

1. В результате проведенного исследования были выявлены статистически значимые изменения мощности сенсомоторного ритма ЭЭГ при проведении теста на активацию зеркальной системы мозга, а также статистически значимые связи между реактивностью сенсомоторного ритма и показателями,

- характеризующими уровень когнитивного развития и состояние эмоциональной сферы у детей 6-9 лет.
2. В ситуации выполнения детьми самостоятельных движений правой рукой наблюдалось статистически значимое снижение мощности сенсомоторного ритма в левом центральном отведении относительно ситуации двигательного покоя.
 3. Более высоким значениям индекса десинхронизации сенсомоторного ритма ЭЭГ у детей в тесте на активацию зеркальной системы мозга соответствовали статистически значимо более высокие показатели по невербальным шкалам и более низкие показатели по вербальному субтесту «Арифметический» теста Векслера.
 4. Более высоким значениям индекса десинхронизации сенсомоторного ритма при слуховом восприятии детьми при закрытых глазах звуков, сопровождающих движения экспериментатора, соответствовали меньшие значения по шкалам «депрессивность», «трудности общения» и «чувство неполноценности», определяемым с помощью проективной методики «Дом-Дерево-Человек».

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

Исследование частично выполнено при финансовой поддержке Программы развития Крымского федерального университета им. В.И. Вернадского на 2015 – 2024 годы

Список литературы

1. Костина Л. М. Методы диагностики тревожности / Л. М. Костина. – СПб.: Речь, 2006. – 198 с.
2. Alpha, beta and gamma electrocorticographic rhythms in somatosensory, motor, premotor and prefrontal cortical areas differ in movement execution and observation in humans / C. Babiloni [et al.] / Clin Neurophysiol. – 2016. – V.127 (1). – P.641-54.
3. Hobson H.M. The interpretation of mu suppression as an index of mirror neuron activity: past, present and future / H.M. Hobson, D. V. Bishop // R Soc Open Sci. – 2017. – №. 4 (3). – P. 1606-62.
4. EEG alpha synchronization is related to top-down processing in convergent and divergent thinking / M. Benedek, S. Bergner, T. Konen [et al.] // Neuropsychologia. – 2011. – V. 49 (12). – P. 3505-3511.
5. Intelligence related upper alpha desynchronization in a semantic memory task / M. Doppelmayr, W. Klimesch, K. Hodlmoser [et al.] // Brain Res. Bull. – 2005. – V. 66 (2). – P. 171-177.
6. Perry A. Exploring motor system contributions to the perception of social information: evidence from EEG activity in the mu/alpha frequency range / A. Perry, N. F. Troje, S. Bentin // Soc. Neurosci. – 2010. – V. 5 (3). – P. 272-284.
7. Ferrari P. F. New frontiers in mirror neurons research / P. F. Ferrari, G. Rizzolatti // NY: Oxford University Press. – 2015.
8. Ильина М. Н. Психологическая оценка интеллекта у детей / М. Н. Ильина – П.: Питер, 2006. – 368 с.
9. Беляускяйте Р. Рисуночные пробы как средство диагностики развития личности ребенка / Р. Беляускяйте // Диагностическая и коррекционная работа школьного психолога. – М.: АПН СССР, 1987. – С. 67-74.
10. Electroencephalographic signatures of attentional and cognitive default modes in spontaneous brain activity fluctuations at rest / H. Laufs, K. Krakow, P. Sterzer [et al.] // Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA. – 2003. – Т. 100, № 19. – P. 11053-11058.

11. Шевелев И. А. Волновые процессы в зрительной коре мозга / И. А. Шевелев // Природа. – 2001. – № 12. – С. 10-15.
12. A possible correlation between performance IQ, visuomotor adaptation ability and mu suppression. / M. N. Anwar, M. S. Navid, M. Khan [et al.] // Brain Res. – 2015. – Т. 1603. – P. 84-93.

THE RELATIONS BETWEEN EEG SENSORIMOTOR RHYTHM REACTIVITY AND PSYCHOLOGICAL INDICATORS IN CHILDREN AGED 6-9

Kaida A. I., Eismont E. V.

*V.I. Vernadsky Crimean Federal University, Simferopol, Crimea, Russia
E-mail: kaydaanna@gmail.com*

The features of the individually calculated EEG sensorimotor rhythm reactivity were investigated, as well as the relationship between sensorimotor rhythm reactivity and the level of cognitive development and the state of the emotional sphere in children aged 6-9 (N=60). The EEG parameters were recorded, processed and analyzed according to the standard technique using an automatic complex consisting of an electroencephalograph (Neuron Spectrum-3) and a personal computer. The differences in the EEG sensorimotor rhythm (8–13 Hz) amplitude were analyzed separately for each series under the electrodes C₃, C_z and C₄. The condition of performed self-paced movements, compared to the state of motor rest revealed statistically significant decrease in the sensorimotor rhythm power under C₃ electrode site. Positive correlations were found between the sensorimotor rhythm desynchronization index and the values of non-verbal scales in the Wechsler test. In addition, negative correlations were discovered between the sensorimotor rhythm desynchronization index in the condition of performed self-paced movements and the values of the «Arithmetic» scale in the Wechsler test. Negative correlations were also found between the sensorimotor rhythm desynchronization index and the values of the «depressiveness», «difficulties in communication» and «sense of inferiority» scales in the «House – Tree – Man» test.

Keywords: electroencephalogram, sensorimotor rhythm, mu-rhythm, alpha-rhythm, mirror neuron system, children.

References

1. Kostina L., M Methods of anxiety diagnostic / L. M. Kostina, *Speech*, 198 (2006).
2. Babiloni C., De Percio C., Vecchio F., Sebastiano F., .Alpha, beta and gamma electrocorticographic rhythms in somatosensory, motor, premotor and prefrontal cortical areas differ in movement execution and observation in humans, *Clin Neurophysiol*, **127** (1), 641 (2016).
3. Hobson H.M., Bishop D. V., The interpretation of mu suppression as an index of mirror neuron activity: past, present and future, *R Soc Open Sci.*, **4** (3), 1606 (2017).
4. Benedek M., Bergner S., Konen T., EEG alpha synchronization is related to top-down processing in convergent and divergent thinking, *Neuropsychologia*, 49 (12), 3505 (2011).
5. Doppelmayr M., Klimesch W., Hodlmoser K., Intelligence related upper alpha desynchronization in a semantic memory task, *Brain Res. Bull.*, **66** (2), 171 (2005).

6. Perry A., Troje N. F., Bentin S., Exploring motor system contributions to the perception of social information: evidence from EEG activity in the mu/alpha frequency range, *Soc. Neurosci.*, **5** (3), 272 (2010).
7. Ferrari P.F., Rizzolatti G., *New frontiers in mirror neurons research*, NY: *Oxford University Press*, (2015).
8. Илина М. Н. Psychological evaluation of intelligence in children, Peter, 368 (2006).
9. Belyauskaite R., *Drawings as a means of diagnosing the development of the child's personality*, Moscow, 67 (1987).
10. Laufs H., Krakow K., Sterzer P., Electroencephalographic signatures of attentional and cognitive default modes in spontaneous brain activity fluctuations at rest, *Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA*, **19**, 11053 (2003).
11. Shevelev I. A., Wave processes in the visual cortex of the brain, *Nature*, **12**, 10 (2001).
12. Anwar M. N., Navid M. S, Khan M., A possible correlation between performance IQ, visuomotor adaptation ability and mu suppression, *Brain Res.*, **1603**, 84 (2015).

УДК 581.8

АНАТОМИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ СТРОЕНИЯ ЛИСТОВОЙ ПЛАСТИНКИ РАСТЕНИЙ ЦЕНОПОПУЛЯЦИЙ *CORNUS MAS* L. НА КРЫМСКОМ ПОЛУОСТРОВЕ

Каширина Н. А.¹, Жалдак С. Н.²

¹*ФГБУН «НИИСХ КРЫМА», Симферополь, Республика Крым, Российская Федерация*

²*Таврическая академия (структурное подразделение) ФГАОУ ВО «Крымский федеральный университет имени В. И. Вернадского», Симферополь, Республика Крым, Россия*

E-mail: natalia.kashirina.96@mail.ru

Проанализированы анатомические признаки строения листовой пластинки растений *Cornus mas*, произрастающих в различных физико-географических условиях Крымского полуострова. Установлено сходство анатомического строения листовых пластинок растений во всех изучаемых ценопопуляциях *Cornus mas*. Выявлено варьирование метрических параметров кроющих трихом, а так же изменчивость их по форме и наличию у растений пяти исследуемых ценопопуляций *Cornus mas*.

Ключевые слова: *Cornus mas* L., анатомия, трихомы, внутривидовая изменчивость.

ВВЕДЕНИЕ

В настоящее время изучение анатомических особенностей строения растительного организма является одним из важнейших критериев при выявлении степени внутривидовой изменчивости у растений. В различных ботанических исследованиях, когда наблюдается генетическая близость видов и возникают трудности при их идентификации, именно анатомический анализ является одним из важнейших информативных методов, позволяющих сделать оценку о родственных связях тех или иных таксонов в систематике [1]. Исследуя частные особенности анатомических структур листа, можно определить не только его эколого-физиологические особенности и условия произрастания, но и проанализировать формовое разнообразие внутри вида [2].

Среди множества видов, произрастающих в природе, все большую популярность приобретает *Cornus mas* (Кизил настоящий) – растение с ценными лекарственными, декоративными, плодовыми и пищевыми свойствами. Кизил давно известен в культуре благодаря высокой ценности листьев и плодов, содержащих все необходимые для жизнедеятельности человека биологически активные вещества [3, 4]. Однако, в естественных условиях произрастания данный вид характеризуется высокой степенью полиморфизма, проявляющегося в различиях по внешнему облику растений, их жизненной форме (кустарниковая или древесная), морфологическим признакам листовой пластинки и плода [4, 5]. В настоящее время, сведений об эколого-биологических особенностях *Cornus mas* на Крымском

полуострове в научной литературе практически отсутствуют [2]. Поэтому изучение степени и характера внутривидовой изменчивости *Cornus mas* в естественных условиях произрастания в Крыму является достаточно актуальным и перспективным направлением для исследования [4, 5, 7].

Цель исследования – изучить анатомо-морфологические особенности строения листовой пластинки растений различных ценопопуляций *Cornus mas* на Крымском полуострове.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Cornus mas (Кизил настоящий) – многолетний кустарник семейства Cornaceae Bercht. et J. Pz. Родиной считается Кавказ, где кизил является одним из важнейших компонентов образования подлеска в дубовых и сосновых лесах. В Европе дикорастущие насаждения кизила встречаются в Южной Бельгии, Франции, Средней Италии, Польше, Венгрии, Чехии [4, 5, 8]. В Российской Федерации *Cornus mas* произрастает в окрестностях г. Ростова, г. Краснодара, в Ставрополе и на территории Крымского полуострова, где ареал вида охватывает Предгорную и Горную зоны. По своим морфо-биологическим особенностям исследуемый представитель характеризуется разнообразной формой кроны (шаровидная, пирамидальная, раскидистая), листовой пластинки (овальная, ланцетовидная, яйцевидная), плода (овально-цилиндрическая, гороховидная, овально-грушевидная, грушевидная, овальная, бочонковидная), а так же супротивным, реже очередным листорасположением. Цветки актиноморфные, обоеполые, собраны в цимозные, метелковидные, щитковидные или зонтиковидные соцветия. Плод – нижняя синкарпная костянка. Вид характеризуется засухоустойчивостью, морозостойкостью, нетребовательностью к условиям выращивания и ежегодным стабильным плодоношением [4, 9].

Для изучения были выбраны 5 ценопопуляций *Cornus mas* в пределах естественного ареала вида, произрастающих в различных физико-географических условиях Крымского полуострова: на южном и северном макросклоне Главной горной гряды Крымских гор, в области Предгорий, в её западной и восточной частях. Первая ценопопуляция *Cornus mas* в количестве 18 экземпляров, располагалась в долине реки Улу-Узень, в окр. с. Генеральское, на высоте примерно 250-300 м н.у.м. Вторая ценопопуляция *Cornus mas*, представленная 26 особями, располагалась на высоте 600-650 м н.у.м. в Предгорной зоне, в окр. пгт. Научный. В пределах данной ценопопуляции произрастают как кустарниковые, так и древесные жизненные формы растений. Третья ценопопуляция *Cornus mas* площадью около 0,3 га, произрастает в районе ущелья Шейтан-Капу долины реки Танасу (окр. с. Красноселовка), на высоте примерно 600 м н.у.м. Четвертая ценопопуляция *Cornus mas*, взятая под наблюдение, располагалась в окр. с. Тополевка в Белогорском районе и была представлена 23 экземплярами в виде кустарниковых и древесных форм. Последняя, пятая ценопопуляция *Cornus mas*, в количестве 15 экземпляров, располагалась в окр. г. Старый Крым в восточной части Главной гряды Крымских гор на высоте 350-400 м н.у.м.

Изучение ценопопуляций растений проводили согласно стандартным методам геоботанических исследований. Выборка по условиям эксперимента в пределах одной ценопопуляции составляла в среднем от 15 до 27 особей *Cornus mas*. Для исследования анатомических особенностей строения листовых пластинок кизила в каждой изучаемой ценопопуляции, с различных частей кроны у растений отбирались листья в количестве 10-15 шт., которые затем фиксировали в спиртово-водной смеси в соотношении 1:3. Микропрепараты изготавливали от руки лезвием, окрашивали флороглюцином и обесцвечивали (фиксируют) соляной кислотой. После соответствующей обработки погружали в глицериновый раствор. Анализ исследуемых объектов проводили с помощью микроскопа BRESSER Microscope with 3.5" LCD Display [9]. Все полученные результаты обрабатывались с использованием стандартных методов математической статистики [10].

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Изучение анатомических особенностей листовых пластинок растений исследуемых ценопопуляций *Cornus mas* выявило сходное строение. Лист у всех особей бифациальный, гипостоматический. С обеих сторон покрыт однослойной эпидермой с хорошо развитой кутикулой и трихомами (кроющими и/или железистыми) различной формы. Под эпидермой расположен мезофилл листа, четко дифференцированный на палисадную (2-3 слоя) и губчатую ткань (3-4 слоя). Проводящая система представлена дугообразно изогнутым закрытым коллатеральным пучком с ксилемой и флоэмой. Механическая ткань образована уголкового колленхимой из 2-3 слоев снизу и 4-5 слоев сверху листа (рис.1.). Анатомический анализ показал, что четкая дифференциация мезофилла на палисадную и губчатую паренхиму, наличие устьиц только на нижней стороне листа, достаточно хорошо развитая кутикула (до 0,04 мкм), наличие множества трихом, позволяет отнести исследуемые растения *Cornus mas* к экологической группе ксеромезофитов.

Ранее, изучая анатомическое строение вегетативных и генеративных органов у различных представителей полиморфного рода *Cornus*, авторы указывают на наличие у растений *Cornus mas* только одного типа трихом – кроющий одноклеточный и производных от него четырех форм:

1. двухвершинный, т-образный, практически сидячий, с очень короткой базальной частью и с асимметрично разветвленной апикальной частью;
2. двухвершинный, т-образный, с вытянутой длинной базальной частью и с симметрично разветвленной апикальной частью;
3. двухвершинный, т-образный, с вытянутой длинной базальной частью и с асимметрично разветвленной апикальной частью;
4. тонкий нитевидный, встречающийся вдоль главной жилки листа [1,2; 9].

При изучении анатомического строения листовой пластинки растений различных ценопопуляций *Cornus mas*, на эпидерме, кроме указанного выше типа - трихом - одноклеточный кроющий и его форм, нами были обнаружены иная его форма: трехклеточный т-образный, имеющий центральную перегородку, а так же второй

тип трихом - железистый волосок, о наличие которых у представителей рода *Cornus* ранее в литературе указано не было. Таким образом, у особей исследуемых

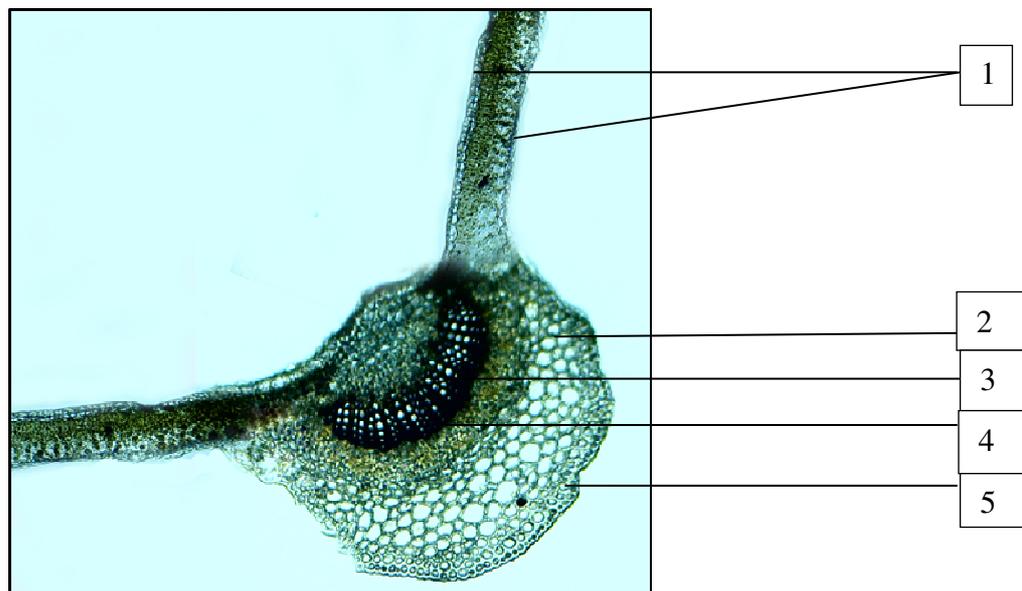


Рис. 1. Анатомическое строение листовой пластинки *Cornus mas* (ув. 15x10)
1 – эпидерма; 2 – паренхима; 3 – флоэма; 4 – ксилема; 5 – колленхима

ценопопуляций *Cornus mas* можно выделить два типа трихом и их разнообразные формы (рис. 2.):

А. Тип - кроющий трихом, подразделяемый на следующие формы:

I. Одноклеточный

1. одноклеточный, неразветвленный с крупной базальной и апикальной частями:

1 а. укороченный ($l=1,22\pm 0,02$ мкм, где 1 здесь и далее – длина трихома (мкм));

1 б. удлинённый ($l=2,1\pm 0,1$ мкм).

2. одноклеточный двухвершинный, т-образный:

2а. короткая базальная ($l=0,34\pm 0,01$ мкм) и асимметричная апикальная части;

2б. длинная базальная ($l=1,01\pm 0,04$ мкм) и симметричная апикальная части;

2с. длинная базальная ($l=1,33\pm 0,03$ мкм) и асимметричная апикальная части.

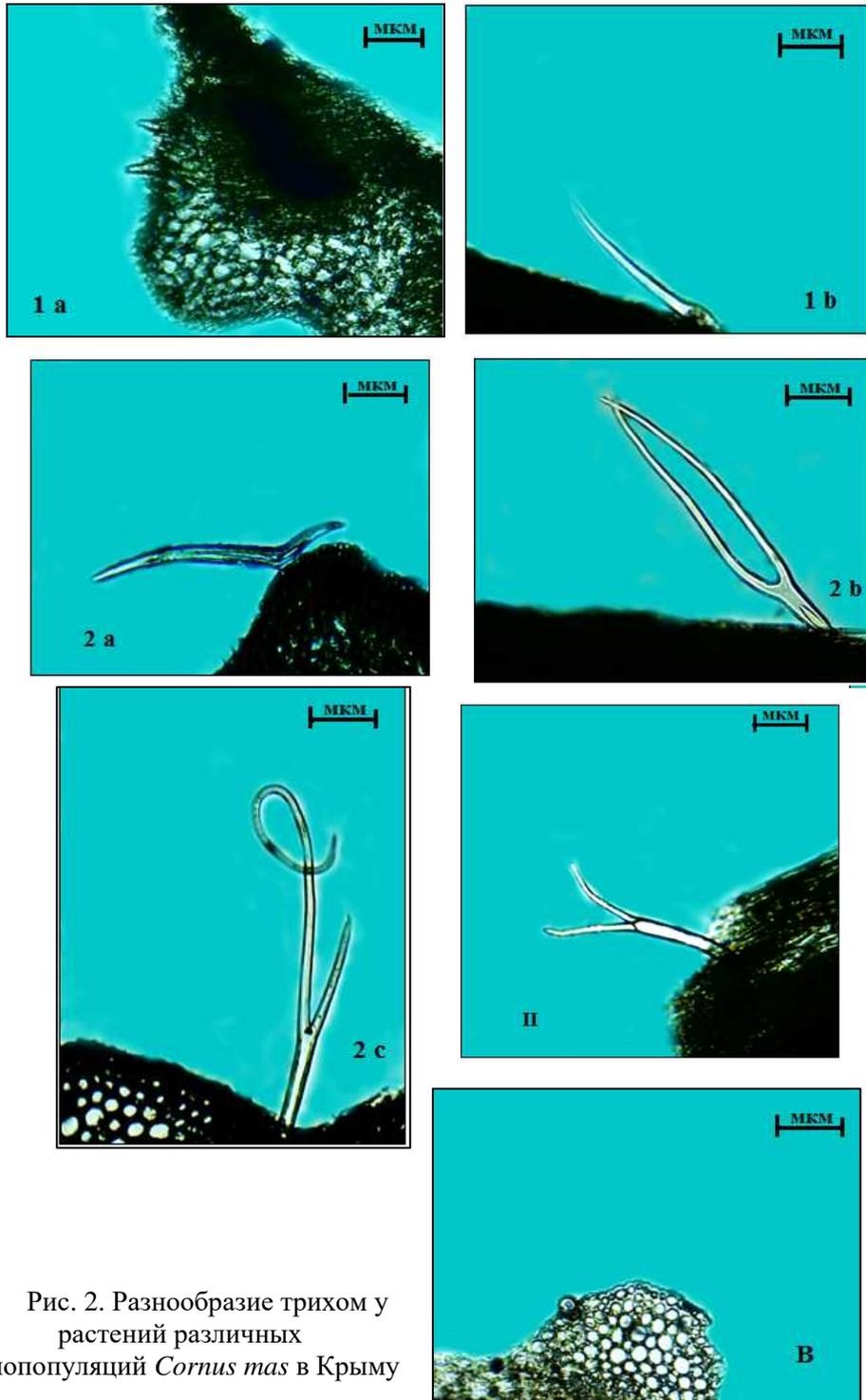


Рис. 2. Разнообразие трихом у растений различных ценопопуляций *Cornus mas* в Крыму

П. Трехклеточный, разветвленный, т-образный, имеющий перегородку, с одноклеточной длинной базальной ($l=1,39\pm 0,04$ мкм) и двухклеточной симметричной апикальной частью ($l=1,35\pm 0,01$ мкм).

В. Железистый сидячий одноклеточный шаровидный трихом, своей расширенной частью погруженный в субэпидермальную ткань листа ($l=0,48\pm 0,01$ мкм).

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

1. Проведенные исследования показали, что *Cornus mas* обладает широким диапазоном изменчивости по ряду анатомических признаков, что указывает на высокую степень полиморфизма вида в пределах его естественного ареала на территории Крымского полуострова;
2. На основании анализа структурной организации листовой пластинки растений, вид отнесен к экологической группе - ксеромезофиты;
3. У растений, изучаемых ценопопуляций *Cornus mas*, выявлен новый, ранее в научной литературе не указываемый для вида тип трихом - железистый волосок, а так же трехклеточная форма кроющего трихома.

Список литературы

1. Денисова Г. А. Терпеноидосодержащие структуры растений / Г. А. Денисова. – Ленинград: Наука, 1989. – 141 с.
2. Клименко С. В. Анатомия листьев представителей семейства Cornaceae Bercht.et J. Presl в условиях лесостепи Украины / С. В. Клименко, Е. Н. Клименко // Интродукція рослин. – Київ. – № 3. – 2016. – С.23-37.
3. Уджуху М. И. Плодоношение, возобновление и селекции кизила в горных лесах Адыгеи: автореферат дис. кандидата сельскохозяйственных наук: 06.03.01 / Уджуху Мигрета Илиева. – Майкоп, 2007. – 163 с.
4. Клименко С. В. Кизил. Сорты в Украине / С. В. Клименко // Научно-популярное издание. – Полтава: Верстка, 2007. – 44 с.
5. Мельничук О. А. Кизил (*Cornus mas* L.) у природі і культурі Закарпаття (біологія, екологія, формове різноманіття): дис... канд. біол. наук: 03.00.05 / О. А. Мельничук. – Київ, 2008. – 194 с.
6. Мельничук О. А. Генофонд Кизилу справжнього (*Cornus mas*) в Закарпатті / О. А. Мельничук // Генетичні ресурси рослин. – 2012. – № 10/11. – С. 160-172.
7. Тигиева И. Ф. Кизил в условиях естественного произрастания и культуре в Республике Северная Осетия-Алания: диссертация... кандидата сельскохозяйственных наук: 06.01.07 / И. Ф. Тигиева. – Владикавказ, 2005. – 152 с.
8. Ильина А. И. Кизил как плодовое дерево Крыма: автореф. дис. канд. биол. наук / А. И. Ильина. – Л. : АН СССР, 1952. – 20 с.
9. Луговой И. С. Морфолого-анатомическое исследование стебля и почек кизила обыкновенного *Cornus mas* L. семейства Кизиловые / И. С. Луговой и др. // Фармация и фармакология. – 2014. – Вып. 6, № 7. – С. 18-21.
10. Плохинский Н. А. Биометрия / Н. А. Плохинский. – М.: МГУ, 1970. – 367 с.

ANATOMICAL STRUCTURE OF THE LEAF BLADE OF PLANTS IN
COENOPOPULATIONS OF *CORNUS MAS* L. ON THE CRIMEAKashirina N. A.¹, Zhaldak S. N.²¹FSBSI "Research Institute of agriculture of Crimea", Simferopol, Crimea, Russia²V.I. Vernadsky Crimean Federal University, Simferopol, Crimea, Russia

E-mail: natalia.kashirina.96@mail.ru

The article presents the results of studying the anatomical features of the structure of the lamina of *Cornus mas* plants growing in different physiographic conditions of the Crimean peninsula. Five cenopopulations within the natural range of the species growing in different physiographic conditions of the Crimean peninsula were selected for study: on the southern and northern macroslope of the Main mountain range of the Crimean Mountains, in the foothill region, in its western and eastern parts. The study of plants was carried out according to standard methods of geobotanical research. The sample according to the experimental conditions within the same coenopopulation averaged from 15 to 27 individuals of *Cornus mas*. To study the anatomical features of the leaf structure of the cornel in each studied coenopopulation, 10-15 pieces were taken from plants with different parts of the crown, which were then fixed in an alcohol-water mixture at a ratio of 1: 3. Micropreparations were made by hand with a blade and stained with floroglucin and decolorized with hydrochloric acid. After appropriate treatment, immersed in a glycerol solution. Studies have shown a high degree of polymorphism in natural growing conditions, manifested in differences in the appearance of plants, their vital form (shrub or woody), morphological features of the leaf blade and the fruit. Anatomical analysis showed that the sheet is hypostomatic, bifacial, covered with epidermis and cuticle, the mesophyll is represented by a palisade and spongy tissue, the conducting system is an arcuate-curved closed collateral bundle with xylem and phloem. The mechanical fabric is formed by a corner bell.

In each of the 5 studied cenopopulations, intraspecific variability was revealed for a number of different types of trichomes, differing in form and structural organization. In addition to the types of trichomes and their forms indicated in the scientific literature, we found a different form - a three-cell branched, double-vertex, T-shaped trichome, and the second type of trichome – a glandular. A clear differentiation of the mesophyll into the palisade and spongy parenchyma, the presence of stomata only on the underside of the leaf, a well-developed cuticle (up to 0.04 μm), the presence of many trichomes, makes it possible to classify the studied *Cornus mas* plants to the ecological group of xeromezophytes, and the similarity in the structure of anatomical structures indicates closely related relationships in a systematic position.

Keywords: *Cornus mas* L., anatomy, trichomes, intraspecific variability.

References

1. Denisova G. A. *Terpenoid-containing plant structures*, 141 (Leningrad, 1989).
2. Klimenko S. V. and Klimenko E. N. Anatomy of leaves of representatives of the family Cornaceae Bercht.et J. Presl in the conditions of the forest-steppe of Ukraine, *Plant introduction*, 3, 23 (2016).

3. Udzhuhu M. I. *Plodonoshenie, vozobnovleniye i selektsii kizila v gornyykh lesakh Adygei* : avtoref. dis. na soisk. uchen. stepeni kandidata boil. nauk, 163 (Maykop, 2007).
4. Klimenko S. V. *Kizil. Varieties in Ukraine*, 44 (Poltava, 2007).
5. Melnichuk O. A. *Kizil (Cornus mas L.) in nature and culture of Carpathia (biology, ecology, and molds in a variety of forms)*: dis. na soisk. uchen. stepeni kandidata boil. nauk, 194 (Kiev, 2008).
6. Melnichuk O. A. Gene fund Kizil spruvzhniy (*Cornus mas*) in Carpathia , *Genetic resources of plant*, 10 (11), 160 (2012).
7. Tigieva I. F. *Kizil v usloviyakh estestvennogo proizrastaniya i kulture v Respublike Severnaya Osetiya Alaniya* : avtoref. dis. na soisk. uchen. stepeni kandidata boil. nauk, 152 (Vladikavkaz, 2005).
8. Ilina A.I. *Kizil as a fruit tree of Crimea*: avtoref. dis. na soisk. uchen. stepeni kandidata boil. nauk, 20 (Львов, 1952).
9. Lugovoi I. S. Morphological-anatomical research of the stem and bud of the cornell *Cornus mas* L. Family Cornaceae. *Farmaciya i farmakologiya*, **6** (7), 18 (2014).
10. Plokhinskiy N. A. *Biometriya*, 367 (Moscow, 1970).

УДК 581.93:502.72 (477.75)

ПОСТПАСТИЩНАЯ ДЕМУТАЦИЯ В ОПУСТЫНЕННЫХ СТЕПЯХ РАВНИННОГО КРЫМА С УЧЕТОМ ИНТЕНСИВНОСТИ ПАСКВАЛЬНОЙ НАГРУЗКИ

Кобечинская В. Г.

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

На основе многолетних данных рассмотрены закономерности постпастбищной демутации опустыненных степей равнинного Крыма в окрестностях озера Сасык, что выполнено впервые для данного региона. Это позволило установить изменения в их флористическом богатстве. В 2017 г на ключевых участках было зафиксировано 108 видов. Этот показатель на 22 вида меньше, чем в 1999 году, т.к. при восстановлении растительности, рудеральные однолетние растения выпали из травостоя, имея низкую конкурентную способность, и заместились на коренные многолетние биоморфы. Задачами данного исследования были анализ динамики продукционно-деструкционного процесса фитоценозов, испытавших в прошлом разную интенсивность пасквальной дигрессии, и выявление изменений физических и химических показателей почвы в условиях резкого снижения интенсивности выпаса с учетом спектра выпасаемых животных. Установлено, что эпизодические и умеренные пастбищные нагрузки приводят к стимуляции продуктивной активности сообществ и увеличения общей фитомассы фитоценозов с 11,69 до 14,52 ц/га. Умеренные нагрузки по сравнению с интенсивными так же вызывают заметный рост этого показателя – с 6,58 до 10,87 ц/га. Степные сообщества, после почти 20-летнего периода постпастбищной демутации, характеризуются также значительными объемами накопления подстилки и ветоши (с 12,12 ц/га до 18,81 ц/га), которые существенно превышают запасы фитомассы. Эти факторы создает благоприятные условия для аккумуляции гумуса и биогенных элементов в верхних горизонтах почвы. Характеристики структуры сложения и показатели продуктивности контрольного участка, на котором не производится выпас за 18-летний период, почти не изменились. Выпас овец на пастбище, который пришел на смену крупному рогатому скоту, привёл к улучшению физико-химических параметров почв, к более интенсивному накоплению в ней элементов минерального питания растений и существенному увеличению общей биологической продуктивности опустыненных степных экосистем. Практическая значимость данного исследования в том, что на основе многолетних данных выявлена интенсивность восстановления коренной растительности и оптимизации этих территорий. Эти данные можно также использовать при проектировании степных особо охраняемых природных территорий Республики Крым.

Ключевые слова: степь, постпастбищная демутация, пасквальная нагрузка, продуктивность, физико-химические показатели почв.

ВВЕДЕНИЕ

Степные территории издавна использовались человеком под выпас и сенокосы. Выпас является наиболее масштабным и сильным из всех антропогенных факторов, который может вызывать качественные изменения фитоценозов, как при чрезмерной нагрузке, так и при её прекращении [1]. Пастбищная дегрессия в последние годы в России и мире приобретает все более острый и масштабный

характер, что делает восстановление деградированных пастбищ и регулирование выпаса важнейшими задачами современной агроэкологии [2 - 8 и др.]. Выпас сельскохозяйственных животных оказывает на степную растительность прямое и косвенное влияние [5,7, 9-13]. Косвенное воздействие проявляется в изменении химического состава почв и их уплотнении, уменьшении продуктивности растительности, смене доминантов и т.п.

Т.А.Работнов [1] выделил три основные формы воздействия скота на пастбищную растительность: а) стравливание и избирательность дефолиации видов на разной высоте с учетом их флористического состава; б) вытаптывание – воздействие на растения и почву копытами; в) откладывание экскрементов. В ходе эволюционного процесса у степных растений выработались особенности в анатомии стеблей, которые определяются наличием в них хорошо развитых сосудисто-волокнистых пучков, обуславливающих устойчивость растений к вытаптыванию [6, 7, 14, 15 и др.]. В зависимости от веса животных, а так же от размеров и формы копыт, растения и почва испытывают на себе различное воздействие [4, 6, 13, 16 и др.].

Водно-воздушные свойства почвы также меняются с уплотнением верхнего слоя, снижается ее влагоемкость, скорость проникновения воды, объем пор, возрастает её объемный вес и пр.[1, 5, 13]. В биологической активности почвы происходят существенные изменения: численность аэробных бактерий снижается, в том числе азотобактерий, угнетается деятельность дождевых червей, но возрастает численность анаэробных бактерий масляно-кислого брожения [2, 10, 12, 17]. Это ведет к ксерофитизации, а местами и галофитизации растительности пастбищ [3, 9, 10, 19].

Отмеченные перестройки в растительном и почвенном покрове широко распространено также и в степях Крыма, что достаточно подробно освещено в литературе [9, 19-25 и др.].

Одно из слабо изученных направлений в области исследований степей полуострова - это постпастбищная демутация, т.е. процессы в степных экосистемах с постепенным восстановлением ценотической среды, разрушенной внешними воздействиями, в условиях прекращения или значительного ослабления пастбищных нагрузок в связи ликвидацией большинства сельскохозяйственных предприятий после распада советского государства.

Поэтому задачами наших исследований было получение данных об этих этапах, которые позволяют выявить многолетнюю динамику продукционного процесса растительности, восстановление почвенного покрова и формирования экосистем с устойчивой горизонтальной и вертикальной структурой, что выполнено впервые для опустыненных степей западной части равнинного Крыма. Исследования носили многолетний характер, т.к. только в значительном временном периоде можно выявить эти изменения и внутренние закономерности.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Район наших исследований находился в степном Крыму к востоку от Евпатории на побережье северо-восточной части озера Сасык. Степная экосистема относится к сухим опустыненным разнотравно-полынно-злаковым степям, которые традиционно использовались как пастбища [19, 20]. Основными компонентами

травостоя являются мезоксерофитные злаки: ковыль (*Stipa capillata*), житняк гребенчатый (*Agropyron cristatum*), типчак (*Festuca sulcata*). Большая роль принадлежит полыни таврической (*Artemisia taurica*). Характерной чертой этой степи является общее участие в составе травостоя однолетних и монокарпических растений: *Alyssum alyssoides*, *Medicago lupulina*, *Poa bulbosa* и др. В составе разнотравья преобладают ксерофильные виды: *Salvia nutans*, *Teucrium polium*, *Euphorbia steposa*, *Veronica multifida* и др.

По нашим данным на этой территории в 1997-1999г.г. производился интенсивный выпас, в результате степные пастбища были сильно деградированы, наблюдались очень низкие показатели продуктивности и флористического разнообразия, отмечался высокий уровень их синантропизации, значительно ухудшились физические и химические свойства почв. Особенно критическое состояние степных растительных сообществ было отмечено вблизи животноводческой фермы – фрагментарное полное отсутствие растений (сбой). В связи с её закрытием в 2000 г. и ликвидацией поголовья крупного рогатого скота значительно снизилась пастбищная нагрузка в исследуемом районе. Эти условия создали благоприятные возможности для демутиационных процессов растительности и почв.

Поэтому задачами наших исследований, выполненных на этих же ключевых участках спустя почти 20 лет, было изучение интенсивности изменений структуры и активности постпастбищных демутиаций для данной территории с оценкой потенциала восстановления продуктивности, биологического разнообразия и физическо-химических свойств почв, которые находились в прошлом на разных стадиях пастбищной дигрессии.

Исследовались структура степей и их биологическая продуктивность с учетом выявления местных особенностей сезонного развития сообществ, что дает возможность установить некоторые связи в динамическом развитии видов, слагающих эти экосистемы, с показателями климата: режимом влажности и температурой.

Использовались стандартные геоботанические методики [1,15, 22, 26-27 и др.]. Номенклатура таксонов приведена согласно С.К Черепанову [28] с дополнениями А.В. Ены [29]. На трех ключевых площадях, отличающихся разной интенсивностью пастбищной нагрузки в прошлом (1997 - 1999 г), был повторно проведен учет в 2017 г. по выявлению: полного флористического состава растений, изменений в вертикальной и горизонтальной структурах растительности, общего проективного покрытия, видовой насыщенности на 0,25 м² в 10-кратной повторности, ярусности сложения, высоты травостоя с выявлением доминантов, эдификаторов и субдоминантов. Это позволило установить демутиационные изменения в составе растительности и сформировавшиеся здесь постпастбищные ассоциации.

Продуктивность растительных сообществ является отражением происходящих в биогеоценозах процессов, так как она самым тесным образом связана со всеми его внутренними и внешними факторами [30]. В период максимального развития травостоя на заложенных участках были проведены укосным методом сбор фитомассы и подстилки на площадках 0,25 м² в 10-ти кратной повторности. С

последующим высушиванием материала и камеральной его обработкой с разбором укосов на хозяйственно-ботанические группы, их взвешиванием и статистической систематизацией материала. Все показатели структурных элементов продуктивности рассчитаны с оценкой достоверности на $P_{0,95}$ уровне значимости [31].

Наряду с исследованиями растительного покрова проводились сборы материалов и по изменчивости физико-химических характеристик почв изученных участков. Образцы почвы отбирались на каждом участке из следующих слоев: 0 - 20, 20-30 см. Повторность трехкратная. Отбор и подготовку к анализам почвенных образцов осуществляли по общепринятым методикам в лаборатории [32]. По физическим показателям учитывались: агрегатный и микроагрегатный состав почв, порозность и скважность её структуры по объёмному и удельному весам твердой фазы, что позволило оценить соотношение в ней минеральных и органических веществ, а также водно-воздушный режим и устойчивость этого типа почв к вытаптыванию животными. При химических исследованиях почвы определялись следующие показатели: гумус по методу Тюрина, состав обменных катионов, кислотность, количество доступных для растения форм основных элементов питания (азота, фосфора, кальция, магния). Определение активной кислотности (рН) водной вытяжки производилось по методу Н.И. Алямовского. Определение общей щелочности оценивалось по HCO_3^- в мг/экв, ионов Ca^{2+} и Mg^{2+} - с помощью трилона Б. Перечисленные анализы дают возможность установить тип и разновидности почв, дать ей агропроизводственную оценку [3,33 и др.].

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Ключевой участок № 1 – контрольный заложен в 4,5 км к юго-востоку от села Каменоломня на побережье озера Сасык. Он прилегает к территории военного полигона, поэтому здесь выпас вообще не проводился (табл. № 1). Общее проективное покрытие высокое и колебалось по годам незначительно - 75-80%. Мозаичность выражена слабо, но четко выявляется вертикальная ярусность. В первом ярусе наиболее распространены: ковыль волосатик (*Stipa capillata*), овсяница бороздчатая (*Festuca sulcata*), солнцезвезд крупноцветковый (*Helianthemum grandiflorum*), пижма тысячелистниковая (*Tenacetum achilleifolium*). Во втором ярусе более часто встречается бурачок бурачковидный (*Alyssum alyssoides*). Видовая насыщенность на $0,25\text{ м}^2$ колеблется не значительно – 14-16 видов. Состав растений за годы исследований не претерпел существенных изменений – 43-44 в. Следовательно, отсутствие выпаса обеспечило сохранение структуры и сложения данного сообщества на протяжении всего периода исследований. Здесь сохранилась без смены доминантов полынно – типчаково - ковыльная ассоциация (*Artemisia taurica* – *Festuca sulcata* – *Stipa capillata*).

Ключевой участок № 2 расположен на побережье озера Сасык в 3 км от села Каменоломня. Здесь умеренный выпас сменился на эпизодический, что сказалось на показателях структурных элементов сообщества. Возросли общее проективное покрытие до 55-60% и высота травостоя 20—25 см. Одиночные генеративные побеги достигали до 30—35 см. Средняя встречаемость видов также выросла на $0,25,0\text{ м}^2$ - $15\pm 1,23$ в. Главенствуют по обилию: костёр мягкий (*Bromus mollis*),

ПОСТПАСТБИЩНАЯ ДЕМУТАЦИЯ В ОПУСТЫНЕННЫХ СТЕПЯХ ...

мятлик бесплодный (*Poa sterilis*), мятлик узколистный (*Poa angustifolia*), дубровник беловойлочный (*Teucrium polium*), вероника многораздельная (*Veronica multifida*). Диффузно встречаются смолевка коническая (*Silene conica*), лапчатка прямая (*Potentilla recta*), камфоросма монпельйская (*Camphorosma monspeliaca*) и др. В целом сообщество незамкнуто, новые виды растений легко могут проникнуть в него. Общее количество видов за эти годы также возросло с 37 до 41. На участке развита полынно - мятлико - ковыльная ассоциация (*Artemisia taurica* - *Poa angustifolia* - *Stipa lessingiana*), т.е. если в 1999 г главенствовали однолетние рудеральные виды, то спустя почти 20 лет при уменьшении интенсивности выпаса их заместили многолетние растения (полынь, типчак, мятлик и др.).

Таблица 1

Сравнительный анализ структуры ключевых участков степных фитоценозов района озера Сасык Сакского района Крыма за 1999 г и 2017 г.

№ уч.	Год исследований	Количество видов	Год исследований	Количество видов
Общее число видов/100 м ²				
1	1999	43	2017	44
2	1999	37	2017	41
3	1999	34	2017	24
Общее проективное покрытие, %				
1	1999	75-80	2017	80-85
2	1999	50-55	2017	55-60
3	1999	10-15	2017	30-35
Средняя видовая насыщенность на 0,25 м ²				
1	1999	14± 1,4	2017	16± 1,54
2	1999	13± 0,98	2017	15±1,23
3	1999	11±0,78	2017	14±1,9
Высота травостоя, см				
1	1999	25-30	2017	25-35
2	1999	15-20	2017	20-25
3	1999	10-15	2017	15-20
Наименование ассоциации				
1	1999	Полынно-типчакowo-ковыльная	2017	Полынно-типчакowo-ковыльная
2	1999	Полынно-ковыльно-мятликowая	2017	Полынно-мятликowowo-ковыльная
3	1999	Молочайно-василькowo - клоповникowo-полынная	2017	Крестовникowo-клоповникowo-двурядкowая

Ключевой участок № 3 был заложен в 1 км от села Каменоломня вблизи животноводческой фермы крупного рогатого скота, где наблюдался в прошлом интенсивный выпас с полным выпадением на отдельной территории растений (сбой) и высочайшим уплотнением почвы, что способствовало дегрессионным процессам в сторону опустынивания и резкого обеднения структуры этого сообщества. На этой стадии полностью угнетаются злаки, главенствуют сорные виды. После ликвидации фермы в начале XXI века, ныне прилегающая территория используется для выпаса небольшого стада овец из личного хозяйства жителей села (около 30 голов), поэтому уровень пастбищной нагрузки резко снизился. Общее проективное покрытие растительности за период исследований резко возросло с 10–15% до 30–35%. Эту динамику подтверждает и видовая насыщенность, которая достигает на 0,25 м² - 14±1,9 видов (табл. 1). Из-за сильной разрушенности растительности в прошлые годы, коренные виды встречаются фрагментарно (*Thymus callieri*). На участке ещё главенствуют случайные виды, преобладают полевые сорняки: двурядка токолистная (*Diplotaxis tenuifolia*), клоповник крупновидный (*Lepidium draba*), крестовник весенний (*Sinocio vernalis*) и др. Одновременно здесь присутствуют и степные виды различных жизненных форм, но главенствуют монокарпики и однолетники: костёр мягкий (*Bromus hordeaceus*), мятлик луковичный (*Poa bulbosa*), василек раскидистый (*Centaurea diffusa*) и др. Для участка 3 характерна слабая взаимосвязь между видами, что выражается в сильно выраженной мозаичности и неоднородности сложения сообщества. Смена режима использования пастбища при умеренном выпасе овец привела к уменьшению количества видов на участке с 34 до 24. Выпали такие виды: *Camelina sativa*, *Arenaria serpyllifolia*, *Convolvulus vulgaris*, *Euphorbia falcata*, *Resida lutea*, *Peucedanum tauricum* и др.

По данным А.А. Горшковой [10] большинство из них выедаются овцами в первую очередь. В зависимости от размеров и формы копыт, а также от веса животных, почва и растения испытывают значительное воздействие. Давление копыт коров достигает 1 кг/см², а давление копыт овцы фактически составляет 2 кг/см² [3, 4, 8, 13], что в два раза больше. Следовательно, при таком длительном хозяйственном использовании, выпадение части видов вполне закономерно. Появившиеся доминанты менее выедаются овцами, в то время как в 1999 году иные виды активно выедались крупным рогатым скотом.

Характерной чертой пастбищных ценозов является значительное видовое разнообразие сорных видов (*Amaranthus retroflexus*, *Atriplex hortensis*, *Erucastrum gallicum*, *Euphorbia humifusa* и др.). На пастбище происходит уменьшение глубины массового распространения подземных органов и концентрация их в верхних почвенных горизонтах. Молочайно – клоповниково – полынная ассоциация сменилась на крестовниково – клоповниково – двурядковую (*Diplotaxis tenuifolia* - *Lepidium draba* - *Sinocio vernalis*), что свидетельствует о качественной смене состава растительности.

С момента уменьшения интенсивности выпаса прошло 17 лет (2000 – 2017 гг), согласно Н.Т. Нечаевой и др. [18], данный временной отрезок соответствует стадии стагнации степи. Наиболее яркая его особенность – значительное снижение

видового разнообразия и рост объема зелёной массы. Оно сопровождается также нарастанием количества подстилочного материала, достижением максимальных параметров плодородия и их стабилизацией. Смена ассоциации с полынно-ковыльно - мятливой на полынно - мятливо - ковыльную говорит о преобладании в сообществе *Stipa capillata* и увеличение роли подстилки. Поэтому в наших исследованиях мы привлекли наиболее информативные показатели – продуктивность исследуемых сообществ и как меняются соотношения ведущих хозяйственно-ботанических групп в сложении травостоя (таблицы № 2- 4)

На контрольном участке № 1 как в 1999 г., так и в 2017 году главенствующая роль принадлежит злакам (10,85- 11,69 ц/га), составляя до 31,2 - 32,3% от общей фитомассы, что характерно для сложения этого типа растительности (табл. № 2). Четко прослеживается по годам увеличение массы многолетней подстилки (почти на 50%), которая защищает корневую систему от иссушения, т.к. климатические параметры этого региона – острый дефицит влаги и интенсивные ветровые потоки способствуют сильному иссушению почвенного покрова. Главным опадонакопителем являются злаки, отмершие органы которых, разлагаются в несколько раз медленнее разнотравья по данным П.Л. Горчаковского [11].

Таблица 2
Показатели продуктивности ключевого контрольного участка № 1
опустыненной степи района озера Сасык Сакского района за 1999 г. и 2017 г.
(ц/га)

Биогруппы \ Год	1999		2017	
	ц/га	%	ц/га	%
Злаки	10,85±1,98	31,2	11,69±0,98	32,3
Разнотравье	4,85±0,51	13,9	3,37±0,45	9,0
Общая фито-масса	15,7±1,23	45,1	15,06±1,78	40,3
Ветошь	8,29±1,13	23,8	7,25±0,67	19,4
Подстилка	10,82±1,02	31,1	15,06±0,89	40,3
Общая растительная масса	34,81±2,78	100,0	37,37±2,69	100,0

Следовательно, чем больше выражена «злаковость» фитоценоза, тем большую массу ветоши он накапливает. Различия между продуктивностью исследуемых годов незначительны, это можно объяснить стабильностью и самодостаточностью фитоценоза, не подвергающегося антропогенной нагрузке.

Продуктивность на пастбищах в период наибольшего развития травостоя с эпизодической нагрузкой (участок № 2) составляет около 33,33 ц/га, существенно выше данных за 1999 г (23,81ц/га) (табл. № 3). При изменении режима выпаса с

умеренного на эпизодический начали расти объемы накопления подстилки и ветоши (с 12,12 ц/га до 18,81 ц/га), существенно превышая запасы фитомассы. Это происходит за счет отмирания перезимовавших прошлогодних листьев и стеблей. Хотя эксплуатация фитоценоза в прошлые годы еще сказывается на соотношении компонентных групп, где ведущей является разнотравье (5,78 - 8,50 ц/га). Процесс отмирания фитомассы идет быстрее минерализации, и вес подстилки, в основном, превышает ветошь на этой пробной площади. Основную массу надземной части травостоя составил эдификатор ассоциации *Stipa capillata*, усилив свои позиции в составе травостоя - около 15% в укосе. Напротив, в 1999 г. главенствовала полынь крымская. При интенсивной пастьбе уплотнение почвы способствует усилению роли полыней, т.к. основная масса их активных корней располагается ближе к поверхности почвы (на глубине 25-40 см у полыней, 50-60 см – у типчака) [10,17, 34]. Это свидетельствует, что снижение нагрузки благоприятно сказалось на флористическом разнообразии и условиях развития видов.

Таблица 3

Показатели продуктивности ключевого участка № 2 опустыненной степи района озера Сасык Сакского района за 1999г. и 2017 г. (ц/га)

Биогруппы	1999		2017	
	ц/га	%	ц/га	%
Злаки	5,91±0,41	24,8	6,09±0,67	18,27
Разнотравье	5,78±0,53	24,27	8,50±0,58	25,50
Общая фито-масса	11,69±0,97	49,07	14,52±1,12	43,57
Ветошь	4,08±0,23	17,15	7,29±0,59	21,87
Подстилка	8,04±0,67	33,78	11,52±0,99	34,56
Общая растительная масса	23,81±1,98	100,0	33,33±2,34	100,0

На ключевом участке № 3, где произошла смена режима выпаса с интенсивного на умеренный, наблюдается увеличение продуктивности фитомассы с 6,58 ц/га до 10,87 ц/га (табл. № 4). Если в 1999 г группа злаков в укосах совсем не выделялась из-за их отсутствия, в 2017 г они уже присутствуют в них, хотя их показатели минимальны (1,02 ц/га). Здесь отмечены и самые низкие из трех ключевых участков объемы ветоши и подстилки, хотя в сумме они возросли в 2 раза (с 3,64 ц/га до 7,53 ц/га). Общая продуктивность также существенно выросла до 18,4 ц/га, но, по сравнению с другими исследуемыми участками, она самая минимальная. В целом, прослеживается низкую продуктивность надземной биомассы на пробных площадях опустыненных степей. За почти 20-летний период исследований при резкой смене режимов использования пастбищ возросли их общая фитомасса и биологическая продуктивность по сравнению с 1999 г. Наивысшие показатели

отмечены на контрольной площади с отсутствием выпаса. Смена умеренной нагрузки на эпизодическую приводит к стимуляции продукционной активности фитоценозов степи. Смена интенсивной нагрузки на умеренную влечет за собой незначительное увеличение показателей продуктивности, однако, уже нельзя говорить о полном разрушении состава и структуры фитоценоза.

Таблица 4

Показатели продуктивности ключевого участка № 3 опустыненной степи района озера Сасык Сакского района за 1999г. и 2017 г. (ц/га).

Год Биогруппы	1999		2017	
	ц/га	%	ц/га	%
Злаки	нет	нет	1,02±0,07	5,54
Разнотравье	6,58±0,76	64,38	9,85±0,79	53,53
Общая фито- масса	6,58±0,76	64,38	10,87±0,68	59,07
Ветошь	2,30±0,12	22,51	5,35±0,43	29,08
Подстилка	1,34±0,1	13,11	2,18±0,13	11,85
Общая растительная масса	10,22±0,78	100,0	18,4±1,02	100,0

В зоне степей, к которым относятся исследуемые участки, основными факторами, определяющими функционирование растительных сообществ и формирование зеленой фитомассы, являются количество осадков и температурный режим. По данным Всероссийского научно-исследовательского института гидрометеорологической информации [35] летний период 1999 года был достаточно влажным с умеренными температурами июля. Напротив, 2017 год оказался более продуктивным по сравнению с 1999г, несмотря на более засушливые показатели температурного режима и влагообеспеченности. Это обусловлено тем, что наибольшее количество осадков в 2017 году выпало в июне, во время максимальной интенсивности вегетации растений, и последующая засуха июля-августа не повлияла коренным образом на продукцию фитомассы. Так же, стоит учитывать климатические данные не только за исследуемый год, а и за предыдущие вегетационные сезоны. Роль эдификаторных видов *Artemisia taurica*, *Festuca sulcata* в общей продукции меняется от года к году: в засушливые годы она возрастает, во влажные уменьшается [11, 36]. Это происходит за счет хорошей приспособленности эдификаторных видов к ксерофитным условиям обитания. Так в 2017 году, с наступлением засушливого периода в начале июля (средние дневные температуры были выше 30⁰ С) стала резко возрастать роль эдификатора полыни, которая составила основную массу укоса.

Общее повышение температуры и количество выпадаемых осадков является закономерным на протяжении последних лет. По данным исследований климата

Крыма В.П. Нестеренко [37] отмечено, что за последние 20 лет среднегодовая температура воздуха увеличилась на $1,24 \pm 0,06^\circ\text{C}$, осадки в этот период в среднем увеличились на 62 ± 15 мм. Такая тенденция положительно влияет на суммарную продукцию фитомассы растительных сообществ, ведь показатели абиотических факторов находятся в границах оптимума для степных экосистем [20].

В целом, динамика зеленой фитомассы в сухой опустыненной степи Крыма характеризуется такими периодами: всегда существует первый период накопления, обусловленный вегетативным развитием злаков преимущественно в поздневесенний период, затем происходит уменьшение их массы в связи с их резким повышением температурного режима, который ведет к сокращению фотосинтезирующей поверхности листьев. В середине лета (июль-август) продуцирование замедляется, но уже в августе новый подъем, связанный с развитием позднелетних видов. Второй пик продукции обязан в основном длительно вегетирующему виду *Artemisia taurica*, доля участия которого в травостое сухой опустыненной степи очень значительна.

Известно, что превышение пастбищной нагрузки негативно отражается и на агрофизических свойствах почвы [5-6, 8-9, 12, 16, 22, 25]. Почвы деградированных пастбищ характеризуются повышенной плотностью и несколько пониженными показателями оструктуренности [9, 13, 22].

Наиболее интегрированными показателями для оценки состояния почвы являются её гумусированность, плотность и структурный состав, поэтому они были взяты как индикаторные. Наши исследования выявили, что уменьшение интенсивности выпаса за почти 20-летний период приводит к значительным положительным изменениям вышеназванных параметров.

Район исследования относится к евпаторийскому приморско-озерному пустынно-степному району темно-каштановых карбонатных солонцеватых почв развитых на известняках [9].

По механическому составу почвы являются легкими, средними и тяжелыми суглинками. Отмечено рыхлое строение почв на участках №1 и №2 и более плотное на участке №3. Подстилающие известняки обуславливают ряд физических и химических свойств: высокую порозность, большую воздухоемкость и значительную скелетность (участки №1 и №2). В результате создаются экстремальные условия для жизнедеятельности степного покрова. Почвы быстро высыхают после дождя, так как осадки легко фильтруются через почвенные структурные горизонты и ракушечные известняки, поэтому растения постоянно испытывают недостаток влаги.

Отличительной чертой почв района исследования является то, что они маломощные или среднемощные, с величиной горизонтов меньше 30 см [22]. Согласно нашим данным 1999 года по механическому составу в почвах исследуемых площадей преобладают фракции пыли (частицы от 0.05 до 0.001 мм) и глины (частиц 0.001 мм) (табл.5). Доминирование пылевой структуры является следствием как характера почвообразующих пород, так и результатом чрезмерной антропогенной нагрузки. Исследования почв в 2017 г выявили, что параметры их механического состава на контрольном участке №1 остались близкими. На

ПОСТПАСТИЩНАЯ ДЕМУТАЦИЯ В ОПУСТЫНЕННЫХ СТЕПЯХ ...

участках № 2 и № 3 присутствует заметное увеличение процентного содержания ценных структурных агрегатов. При выпасе разных видов скота процессы уплотнения и изменения структурного состава почв различаются [3-6, 13].

Таблица 5
Механический состав почв ключевых участков опустыненной степи района озера Сасык Сакского района за 1999 г. и 2017 г.

№ уч.	Содержание фракций (%)											
	>0,25мм		0,25-0,05мм		0,05-0,01мм		0,01-0,005мм		0,005-0,001 мм		>0,001мм	
Г о д	1999	2017	1999	2017	1999	2017	1999	2017	1999	2017	1999	2017
1	0,5	0,5	6,3	7,4	24,6	21,9	15,6	17,1	24,4	26,7	28,5	26,4
2	0,8	2,7	21,6	23,4	27,1	19,8	7,6	5,5	21,1	22,8	27,6	23,8
3	0,4	1,9	1,4	4,8	23,4	27,8	10,1	16,9	25,1	21,9	24,8	26,4

При этом значимые изменения физических свойств почв происходят только в верхних слоях 0-5 см и 5-10 см. В более глубоких - показатели плотности и структурности почвы не зависят от степени пастбищной нагрузки [6]. По данным исследований [3] процесс уплотнения наиболее сильно выражен на пастбищах, где ведется выпас овец. На пастбищах КРС и лошадей уплотненность почвы ниже. Однако, это утверждение справедливо для одинаковой интенсивности выпаса. В нашем случае происходит как смена выпасаемых животных, так и уменьшение воздействия выпаса с интенсивного на умеренный, а с умеренного на эпизодический. Выпас такого рода не оказывает губительного влияния на структуру почв [5, 6, 33].

Наиболее яркое последствие пастбы для физических свойств почвы - резкое уменьшение общей скважности верхних горизонтов почвы при увеличении капиллярной скважности (табл.6).

Таблица 6
Скважность почв ключевых участков опустыненной степи района озера Сасык Сакского района за 1999 г. и 2017 г.

№ участка	1				2				3			
	1999	2017	1999	2017	1999	2017	1999	2017	1999	2017	1999	2017
Глубина, см	0 -20		20-30		0-20		20-30		0 -20		20 -30	
Скважность, %	82,0	84,0	57,0	61,0	43,0	66,0	34,7	49,8	39,7	51,6	30,1	38,7

Данные 1999 года свидетельствуют о нарушении структурного сложения почвы. Вследствие интенсивного выпаса в прошлом физические свойства почвы пропускать воду падают ниже 50%, опускаясь до величины 30-40% в наиболее уплотненных горизонтах. По истечении восемнадцати лет после снижения активности выпаса на участках № 2 и № 3 почва стала более структурной, процентное содержания агрегатов $>0,25$ увеличилось больше, чем на 100 % (табл. 5), соответственно, возросла и скважность почв исследуемых участков.

В крупнозернистых почвах, благодаря крупным порам, легче фильтруются и проникают в грунт атмосферная вода и кислород воздуха. Эти обстоятельства способствуют более интенсивному течению аэробных микробиологических процессов и разложению органических веществ [19, 22]. К 2017 году почвы по своим характеристикам приблизились к их благоприятным физическим свойствам, которые характеризуются высокой общей скважностью в пределах 50-70%, даже на сильно нарушенном в прошлые годы ключевом участке № 3 (51,6%).

Анализ изменения в химическом составе почвенного покрова с учетом смен интенсивности пастбищной нагрузки за время исследований позволил выявить, что характерной особенностью данных почв является богатство их карбонатами кальция (Ca^{2+}), которому обременено вскипание этих почв от соляной кислоты в среднем с глубины 20-30 см (табл.7). Наличие белоглазки связано с присутствием засоления и солонцеватости данного типа. Наблюдается высокая щелочность (рН водной вытяжки - 9,2-8,9) всех участков, что также подтверждает солонцеватость исследуемых почв. Поэтому наблюдается большое количество ионов Ca^{2+} в водной вытяжке. Чем ниже взята проба, тем выше содержание этих ионов.

Малое количество гумуса (2,07 – 1,01%) в исследовании за 1999 год так же является следствием интенсивного выпаса. На поверхности земли после опадания остается очень небольшое количество мертвой растительной массы, которая принимает участие в образовании гумуса (табл.7). Животные любого вида, в первую очередь поедают наиболее сочные вкусные растения, у КРС эта черта наиболее выражена. Интенсивно выедаемые растения угнетаются и выпадают из травостоя. В результате малоценные виды, имеющие горький вкус, неприятный запах, колючки и жесткие побеги начинают доминировать в фитоценозе [3-4, 6, 13, 33 и др.].

Низкие показатели плодородия влекут за собой и малые величины азота в почве (табл.7). Из результатов химического анализа почв видна бедность их подвижными формами фосфора - всего 2,5 мг / 100г почв, что связано также с малой гумусностью и недостатком почвенного увлажнения. Величина гумусового горизонта колеблется от 1 - 3 см в зависимости от участка, где производился разрез.

Стоит отметить увеличение содержания гумуса на участке № 2 на 80% и на 130% на участке № 3. Это связано, прежде всего, с изменением видового состава выпасаемых животных. Отложение экскрементов оказывает на степные растения разностороннее как непосредственное влияние (к примеру, погребение), так и через изменение химизма почвы - косвенное. Экскременты выпасаемых животных оказывают значительно большее влияние на почву, чем на травостой. Большая часть элементов минерального питания возвращается в почву именно с ними [25, 33, 38].

Таблица 7

Химический состав почв ключевых участков опустыненной степи района озера Сасык Сакского района за 1999г. и 2017 г.

Годы, глубина горизонта, см № участка	1999	1999	2017	2017
	0-20	20-30	0-20	20-30
Гумус (%)				
1	2,76	0,81	2,69	0,84
2	2,07	0,39	3,71	1,98
3	1,01	0,42	2,36	1,76
рН водной вытяжки				
1	9,2	8,9	9,1	8,9
2	9,2	8,9	9,1	8,9
3	9,2	8,9	9,1	8,9
Содержание Кальция (CaO, %)				
1	29,1	31,51	28,32	29,13
2	25,12	28,85	26,84	27,71
3	31,12	33,55	29,41	31,82
Содержание Магния (MgO, %)				
1	4,03	5,02	4,51	4,98
2	5,80	6,00	5,72	6,59
3	4,61	5,65	4,94	5,46
Нитраты (NO ₃ ⁻) / мг на 100 г почвы				
1	0,03	0,01	0,04	0,02
2	0,02	0,02	0,23	0,12
3	0,03	0,02	0,19	0,08
P ₂ O ₅ подвижный (в мг на 100 г почвы)				
1	2,52	1,25	2,63	1,13
2	2,50	1,87	3,60	2,10
3	2,50	1,25	2,99	1,74

Влияние экскрементов на растения и почву происходит не только за счет их количества, но и химического состава и физических свойств, формы и особенностей их распределения их по поверхности, а все это зависит от вида пасущихся животных [2-4, 12]. Жидкая фракция (моча) намного быстрее проникает в почву и её компонентный состав более полно используются растениями, нежели те же элементы, которые содержатся в твердых экскрементах [3, 5-6, 19, 33].

Они так же обогащают почву элементами минерального питания растений. Наиболее равномерно распределяются экскременты овец и коз, представленные как бы небольшими гранулами органического вещества. При разложении их

происходит постепенное поступление в почву содержащихся в них элементов минерального питания растений, они не могут оказывать неблагоприятного механического воздействия на растения, а только лишь положительное влияние [4-7, 33, 38].

У КРС экскременты не оформлены, консистенция полужидкая, поэтому попадая на поверхность почвы, они растекаются, образуют «лепешки» различного диаметра (обычно 20-30 см). Растения, попавшие под них, отмирают из-за прекращения доступа к ним воздуха. Скорость разложения их зависит от метеорологических условий: в теплую влажную погоду оно идет быстрее, но с учетом высокой засушливости района исследования и острого дефицита влаги, данный процесс растягивается на длительный период, сильно замедляя процессы распада и доступа химических элементов в почвы [6,13, 38].

Увеличение содержания нитратов и других химических элементов в почве в 2017 г так же объясняется тем, что элементами минерального питания растений особенно богаты экскременты овец; значительно меньше азота, фосфора, калия, содержится в экскрементах КРС [2-3, 6, 12, 16].

Таким образом, смена видового состава выпасаемых животных в районе окрестностей озера Сасык вместе с уменьшением их численности благоприятно повлияли на механический и химический состав почвы, увеличив её плодородность и количество ценных почвенных агрегатов, повысив её скважность. Также были активизированы демутиационные процессы в растительном покрове, что привело к формированию устойчивых фитоценозов с четко выраженной горизонтальной и вертикальной структурой и более высокой общей продуктивностью по сравнению с началом наших исследований.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

1. Общее количество видов, выделенных на ключевых участках опустыненной степи в районе озера Сасык, составило 108 видов. Этот показатель на 22 вида меньше, чем в 1999 году, т.к. при восстановлении растительности рудеральные однолетние растения выпали из травостоя, имея низкую конкурентную способность, и заместились на коренные многолетние биоморфы.
2. Степные сообщества, после почти 20-летнего периода постпастбищной демутиации, характеризуются ростом, как продукции зеленой массы, так и увеличением накопления ветоши и подстилки, что создает благоприятные условия для аккумуляции гумуса и биогенных элементов в верхних горизонтах почвы. Отмеченные процессы подтверждают положительные динамические изменения в физико-химических показателях почв этих участков.
3. Свидетельством интенсивности пастбищной нагрузки является общее проективное покрытие, которое на контроле сохранило свои показатели в течение 18 лет, снижалось в 1999 г до 10-15% на участке с интенсивным выпасом. Здесь даже спустя такой длительный срок были отмечены самые низкие её показатели – 30-35% и сильно возросла мозаичность, т.е. горизонтальная неоднородность. Это сообщество - открытое с обилием свободных экологических ниш и число видов здесь будет расти и в дальнейшем.

4. Эпизодические пастбищные нагрузки приводят к стимуляции формирования общей фитомассы фитоценозов – с 11,69 до 14,52 ц/га. Умеренные нагрузки по сравнению с интенсивными – так же вызывают заметное увеличение этого показателя – с 6,58 до 10,87 ц/га. Продуктивность фитоценоза, на котором не производится выпас, почти не изменилась.
5. Пастбищная демутация при снятии интенсивной пастбищной нагрузки с заменой выпасаемого пологоя с КРС на овец и уменьшением их численности ведет к восстановлению коренной растительности опустыненных степей, активизации продукционного процесса, увеличению запаса многолетней подстилки, к более интенсивному накоплению элементов минерального питания растений в почве, что благоприятно сказывается на почвообразовательном процессе.

Список литературы

1. Работнов Т.А. Экспериментальная фитоценология. / Т.А. Работнов.- М: МГУ, 1998. - 240 с.
2. Мордкович В.Г. Судьба степей. /В.Г Мордкович, А.М. Гиляров, А.А. Тишков, С.А. Баландин - Новосибирск: Мангазея, 1997. - 208 с.
3. Черняховский Д.А. Опустынивание и экологические проблемы пастбищного животноводства в степных регионах юга России // Степной бюллетень. - 2002.- № 11.- С.14 - 19.
4. Юнусбаев У.Б. Динамика степной растительности под влиянием выпаса разных сельскохозяйственных животных // Экология. – 2003.- № 1.- С. 46-50.
5. Dormaar J.F. Vegetation and soil responses to short-duration grazing on fescue grasslands / J.F. Dormaar, S.I. Smoliak, W.D. Willms. // Journal of range management. - Wyoming - 1989. - Vol.50 - No 3. - P.252-256.
6. Klapp E. Wiesen und Wiede Auflage. / Journal of range management. - 1991. - Vol. 2. - P.67-69.
7. Bock C.E. Cover of perennial grasses in southeastern Arizona in relation to livestock grazing // Conservation biology: - Boston. – 1993. - Vol.7. - No 2. - P.371-377.
8. Stephenson G.R. Recovery of compacted soil on pastures used for winter cattle feeding / G.R. Stephenson, A.T. Veigel. // Journal of range management. - New York - 2005. - Vol. 40. - No1. - P. 46-48.
9. Дзен-Литовская Н.Н. Почвы и растительность степного Крыма. / Н.Н. Дзен-Литовская - Л.: Наука, 1970. - 156 с.
10. Горшкова А.А.. Экология и пастбищная дегрессия степных сообществ Забайкалья. /А.А. Горшкова - Новосибирск: Наука, 1977. - 192 с.
11. Горчаковский П.Л. Антропогенная трансформация и восстановление продуктивности луговых фитоценозов. / П.Л. Горчаковский. - Екатеринбург: Изд. «Екатеринбург», 1999. - 156 с.
12. Щетников А.И. Динамика и устойчивость степных геосистем / А.И. Щетников, О.А. Зайченко // Аридные экосистемы. - 2000. - Т.6.- №3. - С. 65-74.
13. Twerdoff D.A. Impacts of forage grazing and cultivation on near-surface relative compaction / D.A. Twerdoff, D.S. Chanasyk, E. Marfiiimo, M.A. Naeth, V.S. Baron. // Canadian journal of soil science. - New York, 1998. No 2 - P. 465-471.
14. Лавренко Е.М. Растительность Европейской части СССР. / Е.М. Лавренко. - Л.: Наука, 1980. - 429с.
15. Миркин Б.М. Современная наука о растительности. / Б.М. Миркин, Л.Г. Наумова, А.И. Соломещ. - М.: Логос, 2001.- С.114-144.
16. Мусина Л.Б. Особенности влияния выпаса разных видов скота на растительность и почвы степных экосистем башкирского Зауралья: (на примере Абзелиловского района): Автореферат... дисс. канд. биол. наук: 03.00.05 / Л.Б. Мусина; Сибайский институт БГУ, - Сибай, 2003. - 25 с.
17. Говоров Е.В. Изменение флоры и растительности пастбищ на градиенте север-юг Башкирского Предуралья. / Е.В. Говоров - Уфа: БГУ, 2002. - С.30-56.

18. Нечаева Н.Т. Продуктивность растительности Центральных Каракумов в связи с различным режимом использования / Н.Т. Нечаева, К.Г. Антонова, С.Д. Каршенас, Г. Мухаммедов, М. Нурбердиев. - М.: Наука, 1979. - 256 с.
19. Дзен-Литовская Н.Н. Почвы Евпаторийского побережья Черного моря в Крыму. / Н.Н. Дзен-Литовская // Очерки по физической географии Крыма. - Л.: ЛГУ, 1957. - С. 69-118.
20. Шалыт М.С. К вопросу о существовании "полюнных степей" на юге Украины и в северном Крыму/ М.С.Шалыт // Бюл.МОИП. Отд. биол. - 1948. - Т. 53.- Вып. 6. - С. 53-66.
21. Иванов В.Ф. Растительность и почвообразование на песчано - ракушечных отложениях Арабатской стрелки Крыма / В.Ф. Иванов, В.В. Корженевский, А.А. Клюкин // Современное состояние Сиваша. - Киев: Wetlands International - АЕМЕ, 2000. - С. 10-17.
22. Драган Н.А. Почвы Крыма. / Н.А. Драган - Симферополь: ТНУ, 2005. - 95с.
23. Багрикова Н.А. Современное состояние растительного покрова Крымского Присивашья и перспективы охраны. / Н.А. Багрикова // Современное состояние Сиваша. - Киев: Wetland International - АЕМЕ, 2000. - С. 27-37.
24. Николаев Е.В. Естественные пастбища Крыма / Е.В. Николаев, А.В. Ена, М.М. Мельников. - Симферополь, 2010. - 140 с.
25. Николаев Е.В. Агробиологические основы повышения продуктивности и рационального использования естественных пастбищ Крыма / Е.В. Николаев, М.М. Мельников - Симферополь, 2011. - 158 с.
26. Юнатов А.А. Типы и содержание геоботанических исследований, выбор пробных площадей и заложение экологических профилей / А.А.Юнатов // Полевая геоботаника. - М.- Л.: Наука, 1964.- Т.3. - С. 9-36.
27. Злобин Ю.А. Принципы и методы изучения ценологических популяций растений / Ю.А. Злобин. - Казань: Казанский гос. унив. , 1989. - 143 с.
28. Черепанов С.К. Сосудистые растения СССР / С.К.Черепанов. - Л.: Наука, 1981.- 510 с.
29. Ена А.В. Природная флора Крымского полуострова / А.В. Ена - Симферополь: Н.Орианда, 2012. - 232 с.
30. Титлянова А.А. Изучение биологического круговорота в биогеоценозах. Метод. рук-во./ А.А. Титлянова. - Новосибирск: Наука, 1971. - 136 с.
31. Лакин Г.Ф. Биометрия. / Г.Ф. Лакин. - М.: Высшая школа, 1978. - 343 с.
32. Александрова П.Н. Лабораторно-практические занятия по почвоведению. / П.Н Александрова, О.И.Найденова. - М.: Колос, 1974. - 280 с.
33. Юнусбаев У.Б. Оптимизация нагрузки на естественные степные пастбища / У.Б. Юнусбаев. - Саратов: Научная книга, 2001. - С. 180-208.
34. Балаш А.П. Левобережные степи Нижнего Маныча / А.П.Балаш // Растительность и фауна Дона и Северного Кавказа в системе зональных биологических и научно-производственных разработок. — Ростов-на-Дону, 1971. - С. 17-21.
35. Всероссийский научно-исследовательский институт гидрометеорологической информации - мировой центр данных [Электронный ресурс] / Система обслуживания гидрометеорологической информацией; ред. Беспрозванных А. В. — Электрон. дан. — М.: Рос. гос. б-ка, 2000. - Режим доступа: <http://claware.meteo.ru>, свободный. — Загл. с экрана. — Яз. рус., англ.
36. Горшкова А.А. Экология степных растений Тувы / А.А. Горшкова, Г.К. Зверева - Новосибирск: Наука, 1988. - 114 с.
37. Нестеренко В.П. Закономерности формирования климатических изменений и их прогноз на территории Крыма / В.П. Нестеренко // Научные ведомости: Естественные науки. - 2016.- Вып. 36.- № 18. - 239 с.
38. Суондуков Я.Т. Агроэкологические основы рационального использования почв Башкирского Зауралья / Я.Т. Суондуков, С.И.Янтурин // Вестник Академии наук Республики Беларусь. - 2000.- Т.5.- № 3. - С. 26-34.

POST-PASTURE DE-MUTATION IN DESERTIFIED CRIMEAN PLAINS
TAKING INTO ACCOUNT PACKSVAL LOAD

Kobechinskaya V. G.

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

On the basis of long-term data, regularities of post-pasture de-mutation of the desert steppes of the flat Crimea in around the Sasyk Lake are considered. This was done for the first time for this region. It allowed us to detect the changes in their floristic richness. In 2017 on we recorded up to 108 species in the key regions, which is 22 species less than in 1999, because when restoring vegetation, ruderal annual plants fell out of herbage due to their low competitive ability, and were replaced with indigenous perennial biomorphs.

The goals of this studies were analysis of the dynamics of the production-destruction process phytocenoses that have experienced in the past different intensities of the sacral digression, and detecting changes in soil physical and chemical properties in conditions of a sharp decrease in the intensity of grazing, taking into account the range of grazing animals. It has been found that episodic and moderate pasture loads lead to the stimulation of productive community activity and an increase in overall phyto-mass of phytocenoses from 11.69 to 14.52 center per hectare. Moderate loads compared to intense also cause a significant increase in this indicator, from 6.58 to 10.87 center per hectare. Steppe communities, after a nearly 20-year post-grazing period de-mutations are also characterized by significant amounts of accumulation litter and rags (from 12.12 to 18.81 center per hectare), which significantly exceeds phyto-mass reserves.

These factors create favorable conditions for the accumulation of humus and biogenic elements in the upper soil horizons. Specifications structure of addition and productivity indicators of the control plot, on which is not grazing over the 18-year period, almost did not change. Grazing sheep in the pasture, which replaced the cattle, led to improvement of physico-chemical parameters of the soil, to a more intensive accumulation in it of elements of mineral nutrition of plants and significant increase the overall biological productivity of the desert steppe ecosystems.

The practical significance of this study is that we revealed the recovery rate of the root vegetation and optimization of these areas. This data can also be used for designing steppe, especially protected natural territories of the Republic of Crimea.

Keywords: steppe, post-pasture de-mutation, squash load, total productivity, physical and chemical indicators of soil.

References

1. Rabotnov TA *Experimental phytocenology*, 240 (MSU, 1998).
2. Mordkovich V.G., Gilyarov A.M., Tishkov A.A., Mordkovich S.A., Balandin V.G. *The fate of the steppes*, 208 (Mangazeya , 1997).
3. Chernyakhovsky D.A. Desertification and environmental problems of grazing in the steppe regions of southern Russia , *Steppe Bulletin*, **11**, 14 (2002).
4. Yunusbaev U.B. Dynamics of steppe vegetation under the influence of grazing of various farm animals, *Ecology*, **1**, 46 (2003).

5. Dormaar J.F., Smoliak S.I., Willms W.D. Vegetation and soil responses to short-duration grazing on fescue grasslands, *Journal of range management*, **3**, 252 (1989).
6. Klapp E. Wiesen und Wiede Auflage, *Journal of range management*, **2**, 67 (1991).
7. Bock C.E. Cover of perennial grasses in southeastern Arizona in relation to livestock grazing, *Conservation biology*, **2**, 371, (1993).
8. Stephenson G.R., Veigel A.T. Recovery of compacted soil on pastures used for winter cattle feeding, *Journal of range management*, **1**, 46 (2005).
9. Dzen- Lytovskaya N.N. *Soils and vegetation of the steppe Crimea*, 156 (Science, 1970).
10. Gorshkova AA. *Ecology and pasture degradation of the steppe communities of Transbaikalia*, 192 (Science, 1977).
11. Gorchakovskiy P.L. *Anthropogenic transformation and restoration of productivity of meadow phytocenoses*, 156 (Ekaterinburg, 1999).
12. Schetnikov A.I., Zaichenko O.A. Dynamics and stability of steppe geosystems, *Arid ecosystems*, **3**, 65 (2000).
13. Twerdoff D.A., Chanasyk D.S., Mapfimo E, Naeth M.A., Baron V.S. Impacts of Grazing and Cultivation of Local Compaction, *Canadian journal of soil science*, **2**, 465 (1998).
14. Lavrenko E. M. *Vegetation European parts USSR*, 429 (Science, 1980).
15. Mirkin B.M., Naumova L.G., Solomeshch A.I. *Modern science of vegetation*, 114 (Logos, 2001).
16. Musina L.B. *Peculiarities of the effect of grazing of different types of livestock on vegetation and soil of steppe ecosystems of the Bashkir Zauralye: (on the example of the Abzelilovsky region)*, 25 (FNBS, 2003).
17. Govorov E.V. Change of flora and vegetation of pastures on the gradient of the north-south of the Bashkir Cis-Urals, 30 (BSU, 2002).
18. Nechaeva N.T., Antonova K.G., Karshenas S.D., Mukhammedov G.T., Nurberdiev M.G. *Vegetation productivity of the Central Karakum in connection with the different mode of use*, 256 (Science, 1979).
19. Dzen-Litovskaya N.N. Soils of the Evpatorian Black Sea coast in the Crimea, *Essays on the physical geography of the Crimea*, 69 (Leningrad State University, 1957).
20. Shalyt M.S. On the question of the existence of “wormwood steppes” in the south of Ukraine and in the northern Crimea, *Bul. MOIP, Separate biol.* **6**, 53 (1948).
21. Ivanov V.F., Korzhenevsky V.V., Klyukin A.A. Vegetation and soil formation on sand and shell deposits of the Arabat Spit of Crimea, *The current state of Sivash*, 10 (Wetlands International - AEME, 2000).
22. Dragan N.A. *Soils of Crimea*, 95. (TNU, 2005).
23. Bagrikova N.A. The current state of the vegetation cover of the Crimean Prisivashya and the prospects for protection, *The current state of Sivash*, 27 (Wetland International - AEME, 2000).
24. Nikolaev E.V., Ena A.V., Melnikov M.M. *Natural pastures of Crimea*, 140 (2010).
25. Nikolaev E.V., Melnikov M.M. *Agrobiological bases of increasing productivity and rational use of natural pastures of the Crimea*, 158 (2011).
26. Yunatov A.A. Types and content of geobotanical research, selection of test plots and the establishment of ecological profiles. *Field geobotany*, **3**, 9 (Nauka, 1964).
27. Zlobin Y.A. *Principles and methods for studying coenotic plant populations*, 143 (Kazan State. univ, 1989).
28. Cherepanov S.K. *Vascular plants of the USSR*, 510 (Science, 1981).
29. Ena A.V. *Natural flora of the Crimean peninsula: monograph*, 232 (N.Orianda, 2012).
30. Titlyanova A.A. *Study of the biological cycle in biogeocenoses, Method. handson*, 136 (Science, 1971).
31. Lakin G.F. *Biometrics*, 343 (Higher School, 1978).
32. Aleksandrova P.N., Naidenova O.I. *Laboratory and practical classes in soil science*, 280 (Kolos, 1974).
33. Yunusbaev U.B. *Optimization of the load on natural steppe pastures*, 180 (Scientific book, 2001).
34. Balash A.P. Left-bank steppes of Nizhny Manych, *Vegetation and fauna of the Don and the North Caucasus in the system of zonal biological and scientific and industrial developments*, 17 (1971).
35. All-Russian Scientific Research Institute of Hydrometeorological Information - a world data center [Electronic resource] / *Hydrometeorological information service system*; ed. The Free, A. V. - Electron . Dan (2000). - Access mode: <http://cliware.meteo.ru>, free. - Zagli. from the screen.
36. Gorshkova A.A., Zvereva G.K. *Ecology of steppe plants of Tuva*, 114 (Science, 1988).
37. Nesterenko V.P. Patterns of climate change formation and their forecast on the territory of Crimea, *Scientific statements: Natural Sciences*, **18**, 239 (2016).
38. Suyundukov Y.T., Yanturin S.I. Agroecological bases of rational use of soils of the Bashkir Zauralye, *Bulletin of the Academy of Sciences of the Republic of Belarus*, **3**, 26 (2000).

УДК 597.556.331.1:591.4(262.5)

ПОПУЛЯЦИОННЫЕ, МОРФОФИЗИОЛОГИЧЕСКИЕ И МОРФОМЕТРИЧЕСКИЕ ОТЛИЧИЯ ЧЕРНОМОРСКОЙ СТАВРИДЫ ИЗ ПРИБРЕЖНОЙ ЗОНЫ СЕВАСТОПОЛЯ И БАЛАКЛАВЫ

Кузьминова Н. С., Мурзин Ю. Л., Самотой Ю. В.

*ФГБУН ФИЦ Институт биологии южных морей имени А.О. Ковалевского РАН (ИнБЮМ),
Севастополь, Республика Крым, Россия
E-mail: kunast@rambler.ru*

Проведены исследования различий популяционных и морфометрических параметров черноморской ставриды, отловленной в акваториях Балаклавы и Севастополя. Установлено, что в прибрежной зоне г. Севастополя, ставрида имеет меньшие величины размеров и массы, глаз и межглазного расстояния, высоты тела, длины брюшного плавника, а также расстояния от нижней челюсти до спинного, брюшного и анального плавников. Соотношение l/d , а также гонадо-соматический индекс и упитанность также ниже, чем в аватории Балаклавской бухты. По-видимому, в летний (нерестовый) период «балаклавская» группировка смешивается с приходящей с юго-восточной части Черного моря ставридой, а зимой - снова образует локальные самостоятельные скопления.

Ключевые слова: черноморская ставрида, биологические параметры, возраст, соотношение полов, Севастополь, Балаклава.

ВВЕДЕНИЕ

Черноморская ставрида - один из многочисленных и постоянно обсуждаемых среди ихтиологов вид [1 - 5]. Ее биология, в частности распределение и миграции, воспроизводство, рост (в том числе разных форм), изменения физиологических показателей в норме и при влиянии ксенобиотиков описаны в литературе [1, 6 – 9].

Исследование отличий биологических характеристик этого вида в различных акваториях Черного моря остается важным как для выявления локальных группировок и принадлежности рыб к различным формам и стадам [10], так и с целью оценки условий обитания в ходе всего годового цикла, в том числе при миграции.

Ранее нами были детально изучены популяционные и морфофизиологические параметры *Trachurus mediterraneus* Staindachner, 1868 для изучения зависимости размерно-массовых величин, а также индекса печени, индекса сердца, индекса селезенки от стадии развития половых продуктов, пола и возраста, а также районов отлова [11 – 14].

В последние же годы наблюдений за этим видом, было высказано предположение о существовании отдельной группировки ставриды в акватории г. Балаклава (бухты Балаклавская и Василева балка) [11]. На основании анализа популяционных, морфофизиологических и паразитологических исследований было

установлено, что именно в Балаклавской бухте отловленные экземпляры ставриды крупнее по сравнению с таковыми, отловленными в Севастополе, индекс печени у них был выше, а зараженность желчного пузыря *Alataspora solomoni* составляла до 30 %, в то время как в бухтах Севастополя данные микроспории в ставриде практически отсутствовали [15, 16].

Позже это предположение было подтверждено и статистическими методами анализа: по размерному распределению в осенне-зимний период ставрида, обитающая в акватории Балаклавской бухты, отличается от *T. mediterraneus*, обитающей в бухтах г. Севастополя, что подтверждается низким коэффициентом корреляции ($r=0,337$). Однако в весенне-летний период отличия не столь существенны (коэффициент корреляции $r=0,707$), что свидетельствует о расширении ареала распространения рыб в нагульно-репродуктивный период по сравнению с зимним периодом [17].

В связи с высокой информативностью морфометрических характеристик рыб, в том числе проведенных на ставриде из различных участков Черного моря [1, 10, 18 - 20], мы решили продолжить и дополнить имеющиеся данные по региональным отличиям у этого вида, проанализировав дополнительно его пластические параметры.

Цель работы: изучить отличия различных морфометрических характеристик черноморской ставриды из прибрежных вод Севастополя и Балаклавы.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Размер, масса, половая и возрастная структура, а также морфофизиологические и морфометрические характеристики ставриды *Trachurus mediterraneus* Staindachner были изучены на особях, отловленных донными ловушками в 2014 - 2017 гг. в двух районах: 1 – бухты Карантинная, Стрелецкая и Казачья, возле мыса Толстый и 2 - бухты Балаклавская и Василева балка. Такие популяционные параметры как размер, масса, возраст, соотношение полов были определены для особей в течение всего годового цикла согласно классическим ихтиологическим методам [21]. Морфофизиологические (индекс печени ИП, гонадосоматический индекс ГСИ, упитанность) и морфометрические характеристики ставриды анализировали с конца марта до июня включительно (на стадии подготовки к нересту и в его начале) по методам, описанным ранее [1, 22].

Морфометрические параметры черноморской ставриды включали такие промеры (в мм):

- абсолютная длина - расстояние от вершины нижней челюсти до вертикали конца наиболее длинной лопасти хвостового плавника (TL);
- длина тела от вершины нижней челюсти до конца средних лучей хвостового плавника (FL);
- длина тела от вершины нижней челюсти до конца чешуйчатого покрова (до заднего края последнего щитка боковой линии) (SL);
- расстояние от вершины нижней челюсти до вертикали начала основания первого спинного плавника (aD);

- расстояние от вершины нижней челюсти до вертикали начала оснований брюшных плавников (aV);
- расстояние от вершины нижней челюсти до вертикали начала основания первого анального плавника (aA);
- наибольшая высота тела (на вертикали основания первого луча первого спинного плавника) (H);
- длина головы (от вершины нижней челюсти до наиболее выступающей назад точки жаберной крышки) (с);
- горизонтальный диаметр глаза (0);
- длина грудного плавника (B);
- длина брюшного плавника (V);
- межглазное расстояние (f).
- ширина отолита (d);
- длина отолита (l);

Анализировали также величину индекса отолитов - отношение длины отолита к его ширине (l/d), принятый в качестве диагностического признака [23]. l_1 и d_1 – длина и ширина правого отолита, l_2 и d_2 – длина и ширина левого отолита.

На основании наших предыдущих исследований морфологических параметров ставриды, нами было показано, что половой диморфизм у ставриды отсутствует, о чем сообщали и другие исследователи [1, 18, 24]. В связи с этим дифференциация массива данных была проведена по критерию «возраст».

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Показано, что в обоих изученных районах присутствуют все возрастные группы т.е. большая часть популяции держится вместе, что указывает на то, что это обособленные локальные формы. В акватории г. Севастополя преобладают одно и двух годовики, а возле Балаклавы – двух и трех годовики (рис. 1).

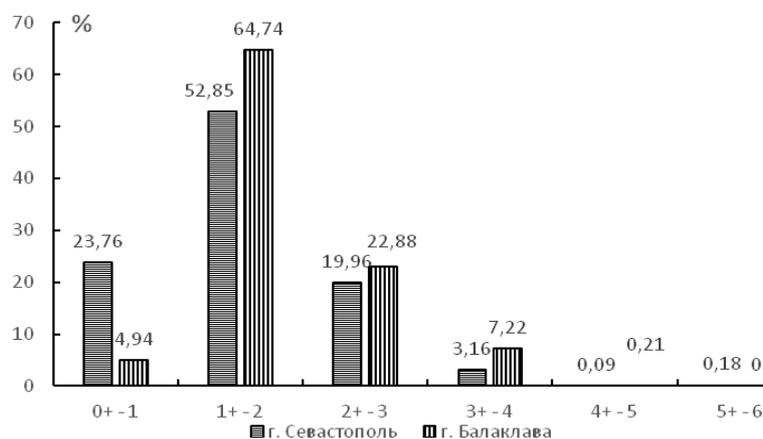


Рис. 1. Возраст проанализированной ставриды в 2014 – 2017 гг.

Анализируя соотношение полов (табл. 1) можно увидеть, что и в районе Севастополя, и в Балаклаве количество самцов превосходит таковое самок. Только у особей из возрастной группы 0+ - 1 гг. из Севастополя это соотношение более существенно. Различия у 3+ - 4 годовалых ставрид и 4 – 6 летних экземпляров (данные для последней возрастной группы не указаны в таблице в связи с малой выборкой – по несколько рыб из двух районов) из двух исследованных акваторий могут быть связаны не с равнозначным и малым числом рыб.

Таблица 1.
Соотношение полов (♂:♀) у *Trachurus mediterraneus* с 2014 по 2017 гг.

район \ возраст, годы	0+ - 1	1+ - 2	2+ - 3	3+ - 4
	Севастополь, N=1049	1,7:1	1,4:1	1,3:1
Балаклава, N=353	1,4:1	1,1:1	1,02:1	0,6:1

Достоверных различий в величинах пластических характеристик рыб из одного района, но относящихся к разным возрастным группам, не установлено (табл. 3).

Вместе с тем, отличия в таких параметрах, как: размер (TL, Fl, Sl) и масса, высота тела, длина брюшного плавника, межглазное расстояние, диаметр глаза, расстояние от вершины нижней челюсти до - вертикали начала основания первого спинного плавника, - вертикали начала оснований брюшных плавников, - до вертикали начала основания первого анального плавника у особей из акваторий Балаклавы и Севастополя достоверно различаются (табл. 2 и 3). В меньшей степени имеются различия по параметрам ГСИ и упитанности.

Достоверно ($p \leq 0,05$) различаются и соотношения длины и ширины правого и левого отолитов (табл. 3).

Таблица 2.
Популяционные и морфофизиологические параметры ставриды из Севастополя и Балаклавы ($M \pm m$) в 2014 – 2017 гг.

параметр	возраст					
	0+ - 1	1+ - 2		2+ - 3		3+ - 4
	Σ	самки	самцы	самки	самцы	Σ
Севастополь						
TL, см	11,6±0,08	13,7±0,07	13,7±0,06	14,9±0,14	14,7±0,1	16,1±0,25
min – max (N)	8,9 – 15,4 (261)	10,4 – 19,9 (363)	9,5 – 21,7 (441)	11,7 – 19,9 (92)	11,0 – 19,7 (130)	12,5 – 19,5 (36)
Fl, см	10,4±0,07	12,3±0,06	12,2±0,06	13,4±0,12	13,2±0,1	14,4±0,22
min – max (N)	8,1 – 13,8 (261)	9,4 – 17,8 (355)	8,4 – 19,1 (437)	10,5 – 17,5 (92)	10 – 17,5 (130)	11,1 – 17,3 (36)
Sl, см	9,7±0,07	11,4±0,06	11,5±0,05	12,5±0,12	12,4±0,10	13,5±0,21

ПОПУЛЯЦИОННЫЕ, МОРФОФИЗИОЛОГИЧЕСКИЕ ...

Продолжение таблицы 2

min – max (N)	7,3 – 12,8 (264)	8,3 – 17,2 (379)	8,0 – 18,2 (446)	10,1 – 16,5 (93)	9,5 – 16,4 (130)	10,4 – 16,6 (36)
P, г	10,9±0,28	18,97± 0,4	19,49± 0,4	25,18±1,0	24,89± 0,8	33,81±1,7
min – max (N)	3,15 – 33,06 (264)	3,91 – 71,39 (374)	6,95 – 94,57 (440)	11,78 – 77,41 (92)	8,09 – 69,78 (128)	16,22 – 58,92 (35)
ИП, %	11,00±0,72	9,89±0,34	9,59±0,20	12,84± 0,82	8,34±0,34	13,98±1,35
min – max (N)	1,60 – 40,37 (106)	2,51 – 37,62 (171)	1,99 – 22,06 (344)	2,79 – 41,30 (62)	2,97 – 26,46 (134)	7,01 – 22,98
ГСИ, %	2,82±0,26	2,51±0,1	2,01± 0,09	3,91±0,49	3,47±0,3	5,02±0,74
min – max (N)	0,14 – 18,32 (115)	0,16 – 11,20 (175)	0,059 – 13,51 (349)	1,21 – 30,98 (65)	0,46 – 10,54 (75)	1,17 – 10,25 (14)
Упит., %	1,01±0,01	1,04± 0,01	1,15± 0,01	1,08±0,02	1,08± 0,01	1,16±0,03
min – max (N)	0,4 – 1,45 (197)	0,38 – 2,07 (181)	0,71 – 1,64 (377)	0,73 – 1,44 (65)	0,76 – 1,47 (77)	0,86 – 1,37 (14)
Балаклава						
Пл, см	12,9±0,66	14,3± 0,10	14,3±0,1	15,3±0,15	15,4± 0,15	15,9±0,24
min – max (N)	11,0 – 16,0 (18)	12,0 – 17,0 (101)	12,2 – 17,5 (116)	12,9 – 18,8 (52)	13,0 – 17,9 (53)	13,1 – 20,6 (35)
Fl, см	11,6±0,25	12,7± 0,09	12,8±0,1	13,6±0,14	13,8± 0,14	14,2±0,21
min – max (N)	9,8 – 14,6 (18)	10,4 – 15,2 (101)	10,8 – 15,5 (116)	11,2 – 17,1 (52)	11,6 – 15,9 (53)	11,5 – 18,2 (35)
Sl, см	10,9±0,22	12,04± 0,1	12,0±0,1	12,9±0,1	13,03± 0,1	13,4±0,2
min – max (N)	9,4 – 13,5 (18)	10,0 – 14,2 (101)	10,2 – 14,8 (116)	10,7 – 16,2 (52)	10,9 – 15,2 (53)	10,7 – 17,5 (35)
P, г	16,32±0,2	22,06±0,6	22,06±0,7	28,58±1,0	28,62±0,9	31,50±1,6
min – max (N)	10,01 – 31,79 (18)	11,33 – 42,54 (101)	11,66 – 51,57 (107)	16,07 – 50,25 (52)	15,29 – 43,74 (53)	20,72 – 70,22 (35)

Продолжение таблицы 2

ИП, ‰	9,95±1,26	11,08±0,4	8,59±0,5	14,49±1,2	8,54±0,7	12,39±1,4
min –	5,08 –	4,16 –	3,61 –	7,01 –	6,18 –	7,92 –
max (N)	20,57 (11)	18,72 (53)	24,19 (61)	31,37 (18)	13,19 (9)	18,35 (6)
ГСИ, ‰	4,62±0,88	4,79±0,4	5,21±0,4	6,8±0,67	6,27±1,5	4,74±1,37
min –	0,34 – 8,51	0,69 –	0,73 –	2,01 –	0,44 –	1,09 – 9,45
max (N)	(12)	11,39 (52)	13,86 (62)	11,62 (18)	13,52 (9)	(6)
Упит., ‰	1,06±0,03	1,10±0,01	1,10±0,01	1,18±0,03	1,12±0,03	1,12±0,04
min –	0,93 – 1,32	0,84 –	0,84 –	0,99 – 1,45	0,96 –	0,98 – 1,25
max (N)	(12)	1,42 (53)	1,42 (53)	(18)	1,24 (9)	(6)

Таблица 3.

Морфометрические параметры черноморской ставриды из Севастополя и Балаклавы (M±m) в 2014 – 2017 гг.

параметр	возраст, годы	Севастополь	Балаклава
С	2+ - 3	27,54±0,19	28,01±0,12
	3+ - 4	26,72±0,58	28,09±0,15
В	2+ - 3	25,79±0,12	25,77±0,17
	3+ - 4	25,49±0,29	25,25±0,43
V	2+ - 3	16,26±0,12	15,16±0,11
	3+ - 4	17,20±0,55	15,04±0,13
f	2+ - 3	2,66±0,03	2,64±0,02
	3+ - 4	2,68±0,01	2,57±0,03
O	2+ - 3	2,99±0,03	3,12±0,02
	3+ - 4	3,01±0,06	3,11±0,05
H	2+ - 3	19,98±0,11	21,17±0,13
	3+ - 4	20,14±0,29	20,59±0,91
aD	2+ - 3	34,29±0,15	34,37±0,15
	3+ - 4	34,41±0,23	34,75±0,39
aV	2+ - 3	31,59±0,13	30,06±0,13
	3+ - 4	31,27±0,29	29,99±0,22
aA	2+ - 3	52,30±0,17	52,34±0,24
	3+ - 4	52,74±0,34	52,50±0,21
l ₁ /d ₁	2+ - 3	1,86±0,01	2,40±0,42
	3+ - 4	1,90±0,02	2,06±0,03
l ₂ /d ₂	2+ - 3	1,85±0,02	1,97±0,03
	3+ - 4	1,89±0,02	2,05±0,03

Примечание: жирным шрифтом указаны величины параметров, достоверно отличающиеся у рыб из двух исследованных районов

Не только основные популяционные, но и выбранные пластические признаки, в очередной раз доказывают наличие существенных отличий между ставридой, отловленной в Балаклавской бухте и бухтах Севастополя. Данные критерии оценки являются весьма информативными при выявлении региональных отличий ставриды, что было показано на примере европейской ставриды Центрально-Восточной Атлантики при разделении ее на мароккано-сахарскую и сенегало-мавританскую популяции [25], а также отличий у атлантической ставриды *Trachurus trachurus*, отловленной вдоль Турецкого побережья (так называемые «мраморноморская» и «эгейская» формы) [19, 20], при сравнении ставриды у побережья Болгарии и Турции [10], а также при доказательстве общности популяции в Мраморноморско-Черноморском бассейне ставриды из акваторий Карадага и Севастополя) [18].

В таблице 3 представлены данные для возрастных групп 2+ - 3 и 3+ - 4 лет. Сеголетки – годовики были присутствовали в уловах донных ловушек в меньшей степени, особенно в Балаклавской бухте, что не позволило нам в достаточной степени провести сравнение ставриды по морфометрическим параметрам самых молодых экземпляров. Однако, по всем трем размерам и массе годовалые ставриды достоверно крупнее в Балаклавской бухте. Имеются сведения о том, что при анализе морфометрических характеристик, в том числе ставриды, самые существенные региональные различия наблюдаются на неполовозрелых экземплярах [26], что связано с сильной зависимостью молодежи от качественно-количественного состава пищи в конкретной акватории. Этот факт лег в основу рекомендаций к анализу пелагических видов рыб (как пресноводных, так и морских) при задаче выявления экоморфологического полиморфизма отличий группировок [26].

Информативность использования индекса отоликов при выявлении популяционных различий у морских рыб, в частности ставриды, также не вызывает сомнений [18, 27, 28, 30].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Как в районе Севастополя, так и возле Балаклавы обитают обособленные группировки ставриды, зимующие в этих водах, не смешиваясь. Это подтверждают наши сведения о различиях в популяционных, морфофизиологических, пластических показателях рыб. В бухте Балаклавская ставрида имеет более высокие величины размеров и массы, глаз и межглазного расстояния, высоты тела, длины брюшного плавника, а также расстояния от нижней челюсти до спинного, брюшного и анального плавников. В указанной акватории у ставриды выше и соотношение l/d , а также ГСИ и упитанность.

Сообщения севастопольских и балаклавских рыбаков, а также математический анализ размерного распределения ставриды [17] подкрепляют данные о разрозненных ареалах распространения вида, особенно в осенне-зимний период.

Сведения о том, что в районе Балаклавы ставрида зимует в глубоких горизонтах [31] и может кормиться хамсой благодаря зимним скоплениям *Engraulis encrasicolus* у ЮБК [32] также подтверждает исторически сложившуюся ситуацию благополучного обитания вида в этом районе. Более того, и ранее сообщалось, что «балаклавская» ставрида отлична от рыб, обитающих у берегов Крыма (крымское

стадо) по соотношению длины и массы, по темпам роста и возрастному составу нерестовой популяции [31], что указывало на то, что и в летний период ставрида, заходящая в бухты Севастополя не смешивалась с «балаклавской».

Работа выполнена по теме «Закономерности формирования и антропогенная трансформация биоразнообразия и биоресурсов Азово-Черноморского бассейна и других районов Мирового океана» (регистрационный номер НИОКТР: АААА-А18-118020890074-2, дата регистрации 08/02/2018).

Список литературы

1. Алеев Ю. Г. Ставриды (*Trachurus*) морей СССР / Ю.Г. Алеев // Тр. Севастоп. биол. станции. – 1957. – Т. IX. – С. 167-242.
2. Дука Л. А. Об обеспеченности личинок хамсы и ставриды пищей в условиях Черного моря // в кн. Биологические исследования Черного моря и его промысловых ресурсов / Л. А. Дука, В. И. Синюкова - М. : Наука. – 1968. – С. 183-186.
3. Зуев Г. В. Загадка крупной ставриды / Зуев Г. В., Мельникова Е. Б. // Рыбное хозяйство Украины. – 2005. – №6. – С. 47-50.
4. Слынько Ю. В. Таксономический статус и внутривидовая дифференциация черноморской ставриды *Trachurus mediterraneus ponticus* (Aleev, 1956) (Carangidae) / Ю. В. Слынько, А. Р. Болтачев, Е.П. Карпова [и др.] // Биология моря. – 2018. – Т. 44. № 2. – С. 106-114.
5. Шульман Г. Е. Особенности динамики жирности крупной ставриды Черного моря в связи с ее биологией / Г. Е. Шульман // Тр.АзЧерНИРО. – 1964. – вып. 22. – С. 101-106.
6. Кузьмина Н. С. Содержание ртути в тканях рыб прибрежного комплекса г. Севастополя в 2005 – 2007 гг. / Н. С. Кузьмина, С. К. Костова, О. В. Плотичина // Рибне господарство України. – 2009. – № 2/3 (61, 62). – С. 29-36.
7. Кузьмина Н. С. Свертываемость крови и индексы иммунокомпетентных органов черноморских рыб в норме и при закислении среды / Н. С. Кузьмина, Т. О. Питерова // Рибне господарство України. – 2008. – № 5 (58). – С. 57-59.
8. Сафьянова Т. Е. Мечение ставриды в Черном море / Т. Е. Сафьянова // Труды АзЧерНИРО. – 1958. – вып. 17. – С. 43-50.
9. Ракитская Л. В. Сезонная динамика морфофизиологических показателей крови ставриды и мерланга Черного моря // Экология моря. – 1980. – вып.1. – С. 99-102.
10. Yankova M. H. Morphological properties of horse mackerel, *Trachurus mediterraneus ponticus* Aleev, 1956 (Osteichthyes: Carangidae) from the Black Sea / M. H. Yankova., V. S. Raykov // Turkish J. of Fisheries and Aquatic sciences. – 2006. – 6. – P. 85-91.
11. Кузьмина Н. С. Долговременные изменения популяционных и морфофизиологических параметров некоторых видов черноморских рыб из прибрежной зоны Севастополя и Крыма / Н. С. Кузьмина, Л. С. Овен, Л. П. Салехова, Н. Ф. Шевченко, Ю. В. Самотой // В кн.: Экотоксикологические исследования прибрежной черноморской ихтиофауны в районе Севастополя. – М. : ГЕОС, 2016. – С. 31-46.
12. Кузьмина Н. С. Индекс печени черноморской ставриды как индикатор ее физиологического состояния / Н. С. Кузьмина // Рибне господарство України. – 2006. – № 2 (43). – С. 36-38.
13. Кузьмина Н. С. Видовые, сезонные, половые отличия индекса селезенки некоторых видов черноморских рыб и его подверженность антропогенному фактору / Н. С. Кузьмина // Вестник зоологии. – 2008. – Т. 42, № 2. – С. 135-142.
14. Болгарев Д. В. Индекс сердца некоторых прибрежных видов черноморских рыб / Д. В. Болгарев, Н. С. Кузьмина // Современные проблемы и перспективы развития рыбохозяйственного комплекса: Материалы V научно-практической конференции молодых ученых с международным участием / Под ред.: М. В. Сытовой, И. И. Гордеева, К. А. Жуковой. – М. : Изд-во ВНИРО, 2017. – С. 41-46.
15. Юрахно В. М. О существовании возможных локальных группировок черноморской ставриды в прибрежье Севастополя / В. М. Юрахно, Н. С. Кузьмина // Современные рыбохозяйственные и

- экологические проблемы Азово-Черноморского региона: Материалы VII Междунар. конф. (г. Керчь 20 – 23 июня 2012 г.). – Керчь, 2012. – Т. 1. – С. 100-103.
16. Кузьминова Н. С. Популяционные параметры ставриды в различных акваториях Черного моря в современный период / Н. С. Кузьминова // Рибогосподарська наука України. – 2013. – № 3. – С. 35-45.
 17. Мельникова Е. Б. Сравнительная оценка характеристик роста ставриды юго-западного шельфа Крыма в осенне-зимний и весенне-летний периоды / Е. Б. Мельникова, Н. С. Кузьминова // Экосистемы. – 2018. – вып.13. – (43). – С. 59-67.
 18. Салехова Л. П. Морфологическая характеристика ставриды *Trachurus mediterraneus* Staindachner, обитающей в прибрежной зоне Крыма / Л. П. Салехова // Рибе Господарство України. – 2007. – № 3-4. – С. 38-43.
 19. Bektas Y. Morphological variation among Atlantic horse mackerel, *Trachurus trachurus* populations from Turkish coastal waters / Y. Bektas, A. O. Belduz // Journal of Animal and Veterinary Advances. – 2009. – 8 (3). – P. 511-517.
 20. Turan C. Stock identification of Mediterranean horse mackerel (*Trachurus mediterraneus*) using morphometric and meristic characters / C. Turan // ICES Journal of Marine Science. – 2004. – 61. – P. 774-781. doi:10.1016/j.icesjms.2004.05.001
 21. Правдин И. Ф. Руководство по изучению рыб / И. Ф. Правдин. – М.: Пищ. пром., 1966. – 376 с.
 22. Шварц С. С. Метод морфофизиологических индикаторов в экологии наземных позвоночных / С. С. Шварц, В. С. Смирнов, Л. Н. Добринский // Тр. Ин-та экологии растений и животных. – 1968. – вып. 58. – 386 с.
 23. Сказкина Е. П. Различие азовской и черноморской хамсы (*Engraulis encrasicolus maeoticus* Puzanov, *Engraulis encrasicolus ponticus* Aleks.) по отолитам / Е. П. Сказкина // Вопр. ихтиологии. – 1965. – Т. 5. – № 4. – С. 600-605.
 24. Jardas I. Biometric properties of Mediterranean horse mackerel *Trachurus mediterraneus* (Osteichthyes: Carangidae) from the central Adriatic Sea / I. Jardas, M. Šantić, A. Pallaoro // NAT. CROAT. - ZAGREB December 31. – 2004. – Vol. 13, No 4. – P. 343-355.
 25. Галактионова А. И. Морфоэкологическая характеристика европейской ставриды центрально-восточной Атлантики / А. И. Галактионова, Л. Н. Доманевский // Вопросы ихтиологии. – 1989. – Т. 29, вып. 1. – С. 38-45.
 26. Kishida M. Ecomorphological dimorphism of juvenile *Trachurus japonicus* in Wakasa Bay, Japan / M. Kishida, Y. Kanaji, S. Xie [et. al.] // Environ. Biol. Fish. – 2011. – 90. – P. 301-315.
 27. Алтухов Ю. П. Различия в размерных соотношениях отолитов «крупной» и «мелкой» черноморских ставрид, определенных по признаку клеточной теплоустойчивости / Ю. П. Алтухов., Ю. А. Михалев // Тр. АЗЧЕРНИРО. – 1964. – вып. 22. – С. 23-29.
 28. Водясова Е. А. Значения индекса отолитов у разноразмерных групп анчоуса *Engraulis encrasicolus* у берегов Крыма / Е. А. Водясова // Доповіди Нац. Акад. Наук. – 2013. – №2. – С. 133-137.
 29. Мурзин Ю. Л. Связь индекса отолитов с размерами хамсы как показатель ее внутривидовой дифференциации / Ю. Л. Мурзин // Збірка матеріалів II Міжнародної конференції "Сучасні проблеми біології, екології та хімії" (1-3 жовтня 2009 р., Запоріжжя). – 2009. – С. 103-104.
 30. Vasconcelos J. Identifying populations of the blue jack mackerel (*Trachurus picturatus*) in the Northeast Atlantic by using geometric morphometrics and otolith shape analysis / J. Vasconcelos, A. R. Vieira, V. Sequeira [et. al.] // Fish. Bull. – 2018. – 116. – P. 81-92.
 31. Амброз А. П. Распределение и промысел черноморской ставриды / А.П. Амброз // Тр. ВНИРО. – 1954. – С. 113-125.
 32. Данилевский Н. Н. Миграции черноморской хамсы и факторы ее обуславливающие / Н. Н. Данилевский // Тр. АзЧерНИРО. – 1958. – вып. 17. – С. 51-74.

POPULATION, MORPHOPHYSIOLOGICAL AND MORPHOMETRIC DIFFERENCES OF BLACK SEA HORSE MACKEREL FROM COASTAL AREA OF SEVASTOPOL AND BALAKLAVA

Kuzminova N.S., Murzin Yu.L., Samotoy Yu.V.

*Federal Scientific Centre Institute of Biology of the Southern Seas named A.O. Kovalevsky of Russian Academy of Sciences (IBSS), Sevastopol, Crimea, Russia
E-mail: kunast@rambler.ru*

The investigation concerning finding of population and morphometric parameters of Black Sea horse mackerel caught near Balaklava and Sevastopol are done. In both the Sevastopol region and near Balaklava, isolated groups of *Trachurus mediterraneus* live in wintering in these waters without mixing. This is confirmed by our information about differences in population, morphophysiological, and plastic parameters of fish. In coastal area of Sevastopol *T. mediterraneus* has smaller values of size and weight, yes, distance between eyes, the height of the body, the length of the ventral fin, as well as the distance from the lower jaw to the dorsal, ventral and anal fins. The ratio of l / d as well as the gonado-somatic index and condition factor are also lower than in the Balaklavskaya bay. Probably, in summer (spawning) *Trachurus mediterraneus* from sea near Balaklava mixes with fish coming from the south-east part of the Black Sea, and in the winter – it creates local own independent clusters. The reports of the Sevastopol and Balaklava fishermen, as well as a mathematical analysis of the size distribution of horse mackerel, reinforce the data on the disparate areas of fish distribution, especially in the autumn-winter period. It was previously reported that the “Balaklavskaya” horse mackerel is different from the fish living off the coast of the Crimea (the Crimean herd) in terms of the ratio of length and weight, in terms of growth rates and age composition of the spawning population, which indicated that in the summer period the horse mackerel entering the bays of Sevastopol did not mix with the “Balaklavskaya” one.

Keywords: Black Sea horse mackerel, biological parameters, age, sex composition, Sevastopol, Balaklava.

References

1. Aleev Y.G. Horse mackerel (*Trachurus*) of the seas of the USSR, *Tr. Sevastop. biol. Station*, **IX** (1957).
2. Duka L.A., Sinyukova V.I. On the security of the anchovy and horse mackerel food in the Black Sea, «*Biological studies of the Black Sea and its commercial resources*» (Nauka, 1968).
3. Zuev G.V., Melnikova E.B. The mystery of the big horse mackerel, *Ribnoe khozyaystvo Ukraini*, 6 (2005).
4. Slyngo Y.V., Boltachev A.R., Karpov Y.P. [and others] Taxonomic status and intraspecific differentiation of the Black Sea horse mackerel *Trachurus mediterraneus ponticus* (Aleev, 1956) (Carangidae), *Biology of the Sea*, **44**, 2 (2018).
5. Shulman G.Y. Peculiarities of the fat content dynamics of a large horse mackerel of the Black Sea in connection with its biology, *Tr. AzChernIRO*, **22** (1964).
6. Kuzminova N.S., Kostova S.K., Plotitsina O.V. The mercury content in the tissues of fish from the coastal complex of the city of Sevastopol in 2005–2007, *Ribne's gospodarstvo Ukraini*, 2/3 (61, 62) (2009).
7. Kuzminova N.S., Piterova T.O. Blood coagulability and indices of the immunocompetent organs of the Black Sea fish in normal conditions and at acidification of the medium, *Ribnoe khozyaystvo Ukraini*, 5 (58) (2008).
8. Safyanova T.E. The tagging of horse mackerel in the Black Sea, *Proceedings of AzCHERNIRO*, **17**, (1958).

9. Rakitskaya L.V. Seasonal dynamics of the morphophysiological indicators of the blood of the horse mackerel and the whiting of the Black Sea, *Ecology of the Sea*, **1** (1980).
10. Yankova M.H. and Raykov M.H. Morphological properties of horse mackerel, *Trachurus mediterraneus ponticus* Aleev, 1956 (Osteichthyes: Carangidae) from the Black Sea, *Turkish J. of Fisheries and Aquatic sciences*, **6** (2006).
11. Kuzminova N.S., Oven L.S., Salekhova L.P., Shevchenko N.F., Samotoy Y.V. Long-term changes in population and morphophysiological parameters of some species of Black Sea fishes from the coastal zone of Sevastopol and Crimea, *Ecotoxicological studies of the coastal Black Sea ichthyofauna in the region of Sevastopol* (GEOS, 2016).
12. Kuzminova N.S. The index of the liver of the Black Sea horse mackerel as an indicator of its physiological state, *Ribnoe khozyaystvo Ukraini*, **2** (43) (2006).
13. Kuzminova N.S. Species, seasonal, sexual differences of the spleen index of some species of the Black Sea fish and its susceptibility to the anthropogenic factor, *Bulletin of zoology*, **42**, 2 (2008).
14. Bolgarov D.V., Kuzminova N.S. The heart index of some coastal species of the Black Sea fish, *Modern problems and development prospects of the fisheries complex: Proceedings of the Vth scientific-practical conference of young scientists with international participation* (VNIRO, 2017).
15. Yurakhno V.M., Kuzminova N. S. On the existence of possible local groupings of the Black Sea horse mackerel in the coast of Sevastopol, *Modern fisheries and environmental problems of the Azov-Black Sea region: Proceedings of the VII Intern. conf. (Kerch, June 20-23, 2012)*, **1** (2012).
16. Kuzminova N.S. Population parameters of horse mackerel in different areas of the Black Sea in the modern period, *Ribogospodarska nauka Ukraini*, **3** (2013).
17. Melnikova E.B., Kuzminova N.S. Comparative assessment of the growth characteristics of the horse mackerel of the south-western shelf of the Crimea in the autumn-winter and spring-summer periods, *Ecosystems*, **13**(43) (2018).
18. Salekhova L.P. Morphological characteristics of the horse mackerel *Trachurus mediterraneus* Staindachner living in the coastal zone of the Crimea, *Ribne gospodarstvo Ukraini*, **3-4** (2007).
19. Bektas Y. and Belduz A.O. Morphological variation among Atlantic horse mackerel, *Trachurus trachurus* populations from the Turkish Coastal Waters, *Journal of Animal and Veterinary Advances*, **8** (3), (2009).
20. Turan C. Stock identification of the Mediterranean horse mackerel (*Trachurus mediterraneus*) using morphometric and meristic characters, *ICES Journal of Marine Science*, **61**. doi: 10.1016 / j.icesjms.2004.05.001. (2004).
21. Pravdin I.F. *Guide to the study of fish* (1966).
22. Shvarts S.S., Smirnov V.S., Dobrinsky L.N. The method of morphophysiological indicators in the ecology of terrestrial vertebrates, *Tr. In-ta ekologii rasteniy iivotnih*, **58** (1968).
23. Skazkina E.P. The difference of Azov and Black Sea anchovy (*Engraulis encrasicolus maeoticus* Puzanov, *Engraulis encrasicolus ponticus* Aleks.) by otoliths, *Vopr. Ichthyologii*, **5**, 4 (1965).
24. Jardas I., Santić M. and Pallaoro A. Biometric properties of the Mediterranean horse mackerel *Trachurus mediterraneus* (Osteichthyes: Carangidae) from the central Adriatic Sea, *NAT. CROAT. ZAGREB* (December 31), **13**, 4 (2004).
25. Galaktionova A.I., Domanevsky L.N. Morphological and ecological characteristics of the European horse mackerel of the Central-East Atlantic, *Voprosi ichthyologii*, **29**, 1 (1989).
26. Kishida M., Kanaji Y., Xie S. [et. al.], Ecomorphological dimorphism of juvenile *Trachurus japonicus* in Wakasa Bay, Japan, *Environ. Biol. Fish.* **90** (2011).
27. Altukhov Y.P., Mikhalev Y. A. Differences in the size ratios of otoliths of the "large" and "small" Black Sea horse mackerel, determined by the characteristic of cellular heat resistance, *Tr. AZCHERNIRO*, **22** (1964).
28. Vodyasova E.A. The values of the otoliths in different-sized groups of anchovy *Engraulis encrasicolus* off the coast of the Crimea, *Dopovidi Nat. Acad. Nauki*, **2** (2013).
29. Murzin Y.L. Connection of the otoliths with the size of the anchovy as an indicator of its intraspecific differentiation, *Zbirka materialiv II Megdunarodnoy konferencii "Sunasni problemi biologii, ekologii i himii" (1-3 govtnya 2009 r.)*. 2009.
30. Vasconcelos J. Identifying populations of the blue jack mackerel (*Trachurus picturatus*) in the Northeast Atlantic by Vasconcelos et al. [et al.], *Fish. Bull.* **116** (2018).
31. Ambros A.P. Distribution and fishery of the Black Sea horse mackerel, *Tr. VNIRO* (1954).
32. Danilevsky N.N. Migrations of the Black Sea anchovy and factors causing it, *Tr. AZCHERNIRO*, **17**, (1958).

УДК 582.688.3:631.53.04:632.931.1

ОПЫТ КУЛЬТИВИРОВАНИЯ РОДОДЕНДРОНА (*RHODODENDROM*) В УСЛОВИЯХ УМЕРЕННО-КОНТИНЕНТАЛЬНОГО КЛИМАТА

Мазина И. Г.

Никитский ботанический сад – Национальный научный центр РАН, Ялта,
Республика Крым, Россия
E-mail: mazina335066@mail.ru

На основании десятилетнего опыта культивирования 54 таксонов рододендронов *Rhododendron* (2744 экземпляра) в условиях умеренно-континентального климата определены 21 наиболее зимостойких видов и сортов: 7 листопадных азалий – *Rhododendron canadense*, *Rh. 'Fireball'*, *Rh. 'Sunte Nectarine'*, *Rh. schlippenbachii*, *Rh. 'Schneegold'*, *Rh. vaseyi*, *Rh. viscosum*; 9 японских азалий – *Rh. dauricum 'Ostara'*, *Rh. impeditum 'Ramapo'*, *Rh. 'Kiusianum Maiogi'*, *Rh. obtusum 'Babushka'*, *Rh. obtusum 'Kermesina'*, *Rh. obtusum 'Ledikanense'*, *Rh. obtusum 'Oslava'*, *Rh. obtusum 'Rosalind'*, *Rh. obtusum 'Schneewittchen'*; 5 вечнозеленых рододендронов – *Rh. 'Calsap'*, *Rh. 'Catawbiense Grandiflorum'*, *Rh. 'Rosselini'*, *Rh. yakusimanum 'Colibri'*, *Rh. yakusimanum 'Sylver Lady'*. Определены основные причины повреждений растений в зимний период и их последствия. Предложены оптимальные сроки и способы защиты рододендронов, включающие укрытие подземных и надземных частей растений, а также методы их восстановления в случае повреждений. Укрытие крон растений рекомендуется проводить не позже середины января, поэтапное раскрытие, начиная с затененных мест, – с первых чисел апреля, так как в марте часты заморозки. Оптимальным способом защиты надземных частей растений в зимний период является их укрытие зеленой притеняющей сеткой средней плотности (на открытых местах в 2 слоя): вечнозеленых рододендронов – каркасно, листопадных – контактно. Дан перечень зимостойких азалий и вечнозеленых рододендронов по срокам цветения и окраске цветков, рекомендуемый для составления ландшафтных композиций.

Ключевые слова: *Rhododendron*, культивирование, зимостойкость, сохранность, озеленение.

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность сада восточного стиля как образа живой природы в урбанизированной среде остается неизменной. Главной функцией японского сада является созерцание и оценка красоты пейзажей. Большое внимание уделяется подбору растений, которые должны сохранять декоративность круглый год. Таким требованиям отвечают рододендроны *Rhododendron* L. Разнообразие окраски и формы цветка, темно-зеленая листва, которая может служить кулисой для других растений, делает их особенно привлекательными. Многообразие экологических типов рододендронов позволяет использовать их для оформления садов во многих климатических зонах России [1, 2]. Они предпочитают легкую полутень, рыхлые, водо- и воздухопроницаемые плодородные почвы с реакцией среды pH 4,5–5,5. *Rhododendron fauriei* Franch, *Rh. schlippenbachii* Maxim. и *Rh. tschonoskii* Maxim. (*Azalea tschonoskii* (Maxim.) Kuntze) занесены в Красную книгу Российской

Федерации [3], поэтому культивирование данных растений является необходимым условием их сохранности.

Опыт интродукции рододендронов в различных климатических зонах показал, что растения различного географического происхождения характеризуются своими особенностями и ритмикой роста и развития. Степень чувствительности растений определяется комплексом неблагоприятных для них факторов, главным образом низкими отрицательными температурами, колебаниями температуры зимой и весной, сильными ветрами, тяжелыми почвами и засушливыми летними условиями [1, 4–7]. Изменение климата, повышение требований к декоративности растений, создание новых сортов вызывают необходимость изучения рододендронов в конкретных условиях. Остаются открытыми вопросы сохранности рододендрона в зимний период и оптимальные способы их защиты.

Цель работы – на основе проверки зимостойкости 54 видов и сортов *Rhododendron* в условиях умеренно-континентального климата выделить наиболее устойчивые таксоны для использования их в озеленении, а также разработать рекомендации по подготовке растений к зимнему периоду и восстановлению ослабленных растений.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Объекты исследования – 54 таксонов (2744 экземпляра) *Rhododendron*: 16 листопадных азалий (357 экземпляров), 19 японских азалий (1909 экземпляров) и 19 вечнозеленых рододендронов (478 экземпляров). Методы исследования – анализ опыта интродукции рододендронов на основании литературных источников [1; 4–7 и др.], а также результатов работы на частных объектах озеленения в условиях умеренно-континентального климата (лесостепная зона Киевской области). Изучали особенности посадки и ухода за растениями, определяли специфику влияния факторов зимнего периода на их рост и развитие.

Оценка обмерзаемости растений проводилась по методике П. И. Лапина и С. В. Сидневой (1973), И. Е. Ботяновского (1986); фенологические наблюдения – по методике Г. Н. Зайцева (1981). Влияние погодных условий на рост и развитие растений определяли, используя метеорологические данные [10; 11].

Названия таксонов приведены согласно Международному индексу названий растений "IPNI", «The Plant List».

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Перенос различных видов и сортов рододендрона в новые для них районы влечет за собой определенные изменения ритма эндогенных процессов и смещение фаз сезонного развития [4]. Климат Киевской области умеренно-континентальный. Средняя температура воздуха за год составляет 6,6–7,2 °С, минимальная зимой – 36 °С. Относительная влажность воздуха в среднем за год 84 %, зимой до 91 %. Важными факторами для теплолюбивых растений в данных условиях являются температура почвы и воздуха, водный режим и освещенность. Наибольший ущерб растениям приносят суровые зимы с продолжительными и сильными морозами,

особенно в конце зимы. Для каждого вида и сорта существуют свои температурные границы, при которых они могут повреждаться.

Десятилетний опыт культивирования рододендронов (2005–2014 гг.) на территории японского сада в условиях умеренно-континентального климата показал, что сильные морозы и неблагоприятные факторы суровых зим 2005–2006 годов и 2011–2012 годов обусловили значительные повреждения рододендронов, преимущественно на открытых местах. Это резкое похолодание в конце января, сильные продолжительные морозы от -23 до -30 °С с ярким солнцем и сильным иссушающим ветром, зимние оттепели и резкие суточные перепады температур в конце января – начале и середине февраля (2006 г.), в конце февраля – середине марта (2012 г.)

Анализ сохранности некоторых видов и сортов *Rhododendron* после суровой зимы 2005–2006 годов показал, что из 2744 высаженных растений, относящихся к 54 таксонам, погибли 428 экземпляров (16 % от общего количества) (табл. 1).

Таблица 1

Анализ сохранности видов и сортов *Rhododendron* после суровой зимы 2005–2006 годов на территории японского сада в условиях умеренно-континентального климата

№ пп	Наименование растения	Размер, высота / ширина, см	Кол-во, шт.			% живых
			всего	погиб.	живых	
	Листопадные азалии					88
1	<i>Rhododendron canadense</i>	60–70	30		30	100
2	<i>Rh.</i> 'Cannon's Double'	160–180 / 120–140	20	8	12	60
3	<i>Rh.</i> 'Feuerwerk'	140–160 / 120–140	10	3	7	70
4	<i>Rh.</i> 'Fireball'	160–180 / 180–200	42		42	100
5	<i>Rh.</i> 'Golden Sunset'	140–160 / 140–160	15	3	12	80
6	<i>Rh.</i> 'Goldtopas'	140–160 / 90–100	20	2	18	90
7	<i>Rh.</i> 'Goldpracht'	140–160 / 120–140	25	2	23	92
8	<i>Rh. luteum</i> 'Cecile'	110 / 100	5	1	4	80
9	<i>Rh.</i> 'Otto Hahn'	140–160 / 140–160	15	4	11	73
10	<i>Rh.</i> 'Sarina'	160–180 / 120–140	25	3	22	88
11	<i>Rh. schlippenbachii</i>	60–70	20		20	100

ОПЫТ КУЛЬТИВИРОВАНИЯ РОДОДЕНДРОНА (*RHODODENDROM*)...

Продолжение таблицы 1

12	<i>Rh.</i> 'Schneegold'	120–140 / 140–160	25	1	24	96
13	<i>Rh.</i> 'Sunte Nectarine'	120–140 / 140–160	25	1	24	96
14	<i>Rh. vaseyi</i>	60–70	20		20	100
15	<i>Rh. viscosum</i>	60–70	20		20	100
16	<i>Rh. viscosum</i> 'Judiduft'	120–140 / 100–120	40	10	30	75
	Японские азалии					89
17	<i>Rh.</i> 'Anna-Maria'	90–100	20	3	17	85
18	<i>Rh.</i> 'Geisha Orange'	80–90	160	66	94	59
19	<i>Rh. dauricum</i> 'Ostara'	60–70	20		20	100
20	<i>Rh. impeditum</i> 'Ramapo'	70–80	51	1	50	98
21	<i>Rh.</i> 'Kiusianum Maiogi'	40–50	50		50	100
22	<i>Rh. obtusum</i> 'Babushka'	40–50	50	1	49	98
23	<i>Rh. obtusum</i> 'Diamant'	60–70	153	22	131	86
24	<i>Rh. obtusum</i> 'Gabriele'	60–70	55	6	49	89
25	<i>Rh. obtusum</i> 'Gislinde'	60–70	150	49	101	67
26	<i>Rh. obtusum</i> 'Kermesina'	80–90	5		5	100
27	<i>Rh. obtusum</i> 'Kermesina Rose'	70–80	5	1	4	80
28	<i>Rh. obtusum</i> 'Ledikanense'	70–80	110		110	100
29	<i>Rh. obtusum</i> 'Melina'	50–60	240	35	205	85
30	<i>Rh. obtusum</i> 'Nordi'	70–80	90	28	62	69
31	<i>Rh. obtusum</i> 'Oslava'	90–100	20		20	100
32	<i>Rh. obtusum</i> 'Purpurkissen'	60–70	275	20	255	93
33	<i>Rh. obtusum</i> 'Rosalind'	60–70	210	5	205	98
34	<i>Rh. obtusum</i> 'Schneeglanz'	70–80	155	15	140	90
35	<i>Rh. obtusum</i> 'Schneewittchen'	60–70	90	5	85	94
	Вечнозеленые рододендроны					65
36	<i>Rh.</i> 'Berliner Liebe'	70 / 80	3	3		0
37	<i>Rh.</i> 'Calsap'	140–160 / 140–160	4		4	100
38	<i>Rh.</i> 'Catawbiense Grandiflorum'	200–225 / 180–120	32	1	31	97
39	<i>Rh.</i> 'English Roseum'	200–225 / 180–200	2		2	100
40	<i>Rh. insigne</i> 'Ariane'	60 / 70	3	3	0	0

Продолжение таблицы 1

41	<i>Rh.</i> 'Oberschleisen'	60–70	90	79	11	12
42	<i>Rh.</i> 'Pearse's American Beauty'	140–160 / 140–160	1		1	100
43	<i>Rh.</i> 'Rosselini'	120–140 / 100–120	3		3	100
44	<i>Rh.</i> 'Seestadt Bremerhaven'	90–100	3	3	0	0
45	<i>Rh. smirnowii</i> 'Gradito'	90–100	41	3	38	93
46	<i>Rh.</i> 'Torrero'	120–140 / 120–140	3	3	0	0
47	<i>Rh. yakusimanum</i> 'Colibri'	50–60	3		3	100
48	<i>Rh. yakusimanum</i> 'Falling Snow'	70–80	60	9	51	85
49	<i>Rh. yakusimanum</i> 'Fruehlingsangfang'	50 / 60	3	3		0
50	<i>Rh. yakusimanum</i> 'Mist Maiden'	70–80	45	3	42	93
51	<i>Rh. yakusimanum</i> 'Percy Wiseman'	70–80	71	16	55	77
52	<i>Rh. yakusimanum</i> 'Silberwolke'	60–70	45	4	41	91
53	<i>Rh. yakusimanum</i> 'Sylver Lady'	70–80	56	1	55	98
54	<i>Rh. yakusimanum</i> 'Trinity'	70–80	10	2	8	80
	Итого		2744	428	2316	84

Примечание: Посадочный материал (с прикорневым комом) получен из Германии в мае 2005 года; посадка произведена в августе – сентябре 2005 года.

Если рассматривать растения по группам, то процент сохранившихся листопадных и японских азалий в среднем составил 88 и 89 % соответственно, в то время как у вечнозеленых рододендронов он равен 65 %. Подтверждается вывод о том, что азалии более зимостойки, чем вечнозеленые рододендроны [7]. В нашем случае разница между количеством сохранившихся растений в данных группах составила 23–24 %.

Среди листопадных азалий наиболее морозостойкими видами и сортами, все растения которых сохранились после суровой зимы, оказались дикие виды *Rhododendron canadense* (L.) Torr., *Rh. schlippenbachii*, *Rh. vaseyi* A. Gray, *Rh. viscosum* (L.) Torr., а также гибридный сорт *Rh.* 'Fireball'. Относительно устойчивыми оказались сорта 'Schneegold' и 'Sunte Nectarine', у которых усохли по 1 экземпляру из 25 высаженных, а также сорта 'Goldpracht' и 'Goldtopas', у которых погибли по 2 экземпляра из 25 и 20 растений соответственно. Наименее устойчивым является сорт *Rh.* 'Cannon's Double', у которого погибли 40 % растений (8 экземпляров из 20).

Среди японских азалий наиболее зимостойкими оказались *Rh. dauricum* L. 'Ostara', *Rh. obtusum* Hort. ex Wats. 'Kermesina', *Rh. obtusum* 'Ledikanense', *Rh. obtusum* 'Oslava', а также гибридный сорт 'Kiusianum Maiogi'. Высокую степень устойчивости (98 % сохраненных растений) показали сорта *Rh. impeditum* Balf. f. & W.W. Sm. 'Ramapo', *Rh. obtusum* 'Babushka' и *Rh. obtusum* 'Rosalind', далее в порядке уменьшения степени устойчивости следуют сорта *Rh. obtusum* 'Schneewittchen' (94 % живых растений) и *Rh. obtusum* 'Purpurkissen' (93 % живых). Наименее устойчивым оказался сорт 'Geisha Orange', у которого усохли 59 % высаженных растений (66 из 160 экземпляров). У *Rh. obtusum* 'Gislind' погибли 33 % растений, у *Rh. obtusum* 'Nordi' – 31 %.

Из сортов вечнозеленых рододендронов, представленных от трех экземпляров, наиболее устойчивыми оказались 'Calsap', 'Rosselini' и *Rh. yakusimanum* Nakai 'Colibri' (выжили все). Два экземпляра сорта 'English Roseum' и 1 экземпляр 'Pearse's American Beauty' также сохранились. У *Rh. yakusimanum* 'Silver Lady' и 'Catawbiense Grandiflorum' выжили 98 и 97 % растений соответственно. Не сохранились после суровой зимы растения сортов 'Berliner Liebe', 'Fruehlingsangfang', *Rh. insigne* Hemsl. & E.H. Wilson 'Ariane', *Rh. 'Seestadt Bremerhaven'*, *Rh. 'Torrero'*. Наименее устойчивыми оказались растения сорта 'Oberschleisen' (погибли 88 % экземпляров).

Следует отметить, что некоторые из оставшихся живых, но ослабленных и частично потерявших декоративность растений плохо перенесли следующую обычную зиму 2006–2007 годов. Погибли по 4 экземпляра сортов 'Percy Wiseman' и 'Falling Snow', по 3 экземпляра 'Silberwolke' и 'Silver Lady', 1 экземпляр 'Mist Maiden'.

После суровой зимы 2011–2012 годов у вечнозеленых рододендронов отмечено массовое подмерзание цветочных почек, у ранее ослабленных кустов – усыхание побегов. У листопадных рододендронов также подмерзли цветочные почки, за исключением сортов *Rh. impeditum* 'Ramapo' и *Rh. viscosum* 'Juniduft'. Более всего подмерзли теплолюбивые растения, которые уже находились в неудовлетворительном состоянии. Следует отметить, что все теплолюбивые растения в условиях умеренно-континентального климата больше страдают от поздних заморозков и резких суточных перепадов температур, чем от сильных морозов. Поэтому они могут удовлетворительно перенести холодную зиму, а подмерзнуть в марте, как это наблюдалось в 2012 году.

После суровой зимы 2011–2012 годов полностью потеряли декоративность растения, которые преимущественно произрастали на открытых местах: 5 экземпляров *Rh. 'Catawbiense Grandiflorum'*, по 2 экземпляра *Rh. 'Goldpracht'*, *Rh. yakushmanum* 'Mist Maiden', *Rh. yakushmanum* 'Percy Wiseman' и *Rh. yakushmanum* 'Trinity', по 1 экземпляру *Rh. 'Oberschleisen'*, *Rh. 'Pearses American Beauty'*, *Rh. smirnowii* 'Gradito', *Rh. yakushmanum* 'Falling Snow' и *Rh. yakusimanum* 'Silberwolke', 8 экземпляров *Rh. yakushmanum*. Наблюдения показали, что в защищенном месте зимой температура воздуха на 2–8 °C выше, чем на открытом. Так 22 января 2006 года в 8 часов 30 минут эта разница составила 8 °C (–21 °C в защищенном, –29 °C на открытом месте).

Основные причины зимних повреждений растений после суровых зим 2005–2006 годов и 2011–2012 годов – сильные и продолжительные морозы $-23\dots -30\text{ }^{\circ}\text{C}$ после длительной оттепели, которая значительно снизила морозостойкость, а также зимняя засуха при солнечной погоде, когда растения сильно испаряют влагу и усыхают, так как не могут ее пополнить из промерзшей почвы. В результате зимних повреждений у рододендронов наблюдается уменьшение продолжительности их жизни, снижение последующей зимостойкости или вымерзание; слабое цветение или его отсутствие, усыхание побегов и ажурность крон, потеря декоративности.

На основании десятилетнего опыта зимнего укрытия теплолюбивых растений, включая две суровые зимы 2005–2006 годов и 2011–2012 годов, был определен оптимальный для рододендронов способ их укрытия, основанный на разумной достаточности. Опыт показал, что теплицы с подогревом (инфракрасными лампами) могут защитить вечнозеленые растения от сильных морозов, но их обогрев приводит к значительному иссушению крон, вплоть до гибели растений.

Для выяснения наибольшей эффективности зимних укрытий были использованы разные варианты: слабое укрытие (1 слой материала низкой плотности), среднее (1 слой средней плотности), сильное (2 слоя средней плотности или 1 слой высокой плотности), с применением следующих материалов: алюминет 050, сетка притеняющая белая 50 % притенения, сетка притеняющая зеленая 45, 70 и 85 % плотности, спанбонд плотностью 17, 30, 42 и 60 г/м². В качестве эксперимента оставляли неукрытыми отдельные экземпляры теплолюбивых растений. Более плотный материал (мешковина, рогожа, толь, рубероид и др.) для укрытий не использовался, так как он плохо пропускает свет и воздух, вызывает хлоротичность листьев и ослабление растений.

Анализ повреждений растений с разными вариантами укрытий показал, что оптимальным для растений является их укрытие зеленой притеняющей сеткой плотностью 45 % (на открытых местах в два слоя): вечнозеленых рододендронов – каркасно, листопадных – контактно. Сетка не вызывает солнечных ожогов при контакте с листьями и почками, а также исключает «запаривание» растений при внезапных оттепелях, как это происходит при использовании спанбонда. С усилением солнечной активности под укрытием из спанбонда наблюдается увеличение суточного колебания температуры воздуха по сравнению с наружными показателями. Так 23 января 2016 года разность температуры утром и днем внутри укрытия составила $14\text{ }^{\circ}\text{C}$ ($-19\text{ }^{\circ}\text{C}$ и $-5\text{ }^{\circ}\text{C}$ соответственно), снаружи $5\text{ }^{\circ}\text{C}$ ($-21\text{ }^{\circ}\text{C}$ и $-16\text{ }^{\circ}\text{C}$).

Установлено: 1) Неукрытые растения одного вида и сорта подмерзли на 30–50 % больше, чем укрытые. 2) Степень подмерзания зависит не только от укрытия, но и от местоположения. Хорошо укрытые растения, высаженные в низине, на северных склонах, открытых местах и среди камней подмерзли сильнее других растений этого же сорта. 3) Теплолюбивые растения подмерзают в суровые зимы даже под сильным укрытием в случае перехода температурного порога их морозостойкости. 4) Укрытие крон растений рекомендуется проводить не позже середины января; необходимо проводить температурный контроль, осуществлять дополнительные мероприятия в соответствии с прогнозом погоды: временные дополнительные укрытия спанбондом или полиэтиленовой пленкой. 5) Раскрытие

растений рекомендуется начинать с первых чисел апреля, так как в последнюю неделю марта могут быть сильные ночные заморозки до $-3... -5^{\circ}\text{C}$. Если ожидаются заморозки, необходимо предусмотреть защиту растений: полив, дождевание крон, перемешивание воздуха, укрытие или обогрев ценных экземпляров.

Для восстановления ослабленных растений рекомендуется: возобновление приствольных лунок для оптимизации полива и подкормок; обрезка и замазывание срезов для увеличения прироста и листовой поверхности, а также усиления регенерационных процессов при заживлении ран и защиты от патогенов; достаточные поливы и подкормки (корневые и некорневые); борьба с вредителями и болезнями в соответствии с фазами развития вредителей, погодными условиями и фенологическими фазами растений.

Посадку рододендронов в условиях умеренно-континентального климата рекомендуется производить весной (апрель – середина мая). Неблагоприятное время посадки (август – сентябрь) и наступившая в этом же году суровая зима (2005–2006 гг.) способствовали гибели 16 % наиболее теплолюбивых рододендронов. Оставшиеся в живых растения, за небольшим исключением, неплохо перенесли и вторую суровую зиму (2011–2012 гг.), так как оказались более морозо- и зимостойкими. Наблюдения за рододендронами в последующие годы подтвердили первоначальный вывод об устойчивости выделенных таксонов.

Зимостойкость растений в значительной степени зависит от их состояния. Если они своевременно прекратили рост и перешли в состояние покоя, растения перенесут низкие температуры значительно легче. Успешная перезимовка растений зависит прежде всего от их подготовки к зиме, которая включает своевременное проведение агротехнических мероприятий, применение прямых способов защиты от морозов (укрытие корневых систем и надземных частей растений). Для предохранения корневой системы от подмерзания рекомендуется мульчирование поверхности почвы корой или щепой слоем до 10 см, с выходом на 10–15 см за пределы корневой зоны. Во избежание развития грибковых заболеваний, мульчирование лучше проводить после небольшого подмерзания верхнего слоя почвы.

На основании опыта культивирования рододендронов определены 21 наиболее зимостойких таксонов, которые могут быть рекомендованы для использования в озеленении (табл. 2).

У большинства представленных в табл. 2 видов и сортов рододендрона начало цветения наблюдается в конце (9 таксонов) и в середине (5 таксонов) мая. Раньше всех из испытанных сортов зацветает *Rh. canadense* и *Rh. dauricum* 'Ostara', позже всех (начало июня) – *Rh.* 'Kiusianum Maiogi' и *Rh. viscosum*, которые также позже всех отцветают (конец июня). В середине июня окончание цветения отмечено у 8 сортов рододендрона: *Rh.* 'Calsap', *Rh.* 'Catawbiense Grandiflorum', *Rh. obtusum* 'Kermesina', *Rh. obtusum* 'Oslava', *Rh. obtusum* 'Rosalind', *Rh.* 'Schneegold', *Rh.* 'Rosselini', *Rh.* 'Sunte Nectarine'. Окраска цветков у рекомендованных для озеленения сортов преимущественно розовая, разной интенсивности и с различными оттенками (12 таксонов), у четырех таксонов – белая, у трех – красная, у двух – светло-фиолетовая.

Таблица 2

Перечень устойчивых видов и сортов *Rhododendron*, рекомендованный для озеленения в условиях умеренно-континентального климата

№ пп	Наименование растения	Группа растений	Высота / ширина в 10 лет, см	Окраска цветков	Период цветения
1	<i>Rh. dauricum</i> 'Ostara'	Японск. азалия	100 / 120	Розовая	Начало – середина апреля
2	<i>Rh. canadense</i> .	Листоп. азалия	80 / 80	Пурпурно-лиловая	Середина апреля – начало мая
3	<i>Rh. vaseyi</i>	Листоп. азалия	150 / 200	Нежно-розовая с оранжево-красными крапинками	Начало – середина мая
4	<i>Rh. schlippenbachii</i>	Листоп. азалия	150 / 200	Бледно-розовая с пурпурными крапинками	Начало – конец мая
5	<i>Rh. impeditum</i> 'Ramapo'	Японск. азалия	60 / 80	Светло-фиолетовая	Середина – конец мая
6	<i>Rh. obtusum</i> 'Ledikanense'	Японск. азалия	80 / 130	Светло-розовая с винно-красными крапинками	Середина – конец мая
7	<i>Rh. obtusum</i> 'Babushka'	Японск. азалия	50 / 50	Карминово-розовая с темно-красным рисунком на среднем лепестке	Середина мая – начало июня
8	<i>Rh. obtusum</i> 'Schneewittchen'	Японск. азалия	40 / 80	Белая с зелено-желтыми крапинками	Середина мая – начало июня
9	<i>Rh. yakusimanum</i> 'Colibri'	Вечноз. родод.	80 / 120	Светло-розовая с белыми пятнами и темно-розовым точечным рисунком	Середина мая – начало июня
10	<i>Rh.</i> 'Calsap'	Вечноз. родод.	130 / 140	Белая с розоватым оттенком, с фиолетово-черными пятнами	Середина мая – середина июня

Продолжение таблицы 2

11	<i>Rh.</i> 'Fireball'	Листоп. азалия	150 / 120	Темно-красная с оранжевыми крапинками	Конец мая – начало июня
12	<i>Rh.</i> <i>yakusimanum</i> 'Sylver Lady'	Вечноз. родод.	90 / 120	Светло-розовая, с желтыми крапинками	Конец мая – начало июня
13	<i>Rh.</i> 'Schneegold'	Листоп. азалия	120 / 120	Белая, с золотисто-желтым узором	Конец мая – середина июня
14	<i>Rh.</i> 'Sunte Nectarine'	Листоп. азалия	120 / 140	Карминно-розовая с оранжевыми крапинками	Конец мая – середина июня
15	<i>Rh. obtusum</i> 'Oslava'	Японск. азалия	60 / 80	Розовая с винно- красным пятном внутри венчика	Конец мая – середина июня
16	<i>Rh. obtusum</i> 'Kermesina'	Японск. азалия	60 / 110	Рубиново-розовая	Конец мая – середина июня
17	<i>Rh. obtusum</i> 'Rosalind'	Японск. азалия	90 / 120	Интенсивно- розовая с темно- красным рисунком	Конец мая – середина июня
18	<i>Rh.</i> 'Rosselini'	Вечноз. родод.	120 / 120	Темно-розовая	Конец мая – середина июня
19	<i>Rh.</i> 'Catawbiense Grandiflorum'	Вечноз. родод.	400 / 300	Светло- фиолетовая с золотисто- коричневыми крапинками	Конец мая – середина июня
20	<i>Rh.</i> 'Kiusianum Maiogi'	Японск. азалия	60 / 60	Пурпурная, красная	Начало – конец июня
21	<i>Rh. viscosum</i>	Листоп. азалия	100 / 150	Белая или розовая	Начало – конец июня

Параметры указанных растений, сроки цветения и окраска цветков могут быть использованы для составления ландшафтных композиций непрерывного цветения с начала апреля до конца июня.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Для каждого вида и сорта рододендрона существуют свои температурные границы, при которых они могут повреждаться. Десятилетний опыт культивирования рододендронов (2005–2014 гг.) на территории японского сада в условиях умеренно-континентального климата показал следующее. Основные

причины зимних повреждений растений после суровых зим (2005–2006 гг. и 2011–2012 гг.) – сильные и продолжительные морозы $-23... -30^{\circ}\text{C}$ после длительных оттепелей, которые значительно снижают морозостойкость, а также зимняя засуха при солнечной погоде, когда растения сильно испаряют влагу и усыхают, так как не могут ее пополнить из промерзшей почвы. Теплолюбивые растения больше страдают от поздних заморозков и резких суточных перепадов температур, чем от сильных морозов. Они могут хорошо перенести холодную зиму, а подмерзнуть в марте, как это наблюдалось в 2012 году. В результате зимних повреждений у рододендронов отмечается уменьшение продолжительности их жизни, снижение последующей зимостойкости или вымерзание; слабое цветение или его отсутствие, усыхание побегов и ажурность крон, потеря декоративности. Листопадные и японские азалии более зимостойки, чем вечнозеленые рододендроны.

Успешная перезимовка растений зависит от их состояния и подготовки к зиме, включающей своевременное проведение агротехнических мероприятий и применение необходимых способов защиты (укрытие подземных и надземных частей растений). Для предохранения корневой системы от подмерзания рекомендуется мульчирование поверхности почвы корой или щепой слоем до 10 см, с выходом на 10–15 см за пределы корневой зоны. Во избежание развития грибковых заболеваний, мульчирование необходимо проводить после небольшого подмерзания верхнего слоя почвы. Укрытие крон растений рекомендуется проводить не позже середины января, поэтапное раскрытие, начиная с затененных мест, – с первых чисел апреля. Оптимальным способом защиты надземных частей растений в зимний период является их укрытие зеленой притеняющей сеткой средней плотности (на открытых местах в 2 слоя): вечнозеленых рододендронов – каркасно, листопадных – контактно. Степень подмерзания зависит не только от укрытия, но и от местоположения. Хорошо укрытые растения, высаженные в низине, на северных склонах, открытых местах и среди камней подмерзают сильнее других растений этого же сорта.

Для восстановления ослабленных растений рекомендуется возобновление приствольных лунок для оптимального полива и подкормок; обрезка и замазывание срезов; достаточные поливы и подкормки (корневые и некорневые); борьба с вредителями и болезнями.

На основании опыта культивирования рододендронов, относящихся к 54 таксонам, выделены 21 наиболее устойчивые виды и сорта, которые могут быть рекомендованы для использования в озеленении в условиях умеренно-континентального климата, в том числе сокращающийся в численности *Rh. schlippenbachii* [3]. Параметры указанных растений, сроки их цветения и окраска цветков могут быть использованы для составления эстетически ценных, биологически стойких и долговечных ландшафтных композиций.

Список литературы

1. Александрова М. С. Рододендроны. – М.: ЗАО «Фитон+», 2001. – 112 с.
2. Галкина Л. И. Японские традиции в оформлении сада. – М.: ООО «Издательство АСТ»; Донецк: «Сталкер», 2004. – 124 с.

3. Красная книга Российской Федерации (растения и грибы). – М.: ООО «Галлея-Принт», 2008. – 847 с.
4. Ботяновский И. Е. Культура рододендронов в Белоруссии: автореф. дис... на соиск. учен. степени канд. с.-х. наук / И. Е. Ботяновский. – Минск, 1981. – 18 с.
5. Зарубенко А. У. Вічнозелені рододендрони в Україні. – Київ: КП «Дім, сад, город», 2006. – 78 с.
6. Зарубенко А. У., Тимчишин Г.В., Шумик М.І. Методичні рекомендації з розмноження та культивування рододендронів в Україні. – Київ: Фітосоціоцентр, 2004. – 31 с.
7. Кондратович Р. Я. Рододендроны в Латвийской ССР (биологические особенности культуры): автореф. дис. ... на соиск. учен. степени д-ра биол. наук / Р. Я. Кондратович. – М., 1982. – 60 с.
8. Лапин П. И., Сиднева С. В. Оценка перспективности интродукции древесных растений по данным визуальных наблюдений // Опыт интродукции древесных растений. М.: Наука, 1973. С.7–67.
9. Зайцев Г. Н. Фенология древесных растений. – М.: Наука, 1981. – 120 с.
10. Научно-прикладной справочник по климату СССР. Серия 3. Многолетние данные. Части 1–6. Вып. 10. Украинская ССР. Книга 1. – Ленинград: Гидрометеиздат, 1990. – 605 с.
11. Научно-прикладной справочник по климату СССР. Серия 3. Многолетние данные. Части 1–6. Вып. 10. Украинская ССР. Книга 2. – Ленинград: Гидрометеиздат, 1990. – 320 с.

THE EXPERIENCE OF RHODODENDRON CULTIVATION IN TEMPERATE CONTINENTAL CLIMATE

Mazina I. G.

*The Nikitsky Botanical Gardens – National Scientific Center of the RAS, Yalta, Crimea, Russia
E-mail: mazina335066@mail.ru*

Based on the ten-year experience of cultivation of 54 rhododendron taxa (2744 specimens) in moderate continental climate, 21 most winter-hardy species and cultivars were identified: 7 deciduous azaleas – *Rhododendron canadense*, *Rh.* 'Fireball', *Rh.* 'Sunte Nectarine', *Rh. schlippenbachii*, *Rh.* 'Schneegold', *Rh. vaseyi*, *Rh. viscosum*; 9 Japanese azaleas – *Rh. dauricum* 'Ostara', *Rh. impeditum* 'Ramapo', *Rh.* 'Kiusianum Maiogi', *Rh. obtusum* 'Babushka', *Rh. obtusum* 'Kermesina', *Rh. obtusum* 'Ledikanense', *Rh. obtusum* 'Oslava', *Rh. obtusum* 'Rosalind', *Rh. obtusum* 'Schneewittchen'; 5 evergreen rhododendrons – *Rh.* 'Calsap', *Rh.* 'Catawbiense Grandiflorum', *Rh.* 'Rosselini', *Rh. yakusimanum* 'Colibri', *Rh. yakusimanum* 'Silver Lady'. The main causes of damage to plants in winter and their consequences are determined. The optimal terms and methods of rhododendron protection, including the cover of underground and aboveground parts of plants, as well as methods of their recovery in case of damage, are proposed. Cover for plant crowns is recommended no later than mid-January, gradual disclosure, starting with shaded areas – from the first days of April, as in March, frosts can happen. The best way to protect the aboveground parts of plants in winter is to cover them with a green shading net of medium density (in open areas in 2 layers): for evergreen rhododendrons this shading should be framed, for deciduous ones – contact shading is suitable. The list of winter-hardy azaleas and evergreen rhododendrons according to their timing of flowering and color of flowers, recommended for landscape compositions, is given.

Keywords: *Rhododendron*, cultivation, hardiness, preservation, landscaping.

References

1. Aleksandrova M.S. Rododendrony [Rhododendrons]. Moscow, Fiton+ Publ., 2001, 112 p.
2. Galkina L.I. Yaponskie tradicii v oformlenii sada [Japanese Traditions in Garden Design]. Moscow, Publishing AST Publ.; Donetsk, Stalker Publ., 2004, 124 p.
3. Krasnaya kniga Rossiyskoy Federatsii (rasteniya i griby) [Red Book of the Russian Federation (Plants and Mushrooms)]. Moscow, Galleya-Print Publ., 2008, 847 p.
4. Botyanovsky I.E. Kul'tura rododendronov v Belorussii [Rhododendron Culture in Belarus]. Candidate's thesis, Minsk, 1981, 18 p.
5. Zarubenko A.U. Vichnozeleni Rododendrony v Ukraini [Viscose Rhododendrons in Ukraine]. Kyiv, Dim, sad, gorod Publ., 2006, 78 p.
6. Zarubenko A.U. Metodichni rekomendacii z rozmnozheniya ta kul'tyvuvannya rododendroniv v Ukraini [Methodical Recommendations on the Reproduction and Cultivation of Rhododendrons in Ukraine]. Kyiv, Fitosotsiotsentr, 2004, 31 p.
7. Kondratovich R.Ya. Rododendrony v Latvijskoj SSR (biologicheskie osobennosti kul'tury) [Rhododendrons in the Latvian SSR (Biological Features of Culture)]. Candidate's thesis, Moscow, 1982, 60 p.
8. Lapin P.I. Ocenka perspektivnosti introdukcii drevesnyh rastenij po dannym vizual'nyh nablyudenij [Assessment of the Prospects of the Introduction of Woody Plants According to Visual Observations]. *P.I. Lapin, S.V. Sidneva, Opyt introdukcii drevesnyh rastenij [Experience of Introduction of Woody Plants]*. Moscow, Nauka Publ., 1973, p. 7–67.
9. Zaitsev G.N. Fenologiya drevesnyh rastenij [Phenology of Woody Plants]. Moscow, Nauka Publ., 1981, 120 p.
10. Nauchno-prikladnoy spravochnik po klimatu SSSR. Seriya 3. Mnogoletniye dannyye. Chasti 1–6. Vyp. 10. Ukrainskaya SSR [Scientific and Applied Reference Book on the Climate of the USSR. Series 3. Multiyear Data. Parts 1-6. Vol. 10. The Ukrainian SSR. Book 1.]. Leningrad, Gidrometeoizdat, 1990, 605 p.
11. Nauchno-prikladnoy spravochnik po klimatu SSSR. Seriya 3. Mnogoletniye dannyye. Chasti 1–6. Vyp. 10. Ukrainskaya SSR. Kniga 2 [Scientific and Applied Reference Book on the Climate of the USSR. Series 3. Multiyear Data. Parts 1-6. Vol. 10. The Ukrainian SSR. Book 2.]. Leningrad, Gidrometeoizdat, 1990, 320 p.

УДК 58:615:32

ЛЕКАРСТВЕННЫЕ РАСТЕНИЯ ОРЕНБУРГСКОЙ ОБЛАСТИ

Немерешина О. Н.¹, Гусев Н. Ф.²

¹*ФГБОУ ВО Оренбургский государственный медицинский университет, Оренбург, Россия*

²*ФГБОУ ВО Оренбургский государственный аграрный университет, Оренбург, Россия*

E-mail: olga.nemerech@gmail.com

В статье представлены результаты флористического и фитоценотического исследования лекарственных растений Южного Урала на примере Оренбургской области. Приведены списки лекарственных растений по их распространению и фармакологическому действию. Названы охраняемые и редкие виды лекарственных растений края. Перечислены виды, имеющие значительный ресурсный запас и широко распространенные в фитоценозах Оренбургской области.

Ключевые слова: лекарственные растения, фитоценозы, ресурсоведение лекарственных растений.

ВВЕДЕНИЕ

Вопросы изучения ресурсов дикорастущих лекарственных, витаминных и пищевых растений, их эксплуатации и рационального использования в настоящее время являются актуальной проблемой для регионов России. В условиях кризиса местные ресурсы лекарственных растений (ЛР) могут оказать определенную помощь органам здравоохранения и населению в обеспечении лекарственным растительным сырьем (ЛРС), для профилактики и лечения различных заболеваний.

Поэтому **целью** нашего исследования является выявление ЛР, встречающихся в различных биомах Оренбургского Предуралья, изучение их распространения и приуроченности к различным местообитаниям.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Для изучения флористического состава в регионе и распространения ЛР в различных биомах (лесостепь и степные территории) региона нами были использованы методики, принятые в геоботанике и ресурсоведении [1–3]. При определении видовой принадлежности растений были использованы фундаментальные флористические руководства [4–6].

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Территория Оренбургского Предуралья тянется к востоку от долины реки Салмыш и до передовых складок Уральских гор и включает 31 район Оренбургской области. В пределах Оренбургской области Предуралье охватывает юг лесостепной зоны, к которой относится лесистый хребет Малый Накас и степная зона в пределах Саракташского, Беляевского районов [7–9].

Основу растительного покрова Оренбургской области составляют степи [8, 9]. Растительность степей области неоднородна и пестрота растительного покрова вызвана особенностями рельефа, почв и климата, и как следствие, неравномерным распределением влаги [10]. Здесь прослеживаются зональные и внутризональные смены растительного покрова при движении с севера на юг.

Сформированы четыре основных типа степей: луговые (богато разнотравно-злаковые), разнотравно-ковыльные (разнотравно-дерновинно-злаковые), типчаково-ковыльные (настоящие дерновинно-злаковые) и полынно-злаковые (типчаково-ковыльно-полынные) степи. Значительные площади занимают незональные типы растительности (степи каменистые, кустарниковые, галофитные и др.), луга и хвойные леса.

Луговые степи (богато разнотравно-злаковые) занимают незначительные площади в лесостепной зоне в полосе развития типичных черноземов. Лесостепная ботанико-географическая зона занимает северные и северо-западные районы области (Абдулинский, Северный, Матвеевский, Пономаревский, Шарлыкский, Октябрьский и Тюльганский), примыкающие к границе с республикой Башкортостан. Южная граница луговых степей в Оренбуржье проходят по линии: Бугуруслан – река Большой Кинель – река Дема – река Салмыш с их притоками.

На основании наших и ранее проведенных исследований [11, 12, 13, 14, 15], установлено, что в лесах лесостепной зоны Оренбургского Предуралья растительность представлена луговыми сообществами с примесью степных видов и мезофитного разнотравья, среди которых значительное число составляют лекарственные растения. Из ЛР здесь встречаются: *Achillea millefolium* L., *Origanum vulgare* L., *Fragaria viridis* (Duch.) Weston., *Primula veris* L., *Plantago media* L., *Potentilla erecta* L., *Poligonum aviculare* L., *Mentha arvensis* L., *Hypericum elegans* Steph., *Filipendula hexapetala* Gilib. [15].

Разнотравно-ковыльные степи занимают широкую полосу в междуречье Б.Кинеля и Самары и распространены от южной границы лесостепи на север до р. Урал на юге, в пределах Предуралья. К указанной зоне также следует отнести междуречье Сакмары и Салмыша до Южно-Уральской низкогорной лесостепной провинции. Разнотравно-ковыльные и ковыльно-разнотравные степи относятся к подзоне северных степей [5, 6] и охватывают более 10 административных районов в центральной и западной части Оренбуржья.

Из ЛР в островных лесах подзоны северных степей встречаются: *Origanum vulgare* L., *Hypericum perforatum* L., *Convallaria majalis* L., *Primula veris* L., *Aegopodium podagraria* L., *Fragaria viridis* (Duch.) Weston., *Achillea millefolium* L., *Adonis vernalis* L., *Pulmonaria obscura* Dumort., *Chamerion augustifolium* (L.) Holub., *Potentilla erecta* L., *Eryngium planum* L., *Rubus saxatilis* L., *Taraxacum officinale* Wigg., *Thymus serpyllum* L. [14].

Особое место в растительном покрове Оренбургского Предуралья занимает **Бузулукский бор**, где представлены многие типы леса. Все типы леса, встречающиеся в Бузулукском бору, представляют 6 групп ассоциаций [16]: 1) группа лишайниковых сосняков (*Pineta cladinos*); 2) группа мшистых сосняков (*P. hylocomiosa*); 3) группа травяных боров (*P. herbosa*); 4) группа сложных боров

(*P.composita*); 5) группа дубняки сосновые (*P. guerceta*); 6) группа типов мягких пород (*Betuleta tremuleta, alneta*).

В Бузулукском бору отмечено значительное число видов ЛР. Среди них: *Pinus sylvestris* L., *Betula verrucosa* Ehrh., *Crataegus sanguinea* Pall., *Betonica officinalis* L., *Quercus robur* L., *Fragaria vesca* L., *F. viridis* (Duch.) Weston., *Rhamnus cathartica* L., *Convallaria majalis* L., *Tilia cordata* Mill., *Veratrum lobelianum* Bernh., *Padus racemosa* (Lam.) Gilib., *Rubus caesius* L., *Rubus saxatilis* L. [15].

Типчаково-ковыльные (типчаково-ковыльные-разнотравные) степи занимают срединное положение в степной зоне Оренбургского Предуралья и носят название как типичные настоящие (южные) степи. Эти степи расположены в основном на повышенных элементах рельефа к югу от реки Самары, на территории Общего Сырта и Урало-Илекского междуречья. В данную зону входят центральные и западные районы Предуралья. Растительность типичной степи представлена сообществами с доминирующей ролью травянистых многолетних растений-ксерофитов, большей частью узколиственных дерновинных злаков с примесью степного и лугово-степного разнотравья. Из ЛР здесь встречаются: *Eryngium planum* L., *Convallaria majalis* L., *Achillea millefolium* L., *A.nobilis* L., *Aegopodium podagraria* L., *Vupleurum aureum* Fisch. ex Hoffm., *Rubus saxatilis* L., *Rosa maialis* Herrm., *Hypericum perforatum* L., *Origanum vulgare* L. [15].

Полынно-злаковые степи по характеру растительного покрова относятся к подтипу южных степей, где четко просматривается зависимость флористического состава от рельефа, почв и увлажнения [11, 13]. Признаками этой подзоны является присутствие в растительных сообществах значительного числа полыней и солонцово-солончаковой растительности. Подзона полынно-злаковых степей в Оренбургском Предуралье охватывает незначительные площади – южную часть бассейна р. Чаган и территории южнее р. Илек (Первомайский, Соль-Илецкий и Акбулакский районы). Одним из характерных участков полынно-злаковых степей является территория Таловской степи «степного заповедника Оренбургский», характеризующаяся сложным сочетанием солонцовых растительных группировок с участками степной растительности [7, 11]. Степи этой подзоны отличаются бедностью (12-27 видов), обладающих значительной степенью ксероморфизма, приспособившиеся к местному климату и почвам. Из ЛР произрастают: *Echinops ritro* L., *Helichrysum arenarium* (L.) Moench., *Eryngium planum* L., *Achillea nobilis* L., *Hypericum elegans* Steph., *Rosa majalis* Herrm., *Filipendula hexapetala* Gilib..

Незональные типы степной растительности. К указанным типам растительности относятся: песчаные степи, каменистые степи, галофитные (солонцово-солончаковые), кустарниковые степи и растительность меловых обнажений.

Каменистые степи отмечены в южной части лесостепной зоны на склонах р. Б. Кинель (Алексеевский и Матвеевский р-ны), на склонах к р. Самара (Сорочинский и Новосергеевские р-ны), Донгузская степь (Оренбургский район). Здесь произрастают лекарственные растения: *Crinitaria villosa* (L.) Grossh., *Echinops ritro* L., *Hypericum elegans* Steph., *Ephedra distachya* L.

Песчаные степи расположены в основном в южных районах области (Соль-Илецкий, Ташлинский, Илекский), границах с Казахстаном. Из лекарственных растений здесь встречаются: *Melilotus officinalis* Pall., *Helichrysum arenarium* (L.) Moench., *Cichorium intybus* L., *Glycyrrhiza uralensis* Fisch..

Галофитные степи имеют распространение в южных районах Оренбургского Предуралья (Первомайский, Беляевский, Акбулакский), где развиты солонцовые и солончаковые почвы. Солонцы характеризуются бедностью видового состава растительных сообществ и нередким явлением чистых ассоциаций (солеросовые, бескильнищевые, острцовые, кермековые). Из ЛР на солонцах с незначительным обилием встречаются: *Rumex confertus* Willd., *Leonurus cardiaca* L., *Gentiana cruciata* L., *Plantago maxima* Juss. ex Jacq.

Кустарниковые степи встречаются почти во всех зонах, но значительные их площади имеются в зоне типчаково-ковыльных степей в южных районах Предуралья (Тоцкий, Акбулакский, Соль-Илецкий). Кустарниковые заросли здесь представлены сообществами нескольких видов: *Cerasus fruticosa* Pall., *Caragana frutex* C.Koch., *Spiraea crenata* L., *Cytisus ruthenicus* Fisch. ex Woloszcz., *Amygdalus nana* L., *Cotoneaster melanocarpus* L., *Rosa cinnamomea* L., *Lonicera tatarica* L.. Среди зарослей кустарников произрастают лекарственные растения: *Sanguisorba officinalis* L., *Fragaria viridis* (Duch.) Weston., *Achillea millefolium* L., *Galium verum* L., *Inula helenium* L., *Origanum vulgare* L.

Растительность меловых обнажений (мелкосопочников) в степной зоне встречаются на вершинах холмов и всхолмленных склонах со слабым задержанием, с щебнистой почвой и выходами карбонатных пород (Саракташский, Шарлыкский, Оренбургский, Тюльганские районы). Здесь в значительном обилии отмечены разнообразные степняки среди которых имеются лекарственные виды: *Echinops ritro* L., *Ephedra distachya* L., *Onosma simplicissima* L. На северных склонах в долинах и понижениях, встречаются лугово-степные виды: *Fragaria viridis* (Duch.) Weston., *Leonurus cardiaca* L., *Galium verum* L., *Achillea millefolium* L.

Лесная и луговая растительность. Пойменные леса и луга имеют широкое распространение в районах Оренбургского Предуралья. Эти биомы встречаются во всех зонах в поймах рек Урал, Самара, Большой Кинель, Сакмара, Ток, Салмыш и их притоков, что связано с водным режимом, рельефом и почвой. Загущенные леса встречаются в основном в прибрежной части, а разреженные тополево-ивовые и тополевые леса характерны для низкой (прирусловой и притеррасной) поймы крупных и малых рек Предуралья. Древесные растения здесь представлены *Populus nigra* L., *P.alba* L., *Salix alba* L., *Ulmus laevis* Pall. Менее обводненные участки поймы крупных рек заняты широколиственными породами – *Quercus robur* L., *Tilia cordata* Mill., *Rhamnus cathartica* L., а иногда представлены тополевыми лесами, где в значительном обилии отмечается *Convallaria majalis* L. [13, 14].

В поймах рек значительные пространства занимают луга центральной поймы, наиболее благоприятные по условиям увлажнения. Из ЛР на лугах встречаются: *Rumex confertus* Willd., *Achillea millefolium* L., *Taraxacum officinale* Wigg., *Sanguisorba officinalis* L., *Veronica longifolia*, *Cichorium intybus* L., *Melilotus officinalis* Pall., *Poligonum aviculare* L., *Mentha arvensis* L. [15].

На повышенных элементах рельефа на холмах и гривах поймы рек Урала, Самары, Большой Кинель встречаются сообщества остепненных лугов. Здесь произрастают в значительном обилии *Achillea nobilis* L., *Eryngium planum* L., *Artemisia sericea* Weber ex Stechm., *A. austriaca* Jacq., *Potentilla argentea* L., *Potentilla erecta* L., *Plantago maxima* Juss. ex Jacq., *Glycyrrhiza glabra* L., используемые в фитотерапии.

Ольшаники в Оренбуржье распространены на притеррасных понижениях пойм больших рек: Самара, Илек, Ток (Соль-Илецкий, Грачевский, Тоцкий р-ны). Из ЛР здесь произрастают в значительном обилии: *Filipendula ulmaria* (L.) Maxim., *Rumex confertus* Willd., *Urtica dioica* L.

Байрачные леса на территории Оренбургского Предуралья встречаются в основном в северных и северо-западных районах региона и представляют острова сосновых лесов и редколесий, березово-осиновые колки, дубово-липовые и дубово-вязовые леса. Байрачные леса и колки расположены у подножья склонов в понижениях водоразделов и в местах выхода грунтовых вод. Из древесных пород здесь встречаются: *Quercus robur* L., *Tilia cordata* Mill., *Betula verrucosa* Ehrh., *Ulmus laevis* Pall., *Acer platanoides* L., а из кустарников – *Cerasus fruticose* Pall., *Rosa cinnamomea* L., *Lonicera tatarica* L., *Spiraea crenata* L., *Amygdalus nana* L., *Crataegus sanguinea* Pall.. Среди лекарственных растений отмечены: *Achillea millefolium* L., *A. nobilis* L., *Origanum vulgare* L., *Inula helenium* L., *Fragaria viridis* (Duch.) Weston., *Sanguisorba officinalis* L., *Pulmonaria obscura* Dumort., *Aegopodium podagraria* L., *Rubus saxatilis* L., *R. caesius* L., *Rumex confertus* Willd., *Arctium tomentosum* Mill. [14, 17].

Всего по результатам наших исследований и фундаментальных литературных источников в Оренбуржье встречаются более 80 видов ЛР, поименованных в Государственном Реестре лекарственных средств (2001) в качестве ЛРС и около ста видов применяемых в народной медицине [15, 18]. ЛР Оренбургского Предуралья поделены нами на группы: по биомам (степь и лесостепь) и фармакологическому действию фитопрепаратов, что может быть использовано медицинскими работниками, биологами и специалистами по заготовке ЛРС.

В различных биомах Предуралья ЛР распределяются следующим образом:

- **Лекарственные растения степной зоны:** *Filipendula hexapetala* Gilib., *Primula veris* L., *Achillea nobilis* L., *Hypericum elegans* Steph., *Thymus serpyllum* L., *Glycyrrhiza glabra* L., *G. uralensis* Fisch., *Fragaria viridis* (Duch.) Weston., *Helichrysum arenarium* (L.) Moench.;

- **Лесные виды:** *Betula verrucosa* Ehrh., *B. pubescens*, *Crataegus sanguinea* Pall., *Origanum vulgare* L., *Fragaria vesca* L., *Rubus saxatilis* L., *Rubus caesius* L., *Viburnum opulus* L., *Rosa cinnamomea* L., *Hypericum perforatum* L., *Sorbus aucuparia* L., *Padus racemosa* (Lam.) Gilib., *Ribes nigrum* L., *R. aureum* Pursh., *Pinus sylvestris* L..

- Луговые виды: *Filipendula ulmaria* (L.) Maxim., *Rumex confertus* Willd., *Urtica dioica* L., *Gnaphalium uliginosum* L., *Rumex acetosa* L., *Achillea millefolium* L., *Cichorium intybus* L., *Bidens tripartite* L., *Tanacetum vulgare* L.

Другие группы растений: придорожные, сорно-полевые и рудеральные в данной работе мы не приводим по соображениям экологического характера.

Ранее нами [4, 15] установлено, что около одиннадцати видов ЛР встречаются во всех работах области и могут быть объектами для заготовки лекарственного растительного сырья. К ним относятся: *Polygonum aviculare* L., *Artemisia absinthium* L., *Tanacetum vulgare* L., *Urtica dioica* L., *Padus racemosa* (Lam.) Gilib., *Hypericum perforatum* L., *Bidens tripartita* L., *Chelidonium majus* L., *Achillea millefolium* L., *Rosa cinnamomea* L. (*R. majalis* Herrm.), *Rumex confertus* Willd.

Около двенадцати видов ЛР встречаются в регионе довольно часто, но обширного ареала не образуют, что не позволяет заготавливать их в больших объемах с точки зрения экологии и ресурсоведения. Среди них заслуживают внимания: *Adonis vernalis* L., *Origanum vulgare* L., *Leonurus quinquelobatus* Gilib., *Thymus serpyllum* L., *Inula helenium* L., *Althaea officinalis* L., *Plantago major* L., *Sanguisorba officinalis* L., *Crataegus sanguinea* Pall., *Helichrysum arenarium* (L.) Moench.

Некоторые ЛР, произрастающие в регионе, зарослей не образуют и встречаются периодически. Например, *Viburnum opulus* L. встречается в лесах и колках, *Rhamnus cathartica* L. и *Polygonum hydropiper* L., по берегам водоемов, на остепненных лугах поймы рек в балках и пониженных местах отмечены *Glycyrrhiza glabra* L., *G. uralensis* Fisch., *Inula helenium* L.

Наряду с официальными ЛР в Оренбуржье произрастает значительное число перспективных видов, содержащих комплекс биологически активных веществ, чем обосновано их применение в современной фитотерапии и народной медицине. Среди них: *Betonica officinalis* L., *Plantago maxima* Juss. ex Jacq., *P. lanceolata* L., *Achillea millefolium* L., *Filipendula ulmaria* (L.) Maxim., *F. hexapetala* Gilib., *Melampyrum arvense* L., *Galium verum* L., *Veronica incana* L., *V. spicata* L., *V. longifolia* L., *Salvia tesquicola* Klok. et Pobed.

Широкое распространение указанных видов позволяет местному населению использовать их препараты в качестве лечебных и профилактических средств. Сведения по оценке запасов ЛРС в данной работе мы не приводим, т.к. в последние годы произошли изменения в растительных сообществах региона под влиянием засухи и антропогенного фактора. Для некоторых видов растений отмечены сокращения ареала [4, 14]. Среди последних: *Origanum vulgare* L., *Inula helenium* L., *Helichrysum arenarium* (L.) Moench., *Hypericum perforatum* L., *Thymus serpyllum* L., *Althaea officinalis* L.

Поэтому наши исследования, касающиеся ресурсного потенциала в регионе и проводимые более 10 лет назад, нуждающиеся в уточнении. В последние годы, в условиях засухи и при негативном влиянии антропогенного фактора на растительные сообщества, уменьшается видовой состав фитоценозов, в том числе лекарственных растений, снижается их жизнеспособность, изменяется общий габитус и генеративная активность видов, приводящие к деградации биоценозов. Значительные изменения растительного покрова имеют в своей основе целый ряд различных причин: 1) в ряде районов пахотные угодья не засеваются и зарастают сорняками; 2) сокращаются площади лесных насаждений; 3) в луговые и степные сообщества внедряются виды адвентивной флоры, вытесняющие автохтонные растения. Влияние абиотических и биотических факторов приводит к угрозе

исчезновения в области многих дикорастущих растений, интенсивным флуктуациям фитоценозов и снижению их продуктивности. На сегодняшний день существует необходимость включения новых видов растений в Красную книгу Оренбургской области. Ранее изданная Красная книга (1998) включает более 40 видов растений, для которых существует угроза исчезновения на территории региона, нуждается в дополнениях [19]. В области имеется ряд ЛР, нуждающихся в охране: *Adonis vernalis* L., *Euonymus verrucosa* Scop., *Alnus incana* (L.) Moench., *Asarum europaeum* L., *Pulsatilla patens* (L.) Mill., *Glycyrrhiza uralensis* Fisch., *Paeonia tenuifolia* L., *Nuphar lutea* (L.) Smith., *Nymphaea alba* L., *Drosera rotundifolia* L., *Ephedra distachya* L., *Glycyrrhiza korshinskyi* Grig..

По фармакологическому действию фитопрепаратов можно выделить следующие группы ЛР Оренбургской области:

1. Успокаивающие: *Origanum vulgare* L., *Leonurus cardiaca* L., *Valeriana officinalis* L., *Humulus lupulus* L.;

2. Действующие на сердечнососудистую систему: *Adonis vernalis* L., *Crataegus sanguinea* Pall., *Convallaria majalis* L.;

3. Отхаркивающие и противовоспалительные: *Althaea officinalis* L., *Betonica officinalis* L., *Plantago maior* L., *P. maxima* Juss. ex Jacq., *Tussilago fassara* L., *Thymus serpyllum* L.;

4. Рекомендуются при заболевании печени и легочный путей: *Helichrysum arenarium* (L.) Moench., *Zea mays*, *Mentha arvensis* L., *Taraxacum officinale* Wigg., *Cichorium intybus* L., *Rosa cinnamomea* L. (*R. majalis* Herrm.);

5. Применяемые при заболеваниях органов пищеварения: *Hypericum perforatum* L., *Fragaria vesca* L., *Fragaria viridis* (Duch.) Weston., *Potentilla erecta* L., *Sanguisorba officinalis* L., *Plantago major* L., *Altemisia absinthium* L., *Padus raremosa* (Lam.) Gilib. (*P. avium* Mill.);

6. Используемые при заболеваниях почек и мочевыводящих путей: *Polygonum aviculare* L., *Daucus carota* L., *Arctium tomentosum* Mill., *Zea mays* L., *Centaurea cyanus* L., *Equisetum arvense* L., *Eryngium planum* L., *Petroselinum crispum* Mill.) Nym..

7. Кровоостанавливающие: *Achillea millefolium* L., *Polygonum hydropiper* L., *Urtica dioica* L., *Capsella bursa-pastoris* (L.) Medik.;

8. Применяемые при авитоминозах: *Rosa cinnamomea* L. (*R. majalis* Herrm.); *Ribes nigrum* L., *Bidens tripartita* L., *Sorbus aucuparia* L., *Rubus caesius* L., *Rubus saxatilis* L., *Cotoneastor melanocarpus* Fisch. ex Blytt.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Территория Оренбургской области располагает значительным ресурсным потенциалом ЛР способных обеспечить ЛРС нужды органов здравоохранения и население на региональном уровне. В связи с незначительным видовым разнообразием ЛР в регионе и ограниченностью запасов их сырья, необходимы мероприятия по введению в культуру перспективных и исчезающих видов растений, как для сохранения генофонда, так и для их углубленного исследования с целью использования в современной фитотерапии. Выявлено 82 вида официальных ЛР и 10 видов перспективных ЛР народной медицины. Последние необходимо исследовать

как перспективные источники природных БАВ для нужд медицины, сельского хозяйства, пищевой и косметической промышленности. Наряду с заготовкой дикорастущих ЛР существует необходимость их выращивания в культуре. При этом, учитывая напряженный ритм жизни и низкий уровень здоровья большинства работающего населения Южного Урала, следует уделить внимание растениям-адаптогенам, повышающим внутренние резервы организма к стрессам и экстремальным факторам.

Список литературы

1. Борисова Н.А., Токарева В.Д., Кузнецова М.Д. Рекомендации по изучению ресурсов лекарственного растительного сырья для организации их рационального использования и охраны. - Курск, 1982. – 50 с.
2. Буданцев А.Л., Харитонов Н.П. Ресурсоведение лекарственных растений. Методическое пособие. – СПб.: Изд. ПХФА, 2003. – 86 с.
3. Быков Б.А. Геоботаника. – Алма-Ата: Изд. АН КазССР. 1957. – 367 с.
4. Маевский, П. Ф. Флора средней полосы Европейской части СССР. – Л.: «Колос». – 1964. – 880 с.
5. Рябинина, З.Н. Определитель сосудистых растений Оренбургской области / З.Н. Рябинина, М.С. Князев. – М.:Товарищество научн. изд. КМК, 2009. – 758 с.
6. Гусев Н.Ф. Перспективы использования лекарственных растений в современной России. / Н.Ф. Гусев, Г.В. Петрова, А.В. Филиппова, О.Н. Немерешина // Известия оренбургского государственного аграрного университета. 2014. № 2. С. – 167-170.
7. Географический атлас Оренбургской области.- М.:Изд. ДИК, 1999. – 96 с.
8. Энциклопедия «Оренбуржье» Т.1. Природа.-Калуга: Золотая аллея,2000.-192с.
9. Алехин В.В. Растительность СССР в основных зонах. М. «Советская наука», 1951. – 509 с.
10. Рябинина З.Н., Павлечик В.М. Степи юго-восточной части Русской платформы. К вопросу степн. Биоценологии. Екатеринбург, 1995. – С. 22-31
11. Горчаковский П.Л., Рябинина З.Н. Степи Южной части Оренбургской области (Урало-Илекское междуречье) // Растительные сообщества Урала и их антропогенная деградация. - Свердловск. УНЦ АН СССР,1984. - С.3-64.
12. Горчаковский П.Л., Крыленко Н.П. Степная растительность хребта Кувандык на Южном Урале // тр. Ин-та эколог. растений. Свердловск: УНЦ АН СССР, 1969. В. 69. – С. 3-58.
13. Рябинина З.Н. Растительность и растительные ресурсы степной зоны Оренбургской области // География: экономика и экология Оренбуржья – Оренбург: 1994. – С. 63-69.
14. Немерешина О.Н., Гусев Н.Ф. Состояние флоры Южных районов Оренбургской области // Земледелие. 2004.-№4.-с. 37-39.
15. Хлебников А.В., Олешко Г.И., Гусев Н.Ф. Запасы сырья лекарственных растений в западных и северо-западных районах оренбургской области // Растительные ресурсы.-1989. Т.25. Вып.2. – С.180-186.
16. Сукачев В.Н. Типы леса Бузулукского бора // Труды и исследований по лесному хозяйству и лесной промышленности. – Л., 1931. В.13. – С. 109-244.
17. Рябинина З.Н. Растительный покров степей Южного Урала (Оренбургская область). Оренбург: Издательский центр ОГПУ, 2003. – 224 с.
18. Государственный реестр лекарственных средств – М.: Минздрав РФ Фонд фарм. информации Т.1., 2001. – 1277 с.
19. Чибилев А.А. Зеленая книга степного края. – Челябинск: Южно-Уральское книж. изд. 1987. – 208 с.

MEDICINAL PLANTS OF THE ORENBURG REGION

Nemereshina O. N.¹, Gusev N. F.²

¹*Orenburg State Medical University, Orenburg, Russia*

²*Orenburg State Agrarian University, Orenburg, Russia*

E-mail: orgma@esoo.ru

The problem of studying the resources of wild plants, their rational use is currently an urgent problem in many countries. In Russia, the local resources of wild medicinal and vitamin plants are used by the local population and health authorities. The authors set a goal to study the flora of medicinal and vitamin plants in various biomes of the Southern Urals (on the territory of the Orenburg region).

Orenburg region is located in the steppe zone. Various biocenoses are located here, due to the nature of the relief, soil, climate and the uneven distribution of moisture. Also, large areas are occupied by non-zonal vegetation types (steppe stony, shrub steppes, halophyte steppes), meadows and coniferous forests.

In total, more than 80 species of medicinal plants are listed in the Orenburg region, which are listed in the State Register of Medicinal Products of the Russian Federation (2001) and about 100 species used in traditional medicine. Medicinal plants we divided into groups: by biomes (steppe and forest-steppe) and the pharmacological action of phytopreparations, which can be used by medical workers, biologists and specialists in the preparation of medicinal plants. In various biocenoses of the Southern Urals, medicinal plants are distributed as follows:

- Medicinal plants of the steppe zone: *Filipendula hexapetala*, *Primula veris*, *Achillea nobilis*, *Hypericum elegans*, *Thymus serpyllum*, *Grycyrrhiza glabra*, *G. uralensis*, *Fragaria viridis*, *Helichrysum arenarium*;

- Forest species: *Betula verrucosa*, *B. pubescens*, *Crataegus sanguinea*, *Origanum vulgare*, *Fragaria vesca*, *Rubus saxatilis*, *Rubus caesius*, *Viburnum opulus*, *Rosa cinnamomea*, *Hypericum perforatum*, *Sorbus aucuparia*, *Padus racemosa*, *Ribes nigry*, *Padus race*, *neschigury*, *igurnum perforatum*, *Sorbus aucuparia*, *Padus racemosa*, *Rybes nigry*, *igurnum perforatum*

- Meadow species: *Filipendula ulmaria*, *Rumex confertus*, *Urtica dioica*, *Gnaphalium uliqinosum*, *Rumex acetosa*, *Achillea millefolium*, *Cichorium intybus*, *Bidens tripartite*, *Tanacetum vulgare*.

Objects for harvesting can be: *Poligonum aviculare*, *Artemisia absinthium*, *Tanacetum vulgare*, *Urtica dioica*, *Padus racemosa*, *Hypericum perforatum*, *Bidens tripartita*, *Chelidonium majus*, *Achillea millefolium*, *Rosa cinnamomea* (*mai malyus*), as a part of the year, and also, as a part of the company, also, as a part of the company, and asparantine, *Achillea millefolium*, *Rosa cinnamomea* (*Rosa majalis majus*, *Achillea millefolium*), *Inula helenium* and other medicinal plants.

Valuable medicinal plants with a low abundance are: *Adonis vernalis*, *Origanum vulgare*, *Leonurus quinquelobatus*, *Thymus serpyllum*, *Inula helenium*, *Althaea officinalis*, *Plantago major*, *Sanguisorba officinalis*, *Crataegus sanguinea*, *Helichrysum arenarium* and other medicinal plants.

In traditional medicine, the following are widely used by the population of the region: *Betonica officinalis*, *Plantago maxima*, *P. lanceolata*, *Achillea millefolium*, *Filipendula ulmaria*, *F. hexapetala*, *Melampyrum arvense*, *Galium verum*, *Veronica incana*, *V. spicata*, *V. longifolia*, *Salvia stepposa*.

For some species of medicinal plants, abbreviations of the distribution range have been observed: *Origanum vulgare*, *Inula helenium*, *Helichrysum arenarium*, *Hypericum perforatum*, *Thymus serpyllum*, *Althaea officinalis*. The region has a number of medicinal plants requiring the protection of *Adonis vernalis*, *Euonymus verrucosa*, *Alnus incana*, *Asarum europaeum*, *Pulsatilla patens*, *Glycyrrhiza uralensis*, *Paeonia tenuifolia*, *Nuphar lutea*, *Nymphaea alba*, *Drosera rotundifolia*, *Ephedra distachya*, *Glycyrrhiza korshinskyi*.

The territory of the Orenburg region has significant resources of wild medicinal plants. Along with the harvesting of wild medicinal plants, there is the possibility of their cultivation in culture.

Keywords: medicinal plants, plant communities, study of medicinal plants resources.

References

1. Gusev N.F., Petrova G.V., Filippova A.V. and Nemereshina O.N. Prospects for the use of medicinal plants in modern Russia, *News of the Orenburg State Agrarian University*. 2/ 167-170/ (2014).
2. Geographical Atlas of the Orenburg Region .(M.: Izd. Dick, 1999).
3. Encyclopedia "Orenburg".1. (Kaluga: Golden Alley, 2000).
4. Borisova N.A., Tokareva V.D., Kuznetsova M.D. Recommendations for the study of medicinal plant resources for the organization of their rational use and protection. (Kursk, 1982).
5. Budantsev A.L., Kharitonov N.P. Resource science of medicinal plants. (SPb .: Ed. PCFA, 2003).
6. Bykov B.A. Geobotany. (Alma-Ata: Edition of the Kazakh SSR. 1957.).
7. Alekhin V.V. Vegetation of the USSR in the main zones. (M. "Soviet science", 509. 1951).
8. Ryabinina Z.N., Pavlechik V.M. Steppes of the south-eastern part of the Russian platform. *To the question of the steppe. Biocenology. Ekaterinburg*, 22-31 (1995).
9. Gorchakovskiy P.L., Ryabinina Z.N. The steppes of the Southern part of the Orenburg region (Ural-Ilek interfluvium), *Plant communities of the Urals and their anthropogenic degradation*, 3-64. (Sverdlovsk, 1984).
10. Gorchakovskiy P.L., Krylenko N.P. Steppe vegetation of the Kuvandyk Range in the Southern Urals, *Tr. Inst that ecologist. plants. Sverdlovsk: UC USSR Academy of Sciences*, 69. 3-58. (1969).
11. Ryabinina Z.N. Vegetation and plant resources of the steppe zone of the Orenburg region, *Geography: economics and ecology of Orenburg region*, 63-69. (1994).
12. Nemereshina O.N., Gusev N.F. State flora of the Southern regions of the Orenburg region, *Agriculture*. 4, 37-39 (2004).
13. Khlebnikov A.V., Oleshko G.I., Gusev N.F. Stocks of raw materials of medicinal plants in the western and north-western regions of the Orenburg region, *Vegetative resources*. 25, 2, 180. (1989).
14. Sukachev V.N. Types of forest of Buzuluksky boron, *Proceedings and research on forestry and forest industry*.13. 109-244. (1931).
15. Ryabinina Z.N. Vegetation cover of the steppes of the Southern Urals (Orenburg Region). (Orenburg: OGPU Publishing Center, 2003).
16. The state register of medicines (M: Ministry of Health of the Russian Federation Fund farm. Information. 1, 2001).
17. Chibilev A.A. Green book of the steppe region. (Chelyabinsk: South Ural book. ed. 1987).

УДК 582.776.6:581.4:581.144

АНАТОМО-МОРФОЛОГИЧЕСКОЕ СТРОЕНИЕ ВЕГЕТАТИВНЫХ ОРГАНОВ *CIRCAEA LUTETIANA* L.

Петришина Н. Н., Николенко В. В., Попова З. В.

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

Проведено исследование анатомо-морфологического строения вегетативных органов *Circaea lutetiana* L. Выявлены мезоморфные признаки: тонкий лист, имеет незначительное количество механических элементов; бифациальность в строении мезофилла; развитая система межклетников в листе; воронковидная форма клеток палисадной ткани; устьица с нижней стороны; обкладка мелких пучков слабо выражена, представлена клетками, не отличающиеся от основных ассимиляционных; отсутствие склерификации и паренхиматизация тканей осевых органов. Установлен характер опушения и специфика топографии трихом для разных органов. Выявлены скопления кристаллических включений в форме рафид во всех вегетативных органах изученного вида.

Ключевые слова: *Circaea lutetiana* L., анатомия, морфология, корень, корневище, стебель, черешок, лист.

ВВЕДЕНИЕ

Circaea lutetiana L. (двулепесник парижский), сем. Onagraceae Juss., произрастает в поясе буковых и буково-грабовых лесов Крыма [1–3]. Приурочен к влажным, тенистым экотопам и подвержен значительному антропогенному прессу, поскольку встречается преимущественно у дорог и в зоне рекреации [3–7]. Как вид редкий и уникальный, *Circaea lutetiana* занесен в Красные Книги 23-х областей, краев и республик России, что побудило в последние годы начать детальное исследование состояния его популяций в Крыму: их численности, плотности, возрастной структуры, процессов самоподдержания, их динамических характеристик и т. д. [6–7].

Однако *Circaea lutetiana* остается малоизученным растением, поскольку для него известны преимущественно ранние сведения лишь биоморфологического описания: по основной биоморфе двулепесник парижский является травянистым поликарпиком с симподиальным типом нарастания побегов, по экоморфе – мезофит, по гелиоморфе – сциофит [4, 5, 8]. В литературе также были найдены данные о химическом составе растений [9–11] и отрывочные сведения о морфологии некоторых вегетативных [12, 13] и генеративных органов [14]. Однако комплексного изучения анатомического строения и морфоструктуры данного объекта ранее не проводилось. На наш взгляд, анатомо-морфологические исследования позволят дополнить характеристику вида, понять степень его

адаптаций к условиям произрастания, оценить пластичность и потенциальные функциональные возможности [15–16].

Цель работы: изучить анатомо-морфологическое строение вегетативных органов *Circaea lutetiana* L.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Исследования проводились 2017-2018 гг. на фиксированном и нативном материале, изъятном из природной популяции в буковом лесу северного макросклона Крымских гор, в районе Ангарского перевала (около 800 м над у. м.). Анатомические препараты готовились по общепринятым методикам [17, 18]. Анатомо-морфологическое описание проводилось с использованием методик, изложенных в работах [15, 19–24]. Эпидермальные структуры листа *Circaea lutetiana* описывались по временным препаратам, приготовленным из свежих листьев по стандартным методикам [25, 26]. Анатомические особенности вегетативных органов изучались на фиксированных микропрепаратах, полученных с помощью микротомы Ротмик 2-П. Количественные характеристики отдельных анатомо-морфологических элементов (устийц, основных клеток эпидермы) *Circaea lutetiana* определялись в 30-ти кратной повторности. Статистическая обработка данных проводилась по стандартным методикам [27]. Исследование постоянных и временных препаратов осуществлялось с применением микроскопа Olympus CX31RTSF. Фото фиксация объектов производилась цифровой камерой Olympus (Industrial Digital Camera TOUPCAM™ U3CMOS10000KPA) с увеличением микроскопа 4×10, 10×10, 20×10.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

В результате микроскопического исследования *Circaea lutetiana* были описаны следующие структурные особенности вегетативных органов растения.

Придаточный корень в поперечном сечении имеет округлую форму и снаружи покрыт ризодермой (Рис. 1). Далее располагается кора. В молодых корнях первичная кора представлена крупными паренхимными клетками с хорошо развитыми межклетниками, которые местами сливаются и образуют воздухоносные полости. Эндодерма слабо дифференцирована. Под первичной корой на более поздних стадиях развития корня формируется перидерма перициклического происхождения. Первичная кора, которая отрезана пробкой от внутренних живых тканей, отмирает. В более глубоких слоях располагается центральный цилиндр, ограниченный перициклом. В центре корня – первичная полиархная ксилема, затем вторичные элементы: трахеи, либриформ и паренхима, образующая узкие радиальные лучи. Флоэма кольцом окружает ксилему. В паренхиме флоэмы и в первичной коре наблюдаются скопления кристаллических включений в форме рафид.

Подземное корневище *C. lutetiana* снаружи покрыто эпидермой, впоследствии сменяющейся перидермой (Рис. 2). Кора хорошо развита и состоит из 6-8 рядов паренхимных клеток. Крахмалоносное влагище не выражено. Под первичной корой находится центральный цилиндр, по периферии которого располагаются

четыре закрытых коллатеральных пучка. Из них два основных – крупных и два дополнительных – мелких. Проводящая система представлена флоэмой и ксилемой. Пространство между пучками заполнено сердцевинной паренхимой.

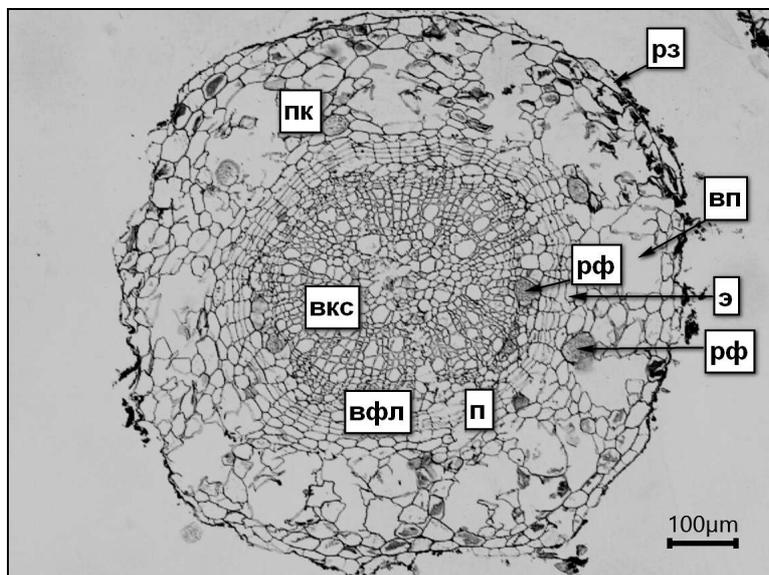


Рис. 1. Поперечный срез придаточного корня *C. lutetiana* (фото автора).

Обозначения: вкс – вторичная ксилема; вп – воздухоносные полости; вфл – вторичная флоэма; п – перидерма; пк – первичная кора; рз – ризодерма; э – эндодерма; рф – рафиды.

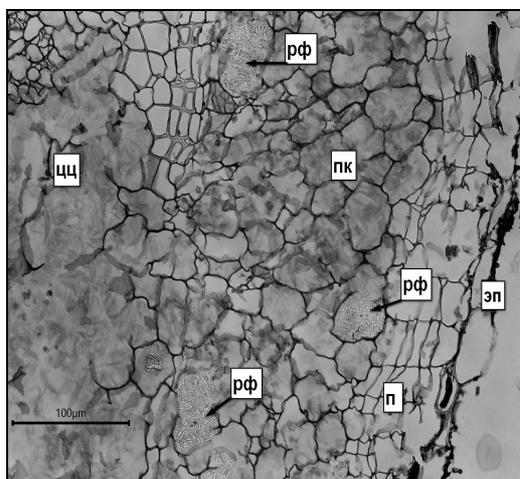
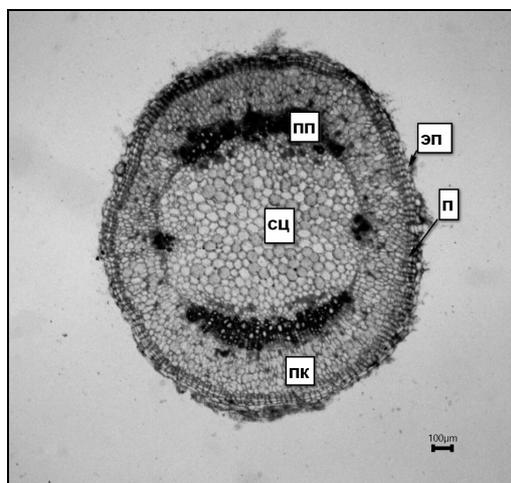


Рис. 2. Поперечный срез корневища *C. lutetiana* (фото автора).

Обозначения: п – перидерма; пк – первичная кора; пп – проводящий пучок; рф – рафиды; сц – сердцевина; цц – центральный цилиндр; эп – эпидерма.

Сердцевина без выраженной перимедуллярной зоны и состоит из множества тонкостенных крупных паренхимных клеток округлой формы с развитыми межклетниками. Значительная паренхиматизация тканей, а также отсутствие большого количества механических элементов свидетельствуют о мезоморфности вида. В паренхиме коры и паренхиме флоэмы выявлены рафиды.

Стебель в поперечном сечении имеет слабо выраженные ребристые очертания, покрыт эпидермой, состоящей из довольно крупных клеток с равномерно утолщенными периклиналими стенками (Рис. 3). Эпидерма сверху покрыта тонким слоем кутикулы. Под эпидермой располагается первичная кора, наружная часть которой образована одним-тремя слоями клеток пластинчатой колленхимы.

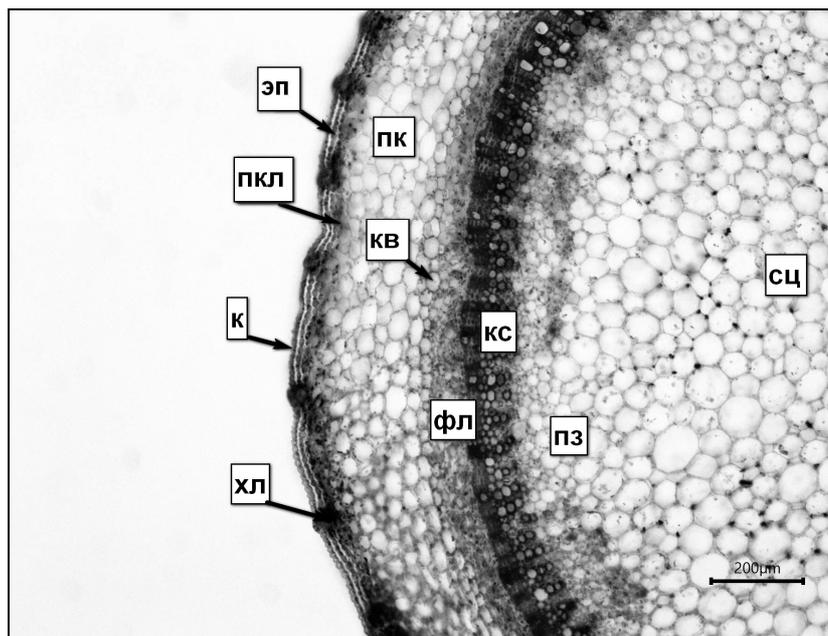


Рис. 3. Поперечный срез стебля *C. lutetiana* (фото автора).

Обозначения: к – кутикула; кв – крахмалоносное влагалище; кс – ксилема; пк – первичная кора; пз – перимедуллярная зона; пкл – пластинчатая колленхима; сц – сердцевина; фл – флоэма; хл – хлоренхима; эп – эпидерма.

По ребрам колленхима замещена хлоренхимой, на этом участке в эпидерме располагаются устьица. Паренхима первичной коры представлена крупными клетками с развитыми межклетниками. Внутренний слой первичной коры сформирован небольшими паренхимными клеткам слабо выраженного крахмалоносного влагалища. Под первичной корой расположен центральный цилиндр. Проводящая система представлена флоэмой и ксилемой. На периферии флоэмы имеются лубяные волокна (одиночные или группа). Сосуды ксилемы расположены правильными радиальными рядами и имеют широкие просветы. Сердцевина представлена паренхимными клетками со слабо выраженной

перимедуллярной зоной. Некоторые клетки паренхимы первичной коры, флоэмы и центрального цилиндра содержат кристаллы оксалата кальция (Рис. 4). В различных частях стебля сохраняется общий принцип анатомического строения, но ближе к апикальной его части более выражены участки хлоренхимы, а колленхима представлена всего 1–2 слоями клеток. Базальная часть стебля характеризуется более мощной по своему развитию вторичной ксилемой.

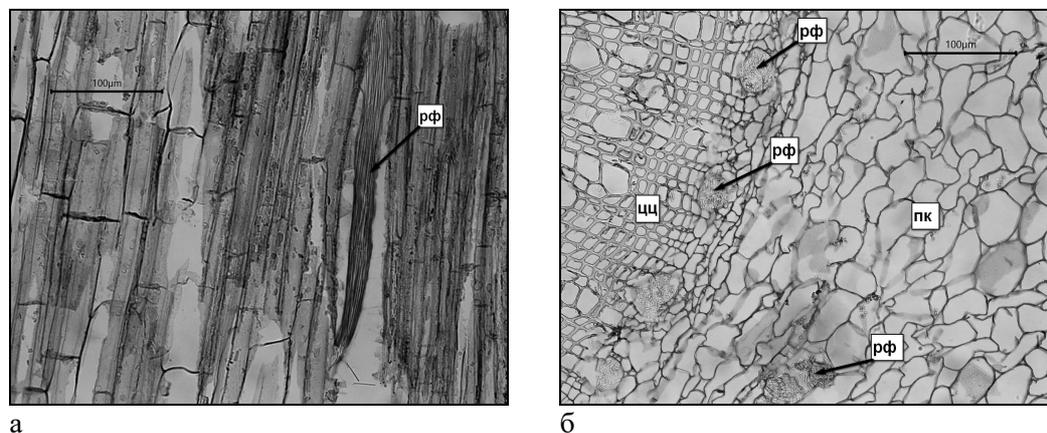


Рис. 4. Рафиды в стебле *C. lutetiana* (фото автора):

а – продольный срез стебля; б – поперечный срез стебля.

Обозначения: пк – первичная кора; рф – рафиды; цц – центральный цилиндр.

Лист *Circaea lutetiana* снаружи покрыт однослойной эпидермой (Рис. 5). На абаксиальной и адаксиальной сторонах листа основные клетки эпидермы имеют распластанную или вытянутую форму с извилистыми антиклинальными стенками, тупыми или острыми углами в смежных границах. Размер эпидермальных клеток адаксиальной стороны по длинной оси составляет в среднем $64,36 \pm 2,63$ мкм. Количество клеток на 1 мм^2 в среднем $557,0 \pm 14,62$ шт. Размер эпидермальных клеток абаксиальной стороны листа по длинной оси составляет в среднем $61,05 \pm 3,89$ мкм. Количество клеток на 1 мм^2 в среднем $603,3 \pm 8,49$ шт. Лист гипостоматический (устыща расположены только с нижней стороны листа). Устьица поверхностные, имеют вытянуто-округлую форму без побочных клеток – аномоцитный тип устьичного аппарата. Количество устьиц с нижней стороны листа в среднем $63,0 \pm 3,81$ шт/мм².

На поперечных срезах листа эпидермис адаксиальной и абаксиальной сторон листа однослойный, клетки округлой или вытянутой вдоль поверхности листа формы с равномерно утолщенными стенками (Рис. 6). Клетки верхнего эпидермиса крупные (ширина – $23,62 \pm 2,39$ мкм, высота – $14,94 \pm 1,01$ мкм) преимущественно вытянутые, сверху имеется тонкий слой кутикулы. Нижний эпидермис более мелкоклетчатый (ширина – $15,93 \pm 1,92$ мкм, высота – $9,4 \pm 0,34$ мкм).

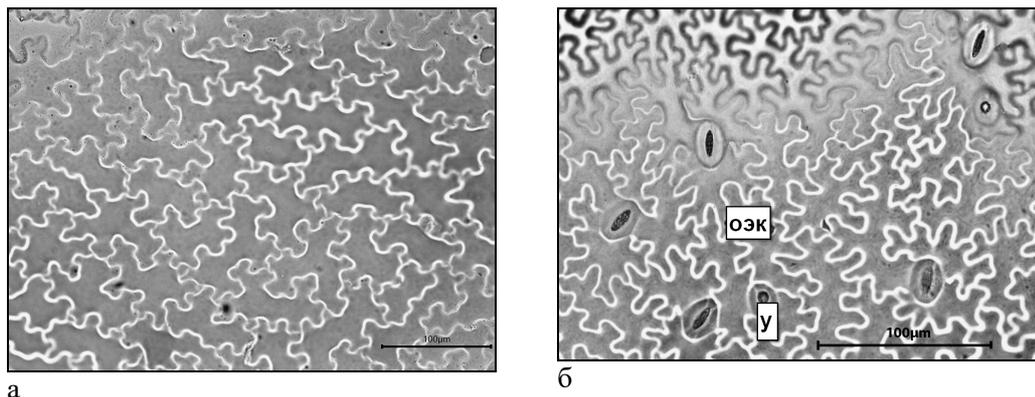


Рис. 5. Эпидермис листа *C. lutetiana* (фото автора):
а – верхний; б – нижний.

Обозначения: оэк – основные эпидермальные клетки; у – устьица.

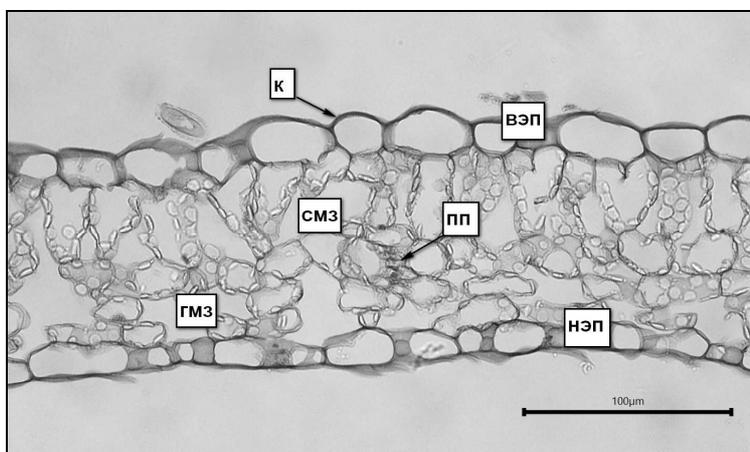


Рис. 6. Поперечный срез листа *C. lutetiana* (фото автора)

Обозначения: вэп – верхняя эпидерма; гмз – губчатый мезофилл; к – кутикула; нэп – нижняя эпидерма, пп – проводящий пучок;; смз – столбчатый мезофилл.

Лист чрезвычайно тонкий (толщина $91,86 \pm 3,11$ мкм) бифациальный, мезофилл четко дифференцирован на палисадную и рыхлую ткань. Палисадный мезофилл образован одним слоем клеток, вытянутых перпендикулярно поверхности листа, большинство из которых имеют форму широко раскрытых воронок, что характерно для растений, приспособленных к жизни в тенистых экотопах [23]. Единично присутствуют клетки палисадной ткани цилиндрической формы, имеются межклетники. Степень развития палисадной хлоренхимы описывают коэффициентом палисадности, который у исследованного объекта составил 38%, что является низким показателем и подтверждением принадлежности данного вида

к мезофитам. Губчатый мезофилл образован тремя-четырьмя рядами паренхимных клеток.

Центральная жилка тянется вдоль всей листовой пластинки и представлена закрытым коллатеральным пучком, окруженным хорошо развитой многослойной паренхимной обкладкой (Рис. 7). В субэпидермальном слое центральной жилки располагается 1-3 слоя уголковой колленхимы. Боковые жилки слабо развиты, их паренхимная обкладка не выражена и представлена клетками, которые существенно не отличаются от основных ассимиляционных.

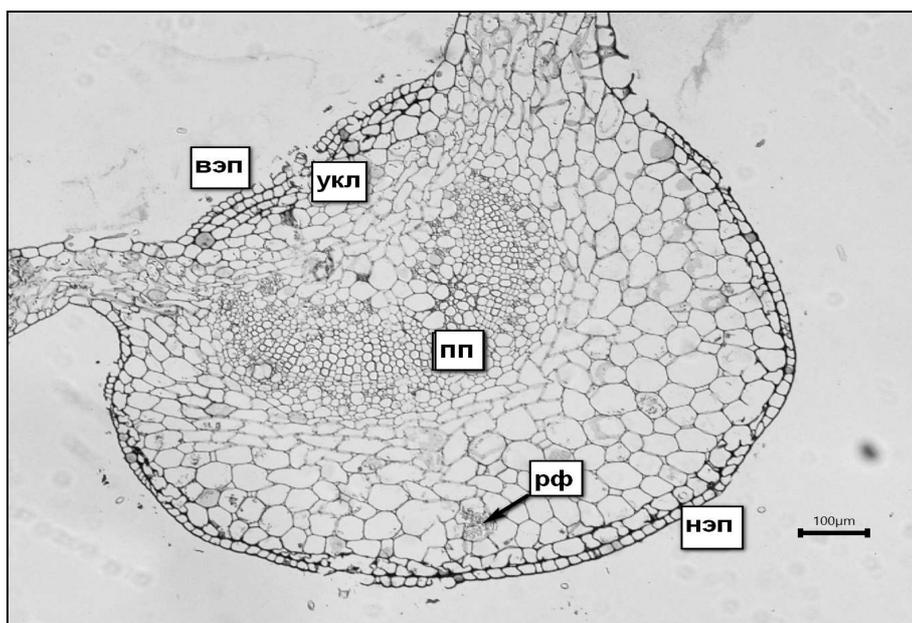


Рис. 7. Центральная жилка листа *C. lutetiana* (фото автора).

Обозначения: вэп – верхняя эпидерма; нэп – нижняя эпидерма, пп – проводящий пучок; рф – рафиды; укп – уголковая колленхима.

В паренхиме центральной жилки (Рис. 7) и мезофилле листа содержатся рафиды (Рис. 8).

Черешок покрыт мелкими эпидермальными клетками округлой формы с утолщенными наружными стенками (Рис. 9). В субэпидермальной зоне черешка располагается 1-2 слоя уголковой колленхимы, толщина которой в углах увеличивается до 5-6 слоев. В поперечном сечении черешок имеет полуобъемлющую форму, в центре располагается один закрытый коллатеральный пучок, который представлен флоэмой и ксилемой. Он имеет вид сектора кольца и выпуклой частью обращен к абаксиальной стороне. Со стороны флоэмы выявлены одиночные или группой волокна, они располагаются в черешке растения аналогично его стеблю. Хорошо развита основная паренхима, в которой содержится небольшое количество крахмальных зерен и вместилища рафид.

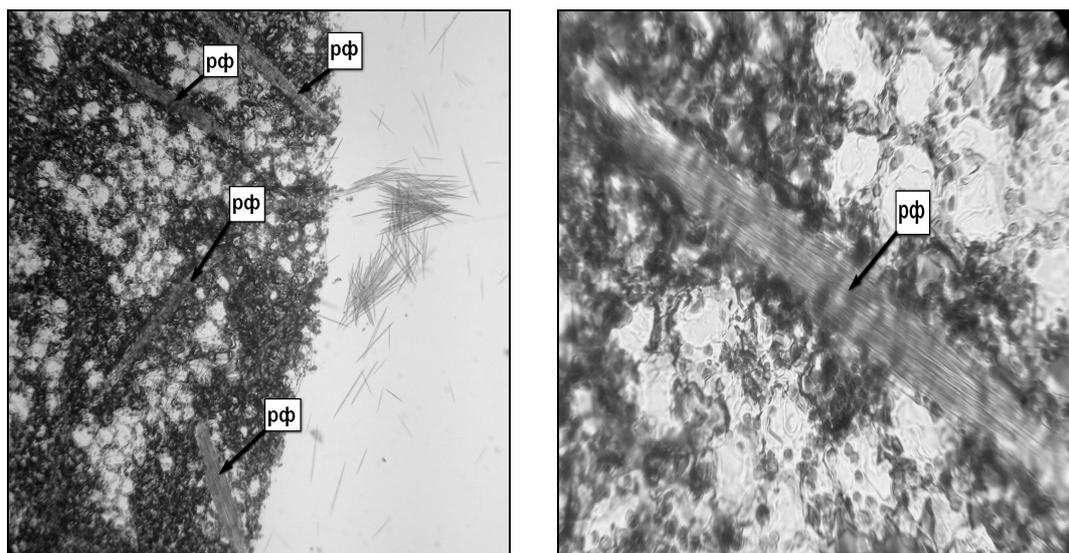


Рис. 8. Рафиды в мезофилле листа, ув. 20x10 (фото автора).
Обозначения: рф – рафиды.

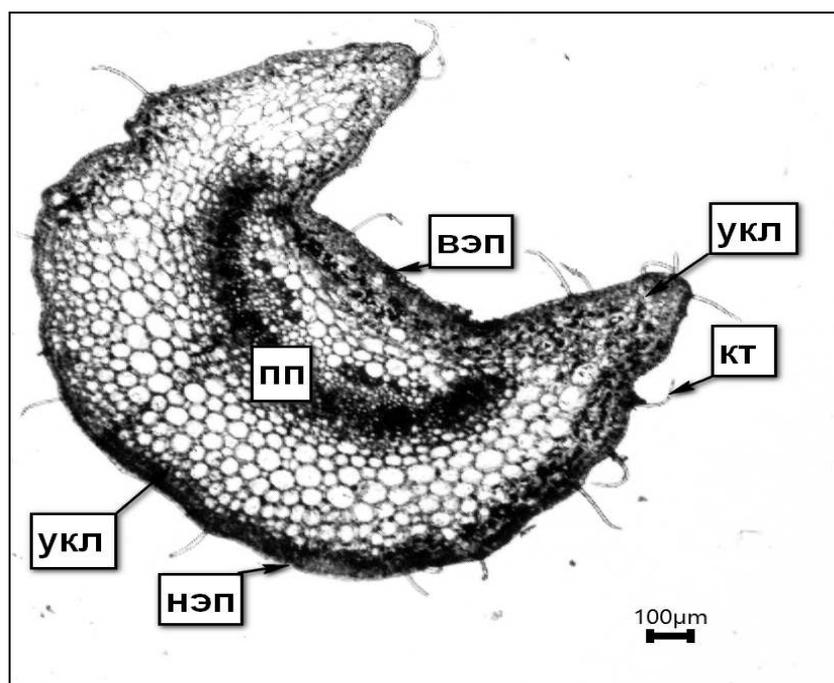


Рис. 9. Поперечный срез черешка *C. lutetiana* (фото автора).
Обозначения: вэп – верхняя эпидерма; кт – крючковый трихом; нэп – нижняя эпидерма; пп – проводящий пучок; укл – уголковая колленхима.

Изученные растения опушены простыми неразветвленными трихомами (Рис. 10-14).

Характер распределения волосков в пределах растения неоднороден. Так, в прикорневой области стебля, трихомы дуговидно изогнутые крючковидно загнутые на вершине и имеют среднюю длину $374,96 \pm 33,09$ мкм (Рис. 10).

В нижней части стебля и до появления первых листьев форма вершины трихом крючковидно загнутая. Трихомы сохраняют дуговидную форму и загнуты к его основанию. Средняя длина таких волосков у всего растения составляет $224,9 \pm 11,99$ мкм. Характер расположения трихом неравномерный: участки без трихом сменяются скоплениями. В прикорневой части количество их на единицу площади составляет $44,71 \pm 3,22$ шт/мм², а в верхней части побега – $104,33 \pm 5,46$ шт/мм². Имеются также прямые трихомы, которые остаются отстоящими и длина их в прикорневой части стебля составляет в $183,46 \pm 12,68$ мкм, а в среднем по растению – $211,37 \pm 8,43$ мкм. Количество их на единицу площади увеличивается более, чем в три раза: от $16,25 \pm 3,75$ шт/мм² – в основании побега до $51,94 \pm 3,30$ шт/мм² – к соцветию.

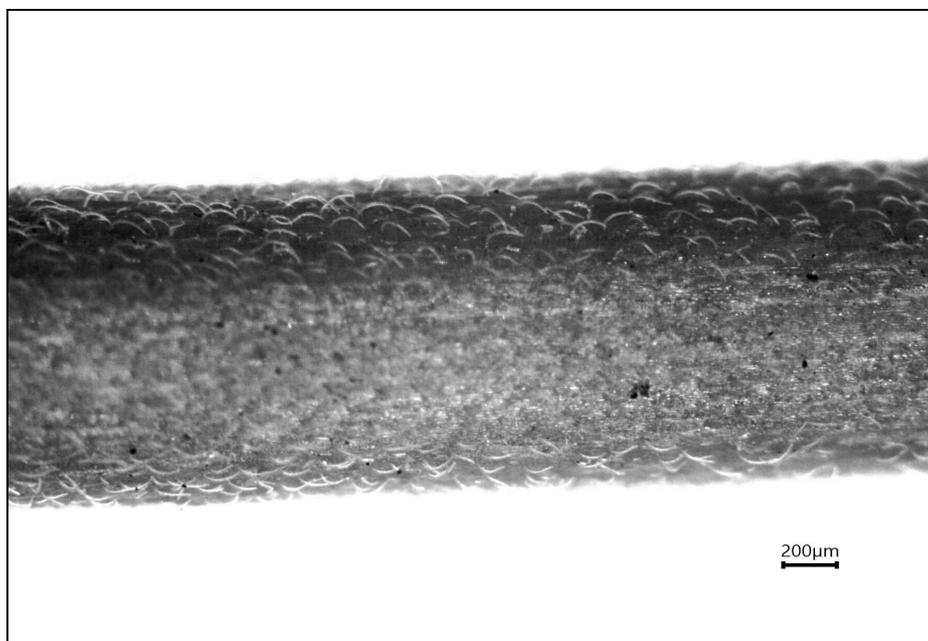


Рис. 10. Фрагмент стебля *C. lutetiana* с дуговидно загнутыми трихомами.

Ближе к узлу, количество трихом также резко возрастает, их становится в 2-3 раза больше. Характер размещения и морфология сохраняются. В самой густоопушенной части стебля насекомые откладывают яйца. В верхней части стебля, на границе с главной осью соцветия, количество трихом резко возрастает и опушение становится практически войлочным (Рис. 11).

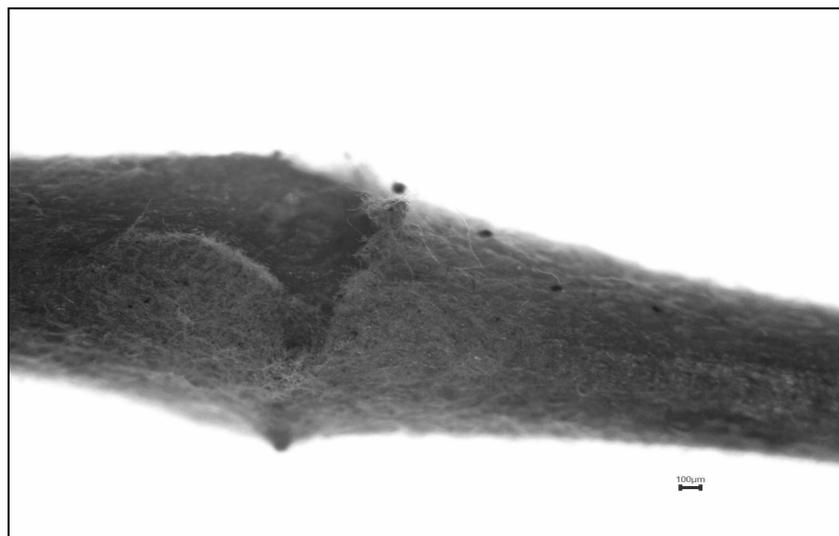
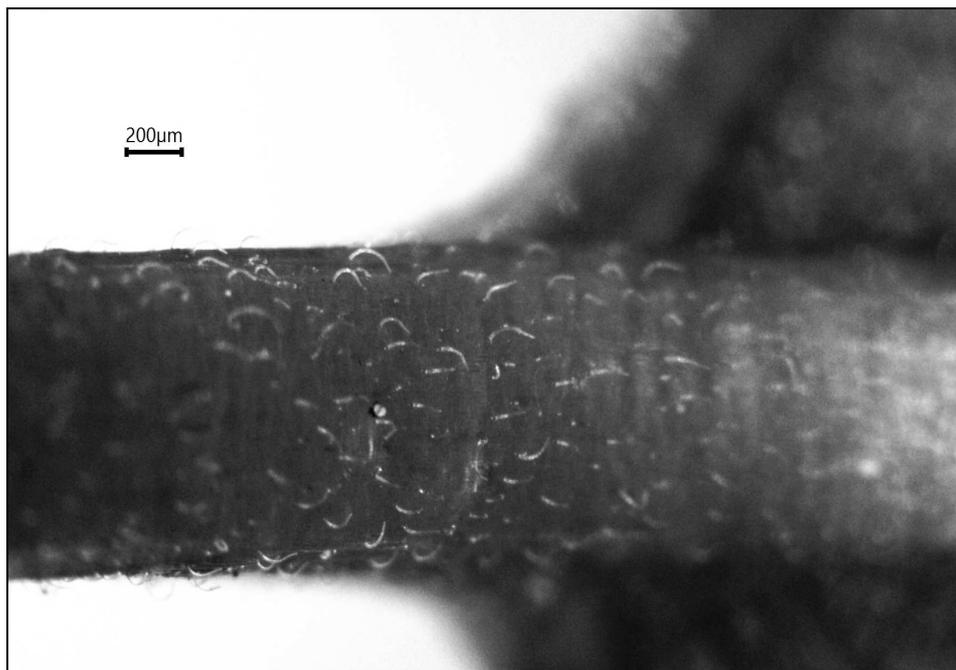


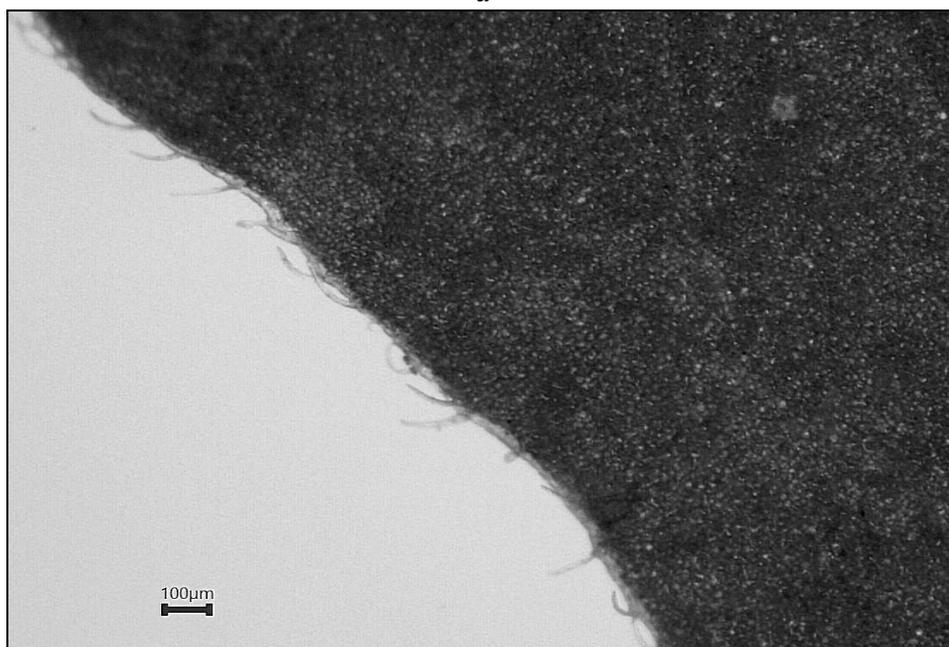
Рис. 11. Фрагмент стебля *C. lutetiana* с войлочным опушением.

На черешке листовой пластинки густое опушение сохраняется только при его основании. Форма трихом та же, что и была установлена для стебля – дуговидно изогнутые крючковидно загнутые на верхушке (Рис. 9, 12а). Прямые трихомы единичны. На верхней и нижней сторонах листовой пластинки встречаются трихомы прямые и дуговидно изогнутые (Рис. 12б), а также обнаруживается новый тип трихом, состоящий из цилиндрического основания, которое расширяется в округлую головку на вершине. В молодом возрасте эти трихомы – отстоящие, а с течением времени цилиндрическая часть увеличивается в длину, и они наклоняются к поверхности листовой пластинки с сохранением на вершине пузыревидной округлой головки. У листовых пластинок средней и нижней частей побега одинаковые особенности расположения трихом. Непосредственно на самой листовой пластинке количество трихом резко уменьшается как с верхней, так и с нижней стороны листовой пластины, по сравнению со стеблем и черешком, а средняя длина трихом – $167,5 \pm 18,01$ мкм.

При переходе от стебля к осевой части соцветия, 1 и 2 узлы имеют почти войлочное опушение, которое затем по оси соцветия последовательно уменьшается к его вершине до одиночно лежащих трихом, преимущественно отстоящих под прямым углом к оси (Рис. 13а). Прямые волоски цветоноса заметно большей длины, чем в других частях растения. Завязь, а впоследствии и плод, опушены крючковидно загнутыми трихомами (Рис. 13). На цветоносе имеются плоские лентовидные трихомы с редкими витками спирали (3–4 витка), которые сохраняют свою форму до самой верхушки (Рис. 14). Имеют закругленную вершину и по длине в верхней части соцветия слегка укорачиваются. Длина трихом цветоноса составляет $279,50 \pm 8,99$ мкм.

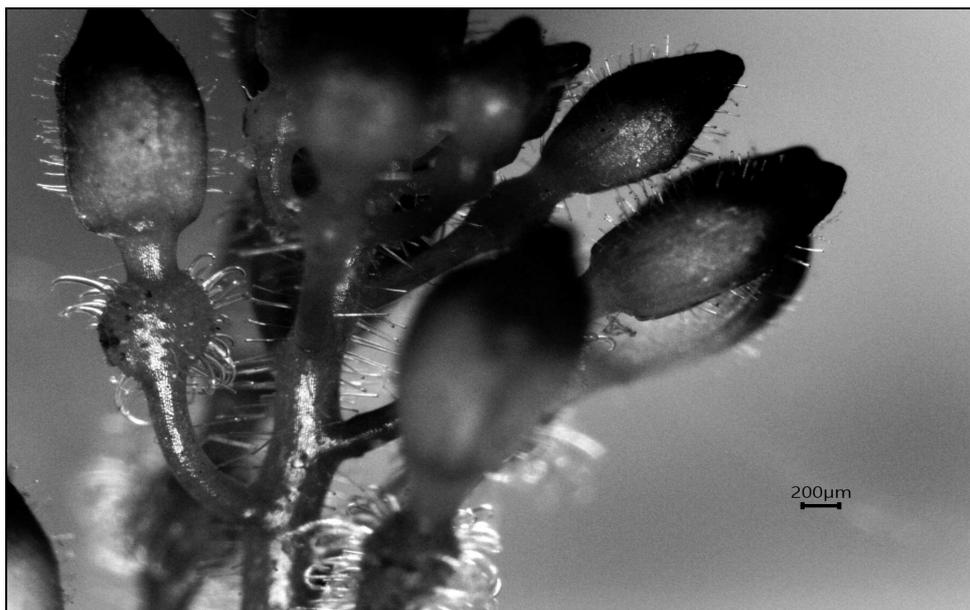


а



б

Рис. 12. Простые неразветвленные трихомы у растений *C. lutetiana* (фото автора):
а – черешок; б – фрагмент листовой пластинки.



а



б

Рис. 13. Простые неразветвленные трихомы в соцветии растений *C. lutetiana* (фото автора):

а – фрагмент соцветия; б – формирующийся плод.

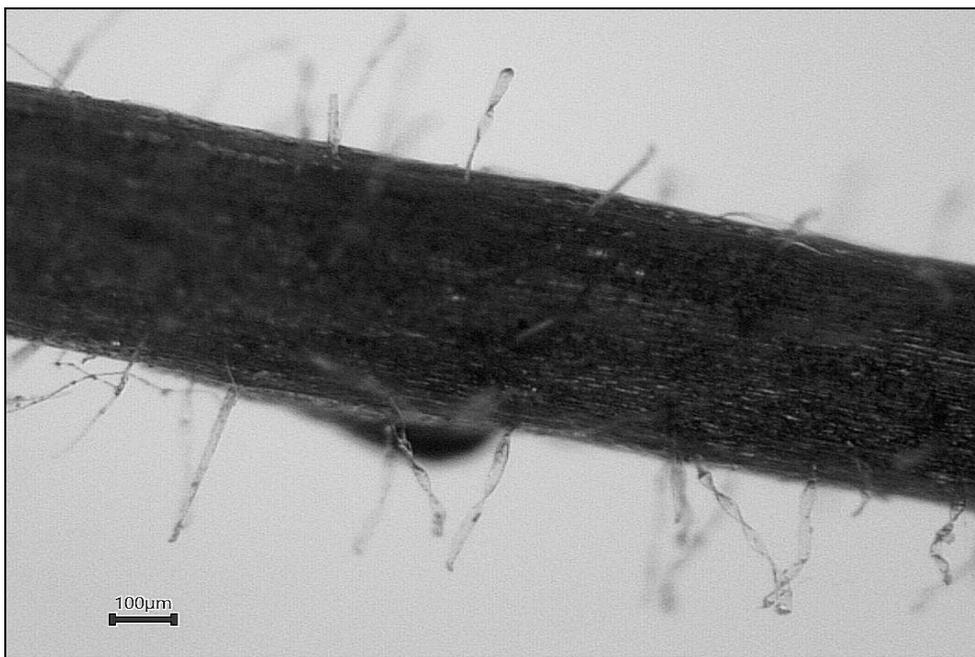


Рис. 14. Лентовидные трихомы на цветоносе у растений *C. lutetiana*. (фото автора)

Таким образом, проведенные исследования позволили выявить анатомо-морфологическое строение вегетативных органов *C. lutetiana*. В ходе изучения определен комплекс мезоморфных признаков растений (лист тонкий, имеет незначительное количество механических элементов; бифациальность в строении мезофилла; развитая система межклетников в листе; воронковидная форма палисады; устьица с нижней стороны и их сравнительно небольшое количество на единицу площади; обкладка мелких пучков слабо выражена, представлена клетками, которые не отличаются от основных ассимиляционных; отсутствие склерификации и паренхиматизация тканей осевых органов). Изучение морфологии надземной части растений позволило определить характер опушения и специфику топографии трихом для разных органов. В тканях исследованных органов растений были найдены скопления кристаллов оксалата кальция.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

1. Изучено анатомо-морфологическое строение вегетативных органов *Circaea lutetiana*: корня, корневища, стебля, черешка и листа.
2. Установлен комплекс мезоморфных признаков, подтверждающих принадлежность *C. lutetiana* к экологической группе мезофитов, характеризующихся высокой пластичностью.

3. Во всех вегетативных органах растений выявлены кристаллические включения в форме рафид
4. Установлено наличие четырех типов простых неветвящихся трихом: а) прямые; б) дуговидно-изогнутые крючковидно загнутые; в) плоские лентовидные (с редкими витками спирали); г) трихомы с округлой пузыревидной головкой.

«Работа выполнена в рамках реализации проекта Программы развития ФГАОУ ВО «КФУ им. В.И. Вернадского» на 2015-2024 годы: «Разработка новой междисциплинарной модульной магистерской программы «Биотехнология, биохимия и биоинформатика»

Список литературы

1. Ена А. В. Природная флора Крымского полуострова / А. В. Ена – Симферополь: Н. Ореанда, 2012. – 146 с.
2. Тахтаджян А. Л. Жизнь растений. Цветковые растения, т. 5 (2). / Тахтаджян А. Л. – М.: Просвещение, 1981. – 508 с.
3. Рубцов Н. И. Определитель высших растений Крыма. / Н. И. Рубцов. - Л.: Наука, 1972. – 330 с.
4. Голубев В. Н. Биологическая флора Крыма. / Голубев В. Н. – Ялта: НБС-НИЦ, 1996. – 125 с.
5. Цвелев Н. Н. Флора Восточной Европы / Ред. Н. Н. Цвелев. Т. 9. – СПб.: Мир и семья – 95, 1996. – 315 с.
6. Вахрушева Л. П., Нурмамбетова Э. Д. Морфологические признаки возрастных состояний двулепестника парижского (*Circaea lutetiana* L.) // Ученые записки КФУ им. В. И. Вернадского. Серия «Биология и химия». – 2017. – Т. 3(69), №3. – С. 11–20.
7. Вахрушева Л. П., Нурмамбетова Э. Д. Возрастные спектры ценопопуляций *Circaea lutetiana* в формации *Fageta sylvaticae* ssp. *moesiaca* на северном макросклоне Крымских гор // Актуальные проблемы ботаники и охраны природы Сборник научных статей Международной научно-практической конференции, посвященной 150-летию со дня рождения профессора Г. Ф. Морозова. Под редакцией С. Ф. Котова. – 2017. – С. 41–45.
8. Вульф Е. В. Флора Крыма (Гераниевые – Зонтичные). – М.: Советская наука, 1966. – Т. 2., Вып. 3. – 149 с.
9. Youn Chul Kim, David G. J. Kingston. A New Caprylic Alcohol Glycoside from *Circaea lutetiana* ssp. *canadensis* // Journal of Natural Products, 1996. – Vol. 59, №11. – P. 1096–1098.
10. Sebastian Granica, Anna K Kiss. Secondary metabolites from aerial parts of *Circaea lutetiana* L. // Biochemical Systematics and Ecology, 2013. – Vol. 46. – P. 22–25.
11. L. Velasco, F. D. Coffman. Tocopherol and fatty acid composition of twenty-five species of Onagraceae Juss. // Botanical Journal of the Linnean Society, 1999. – Vol. 129. – P. 359–366.
12. Скворцов А. К. Адвентивные биотипы цирцеи *Circaea lutetiana* L. // Бюллетень Московского общества испытателей природы. Отдел биологический. – М.: Издательство Московского университета, 2007. – Т. 112, № 1. – С. 93–95.
13. Rene W. Verburg, Heinjo J. During. Vegetative propagation and sexual reproduction in the woodland understorey pseudo-annual *Circaea lutetiana* L. // Plant ecology, 1998. – Vol. 134. – P. 211–224.
14. Одінцова А. В. Анатомо-морфологічна будова плоду *Circaea lutetiana* L. (Onagraceae) // Матеріали Всеукраїнської науково-практичної конференції з міжнародною участю, присвяченої 20-річчю заснування наукового фахового видання України «Наукові записки Тернопільського національного педагогічного університету ім. Володимира Гнатюка. Серія Біологія». Під редакцією М. М. Барна. – 2017. – С. 73–76.
15. Васильев Б. Р. Строение листа древесных растений различных климатических зон. – Л.: Изд-во Ленинградского университета, 1988. – 208 с.
16. Василевская В. К. Изучение онтогенеза как один из методов экологической анатомии // Проблемы ботаники. – М.–Л.: Изд-во АН СССР, 1950. – №1. – С. 264–281.

17. Барыкина Р. П., Веселова Т. Д., Девятов А. Г. и др. Справочник по ботанической микротехнике. – М.: МГУ, 2004. – 331 с.
18. Прозина М. Н. Ботаническая микротехника. – М.: Высшая школа, 1960. – 206 с.
19. Лотова Л. И. Морфология и анатомия высших растений. – М.: Эдиториал УРСС, 2001. – 528 с.
20. Александров В. Г. Анатомия растений. – М.: Высшая школа, 1966. – 431 с.
21. Эзау К. Анатомия семенных растений. Книга 1. – М.: Мир, 1980. – 284 с.
22. Эзау К. Анатомия семенных растений. Книга 2. – М.: Мир, 1980. – 627 с.
23. Серебрякова Т. И., Воронин Н. С., Еленевский А. Г. и др. Ботаника с основами фитоценологии. Анатомия и морфология растений. – М.: Академкнига, 2006. – 543 с.
24. Тимонин А. К. Ботаника. В четырех томах. Том 3. Высшие растения. – М.: Академия, 2007. – 352 с.
25. Анели Н. А. Атлас эпидермы листа. – Тбилиси: Мецниереба, 1975. – 110 с.
26. Захаревич С. Ф. К методике описания эпидермы листа // Вестник Ленинградского университета. Серия 3: Биология. – Л.: Изд-во Ленинградского университета, 1954. – № 4. – С. 64–75.
27. Лакин Г. Ф. Биометрия. – М.: Высшая школа, 1980. – 293 с.

ANATOMICAL AND MORPHOLOGICAL STRUCTURE OF THE VEGETATIVE ORGANS OF *CIRCAEA LUTETIANA* L.

Petrishina N. N., Nikolenko V. V., Popova Z. V.

*V.I. Vernadsky Crimean Federal University, Simferopol, Crimea, Russian Federation
E-mail: n-petrishina@list.ru*

Circaea lutetiana belongs to the family Onagraceae Juss. and grows in a belt of beech and beech-hornbeam forests of the Crimea.

This is a rare and unique plant, which is listed in the Red Book of 23 regions, territories and republics.

Circaea lutetiana is a little-known plant, a detailed description of the internal structure of organs and their morphological features is not found. In the literature there are data on the chemical composition of plants and fragmentary information on the morphology of some vegetative and generative organs. For this species in the Crimea there is only a biomorphological characteristic and the study of the current state of populations. A comprehensive study of the morphological structure of the object is not performed. Anatomical and morphological studies will complement the characteristics of the species, to understand the degree of its adaptation to growing conditions, to assess the plasticity and potential functionality. Therefore, the aim of our work is to study the anatomical and morphological structure of the vegetative organs of *Circaea lutetiana* L.

The research was carried out in 2017-2018 on the material withdrawn from the natural population in the beech forest of the Northern macro-slope of the Crimean mountains, in the area of Angarsk pass (about 800 m above sea level). M.).

The anatomical and morphological structure of the root, rhizome, stem, petiole and leaves of *Circaea lutetiana* was studied.

Revealed the presence of mesomorphic characteristics (a thin plate that has a small number of mechanical elements; bifacia in the structure of the mesophyll; the developed system of intercellular spaces in the leaf; a funnel-shaped form of the Palisades; the stomata on the lower side; surface with small bundles poorly developed, represented by

cells, which do not differ from basic to assimilation; the lack of clarificatio and parenchymatic tissues of the axial organs).

Set the character of the pubescence and the topography of the trichomes on the organs of plants. Pubescence is represented by simple unbranched trichomes of several types: straight; arcuate-curved hook-bent; flat ribbon-shaped (with rare spirals) and trichomes with a rounded bubble head. The nature of the distribution of trichomes is uneven: areas without trichomes are replaced by clusters. At the top of the stem on the border with the main axis of the inflorescence, pubescence becomes almost felt.

Identified clusters of crystalline inclusions in the form of rafid in all vegetative organs of the studied specie.

Keywords: *Circaea lutetiana* L., anatomy, morfology, root, rhizome, stem, petiole, leaf.

References

1. Andriy V. Yena Spontaneous Flora of the Crimean Peninsula, 146 (Simferopol: N. Orianda, 2012).
2. Takhtadzhyan A. L. Life of plants. Flowering plants, 5 (II), 508 (Moscow: Education, 1981).
3. Rubtsov N. I. The determinant of the higher plants of the Crimea, 330 (L.: Science, 1972).
4. Golubev V. N. Biological flora of the Crimea, 125 (Yalta, NBS-NSC, 1996).
5. Tzvelev N. N. Flora of Eastern Europe, 315(SPb .: Peace and Family-95, 1996).
6. Vakhrusheva L. P., Nurmambetova E. D. Age stages morphological criterias of the *Circaea lutetiana* L. // Scientific Notes of V. I. Vernadsky Crimean Federal University. Biology. Chemistry, 3, 3 (69), 11 (2017).
7. Vakhrusheva L. P., Nurmambetova E. D. Age spectra of *Circaea lutetiana* coenopopulations in formation of Fageta sylvaticae ssp. moesiacaе on the northern macroslope of the Crimean Mountains // Actual problems of botany and nature protection, Collection of scientific articles of The international scientific practical conference dedicated to the 150th anniversary of Professor G. F. Morozov. (Edited by S. F. Kotov), 41 (2017).
8. Wulf E. V. The flora of *Crimean peninsula* (Geraniaceae – Umbelliferaeae), 149 (Moscow: Soviet science, 1966).
9. Youn Chul Kim, David G. J. Kingston. A New Caprylic Alcohol Glycoside from *Circaea lutetiana* ssp. canadensis // Journal of Natural Products, 1096 (Edited by Virginia Polytechnic Institute and State University), 59 (1996).
10. Sebastian Granica, Anna K Kiss. Secondary metabolites from aerial parts of *Circaea lutetiana* L. // Biochemical Systematics and Ecology, 22 (Edited by Medical University of Warsaw), 46 (2013).
11. L. Velasco, F. D. Coffman. Tocopherol and fatty acid composition of twenty-five species of Onagraceae Juss. // Botanical Journal of the Linnean Society, 359 (Edited by Institut fur Pflanzenbau und Pflanzenzüchtung, Georg-August- Universität), 129 (1999).
12. Skvortsov A. V. Adventive biotypes of *Circaea lutetiana* L. // Bulletin of the Moscow society of nature testers. Department of biological, 112, 1, 93 (2007).
13. Rene W. Verburg, Heinjo J. During. Vegetative propagation and sexual reproduction in the woodland understorey pseudo-annual *Circaea lutetiana* L. // Plant ecology. (Edited by Kluwer Academic Publishers), 211 (1998).
14. Odintsova A. V. Anatomical and morphological fruit structure in *Circaea lutetiana* L. (Onagraceae) // Materials of All-Ukrainian scientific and practical conference with international participation, dedicated to the 20th anniversary of Ukrainian Scientific specialized edition “Scientific Proceedings of Ternopil Volodymyr Hnatiuk National Pedagogical University. Biology.” (Edicted by M. M. Barna (ed.-in-ch.) et al.), 73 (2017).
15. Vasiliev B.R. The structure of the leaf of woody plants of different climatic zones, 208 (Leningrad: Leningrad University, 1988).

16. Vasilevskaya V.K. The study of ontogenesis as one of the methods of ecological anatomy // Botanical problems, 264 (1950).
17. Barykina R.P., Veselova T. D., Devyatov A. G. and others. Handbook of Botanical micro-technology, 331 (Moscow: MGU, 2004).
18. Prozyna M. N. Botanical microtechnology, 206 (Moscow: High school, 1960).
19. Lotova L. I. Morphology and anatomy of higher plants, 528(Moscow: Editorial URSS, 2001).
20. Aleksandrov V. G. Anatomy of plants, 431 (Moscow: High school, 1966).
21. Ezau K. Anatomy of seed plants. Book 1, 284 (Moscow: Mir, 1980).
22. Ezau K. Anatomy of seed plants. Book 2, 627 (Moscow: Mir, 1980).
23. Serebryakova T. I., Voronin N. S., Elenevsky A. G. Botany with the basics of phytocenology. Anatomy and morphology of plants, 543 (Moscow: Academbook, 2006).
24. Timonin A. K. Botany. In four volumes. Volume 3. Higher plant, 352 (Moscow: Academy, 2007).
25. Aneli N. A. Atlas of leaf epidermis, 110 (Tbilisi: Metsniereba, 1975).
26. Zaharevich S. F. To the method of description of leaf epidermis // Bulletin of Leningrad University. Series 3: Biology, 64 (Leningrad: Leningrad University, 1954).
27. Lakin G. F. Biometry, 293 (Moscow: High school, 1980).

УДК 556:551.464:639.4(262.5)

ИЗМЕНЧИВОСТЬ КОРМОВОЙ БАЗЫ ДВУСТВОРЧАТЫХ МОЛЛЮСКОВ В ДВУХЛЕТНЕМ ЦИКЛЕ ВЫРАЩИВАНИЯ НА МИДИЙНО-УСТРИЧНОЙ ФЕРМЕ (ЧЁРНОЕ МОРЕ, ГОЛУБОЙ ЗАЛИВ)

Поспелова Н. В., Троценко О. А., Субботин А. А.

ФГБУН «Институт морских биологических исследований имени А.О. Ковалевского РАН»,
Севастополь, Республика Крым, Россия
E-mail: nvpospelova@mail.ru

По данным ежемесячных комплексных наблюдений в течение двухлетнего цикла (март 2010 – март 2012 гг.) в районе расположения мидийно-устричной фермы рассмотрена изменчивость состояния фитопланктонного сообщества, как основы кормовой базы выращиваемых моллюсков, на фоне различных гидролого-гидрохимических условий. Выявлена зависимость видового и количественного состава фитопланктона от параметров гидрологических сезонов, прежде всего, температурного режима и содержания биогенных элементов. При экстремально высоких температурах в июле-августе 2010 г. на фоне общего снижения численности фитопланктона отмечено относительное увеличение биомассы некормовых видов крупноклеточных диатомовых водорослей. Понижение температуры воды в июне 2011 г. в результате развития апвеллинга привело к росту численности фитопланктона, в особенности цианобактерий рода *Microcystis* и динофитовых рода *Dinophysis* – потенциально опасных для человека при выращивании моллюсков.

Ключевые слова: термохалинная структура, сезонный термоклин, гидрологический режим, биогенные элементы, фитопланктон, спектр питания.

ВВЕДЕНИЕ

Экономическая эффективность и экологическая целесообразность функционирования морских ферм по выращиванию моллюсков в значительной мере определяется состоянием кормовой базы. В прибрежной зоне Южного берега Крыма (ЮБК) моллюски используют в пищу бактерии, фитогенный детрит, растворенное и взвешенное органическое вещество. Однако наиболее высокие темпы роста и увеличение биомассы моллюсков наблюдаются при питании наиболее трофически ценной для мидий и устриц частью взвешенного органического вещества – фитопланктоном, с которым они получают основную массу белков, липидов, углеводов и микроэлементов [1]. Показано [2], что предпочтительным кормом для культивируемых моллюсков являются мелкие одиночные водоросли, относящиеся к отделам динофитовых, криптофитовых, золотистых и зелёных размером до 20 мкм. Обычно их численность не превышает 2–10 % от общей численности фитопланктона. Довольно крупные клетки динофитовых водорослей диаметром до 80 мкм, в основном, из родов *Prorocentrum* и *Dinophysis* также входят в пищевой рацион мидий и устриц.

Основой внутригодовой изменчивости видового и количественного состава фитопланктона является гидролого-гидрохимический режим и, прежде всего, температурные условия и содержание биогенов [3]. Температура воды определяет сезонную и синоптическую изменчивость видового состава, вертикальную структуру фитопланктона, сроки начала и продолжительность периодов вегетации отдельных видов, а концентрация биогенных элементов – уровень развития микроводорослей. При сочетании оптимальных температурных условий и содержания биогенов массовое развитие доминирующих видов фитопланктона с биомассой в сотни–тысячи мг/м³ приводит к явлению «цветения» морской воды, а в отдельных случаях, при массовом развитии динофитовых водорослей, – к развитию «красных приливов».

Цель данной работы – изучение изменчивости видового и количественного состава фитопланктона, как основной составляющей кормовой базы выращиваемых моллюсков, в двухлетнем цикле наблюдений при различных гидролого-гидрохимических условиях среды.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Мидийно-устричная ферма, принадлежащая ООО «Яхонт ЛТД», расположена в районе ЮБК на траверзе мыса Кикинейз (акватория Голубого залива). Глубины в данном районе колеблются от 10 до 25 м (средняя – 15 м). Комплекс наблюдений, обеспечивающих функционирование мидийно-устричной фермы в районе п. Кацивели выполнялся ежемесячно с марта 2010 по март 2012 гг. Работы выполнялись сотрудниками отдела аквакультуры и морской фармакологии Института биологии южных морей НАН Украины (ИнБИОМ НАНУ) в рамках бюджетной темы «Экологические взаимодействия в биотехнологических комплексах». Схема расположения фермы и станций отбора проб представлена на рис. 1.

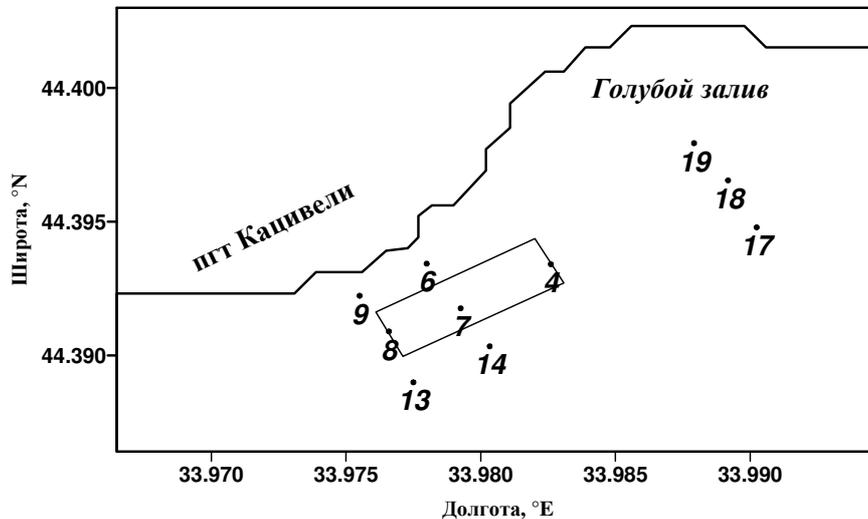


Рис. 1. Схема расположения станций отбора проб на ферме в районе п.г.т. Кацивели.

При проведении исследований определялись следующие параметры: температура, соленость, плотность морской воды; содержание растворенного кислорода; величина рН; содержание нитритного, нитратного, аммонийного азота; содержание фосфатов; содержание силикатов; содержание органического азота; содержание органического фосфора; окисляемость морской воды; биохимическое потребление кислорода на пятые сутки (БПК₅); численность и видовой состав фитопланктона, в том числе и кормового; содержание пищевого комка в желудках культивируемых моллюсков.

Гидрофизические параметры измерялись с помощью СТД-зонда «Катран-04» от поверхности до дна. Отбор проб морской воды на гидрохимические показатели осуществлялся в поверхностном и придонном слоях. Химические анализы выполняли в аккредитованной лаборатории ИнБЮМ НАНУ согласно общепринятым методам их определения [4, 5].

Пробы воды на фитопланктон отбирались с поверхности и в придонном слое на станциях 7 (ферма) и 14 (фоновая) в пластиковые ёмкости объемом 1 – 1,5 л. В лаборатории их сгущали методом обратной фильтрации через ядерные мембраны с диаметром пор 1 мкм. Обработку проводили методом прямого счета микроводорослей в живой и сгущенной капле ($V=0,1\text{мл}$) в камере ($V=1\text{мл}$). Для изучения питания моллюсков их вскрывали при помощи скальпеля, препарировали желудок, пипеткой отбирали и анализировали содержимое под микроскопом. Для сбора и исследования состава фекалий и псевдофекалий моллюсков высаживали в профильтрованную морскую воду на 2–4 часа.

Ниже приводится анализ внутригодовой изменчивости и межгодовых отличий характеристик гидролого-гидрохимического режима за весь цикл наблюдений. На этом фоне рассматривается динамика видовой, количественного состава фитопланктона и пищевой спектр культивируемых моллюсков.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Гидрологический режим. Исследования в акватории мидийно-устричной фермы соответствовали климатическому периоду «глобального потепления», проявляющегося по изменению некоторых параметров гидрологического режима Чёрного моря, начиная с середины 1990-х – начала 2000-х гг. [2]. Для прибрежных районов Крыма этот процесс характеризуется, прежде всего, повышением температуры поверхностных вод и снижением количества и интенсивности прибрежных апвеллингов (ПА) в тёплый период года [6, 7, 8, 9, 10].

На этом фоне, наблюдения за внутригодовой изменчивостью температуры на акватории фермы в 2010–2012 гг. выявили существенные межгодовые отличия, наиболее ярко проявившиеся в характеристиках гидрологических сезонов. Данные по внутригодовой изменчивости термического режима за период исследований позволили выделить временные интервалы с относительно стабильными значениями и минимальными временными градиентами температуры воды (менее $0,1^\circ\text{C}/\text{сут}$) и интервалы со значительными перепадами температуры и временными градиентами более $0,1^\circ\text{C}/\text{сут}$. Такие временные интервалы характеризуются как

гидрологические сезоны. Для каждого года двухлетнего цикла наблюдений они имеют свои временные границы, диапазоны колебаний температуры воды, знаки и величины временных градиентов. Для внутригодового хода видового и количественного состава фитопланктона параметры гидрологических сезонов являются определяющими при формировании кормовой базы культивируемых моллюсков на различных этапах их развития. Вероятно, наиболее важным следствием воздействия «глобального потепления» на структуру фитопланктонного сообщества и физиологическое состояние отдельных видов является изменение их биологических циклов в пределах гидрологических сезонов.

По данным [9], для района Кацевели 2010 г. характеризовался как год с экстремальным прогревом поверхностных вод за период наблюдений с 1931 по 2011 гг. и отсутствием проявлений ПА. Во внутригодовом ходе температуры выделялись четыре гидрологических сезона: зимний – с конца января до конца марта и перепадом температуры от 9,0°C до 9,8°C; весенний переходный – с начала апреля по начало июня с перепадом температуры от 9,8–10,0°C до 23,4–24,0°C; летний – с начала июня до начала сентября, диапазоном изменчивости температуры от 24,0°C до 26,7°C и абсолютным максимумом (29,5°C) – в середине августа; осенний переходный – с начала сентября по конец декабря и перепадом температуры от 26,7°C до 12,1°C. Последний по характеру понижения температуры воды продлился до середины февраля 2011 г.

Внутригодовой ход температуры воды в 2011 г. был близок к среднемноголетнему распределению [7], а количество и интенсивность ПА в июне–августе соответствовали наблюдениям за период с начала 1970-х до начала 1990-х годов [8]. В соответствии с этим, параметры гидрологических сезонов имели некоторые отличия от 2010 г.: зимний – с середины февраля до середины апреля и перепадом температур от 8,0°C до 10,0°C с кратковременным понижением температуры в конце февраля до 6,8°C; весенний переходный – с середины апреля до начала июня и увеличением температуры от 10,0°C до 22,0°C; летний – с середины июня до конца августа с интервалом измеренных температур от 22,0°C до 24,0–26,0°C на фоне чередования сгонно-нагонных процессов; осенний переходный – с начала сентября до конца декабря и понижением температуры с 21,5°C до 10,2°C.

Параметры гидрологических сезонов 2011 г., а также характер проявления сгонно-нагонных процессов в весенне-летний период наглядно иллюстрируют данные о внутригодовой изменчивости вертикальной термической структуры вод в б. Ласпи (рис. 2). Обе акватории относятся к единому гидрологическому району прибрежной зоны ЮБК, а формирование термохалинной структуры и особенности проявления мезомасштабных динамических процессов (прежде всего ПА) определяются одними и теми же климатическими, атмосферными и гидродинамическими факторами [6, 7, 11].

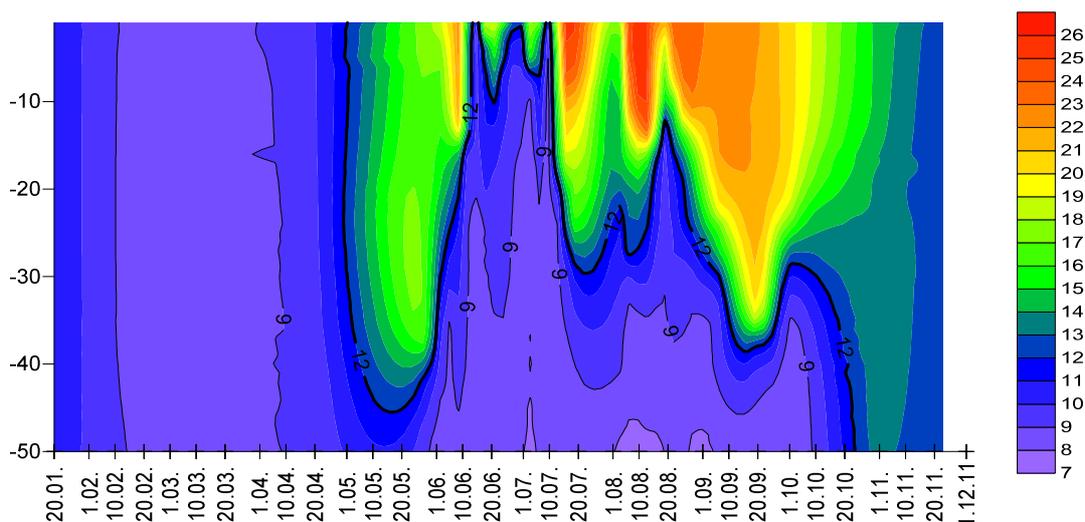


Рис. 2. Годовой ход вертикальной термической структуры в б. Ласпи, 2011 г. [10].

Активизация ПА в летний сезон 2011 г. была вызвана преобладанием над районом ЮБК ветров западных и северо-западных румбов. Интенсивный апвеллинг на акватории фермы был отмечен с конца первой декады июня по середину июля. Анализ серии спутниковых изображений поверхности моря в инфракрасном (ИК) диапазоне показал, что ПА охватывал большую часть прибрежной зоны ЮБК, однако наиболее ярко проявился на акватории от Голубого залива до б. Ласпи (рис. 3).

Первая съёмка летнего цикла наблюдений была выполнена 21 июня в фазе развитого апвеллинга, характеризовавшегося резким понижением температуры воды с $22,0^{\circ}\text{C}$ в начале июня до $9,0\text{--}10,2^{\circ}\text{C}$ – в начале третьей декады месяца.

Ко времени выполнения июльской съёмки (20.07) «затухание» процесса привело к нагону хорошо прогретых вод со стороны открытого моря. Как следствие, температура поверхностного слоя вод на акватории фермы достигла максимальных за период наблюдений значений от $25,7^{\circ}\text{C}$ на поверхности до $21,1^{\circ}\text{C}$ – у дна.

Неустойчивость атмосферной циркуляции в августе 2011 г. привела к проявлению на большей части акватории ЮБК серии кратковременных и менее интенсивных ПА. Съёмка, выполненная 17.08 при температуре воды $21,7^{\circ}\text{C}$, соответствовала одному из «скрытых» апвеллингов с последующим повышением поверхностной температуры до $24,8^{\circ}\text{C}$ к концу летнего гидрологического сезона (рис. 2).

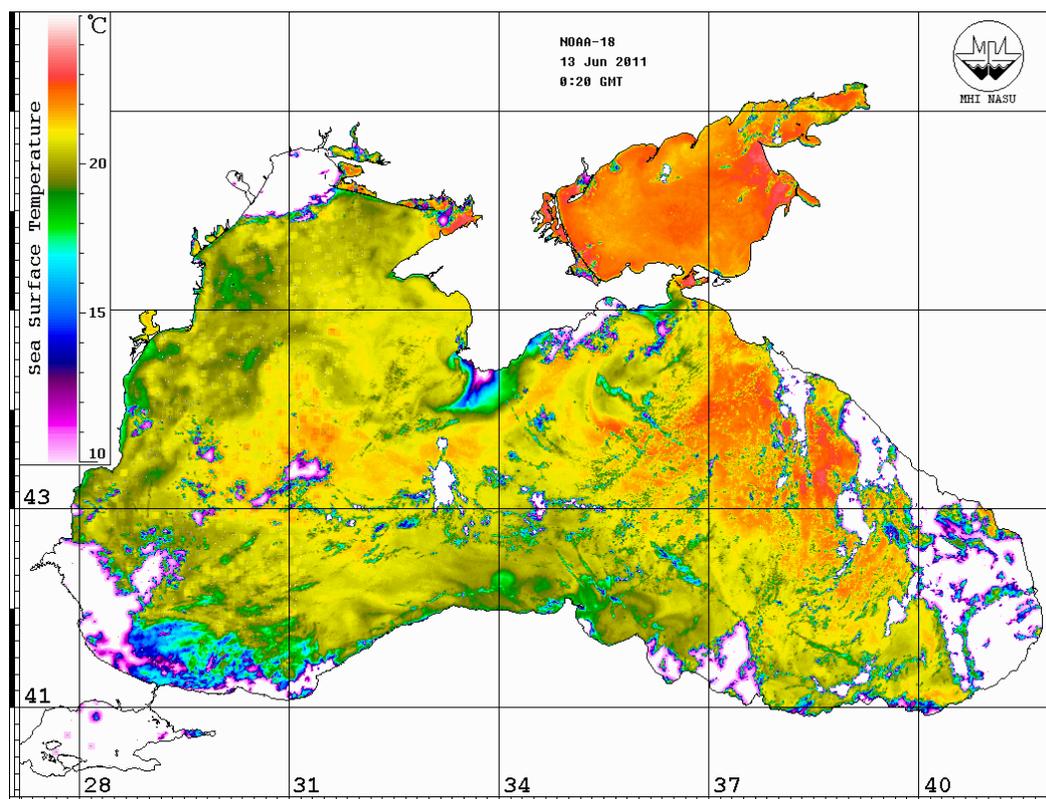


Рис. 3. ИК-изображение Черного моря (NOAA-18, 13.06.11) [16].

Гидрохимический режим прибрежных вод на акватории размещения мидийно-устричной фермы в целом соответствовал особенностям выделенных для каждого года наблюдений гидрологических сезонов. В течение всего периода исследований была отмечена хорошая аэрация вод, отсутствие заморных явлений и достаточная обеспеченность биогенными элементами. Межгодовые отличия в сезонном ходе некоторых гидрохимических параметров проявились во временном сдвиге экстремумов в 2011 г. и колебаниях их значений на фоне сгонно-нагонных процессов в июне-августе по отношению к 2010 г.

Распределение растворённого кислорода находилось в соответствии с режимом данного показателя в прибрежной зоне ЮБК. Повышенные абсолютные значения (7,38–7,52 мл/л) характерны для зимнего периода, а пониженные (5,38–5,42 мл/л) – для летнего (рис. 4). Относительное содержание кислорода колебалось от 95,4% в зимний период, до 115,1% – в летний. Отмечается повышение абсолютного содержания кислорода в период интенсивного апвеллинга в июне 2011 г. до зимних значений и относительного содержания кислорода до максимальных величин в период активного поступления азовоморских вод в июле–августе 2010 г.

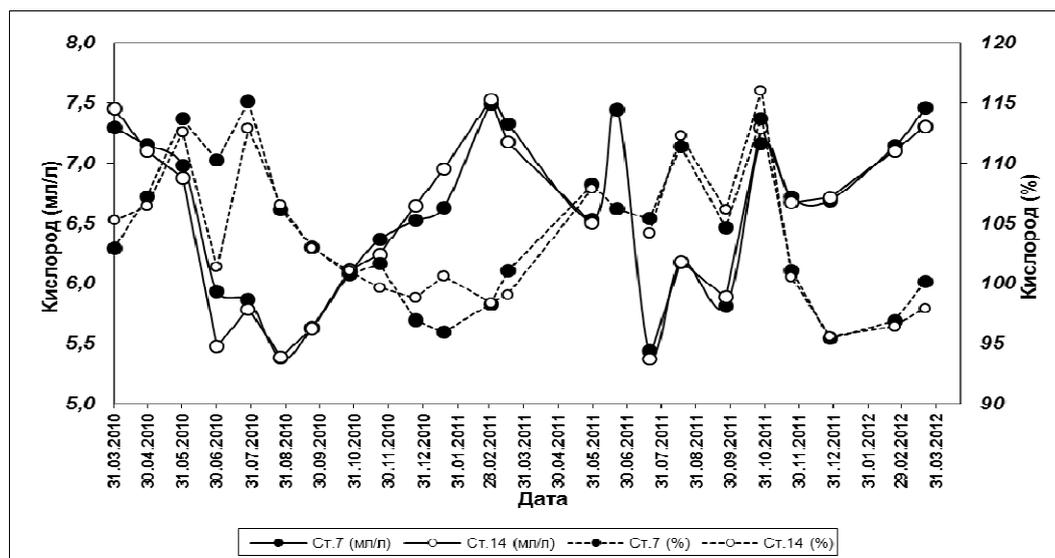


Рис. 4. Динамика концентраций растворенного кислорода в поверхностном слое.

Азот относится к числу важнейших биогенных элементов, поскольку концентрация его соединений определяет биологическую продуктивность водоёма. Соединения азота необходимы для питания фитопланктона, который усваивает их в процессе фотосинтеза. Минеральные формы азота представлены нитритным, нитратным и аммонийным азотом. На акватории фермы концентрации нитритов колебались в диапазоне от аналитического нуля до 2,9 мкг/л (рис. 5). Максимальные значения наблюдались в период повышенной динамической активности вод – с декабря по март.

Основными источниками поступления нитратного азота на исследуемую акваторию является зимнее конвективное перемешивание вод, а в летний гидрологический сезон – апвеллинги. Поэтому диапазон изменчивости концентраций нитратов в поверхностном слое моря характеризовался минимальными значениями (от 0 до 2,0 мкг/л) в тёплый период года и максимальными (от 8,0 до 12,0 мкг/л) – с декабря по март. Проявление апвеллингов различной интенсивности летом 2011 г. привело к повышению концентрации нитратов на акватории фермы до 4,3 мкг/л – в июне (при интенсивном апвеллинге) и до 2,0 мкг/л – в августе (при «скрытом»).

Сезонной динамики аммония в поверхностном слое фермы не наблюдалось. Пределы колебаний значений аммонийного азота составляли от 5,1–5,3 мкг/л – в марте и мае 2010 г., а также в феврале, июле и октябре 2011 г. до 30,3 мкг/л – в августе 2010 г. и 29,3 мкг/л – в декабре 2011 г. Повышение концентраций аммония в июне-августе 2011 г. проявилось лишь в незначительном их увеличении на фоне предшествующих значений.

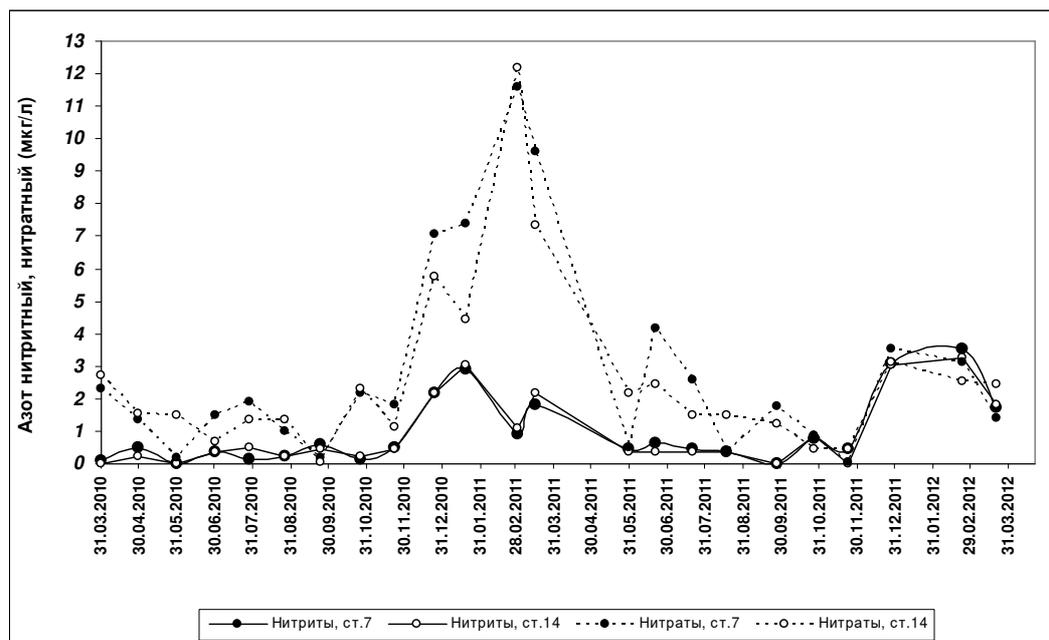


Рис. 5. Динамика концентраций нитритного и нитратного азота в поверхностном слое.

Внутригодовой ход органического азота также не имел ярко выраженной сезонной изменчивости. В период наблюдений содержание органического азота в поверхностном слое фермы колебалось в пределах 61,5 – 395,5 мкг/л. Незначительный максимум его содержания отмечался в весенне-летний период, а относительный минимум – осенью и зимой.

За весь период наблюдений концентрации минерального фосфора колебались в пределах от 2,0 до 10,5 мкг/л и не имели ярко выраженного сезонного хода. Только активизация стонно-нагонных процессов в июне–августе 2011 г. привела к кратковременному повышению содержания фосфатов с 3,0 до 8,5 мкг/л. Следует отметить, что наблюдаемые концентрации фосфатов в поверхностном слое моря свидетельствуют об отсутствии случаев их дефицита даже в периоды весенней и осенней вегетации фитопланктона. Этот факт подтверждает заключение о высокой динамической активности района, способствующей обогащению акватории фермы фосфатами в течение всего календарного года.

В период исследований концентрация органического фосфора в поверхностном слое изменялась от 4,0 до 17,9 мкг/л. И, хотя минимальные значения органического фосфора отмечались в холодный период года, максимальные – не имели ярко выраженной сезонной динамики. Лишь в период апвеллинга в июне 2011 г. концентрации органического фосфора резко увеличились до значений, близких к экстремально высоким за весь период наблюдений.

Отсутствие прямого влияния речного стока на формирование гидрохимической структуры вод в исследуемом районе определило относительно невысокие концентрации кремния. По этой причине его сезонное распределение характеризовалось в основном активностью вертикальных движений и потреблением кремния диатомовыми водорослями. Исходя из этого, максимальные концентрации кремния (143,8 мкг/л) наблюдались зимой и ранней весной, а минимальные (4,6 мкг/л) – в летний сезон года, вследствие интенсивного развития диатомовых водорослей (рис. 6).

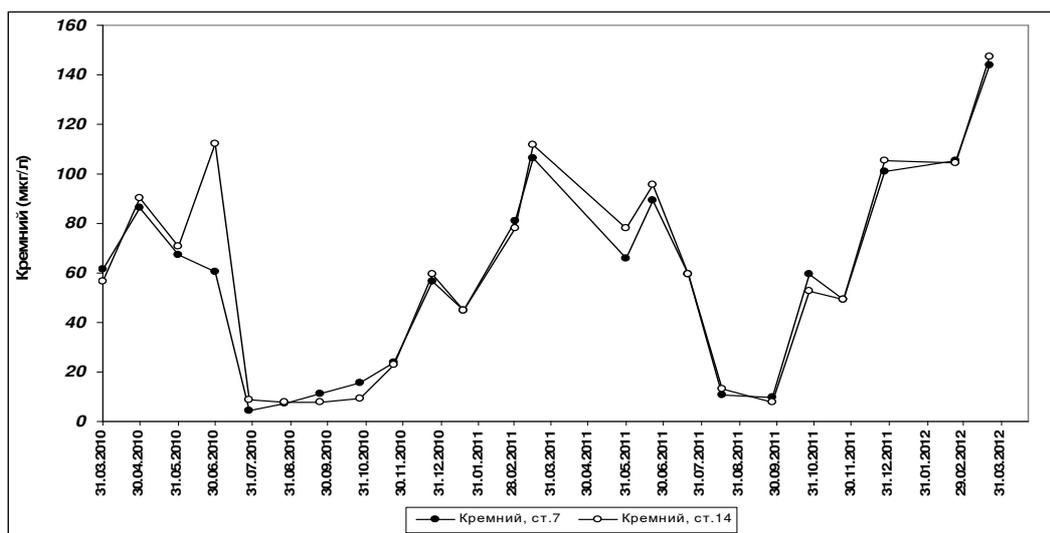


Рис. 6. Динамика концентрации кремния в поверхностном слое.

Наблюдаемое в июне 2010 г. увеличение концентрации кремния до 118 мкг/л могло являться следствием поступления распреснённых азовоморских вод, отмеченное по пониженным значениям солёности. Резкое увеличение концентрации кремния до 90 мкг/л в конце июня 2011 г. было связано с его поступлением из придонных горизонтов в верхние слои моря при интенсивном апвеллинге. С другой стороны, августовский апвеллинг не привёл к аналогичному результату, поскольку носил «скрытый» характер.

Фитопланктон. За период наблюдений в районе мидийно-устричной фермы было обнаружено 168 видов и разновидностей микроводорослей, относящихся к 85 родам и 9 отделам. Наибольшим количеством видов представлены динофитовые (75) и диатомовые (59 видов) водоросли, значительно меньше встречено гаптофитовых (20 видов). Зелёные водоросли представлены 5, цианобактерии – 4, криптофитовые – 3 видами. В исследуемый период суммарная численность фитопланктона на ферме изменялась в пределах 25 – 3541 млн кл·м⁻³, а биомасса – от 19 до 1070 мг·м⁻³ (рис. 7). Максимальные значения численности зафиксированы в апреле 2010 г. и июне 2011 г., а биомассы – в июне–июле 2010 г., в июне и августе

2011 г. Наибольшего количественного развития достигали диатомовые, золотистые водоросли и цианобактерии.

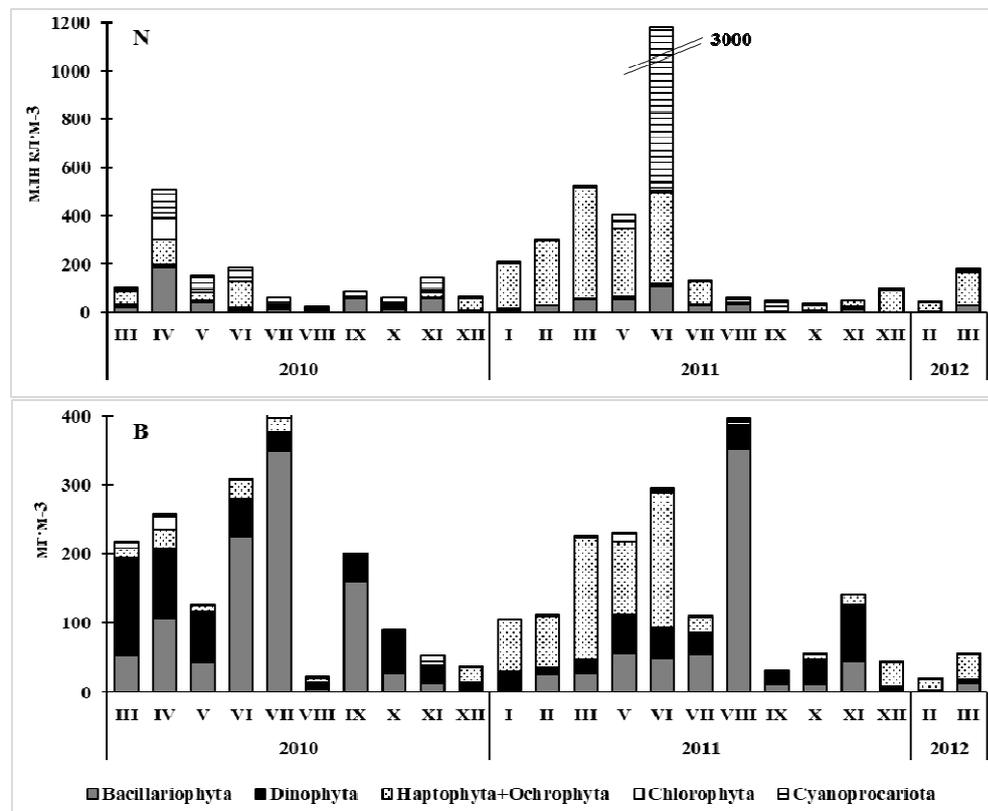


Рис.7. Динамика численности (N, млн кл·м⁻³) и биомассы (B, мг·м⁻³) основных таксономических групп фитопланктона.

Начало исследований на акватории фермы в конце марта 2010 г. совпало с окончанием зимнего гидрологического сезона – одного из наиболее теплых за многолетний период наблюдений [12, 13]. Интенсивный прогрев поверхности моря начался в середине апреля. В конце месяца температура воды достигла 12,7°C, что почти на 3°C превысило среднемноголетние значения [12]. На этом фоне отмечен максимум развития фитопланктона – до 500 млн кл·м⁻³. В составе фитопланктона преобладали мелкоклеточные диатомовые общей численностью до 200 млн кл·м⁻³: *Skeletonema constatum*, *Pseudo-nitzschia delicatissima*, а также представители рода *Chaetoceros spp.* В значительном количестве (до 50 млн кл·м⁻³) присутствовали кокколитофориды *Emiliana huxley*. Мелкоклеточные *S. constatum* и *E. huxley* являются ценными кормовыми объектами мидий и устриц, а виды рода *Chaetoceros spp.* не представляют пищевой ценности для моллюсков из-за очень длинных щетинок. В придонном слое отмечено большое количество бентосных диатомей, которые единично встречались и в поверхностном слое, что свидетельствует об

активном вертикальном перемешивании вод. В мае вертикальная термическая стратификация приобрела «классическую» структура со сформировавшимся верхним квазиоднородным слоем толщиной до 5 м и расположенным ниже сезонного термоклина, упирающимся в дно [13]. Ослабление вертикального обмена обусловило ограничение поступления биогенов к поверхности и снижение количественных показателей фитопланктона до 150 млн кл·м⁻³.

Иная картина наблюдалась в 2011 г. На фоне запаздывания процесса прогрева поверхностных вод (по данным [10] поверхностные воды в б. Ласпи в конце апреля прогрелись лишь до 10°C) пик развития фитопланктона был сдвинут на май (до 1050 млн кл·м⁻³). В это время численность *E. huxley* достигала максимальных за период наблюдений значений (850 млн кл·м⁻³).

Летние гидрологические сезоны 2010 и 2011 гг. отличались по видовому составу и количественным показателям фитопланктона. С конца мая по август 2010 г. на фоне интенсивного прогрева толщи вод и недостатке минерального питания численность фитопланктона снижалась до минимальных значений (рис. 7). Всё лето 2010 г. по биомассе доминировала крупноклеточная диатомовая водоросль *Pseudosolenia calcar-avis* (в июле до 75-94% от суммарной биомассы). Обычно *P. calcar-avis* в массе развивается в августе–сентябре при максимальном прогреве поверхностных вод с развитым ВКС, однако в аномально теплом 2010 г. он появился уже в конце мая. Этот вид не является кормовым для культивируемых моллюсков из-за больших размеров (диаметр клеток до 1200 мкм), а его развитие в районе марихозияства снижало пищевую ценность живой составляющей взвешенного вещества. Однако, наряду с недоступными для питания моллюсков видами, развивались мелкие диатомовые, динофитовые и золотистые, являющиеся ценным кормом [1]. Типичная для состава фитопланктона в мае–июне *E. huxley* встречалась единично.

В июне 2011 г. при развитии интенсивного апвеллинга отмечены повышенные концентрации органического вещества на поверхности моря и, как следствие, численность фитопланктона резко возросла, достигая 2–3 млрд кл·м⁻³ на поверхности и 28 млрд кл·м⁻³ у дна. При этом 83–98 % от суммарной численности составили мелкие цианобактерии рода *Microcystis* (диаметр клеток 2-3 мкм), которые при отмирании могут выделять биотоксины [13, 15]. Продолжилось развитие *E. huxley*, однако, ее численность упала до 350 млн кл·м⁻³. В составе фитопланктона появились холодолюбивая диатомовая водоросль *Talassionema nitzschioides*, бентосные диатомовые родов *Licmophora* и *Striatella* а также динофитовые родов *Ceratium* и *Dinophysis*. Токсичные динофитовые водоросли рода *Dinophysis* являются наиболее опасными для культивируемых моллюсков уже при концентрации 200 кл·л⁻¹ [16]. В июне 2011 г. численность *Dinophysis acuminata* (токсин DSP) составила 240 кл·л⁻¹.

В июле–августе 2011 гг. на фоне активного прогрева поверхностных вод и восстановления устойчивой стратификации после июньского апвеллинга численность фитопланктона понизилась до 50–150 млн кл·м⁻³. В планктоне появились крупноклеточная *P. calcar-avis*, доминирующая по биомассе в июле и, особенно, в августе (до 0,5 г·м⁻³ или 80% от общей биомассы). Немногочисленную

группу кормовых видов фитопланктона составляли мелкоклеточные динофитовые *Gymnodinium kovalevski*, *G. wulfii*, *G. fusiforme*, а также *E. huxley*.

В осенний период численность фитопланктона оставалась низкой (до 110 млн кл·м⁻³). В сентябре 2010 г. на смену *P. calcar-avis* пришли диатомовые рода *Pseudonitzschia spp.* и крупноклеточная *Proboscia alata*. В октябре–ноябре 2010 г. отмечено значительное количество колониальной диатомовой водоросли – вселенца – *Chaetoceros tortissimus*. В сентябре 2011 г. в планктоне доминировали по численности цианобактерии и зелёные водоросли, а по биомассе – динофитовые, доступные по размерам для питания моллюсков. В октябре–ноябре по численности и биомассе доминировали мелкоклеточные динофитовые (диаметр клеток 4–50 мкм), а в фитопланктоне вновь появилась *E. huxley*. Это формировало благоприятную кормовую базу для культивируемых моллюсков. Продолжала развитие *P. alata*. С октября 2011 г. появилась холодолюбивая мелкоклеточная диатомея *S. costatum*.

Зимний период 2010–2011 гг. характеризовался доминированием в фитопланктоне кокколитофориды *E. huxley*. Декабрь 2010 г. отличался не только снижением общей численности и биомассы фитопланктона, но и уменьшением его видового разнообразия. В январе 2011 г. отмечалось увеличение количественных показателей фитопланктона. Наряду с кокколитофоридами, существенный вклад в суммарную численность вносили силикафлагелляты *Octactis octonaria*, *Dictyocha speculum*. В феврале 2011 г. при повышении концентрации нитратов в результате зимнего конвективного перемешивания увеличилась численность *E. huxley*. В феврале–марте 2012 г. при минимальных для этого периода значениях температуры (6,3–7,6°C) отмечены более низкие значения численности (до 70 млн кл·м⁻³) и биомассы (до 26 мг·м⁻³) микроводорослей.

Для уточнения пищевого спектра культивируемых моллюсков был выполнен анализ содержимого их желудков, а также фекальных пеллет и псевдофекалий. Состав содержимого желудков мидий и устриц соответствовал таксономическому составу фитопланктона в районе фермы. Более 80% клеток в желудках мидий и устриц на протяжении двухлетнего цикла составляли динофитовые водоросли: *Prorocentrum micans*, *P. cordatum*, *P. compressum*, *Scrippsiella trochoidea*. Следует отметить, что эти виды обычно немногочисленны, а иногда и единичны в суммарном фитопланктоне. Постоянно встречалась в пищевом комке золотистая водоросль *E. huxley*. Наряду с клетками фитопланктона, в желудках круглогодично присутствовали зоопланктонные организмы (размером до 200 мкм), личинки двустворчатых моллюсков. При наличии в планктоне не кормового вида – крупноклеточной диатомовой *P. calcar-avis*, в желудки моллюсков попадали фрагменты панцирей ее клеток. С января по март 2011 г. при максимальной численности фитопланктона желудки мидий и устриц были «набиты» пищей (до 2500 тыс. кл. микроводорослей на одного моллюска). Многие из встречаемых в желудках микроводорослей относятся к потенциально опасным, однако за 2010 – 2011 гг. эти виды не вызвали массового «цветения» в районе исследования. Так, в июне 2011 г. в пищевом комке мидий отмечено высокое количество потенциально ядовитой динофитовой водоросли *D. acuminata* – 80–100 кл/1 экз. моллюска.

Недостаток доступного корма был отмечен в июле 2010 г. и 2011 г. при низкой суммарной численности фитопланктона с доминированием *P. calcar-avis*. В этот период повышение температуры морской воды выше 26°C приводило к снижению концентрации кислорода, что негативно влияло на фильтрационную активность моллюсков. При этом в пищевом комке моллюсков обнаружены единичные клетки *P. micans* и фрагменты *P. calcar-avis*.

Известно [1], что моллюски отфильтровывают огромное количество взвеси, значительно превышающее по объему их суточные рационы, сортируя при этом частицы по размерам и пищевой ценности. Несъедобные (крупные и минеральные) частицы взвеси перемещаются мимо рта, формируются в так называемые псевдофекалии и, минуя кишечник, выводятся наружу. Неусвоенные водоросли выводятся живыми в составе фекалий. Псевдофекалии моллюски формировали на протяжении всего периода исследований. В их составе в значительных количествах обнаружены пенистые формы диатомовых водорослей, колониальные крупно- и мелкоклеточные диатомовые, мелкие зеленые водоросли и, единично, крупные клетки динофитовых водорослей. В фекалиях моллюсков отмечены те же виды, что и в содержимом желудков, а также фрагменты зоопланктонных организмов, большое количество цианобактерий и жгутиковых водорослей. Многие из указанных видов водорослей были живыми и сохраняли подвижность.

Таким образом, несмотря на значительную сезонную и межгодовую изменчивость температуры воды и содержания биогенов, кормовая база была благоприятна для культивирования моллюсков. В составе фитопланктона постоянно вегетировали виды микроводорослей, доступные для питания и ценные в пищевом отношении. В результате, мидии и устрицы в течение всего периода наблюдений не испытывали дефицита корма.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

1. За период наблюдений в районе мидийно-устричной фермы обнаружено 168 видов и разновидностей микроводорослей, относящихся к 85 родам и 9 отделам. По численности и биомассе доминировали динофитовые, гаптофитовые и мелкоклеточные диатомовые водоросли – доступные для питания мидий и устриц. Максимальные значения численности зафиксированы в апреле 2010 г. и июне 2011 г., а биомассы – в июне–июле 2010 г., в июне и августе 2011 г. Наибольшего количественного развития в эти периоды достигали диатомовые, золотистые водоросли и цианобактерии.
2. Анализ содержимого желудков мидий и устриц показал, что кормовые условия в акватории морской фермы благоприятны для роста и развития моллюсков. Состав содержимого желудков мидий и устриц соответствовал таксономическому составу фитопланктона в районе фермы. В пищевом комке более 80% клеток составляли динофитовые водоросли, постоянно присутствовала золотистая водоросль *E. huxley* – ценный кормовой объект. Недостаток доступного корма был отмечен в июле 2010 и 2011 гг. при низкой

- суммарной численности фитопланктона с доминированием *P. calcar-avis* и температуре морской воды выше 26°C.
3. Межгодовые отличия в сезонном ходе параметров гидролого-гидрохимического режима определили изменчивость структуры фитопланктона, особенно в контрастные летние сезоны 2010 и 2011 гг. При экстремально высоких температурах в июле-августе 2010 г. на фоне общего снижения численности фитопланктона отмечено относительное увеличение биомассы некормовых видов крупноклеточных диатомовых микроводорослей. Понижение температуры воды в июне 2011 г. в результате развития апвеллинга привело к росту численности фитопланктона при доминировании мелких цианобактерий рода *Microcystis* и появлению динофитовых рода *Dinophysis* – потенциально опасных для человека при потреблении этих водорослей выращиваемыми моллюсками.
 4. Параметры гидрологического режима вод на акватории мидийно-устричной фермы в 2010-2012 гг. соответствовали тенденции «глобального потепления» прибрежных вод для районов ЮБК. 2010 г. характеризовался как год с экстремальным прогревом поверхностных вод за всю историю наблюдений и отсутствием проявления прибрежных апвеллингов. Внутригодовой ход температуры в 2011 г. был близок к среднемуголетнему, а летний период отличался активизацией сгонно-нагонных процессов.
 5. Сезонная изменчивость гидрохимических характеристик соответствовала среднемуголетним для района ЮБК. Хорошая аэрация вод, достаточное количество биогенных элементов, отсутствие явных признаков антропогенного пресса способствовало формированию устойчивой кормовой базы культивируемых моллюсков.

Список литературы

1. Марикультура мидий на Чёрном море / [под ред. В. Н. Иванова]. – Севастополь: ЭКОСИ-Гидрофизика, 2007. – 314 с.
2. Сеничева М. И. Характеристика фитопланктона как объекта питания *Mytilus galloprovincialis* Lam. в районе марихозяйства бухты Ласпи / М. И. Сеничева // Экология моря. – 1990. – Вып. 36. – С. 7–15.
3. Куфтаркова Е. А. Оценка кормовых возможностей марихозяйства по содержанию биогенных веществ / Е. А. Куфтаркова, М. И. Сеничева, А. А. Субботин, А. С. Поляков // Экологическая безопасность прибрежной и шельфовой зон и комплексное использование ресурсов шельфа Вып: 20. – 2009. – С. 262–274.
4. Методические указания № 30. – М.: Гидрометеиздат, 1966. – 39 с.
5. Методы гидрохимических исследований основных биогенных элементов. – М.: ВНИРО, 1988. – 119 с.
6. Боровская Р. В. Апвеллинг в Балаклавской бухте и прилегающих акваториях Чёрного моря на базе спутниковых данных / Р. В. Боровская, П. Д. Ломакин, М. А. Попов // Экологическая безопасность прибрежной и шельфовой зон и комплексные исследования ресурсов шельфа. – 2009. – Вып. 20. – С. 171–179.
7. Ильин Ю. П. Гидрометеорологические условия морей Украины. Т. 2: Чёрное море. / Ю. П. Ильин, Л. Н. Репетин, В. Н. Белокопытов [и др.]. – Севастополь: ЭКОСИ Гидрофизика, 2012. – 421 с.
8. Карнаушенко Н. Н. Основные особенности изменчивости атмосферных процессов и полей прибрежной зоны Чёрного моря у западного и юго-западного побережья Крыма на временных

- масштабах от межсезонных до многолетних / Н. Н. Карнаушенко, А. Е. Погребной // Экологическая безопасность прибрежной и шельфовой зон и комплексные исследования ресурсов шельфа. – 2003. – Вып.2 (7). – С. 162–176.
9. Куклин А. К. Экстремальные значения температуры воздуха и морской воды в прибрежной зоне Южного берега Крыма / А. К. Куклин, Н. Я. Куклина, О. А. Шабалина, С. А. Майборода // Экологическая безопасность прибрежной и шельфовой зон и комплексные исследования ресурсов шельфа. – 2012. – Вып. 26 (1). – С. 284–290.
 10. Щуров С. В. Исследование апвеллингов в районе мидийной фермы в бухте Ласпи / С. В. Щуров, А. А. Субботин, О. А. Трощенко, Т. А. Богданова // Современные рыбохозяйственные и экологические проблемы Азово-Черноморского региона: материалы VIII Международной конференции. – Керчь: ЮгНИРО, 2013. – С. 157–163.
 11. Михайлова Э. Н. Пространственно-временная изменчивость характеристик апвеллинга в северо-западной части Чёрного моря и у побережья Крыма в 2005-2008 гг. / Э. Н. Михайлова, М. А. Музылёва, А. Б. Полонский // Экологическая безопасность прибрежной и шельфовой зон и комплексные исследования ресурсов шельфа. – 2009. – Вып. 20. – С. 160–170.
 12. Трощенко О. А. Двухлетний цикл наблюдений за термохалинным режимом на мидийно-устричной ферме в районе Кацивели (Чёрное море) / О. А. Трощенко, А. А. Субботин, С. В. Щуров [и др.] // Матер. VIII междунар. конф. «Современные рыбохозяйственные и экологические проблемы Азово-Черноморского региона». – Керчь: ЮгНИРО, 2012. – С. 152–156.
 13. Трощенко О. А. Результаты комплексных экологических исследований на акватории мидийно-устричной фермы (Голубой залив, Крым, Чёрное море) / О. А. Трощенко, Куфтаркова Е. А., Лисицкая Е. В. [и др.] // Экологическая безопасность прибрежной и шельфовой зон и комплексное использование ресурсов шельфа. – 2012. – Вып 26, Часть 1. – С. 291–309.
 14. Стоник В. А. Морские токсины: химические и биологические аспекты изучения / В. А. Стоник, И. В. Стоник // Успехи химии. – 2010. – 79 (5). – с. 442 – 465.
 15. Oberholster P. J. *Microcystis aeruginosa*: source of toxic microcystins in drinking water / P. J. Oberholster, A-M. Botha, J. U. Grobbelaar // African Journal of Biotechnology. – 2004. – Vol. 3, No 3. – P. 159–168.
 16. Холодов В. И. Выращивание мидий и устриц в Чёрном море / В. И. Холодов, А. В. Пиркова, Л. В. Ладыгина. – Воронеж: ООО «ИЗДАТ-ПРИНТ», 2017. – 508 с.

VARIABILITY OF FOOD RESERVE OF BIVALVES IN THE TWO-YEAR GROWING CYCLE ON THE MUSSEL-OYSTER FARM (BLACK SEA, BLUE GULF)

Pospelova N. V., Troshchenko O. A., Subbotin A. A.

*A.O. Kovalevsky Institute of Marine Biological Research RAS, Sevastopol, Russian Federation
E-mail: nypospelova@mail.ru*

According to monthly complex observations during the two-year cycle (March 2010 - March 2012) in the region of the location of the mussel-oyster farm, the variability of the state of the phytoplankton community, as the basis of the food reserve of farmed mollusks, is considered on the background of different hydrological and hydrochemical conditions.

The parameters of the hydrological regime of waters in the mussel-oyster farm in 2010–2012 corresponded to trend of “global warming” of coastal waters for South Coast of Crimea. It is shown that 2010 was characterized as a year with extreme warming of surface waters and the absence of coastal upwelling.

The intra-annual course of temperature in 2011 was similar to the average year-long course, and the summer period was characterized by the activation of wind-surges processes.

In the mussel-oyster farm area, 168 species and varieties of microalgae were found. Dinoflagellate, haptophyte and small-cell diatom algae - available for feeding mussels and oysters, dominated in abundance and biomass. The dependence of the species and quantitative composition of phytoplankton on the parameters of the hydrological seasons, primarily the temperature regime and the nutrient content, was revealed. At extremely high temperatures in July-August 2010, against the background of a general decline in phytoplankton abundance, a relative increase in the biomass of non-forage species of large-cell diatom was noted. The decrease in water temperature in June 2011 as a result of the development of upwelling led to an increase in the phytoplankton abundance, especially cyanobacteria of the *Microcystis* genus and dinophytes of the *Dinophysis* genus. *Dinophysis* spp. are potentially dangerous for humans consuming farmed mollusks.

Analysis of the stomach contents of mussels and oysters showed that feeding conditions in the marine farm waters are favorable for the growth and development of bivalves. The composition of the stomachs contents of mussels and oysters corresponded to the taxonomic composition of phytoplankton in the farm water. Dinoflagellates accounted for more than 80% of the cells in the food lump. The *E. huxley*, a valuable food object, was constantly present in the stomach.

Good aeration of water, a sufficient number of biogenic elements, the absence of obvious signs of anthropogenic pressure promoted to the formation of a sustainable food supply of cultured mollusks.

Keywords: thermohaline structure, seasonal thermocline, hydrological regime, biogenic elements, phytoplankton, food spectrum.

References

1. *Mariculture of mussels on the Black Sea* [ed. V.N. Ivanov], 314 (ECOSY-Hydrophysics, Sevastopol, 2007).
2. Senicheva M.I. Characteristics of phytoplankton as a food object *Mytilus galloprovincialis* Lam. in the area of the marina farm of the bay Laspi. *Ecology of the sea*, 36, 7 (1990).
3. Kuftarkova E.A., Senicheva M.I., Subbotin A.A., Polyakov A.S. Evaluation of the feeding capacities of the marijuana in terms of the content of nutrients. *Ecological safety of the coastal and shelf zones and comprehensive investigations of the resources of the shelf*, 20, 262 (2009).
4. *Methodical Instructions*, 30, 39 (Gidrometeoizdat, Moscow, 1966).
5. *Methods of hydrochemical studies of basic biogenic elements*, 119 (VNIRO, Moscow, 1988).
6. Borovskaya R.V., Lomakin P.D., Popov M.A. Upwelling in Balaklava bay and adjacent Black Sea areas on the of satellite data basis, *Ecological safety of the coastal and shelf zones and comprehensive investigations of the resources of the shelf*, 20, 171 (2009).
7. Ilyin Yu., Repetin L.N., Belokopytov V. N., Goryachkin Yu., Dyakov N.N., Kubryakov A. A., Stanichny S. *Hydrometeorological conditions of the Ukrainian seas. The Black Sea*, 2, 421 (ECOSY Hydrophysics, Sevastopol, 2012).
8. Karnausenko N.N., Pogrebnoi A.E. The main features of the variability of atmospheric processes and fields of the coastal zone of the Black Sea at the western and south-western coast of the Crimea on time scales from day to day perennial. *Ecological safety of the coastal and shelf zones and comprehensive investigations of the resources of the shelf*, 2 (7), 162 (2003).

9. Kuklin A.K., Kuklina N. Ya., Shabalina O.A., Maiboroda S.A. Extreme values of air and sea water temperature in the coastal zone of the Southern coast of the Crimea. *Ecological safety of the coastal and shelf zones and comprehensive investigations of the resources of the shelf*, **26** (1), 284 (2012).
10. Shchurov S.V., Subbotin A.A., Troshchenko O.A., Bogdanova T.A. Study of upwellings in the area of the mussel farm in the Laspi Bay (the Black Sea). *Proceedings of VIII International Conference "Modern fishery and ecological problems of the Azov-Black Sea region"* (YugNIRO, Kerch, 2013), p. 157.
11. Mikhailova E.N. Muzylyova M.A., Polonsky A.B. Spatio-temporal variability of upwelling characteristics in the northwestern part of the Black Sea and off the coast of the Crimea in 2005-2008, *Ecological safety of the coastal and shelf zones and comprehensive investigations of the resources of the shelf*, **20**, 160 (2009).
12. Troshchenko O.A., Subbotin A.A., Shchurov S.V., Eremin I.Yu. Two-year cycle of the thermohaline regime observations on the mussel-oyster farm in the Katsiveli area (the Black Sea). *Proceedings of VIII International Conference "Modern fisheries and ecological problems of the Azov-Black Sea region"* (YugNIRO, Kerch, 2013), p. 152.
13. Troshchenko O.A., Kuftarkova E.A., Lisitskaya E.V. Pospelova N.V., Rodionova N.Yu., Subbotin A.A., Eremin I.Yu. The results of complex ecological studies in the water area of the mussel-oyster farm (the Blue Gulf, Crimea, the Black Sea). *Ecological safety of the coastal and shelf zones and comprehensive investigations of the resources of the shelf*, **26** (1), 291 (2012).
14. Stonik V.A. Stonik I.V. Marine toxins: chemical and biological research apes. *Uspekhi Khimii*, **79** (5), 442 (2010).
15. Oberholster P.J., Botha A-M., Grobbelaar J.U. *Microcystis aeruginosa*: source of toxic microcystins in drinking water. *African Journal of Biotechnology*. **3** (3), 159 (2004).
16. Kholodov V.I., Pirkova A.V., Ladygina L.V. *Cultivation of mussels and oysters in the Black Sea*, 508 (OOO "IZDAT-PRINT", Voronezh, 2017).

УДК 57.042; 612.15

АДАПТАЦИЯ ТКАНЕВОЙ МИКРОГЕМОДИНАМИКИ К УСЛОВИЯМ КОМБИНАЦИИ СТРЕССОВЫХ ФАКТОРОВ

Раваева М. Ю., Чуюн Е. Н.

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

Исследование посвящено выявлению особенностей адаптации тканевой микрогемодинамики животных к условиям комбинации стресс-факторов: хронического и острого стресса. Методом лазерной доплеровской флоуметрии установлено, что в процесс адаптации тканевой микроциркуляции к комбинированному действию стресс-факторов включаются все регуляторные механизмы, как сосудистого, так и внесосудистого генеза. Установлено, что предварительное воздействие хронического стресса модифицирует реакцию микроциркуляторного русла на действие острого стрессорирующего фактора, нивелируя развитие гиперемии, сопровождающей изолированное действие острого стресса.

Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ и Совета Министров Республики Крым в рамках научного проекта № 18-44-910008р_а.

Ключевые слова: микроциркуляция, хронический и острый стресс, лазерная доплеровская флоуметрия, адаптация.

ВВЕДЕНИЕ

Одной из актуальных проблем современной физиологии и медицины является исследование адаптационных процессов организма к действию факторов разной природы и интенсивности [1]. Причем, некоторые из этих факторов вызывают развитие в организме стресс-реакции. Известно, что стресс является одной из адаптационных реакций организма на воздействие факторов внешней среды, которая способствует, с одной стороны, приспособлению и выживанию организма в экстремальных условиях, а, с другой – развитию патологических изменений в организме [2].

Необходимо отметить, что в экспериментальных исследованиях, посвященных влиянию стресс-факторов на организм человека и животных, в виде стрессора используют, как правило, однофакторное воздействие. Однако в реальной жизни человек встречается с комбинированным стрессорным воздействием (эмоциональное, болевое, социальное давление, дефицит времени, информационная нагрузка и др.), которые протекают на фоне неблагоприятных сопутствующих факторов (снижение двигательной активности, экологических, температурных, техногенных и пр.). При этом комбинация стрессовых факторов часто меняется непрогнозируемым образом, что снижает или повышает адаптационные возможности организма, а в определенных условиях может привести к развитию

дистресса [3, 4]. В связи с этим очевидно, что для исследования адаптационных механизмов необходимо моделирование комбинированного стресса.

Одним из широко распространенных стресс-факторов является гипокинезия (ГК, ограничение подвижности), которая вызывает развитие хронического стресса и целый ряд специфических и неспецифических изменений в функционировании практически всех органов и систем организма [5, 6, 7].

Поскольку стресс является основой патогенеза депрессивного состояния, то в медико-биологических исследованиях часто используют различные модели депрессии, в частности, метод «выученной беспомощности», основанный на стрессирующем воздействии [8]. В обзоре М. N. Hill и соавторов [3] убедительно доказано, что нейробиологические изменения, вызванные умеренным стрессом у животных, соответствуют нарушениям, выявленным у пациентов с депрессивными расстройствами, что делает такой стресс адекватной экспериментальной моделью депрессивного состояния.

Необходимо отметить, что все стресс-ассоциированные заболевания человека связаны с нарушением деятельности и регуляции сердечно-сосудистой системы, в том числе ее важнейшего звена – системы микроциркуляции. Это обусловлено, с одной стороны, тем, что система микроциркуляции осуществляет транспорт крови и лимфы по микрососудам, перенос газов, воды, микро- и макромолекул через биологические барьеры (стенки капилляров) и движение веществ во внесосудистом пространстве, а, с другой – высокой степенью корреляций ее дисфункции с патогенезом многих заболеваний, таких как сахарный диабет, гипертония и ожирение [9-12].

В наших предыдущих исследованиях были выявлены перестройки в регуляторных механизмах микроциркуляции под влиянием изолированных хронического [6] и острого [13] стресса.

В тоже время изменение показателей тканевой микрогемодинамики при комбинации стрессорных факторов остается не изученным, что и явилось целью настоящего исследования.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Экспериментальная часть работы выполнялась на базе Центра коллективного пользования научным оборудованием «Экспериментальная физиология и биофизика» кафедры физиологии человека и животных и биофизики КФУ имени В.И. Вернадского.

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 целях, правилами лабораторной практики при проведении доклинических исследований [14].

Эксперимент проводился на 36 половозрелых крысах-самцах линии Wistar массой 190-210 грамм, которые содержались в условиях вивария с естественным 12-ти часовым свето-темновым режимом, содержащихся в стандартных условиях

вивария при температуре 18 – 22°C со свободным доступом к воде и полноценному гранулированному корму [15].

Для эксперимента были отобраны животные одинакового возраста, характеризующиеся средней двигательной активностью и низкой эмоциональностью в тесте открытого поля, которые составляют большинство в популяции [16]. Такой отбор позволил сформировать однородные группы животных с одинаковыми конституционными особенностями, одинаково реагирующих на действие различных факторов.

После предварительного отбора животных разделили на 3 группы по 12 особей в каждой. Животные, находящиеся в первой группе, являлись биологическим контролем и находились в обычных условиях вивария; животные второй группы подвергались изолированному действию острого стресса (10-12 сутки эксперимента). Животные третьей группы подвергались последовательному воздействию хронического гипокинетического (1-10 сутки эксперимента), а затем действию острого стресса (10-12 сутки).

Хронический стресс моделировался ограничением подвижности (гипокинезией, ГК), что достигалось помещением крыс в специальные кассеты из оргстекла (140 × 60 × 60 мм для каждой крысы), в которых они находились в течение 10-ти суток по 20 часов. В течение 4-х остальных часов проводили экспериментальные исследования, кормление и уход за животными. Известно, что ограничение подвижности крыс в клетках-пеналах вызывает стрессовую реакцию, интенсивность которой зависит от степени «жесткости» ГК [5]. Полученная экспериментальная модель позволила создать одинаковую степень «жесткости» ГК для всех животных, что является необходимым условием для получения сопоставимых результатов.

Классической экспериментальной моделью депрессивного состояния острого стресса, используемой как при изучении действия стресс-факторов с заранее известными свойствами, так и для выявления новых классов стресс-факторов [17], является тест «вынужденного плавания» Порсолта. Согласно теории Г. Селье (1960) [18], появление кровоизлияний и язв в слизистой желудочно-кишечного тракта, наряду с уменьшением тимуса и увеличением коры надпочечников являются основными неспецифическими признаками развития стресс-реакции – «триада изменений». В наших предыдущих исследованиях показано [19], что в данной модели стресса у 100 % животных спустя 1 час после действия стресс-фактора наблюдались ulcerогенные поражения, средняя площадь которых составила $26,2 \pm 4,32 \text{ мм}^2$.

Стресс-реакция была индуцирована в модели теста вынужденного плавания [20] в бассейне в течение 60 мин. За 24 часа до стрессорного воздействия животные всех групп были лишены пищи при свободном доступе к воде. Для увеличения стрессорного воздействия в бассейн (уровень воды – 30 см, температура воды +20°C) одновременно помещались 3-4 крысы. ЛДФ-метрию производили перед моделированием ОС и непосредственно после него.

ЛДФ-метрию проводили при помощи лазерного анализатора кровотока «Лазма-МЦ» во втором исполнении (производство НПП «Лазма», Россия) с использованием

программы LDF 2.20.0.507WL. Методика ЛДФ-метрии подробно описана в наших предыдущих исследованиях [13].

Статистическая обработка результатов проводилась с использованием пакета STATISTICA-8.0. Так как распределение значений переменных отличалось от нормального, то оценка достоверности межгрупповых различий проводилась с помощью непараметрического U-теста Манна-Уитни и непараметрического критерия Вилкоксона. Различия считались достоверными при $p \leq 0,05$.

Для оценки модифицирующего действия ГК стресса на изменение изученных показателей тканевой микрогемодинамики при ОС, использовался коэффициент модификации ($KM_{ГК}$), который вычислялся по формуле:

$$KM_{ГК} = (X_{ГК-ОС} - X_{ОС})/X_{ОС}, \quad (1)$$

где $X_{ГК-ОС}$ – значение изученного показателя в группе животных, которые до экспериментального воздействия ОС подвергались предварительному действию ГК;

$X_{ОС}$ – значение изученного показателя в группе животных, подвергнутых изолированному действию ОС.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Как показали результаты проведенного исследования, у животных контрольной группы в течение 13 суток исследования достоверных изменений неосцилляторных и осцилляторных показателей микроциркуляции (Мц) не происходило. В тоже время, у животных, находящихся в условиях экспериментальной хронической ГК, наблюдались изменения микроциркуляторных показателей, причем степень изменений зависела от продолжительности ГК (рис. 1, Б). Так, после суточного ограничения подвижности параметры микроциркуляции достоверно не изменялись, однако при увеличении продолжительности ГК происходило достоверное снижение практически всех показателей Мц. После 5 суток ограничения двигательной активности животных амплитуда эндотелиальных ритмов (Аэ) снизилась на 15,2 % ($p \leq 0,05$), нейрогенных ритмов (Ан) на 17 % ($p \leq 0,05$), миогенных ритмов (Ам) на 14,6 % ($p \leq 0,05$) по отношению к таковым в контрольной группе животных. Увеличение времени ГК до 10 суток привело к дальнейшему снижению амплитуд указанных ритмов: Аэ был ниже значений в контрольной группе на 19 % ($p \leq 0,05$), Ан – на 20 %, Ам – на 19 % ($p \leq 0,05$).

Поскольку известно, что амплитуды эндотелиального генеза (Аэ) синхронизированы с периодическим релизингом NO эндотелием сосудов [21], то снижение данного показателя свидетельствует об уменьшении метаболической активности эндотелия и уменьшение базального уровня секреции оксида азота (NO).

Нейрогенные колебания (Ан) связаны с симпатическими адренергическими влияниями на гладкие мышцы артериол и артериолярных участков артерио-веноулярных анастомозов [22, 23]. Снижение Ан свидетельствует о выраженной активации симпатических вазомоторных волокон, при этом симпатическая импульсация усиливается, приводя к увеличению нейрогенного компонента артериолярного тонуса и возрастанию жесткости сосудистой стенки.

Миогенные осцилляции (Ам) обусловлены пейсмекерной активностью прекапиллярных сфинктеров и прекапиллярных метартериол [24] и отражают колебания концентрации ионов Ca^{2+} через мембраны мышечных клеток [24, 25]. Следовательно, снижение Ам свидетельствует о повышении тонуса прекапилляров, обусловленного нарушением кальциевого трансмембранного обмена.

Кроме сосудистых компонентов регуляции Мц, после 5-ти и 10-ти суток гипокинетического стресса снижались и внесосудистые. Так, амплитуды дыхательных ритмов (Ад), которые связаны с дыхательной модуляцией веноулярного кровотока и с респираторными влияниями на вегетативное обеспечение деятельности сердца [24] снизились на 12 % ($p \leq 0,05$) – 9 % ($p \leq 0,05$), а сердечных ритмов (Ас), которые отражают перфузионное давление в микрососудах и обусловлены как сердечным выбросом, перепадами систолического и диастолического давления, так и влиянием посткапиллярного сопротивления [24], – на 16 % ($p \leq 0,05$) – 17,5% ($p \leq 0,05$) соответственно по сравнению с контролем. Следовательно, снижение данных показателей отражает уменьшение объема притока артериальной крови в микроциркуляторное русло со стороны магистральных сосудов, модулируемое пульсовой волной, и снижение кровенаполнения в веноулярном звене микроциркуляции, что приводит к развитию застойных явлений.

Снижение показателей активности сосудистых и внесосудистых компонентов регуляции отражалось в снижении интегральных показателей перфузии тканевого кровотока: ПМ на 16% ($p \leq 0,05$) – 40 % ($p \leq 0,05$); СКО – на 40 % ($p \leq 0,05$), а Кв – на 41 % ($p \leq 0,05$) – 33,4% ($p \leq 0,05$) по сравнению с таковыми у контрольных животных в 5 и 10 сутки исследования соответственно.

Поскольку известно, что ПМ отражает усредненную величину перфузии в капиллярах, артериолах и венах [22], СКО – среднюю модуляцию кровотока во всех частотных диапазонах, а Кв указывает на процентный вклад вазомоторного компонента в общую модуляцию тканевого кровотока [22], то можно заключить, что при ГК стрессе уменьшался кровоток в тканях.

Таким образом, 10-тисуточная ГК приводила к нарушению регуляции тканевой Мц на всех уровнях, что отражалось в развитии вазоконстрикции, нарушении притока и оттока крови и доминировании шунтового кровотока, уменьшении количества функционирующих капилляров. Данные изменения периферического микрокровоотока в резистивных и емкостных сосудах свидетельствуют, по видимому, о централизации кровообращения, при которой кровь, минуя нутритивный капиллярный путь, «сбрасывается» из артериол в вены. Это обеспечивает адекватный для стрессовых условий возврат крови к сердцу [26].

Поскольку десятисуточное ограничение подвижности животных приводит к развитию первой стадии стресса – реакции тревоги [5], то наблюдаемые в настоящем исследовании изменения микроциркуляции, возможно, оправданы с физиологической точки зрения, поскольку ведут к перераспределению кровотока, что способствует поддержанию оптимального кровоснабжения центральных регулирующих систем организма за счет менее чувствительной к гипоксии периферии.

Противоположная реакция МЦ развивалась на действие ОС, которая подробно описана в наших предыдущих исследованиях [13], где показано, что в процесс адаптации тканевой микроциркуляции к действию ОС включаются все регуляторные механизмы, как сосудистого (Аэ, Ам, Ан), так и внесосудистого (Ад и Ас) генеза (рис. 2, А). Так, спустя один час после действия стрессирующего фактора у животных наблюдалось достоверное увеличение всех показателей ЛДФ-метрии: Аэ – на 57 % ($p \leq 0,05$), Ан – на 57 % ($p \leq 0,05$), Ам – на 69 % ($p \leq 0,05$), Ад – на 25 % ($p \leq 0,05$), Ас – на 27 % ($p \leq 0,05$) по отношению к таковым показателям в контрольной группе животных, что указывает на развитие вазодилатации кожных микрососудов и, как следствие – увеличение перфузии тканей.

На фоне повышения амплитуд всех выделенных ритмов, наблюдался рост ПМ на 49 % ($p \leq 0,05$) относительно значений в контроле. Подобные изменения свидетельствуют о том, что реакция Мц на действие ОС проявляется в развитии гиперемии. Известно [22], что увеличение ПМ может быть связано как с ослаблением артериолярного сосудистого тонуса, которое приводит к увеличению объема крови в артериолах, так и с явлениями застоя крови в веноулярном звене. В пользу последнего свидетельствует как повышение Ад, так и снижение Кв (на 35 %; $p \leq 0,05$), характеризующего соотношение СКО (среднего квадратичное отклонение от среднего арифметического значения ПМ) к среднему уровню перфузии. Причем, снижение Кв, как правило, связано не только с ослаблением активных механизмов контроля, но и уменьшением энергетики колебательного процесса [22].

Таким образом, реакция Мц в первый час после моделирования ОС у животных выражалась в увеличении притока крови и нарушении венозного оттока.

Спустя сутки (24 часа) после действия стрессирующего фактора наблюдалось приближение практически всех показателей Мц к контрольным значениям, о чем свидетельствует отсутствие достоверных различий между данными показателями. При этом наблюдалось повышенное значение Кв, превышающее таковое в контрольной группе животных на 25 % ($p \leq 0,01$), что в сочетании с ПМ, находящимся в пределах нормы, отражает усиление активных механизмов контроля и возрастание энергетики колебательного процесса [22]. Однако спустя 48 часов после действия стрессирующего фактора все осцилляторные и неосцилляторные показатели вновь значительно превысили контрольные значения. Так, Аэ увеличился на 66 % ($p \leq 0,01$), Ан – на 41% ($p \leq 0,01$), Ам – на 50 % ($p \leq 0,01$), Ад – на 22% ($p \leq 0,05$), Ас – на 23%, ($p \leq 0,05$), а среди неосцилляторных показателей наблюдалось повышение ПМ на 73% ($p \leq 0,05$) относительно показателей в контрольной группе (рис. 1, А).

Следовательно, особенностью реакции тканевой микрогемодинамики животных к условиям острого стресса является определенный паттерн изменений: нутритивная гиперемия (через один час после действия стресс-фактора) сменяется нутритивной (через 24 часа после действия стресс-фактора) и вновь возвращается к нутритивной (через 48 часов после действия стресс-фактора).

Таким образом, в процесс адаптации Мц к действию стрессирующих факторов разной природы и продолжительности (ГК и ОС) включаются все регуляторные механизмы, как сосудистого (Аэ, Ам, Ан), так и внесосудистого (Ад и Ас) генеза.

При этом реакция Мц на действие ГК и ОС носит разнонаправленный характер: при ОС развивается вазодилатация, а при ГК – наоборот, вазоконстрикция.

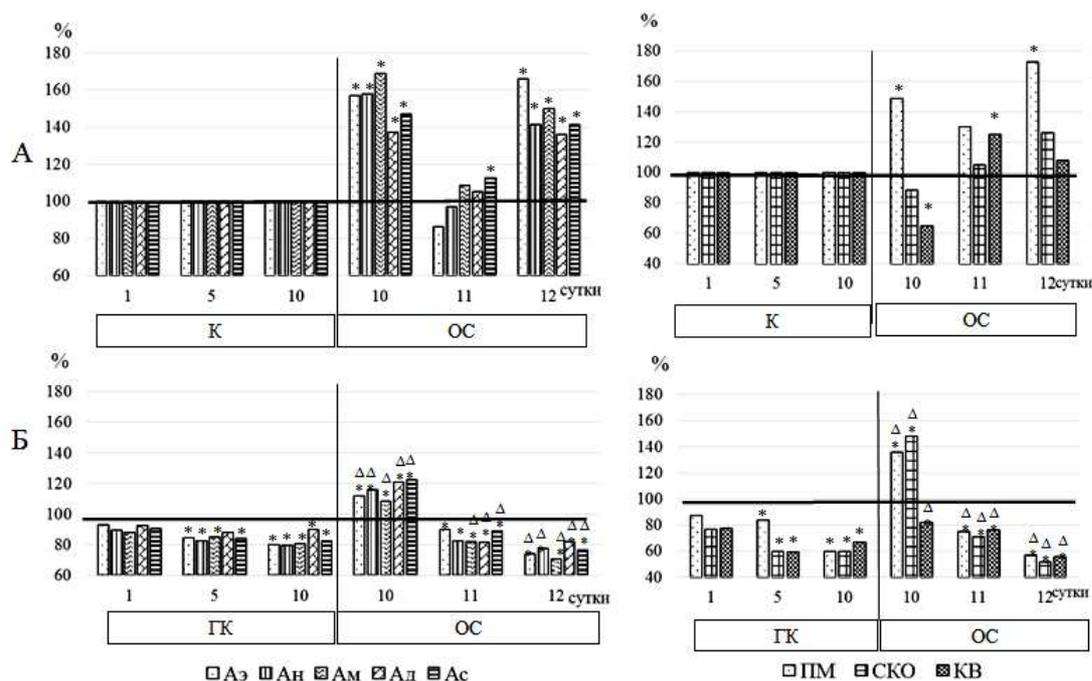


Рис. 1. Показатели микроциркуляции у животных экспериментальных групп при изолированном действии острого (А) и последовательного действия хронического и острого (Б) стресс-факторов.

Примечания: * - достоверность различий по сравнению с контролем, Δ - по сравнению с таковыми в группе ОС.

Вероятно, что такие разнонаправленные изменения регуляторных процессов капиллярного русла создают условия для адаптации микроциркуляторного кровотока к потребностям тканей в питательных веществах и удалению метаболитов в моделируемых стрессовых условиях.

Таким образом, исследование изолированного действия стресс-факторов разной природы и продолжительности на тканевую микрогемодинамику, несомненно, вносит определенный вклад в понимание процессов адаптации организма к действию стрессоров, однако не всегда отражает современные реалии, где на организм оказывают действие множество факторов различной природы и интенсивности, которые способны модифицировать реакции организма друг на друга. Поэтому следующим этапом исследования явилось выявление влияния комбинации стресс-факторов на организм.

Результаты настоящего исследования показали, что при последовательном действии хронического и острого стрессоров (рис. 1, Б), через 1 час после

экспериментального моделирования острого стресса у крыс, предварительно находящихся в условиях 10-тисуточного хронического стресса, наблюдалось достоверное увеличение осцилляторных и неосцилляторных показателей по сравнению с биологическим контролем: Аэ – на 12% ($p \leq 0,05$), Ан – на 16,6 % ($p \leq 0,05$), Ам – на 8,5 % ($p \leq 0,05$), Ад – на 21 % ($p \leq 0,05$), Ас – на 23 % ($p \leq 0,05$), ПМ – на 36 % ($p \leq 0,05$), СКО – на 47,8 % ($p \leq 0,05$), однако, КВ уменьшился на 18 % ($p \leq 0,05$).

Таким образом, у животных данной группы, предварительно подвергавшихся хроническому гипокинетическому стрессу, реакция Мц на действие острого стресса носила тот же характер, что и у крыс, которые до стрессорного воздействия оставались интактными: через 1 час развивалась вазодилатация, однако данный эффект был менее выражен. Так, в первый час после моделирования ОС в группе ГК-ОС по сравнению с таковыми в группе ОС, Аэ был меньше на 31,8 % ($p \leq 0,05$), Ан – на 35,7 % ($p \leq 0,05$), Ам – на 41,5 % ($p \leq 0,05$), Ад – на 9 % ($p \leq 0,05$), Ас – на 4%, ПМ – на 16 % ($p \leq 0,05$), а показатели СКО и КВ были достоверно выше таковых на 47,8 % ($p \leq 0,05$) и 14 % ($p \leq 0,05$) соответственно.

Через 24 часа после ОС у данной группы животных, предварительно подвергнутых 10-тисуточной ГК, наблюдалось снижение всех показателей МЦ, которое к 48 ч после действия ОС было выражено в еще большей степени. Так, Аэ снижался на 22 % ($p \leq 0,05$), Ан – на 19 % ($p \leq 0,05$), Ам – на 19,2 % ($p \leq 0,05$), Ад – на 18 % ($p \leq 0,05$), Ас – на 19 % ($p \leq 0,05$), ПМ – на 37% ($p \leq 0,05$), СКО – на 44 % ($p \leq 0,05$), показатель КВ снизился на 44 % ($p \leq 0,05$) по сравнению с таковыми показателями в контрольной группе животных. Причем, изученные показатели оказались значительно ниже таковых у животных, которые до ОС оставались интактными. Так, через 48 часов после действия ОС, Аэ был ниже на 56,8 % ($p \leq 0,05$), Ан – на 51,6 % ($p \leq 0,05$), Ам – на 50,9 % ($p \leq 0,05$), Ад – на 35,8 % ($p \leq 0,05$), Ас – на 46,5 % ($p \leq 0,05$), ПМ – на 65,1 % ($p \leq 0,05$), СКО – на 41,7 ($p \leq 0,05$) и КВ – на 42,5 % ($p \leq 0,05$) по сравнению с показателями, зарегистрированными в этот же период у животных в группе ОС.

Следовательно, у животных, предварительно подвергавшихся хроническому гипокинетическому стрессу, реакция Мц на действие острого стресса носила фазный характер: через 1 час развивалась вазодилатация, как и при изолированном действии ОС, однако данный эффект был менее выражен, а через 24 – 48 часов после действия ОС развивалась вазоконстрикция, тогда как изолированное действие ОС вызывало вазодилатацию.

Таким образом, предварительное воздействие ГК стресса модифицирует реакцию Мц на действие острого стрессирующего фактора, нивелируя развитие гиперемии, сопровождающей изолированное действие ОС. В пользу этого свидетельствует динамика коэффициента модификации микроциркуляторных показателей (рис. 2), значения которого постепенно увеличивались в отрицательной части графика, что свидетельствует об усилении эффекта модификации.

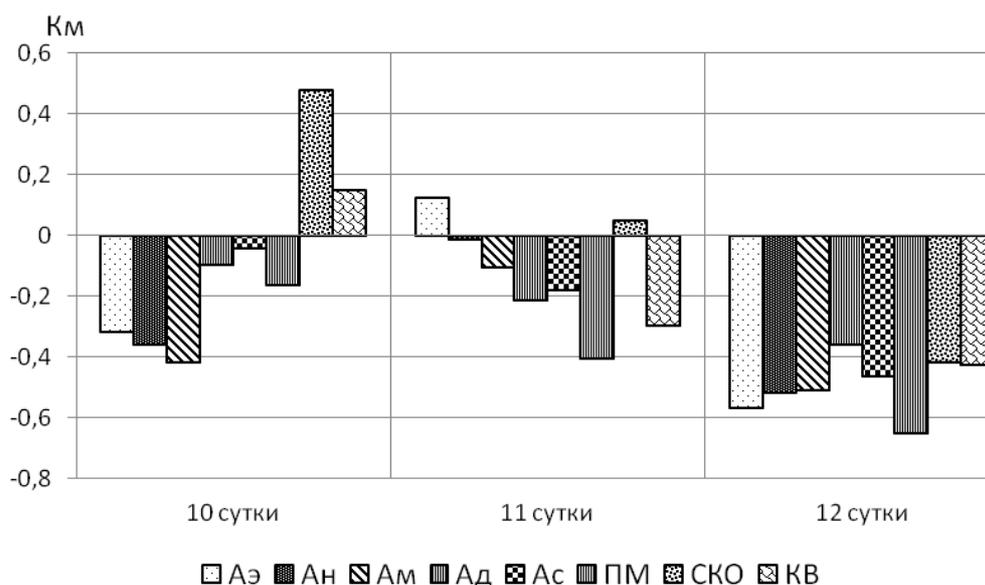


Рис. 2. Коэффициент модификации микроциркуляторных показателей у животных при последовательном действии хронического и острого стресса по отношению к таковым в группе животных острого стресса.

Следовательно, предварительное действие гипокинетического стресса нивелирует вазодилатацию, сопровождающую ОС и меняет стратегию адаптации Мц на действие острого стресс-фактора. Так, особенностью адаптации тканевой микрогемодинамики животных к условиям изолированного действия острого стресса является вазодилатация, приводящая к развитию гиперемии. Можно заключить, что адаптационная реакция Мц на изолированное действие ОС содержит некоторые «избыточные» компоненты, как, например, готовность Мц к резкому росту спроса на питательные вещества и кислород в виде развития гиперемии. Именно эта «избыточность», возможно, направлена на обеспечение адаптации к следующему повтору стимула и обеспечивает экономичность функционирующей системы, снизив таким образом «цену» адаптации. По существу, подобная реакция Мц может являться примером реализации стрессорной (резистентной) стратегии адаптации, направленной на повышение сопротивляемости (резистентности) к действию экстремального раздражителя и характеризуется активным противодействием неблагоприятным факторам внешней среды, максимизацией функций основных физиологических систем, и, в результате – сохранением гомеостаза "любой ценой" [27]. По мнению авторов [27], «главное достоинство стратегии резистентности – возможность даже в очень трудных условиях успешно решать жизненно важные задачи. Её очевидными недостатками являются неэкономичность и расточительность, а также патологические последствия при чрезмерной по силе и длительности стресс-реакции (болезни адаптации)».

В то же время, адаптация Мц к последовательному действию хронического и острого стрессоров проявляется в развитии вазодилатации в первый час после действия стресс-фактора, однако выраженной в меньшей степени, чем при изолированном ОС. По-видимому, это является оптимальным для развития адаптивного ответа Мц на последовательное действие стресс-факторов и свидетельствует о развитии перекрестной или кросс-адаптации [30]. Это означает, что адаптация к какому-либо стрессору, в частности к ГК, может повышать устойчивость организма к действию другого стресса, в данном случае к ОС, т.е. вызывать прямой защитный эффект, увеличивая устойчивость к действию других факторов.

Действительно, уменьшение выраженности вазодилатации, наблюдаемое в первый час после ОС, предотвращает перерастяжение и микроразрывы стенок сосудов микроциркуляторного русла, микро- и макрокровоизлияния в ткани, кровотечения (наружные и/или внутренние), которые могут сопровождать гиперемия, а развивающаяся вазоконстрикция обеспечивает адекватный для стрессовых условий возврат крови к сердцу путем централизации кровообращения, при которой кровь, минуя нутритивный капиллярный путь, «сбрасывается» из артериол в вены.

Данная реакция системы Мц уже через 24 часа сменяется постепенным нарастанием вазоконстрикции, еще больше усиливающейся к 12-м суткам исследования. Чрезмерная по своей напряженности и/или длительная по времени адаптация к определенному фактору, какое-то время протекая успешно, имеет, тем не менее, высокую «структурную цену» и, в конечном счете, приводит к функциональному истощению или гиперактивации систем, участвующих в адаптационном процессе, то есть к нарушению их взаимоотношений, а, следовательно, к патологической дезадаптации, что снижает функциональные возможности организма к действию других факторов внешней среды.

Следовательно, при развитии стресс-реакции на ограничение подвижности основные адаптивные эффекты трансформируются в повреждающие и могут стать основой стрессорных болезней.

Исходя из того, что стратегия толерантности может быть, как первичной и быть «другим выходом из безвыходной ситуации», так и вторичной «последним оборонительным рубежом» [27], с последующим истощением и развитием дезадаптации, то вероятно, что постепенное нарастание вазоконстрикции, наблюдаемое в настоящем исследовании, является переходом к вторичной стратегии толерантности, и связано с истощением адаптационного резерва и снижением адаптационного потенциала организма. Подобные результаты были получены и в исследованиях [29], которые показали, что «предварительная экспозиция хронического комбинированного стрессорного воздействия, по-видимому, приводит скорее к истощению способностей противостоять последующим стрессорным воздействиям... в тесте вынужденного плавания».

Действительно, исходя из классических представлений [30], стрессорная реакция проходит три стадии – тревоги, резистентности и истощения. В стадию тревоги, которая характерна для 10-тисуточной ГК [5], происходит перестройка

режима функционирования систем жизнеобеспечения на работу в экстремальных условиях, активация гомеостатической регуляции, мобилизация резервов, что обеспечивает увеличение устойчивости организма к воздействию, характерному для второй стадии – резистентности. Если чрезвычайное воздействие продолжается, то энергетические и пластические резервы расходуются, и поддержание функционирования организма осуществляется ценой деструкции собственных жизненно важных структур, при этом резистентность организма снижается и наступает третья стадия – истощения. Вероятно, что в условиях комбинации стрессорных факторов (последовательного действия хронического и ОС), использованной в настоящем исследовании, интенсивная мобилизация ресурсов при ГК истощается при предъявлении нового стимула в виде ОС, что приводит к прогрессивному уменьшению адаптационного потенциала организма, перестройке адаптационной стратегии.

Таким образом, использованный в настоящем исследовании методологический подход – комбинация стресс-факторов (длительный хронический и кратковременный острый) позволил проследить уникальность развития кросс-адаптации микроциркуляции к стрессорам разной природы и интенсивности и приблизить моделированные ситуации к естественным условиям современной жизни.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

1. Хронический стресс (10-тисуточная ГК) приводит к нарушению регуляции тканевой микроциркуляции, что отражается в развитии вазоконстрикции, нарушении притока и оттока крови, доминировании шунтового кровотока, уменьшении количества функционирующих капилляров.
2. Особенностью реакции тканевой микрогемодинамики животных к условиям острого стресса является определенный паттерн изменений: нутритивная гиперемия (через один час после действия стресс-фактора) сменяется нутритивной (через 24 часа после действия стресс-фактора) и вновь возвращается к нутритивной (через 48 часов после действия стресс-фактора).
3. Предварительное воздействие хронического стресса модифицирует реакцию микроциркуляции на действие острого стрессорного фактора, нивелируя развитие гиперемии, сопровождающей изолированное действие острого стресса, что проявляется в развитии вазодилатации, однако выраженной в меньшей степени, чем при изолированном остром стрессе, сменяющейся постепенным нарастанием вазоконстрикции.

Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ и Совета Министров Республики Крым в рамках научного проекта № 18-44-910008p_a.

Список литературы

1. Sikter A. New aspects in the pathomechanism of diseases of civilization, particularly psychosomatic disorders. Part 1. Theoretical background of a hypothesis / A. Sikter, Z. Rihmer, R. Guevara // *Neuropsychopharmacol Hung.* – 2017. – Vol. 19, No 2. – P. 95-105.

2. Lahelma E. Multiple roles and health among British and Finnish women: the influence of socioeconomic circumstances / E. Lahelma, S. Arber, K. Kivelä, E. Roos // *SocSci Med.* – 2002. – Vol. 54, No 5. – P. 727-40.
3. Hill M.N. Neurobiology of chronic mild stress: parallels to major depression / M.N. Hill, K.G. Hellemans, P. Verma, B.B. Gorzalka, J. Weinberg // *Neurosci. Biobehav. Rev.* – 2012. – Vol.36, No 9. – P. 2085-2117.
4. McEwen B.S. Physiology and neurobiology of stress and adaptation: Central role of the brain / B.S. McEwen, A. E. Mirsky // *Physiol. Rev.* – 2007. – Vol. 87, No 3. – P. 873- 904.
5. Коваленко Е.А. Гипокинезия / Е.А. Коваленко, Н.Н. Гуровский / М.: Медицина. 1980. – 280 с.
6. Чуян Е.Н. Механизмы вазопротекторного действия электромагнитного излучения крайне высокой частоты в условиях хронического гипокинетического стресса / Е.Н. Чуян, М.Ю. Раваева // *Биомедицинская радиоэлектроника.* – 2017. – № 3. – С. 55-65.
7. Чуян Е.Н. Гипокинетический стресс влияет на межполушарную асимметрию метаболических процессов мозга крыс / Чуян Е.Н., Раваева М.Ю. // *Образование и наука: современные тренды Коллективная монография. Сер. "Научно-методическая библиотека".* – 2016. – С. 38-49.
8. Porsolt, R.D. Depression: a new animal model sensitive to antidepressant treatments / R.D. Porsolt, M. Le Pinchon, M Jalfre. // *Nature.* – 1977. – Vol. 266. – P. 730-73.
9. Sikter A. New aspects in the pathomechanism of diseases of civilization, particularly psychosomatic disorders. Part 2. Chronic hypocapnia and hypercapnia in the medical practice / A. Sikter, Z. Rihmer, R. Guevara. // *Neuropsychopharmacol Hung.* – 2017. – Vol. 19, No 3. – P. 159-169.
10. Sikter A. New aspects in the pathomechanism of diseases of civilization, particularly psychosomatic disorders. Part 1. Theoretical background of a hypothesis / A. Sikter, Z. Rihmer, R. Guevara // *Neuropsychopharmacol Hung.* – 2017. – Vol. 19, No 2. – P. 95-105.
11. Lahelma E1. Multiple roles and health among British and Finnish women: the influence of socioeconomic circumstances / E. Lahelma, S. Arber, K. Kivelä, E. Roos // *Soc Sci Med.* – 2002. – Vol. 54, No 5. – P. 727-40.
12. Selthofer-Relatic K. Coronary Microcirculatory Dysfunction in Human Cardiomyopathies: A Pathologic and Pathophysiologic Review / K. Selthofer-Relatic, M. Mihalj, A. Kibel, A. Stupin, M. Stupin, I. Jukic, A. Koller, I. Drenjancevic // *Cardiol Rev.* – 2017. – Vol. 25, No 4. – P. 165-178.
13. Раваева М.Ю. Тканевая микрогемодинамика животных в условиях острого стресса / М.Ю. Раваева, Е.Н. Чуян, А.В. Пивоварчук, В.В. Колесник // *Ученые записки Крымского федерального университета имени В.И. Вернадского Биология. Химия.* – 2018. – Т.4(70), № 3. – С. 151–162.
14. ГОСТ Р-53434–2009 Принципы надлежащей лабораторной практики. – <http://internet-law.ru/gosts/gost/48600/>
15. ГОСТ 33215–2014. Руководство по содержанию и уходу за лабораторными животными. Правила оборудования помещений и организации процедур. – URL: www.internetlaw.ru/gosts/gost/61242/.
16. Чуян Е. Н. Влияние миллиметровых волн нетепловой интенсивности на развитие гипокинетического стресса у крыс с различными индивидуальными особенностями: Автореф. дис...канд. биол. наук / Е. Н. Чуян – Симферополь, 1992. – 25 с.
17. Overmier J.B. Prediction of individual vulnerability to stress-induced gastric ulcerations in rats: a factor analysis of selected behavioral and biological indices / JB. Overmier, R. Murison, TB. Johnsen // *PhysiolBehav.* – 1997. – Vol. 61, No 4. – P. 555-62.
18. Селье Г. Очерки об адапционном синдроме / Г.Селье – М.: Медгиз, 1960. – С.254-255.
19. Раваева М.Ю. Влияние электромагнитного излучения крайне высокой частоты на стрессорный язвеногенез / М.Ю. Раваева, Е.Н. Чуян, Т.В. Береговая // *Світ медицини та біології.* – 2013. – Т. 9. № 4-2 (42). – С. 90-93.
20. Porsolt R.D. Psychotropic screening procedures / R.D. Porsolt, R.A. McArthur, A. Lenegre // *Methods in Behavioral Pharmacology*, Ed. F. van Haaren, Elsevier. – 1993. – P. 2351.
21. Kvandal P. Regulation of human cutaneous circulation evaluated by laser Doppler flowmetry, iontophoresis, and spectral analysis: importance of nitric oxide and prostaglandines. / Kvandal P., Stefanovska A., Veber M. // *Microvascular Research.* – 2003. – P. 160-171.
22. Крупаткин, А. И. Лазерная доплеровская флоуметрия микроциркуляции крови: руководство для врачей. / А. И. Крупаткин, В. В. Сидоров. – М.: Медицина, 2005. – 254 с.
23. Schmid – Schonbein H. Synergetic interpretation of patterned vasomotor activity in microvascular perfusion: discrete effects of myogenic and neurogenic vasoconstriction as well as arterial and venous

- pressure fluctuations / H. Schmid – Schonbein, S. Ziege, R. Grebe // Int. J. Microcir. – 1997. – №17. – P. 346-359.
24. Stefanovska A. Physics of the human cardiovascular system / A. Stefanovska // Contemporary Physics. – 1999. – Vol. 40. – №1. – P. 31-35.
 25. Маколкин В.И. Метод лазерной доплеровской флоуметрии в кардиологии / В.И. Маколкин, В.В. Бранько, С.А. Богданова. // Пособие для врачей. – М.: Россельхозакадемия. – 1999. – 48 с.
 26. Крыжановский Г.Н. Основы общей патофизиологии / Г.Н. Крыжановский – М.: МИА. 2011. – 257 с.
 27. Кулинский, В.И. Две адаптационные стратегии в неблагоприятных условиях - резистентная и толерантная. Роль гормонов и рецепторов / В.И. Кулинский, И.А. Ольховский // Успехи современной биологии. – 1992. – Вып. 56. – С. 697-714.
 28. Проссер Л., Браун Ф. Сравнительная физиология животных. М.: Мир, 1967. – 766 с.
 29. Степанович М. Ю. Эффекты хронического комбинированного стресса: изменения поведения крыс с разной реакцией на новизну / М. Ю. Степанович, А. О. Тишкина, М. Р. Новикова, И. П. Левшина, А. К. Пискунов, Н. А. Лазарева, Н. В. Гуляева // Журнал высшей нервной деятельности. – 2016. – Т. 66, № 5. – С. 611–625.
 30. Меерсон Ф.З. Основные закономерности индивидуальной адаптации. Физиология адаптационных процессов / Ф.З. Меерсон. – М.: Наука, 1986. – 278 с.

ADAPTATION OF TISSUE MICROHEMODYNAMICS TO THE CONDITIONS OF COMBINATION OF STRESS FACTORS

Ravaeva M. Yu., Chuyan E. N.

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

The study is devoted to identifying the features of adaptation of tissue microhemodynamics of animals to the conditions of a combination of stress factors: chronic and acute stress. Chronic stress was modeled by limited mobility (hypokinesia, ha), which was achieved by placing rats in special cassettes of Plexiglas (140 × 60 × 60 mm for each rat), in which they were for 10 days for 20 hours. During 4 hours, the rest of the experimental studies, feeding and animal care were carried out. Acute stress (OS) was induced in the model of forced swimming test in the pool for 60 min. LDF-metry was performed using laser analyzer of blood flow "Lazma-MC" in the second version (production of NPP "Lazma", Russia) using LDF program with 2.20.507 .

The results of the study showed that no significant changes in the non-oscillatory and oscillatory parameters of microcirculation (MC) occurred in the animals of the control group within 13 days of the study. At the same time, changes in microcirculatory parameters were observed in animals under experimental chronic ha, and the degree of changes depended on the duration of ha. Thus, 10-day ha led to a violation of the regulation of tissue MC at all levels, which was reflected in the development of vasoconstriction, violation of the flow and outflow of blood and the dominance of shunt blood flow, reducing the number of functioning capillaries.

The opposite reaction of MC developed on the action of OS, which was expressed in an increase in all indicators of microcirculation and the development of hyperemia. The peculiarity of the reaction of tissue microhemodynamics of animals to the conditions of acute stress is a certain pattern of changes: non-nutritive hyperemia (one hour after the

action of the stress factor) is replaced by a nutritive one (24 hours after the action of the stress factor) and returns to a non-nutritive one (48 hours after the action of the stress factor). In animals, previously subjected to chronic hypokinetic stress, MC reaction to the action of acute stress had a phase character: 1 hour later vasodilation developed, as with the isolated action of OS, but this effect was less pronounced, and 24 – 48 hours after the action of OS vasoconstriction developed.

Thus, prior exposure to GC stress modifies the response of MC to the action of acute the corresponding stress factor, reducing the development of hyperemia that accompanies an isolated activity operating system. In favor of this is evidenced by the dynamics of the coefficient of modification of microcirculatory parameters, the values of which gradually increased in the negative part of the graph, which indicates an increase in the effect of modification. Consequently, the preliminary effect of hypokinetic stress levels the vasodilation accompanying the OS and changes the strategy of adaptation of MC to the action of acute stress factor.

The study was carried out with the financial support of the RFBR and the Council of Ministers of the Republic of Crimea in the framework of the scientific project No. 18-44-910008 p_a.

Keywords: microcirculation, chronic and acute stress, laser Doppler flowmetry, adaptation.

References

1. Sikter A., Rihmer Z, Guevara R. New aspects in the pathomechanism of diseases of civilization, particularly psychosomatic disorders. Part 1. Theoretical background of a hypothesis, *Neuropsychopharmacol Hung.*, **19 (2)** 2017.
2. Lahelma E. Arber S, Kivelä K, Roos E Multiple roles and health among British and Finnish women: the influence of socioeconomic circumstances, *SocSci Med.*, **54 (5)**, (2002).
3. Hill M.N., Hellemans K.G., Verma P., Gorzalka B.B., Weinberg J. Neurobiology of chronic mild stress: parallels to major depression, *Neurosci. Biobehav. Rev.* **36 (9)**, (2012).
4. McEwen B.S., Mirsky A. E. Physiology and neurobiology of stress and adaptation: Centralrole of the brain. *Physiol. Rev.*, **87 (3)** (2007).
5. Kovalenko Ye.A., Gurovskiy N.N. *Gipokineziya. M.: Meditsina.* (1980).
6. Chuyan Ye.N. Ravayeva M.YU. Mekhanizmy vazoprotekornogo deystviya elektromagnitnogo izlucheniya krayne vysokoy chastoty v usloviyakh khronicheskogo gipokineticheskogo stressa, *Biomeditsinskaya radioelektronika*, **3** (2017).
7. Chuyan Ye.N., M.YU. Ravayeva Gipokineticheskiy stress vliyayet na mezhpolusharnuyu asimmetriyu metabolicheskikh protsessov mozga kryz *Obrazovaniye i nauka: sovremennyye trendy Kollektivnaya monografiya. Ser. "Nauchno-metodicheskaya biblioteka"*, (2016).
8. Porsolt, R.D., Pinchon M. Le, Jalfre M. Depression: a new animal model sensitive to antidepressant treatments, *Nature*, **266** (1977).
9. Sikter A., Rihmer Z, Guevara R. New aspects in the pathomechanism of diseases of civilization, particularly psychosomatic disorders. Part 2. Chronic hypocapnia and hypercapnia in the medical practice, *Neuropsychopharmacol Hung.*, **Sep. 19(3)** (2017).
10. Sikter A., Rihmer Z, Guevara R. New aspects in the pathomechanism of diseases of civilization, particularly psychosomatic disorders. Part 1. Theoretical background of a hypothesis, *Neuropsychopharmacol Hung.*, **Jun. 19 (2)** (2017).
11. Lahelma E., Arber S., Kivelä K., Roos E. Multiple roles and health among British and Finnish women: the influence of socioeconomic circumstances, *Soc Sci Med.*, **Mar. 54(5)** (2002).

12. Selthofer-Relatic K., Mihalj M, Kibel A, Stupin A, Stupin M, Jukic I, Koller A, Drenjancevic I. Coronary Microcirculatory Dysfunction in Human Cardiomyopathies: A Pathologic and Pathophysiologic Review, *Cardiol Rev.*, **Jul/Aug. 25(4)** (2017).
13. Ravayeva M.YU., Chuyan Ye.N., Pivovarchuk A.V., Kolesnik V.V. Tkanevaya mikrogemodinamika zhitovnykh v usloviyakh ostrogo stressa, *Uchenyye zapiski Krymskogo federal'nogo universiteta imeni V.I. Vernadskogo Biologiya. Khimiya*, **4 (70), 3** (2018).
14. GOST R–53434–2009 Printsipy nadlezhashchey laboratornoy praktiki. – <http://internet-law.ru/gosts/gost/48600/>
15. GOST 33215–2014. Rukovodstvo po sodержaniyu i ukhodu za laboratornymi zhitovnymi. Pravila oborudovaniya pomeshcheniy i organizatsii protsedur. – URL: www.internetlaw.ru/gosts/gost/61242/.
16. Chuyan Ye. N. Vliyaniye millimetrovykh voln neteplovy intenzivnosti na razvitiye gipokineticheskogo stressa u krysa s razlichnymi individual'nymi osobennostyami: Avtoref. dis...kand. biol. nauk / Ye. N. Chuyan – Simferopol', (1992).
17. Overmier JB., Murison R, Johnsen TB. Prediction of individual vulnerability to stress-induced gastric ulcerations in rats: a factor analysis of selected behavioral and biological indices *PhysiolBehav.*, **Apr. 61(4)** (1997).
18. Sel'ye G. Ocherki ob adaptatsionnom sindrome. / Sel'ye G. M.: Medgiz, (1960).
19. Ravayeva M.YU. Chuyan Ye.N., Beregovaya T.V. Vliyaniye elektromagnitnogo izlucheniya krayne vysokoy chastoty na stressornyy ul'tserogenez, *Svit meditsini ta biologii.*, **42** (2013).
20. Porsolt R.D., McArthur R.A., Lenegre A. Psychotropic screening procedures *Methods in Behavioral Pharmacology, Elsevier.* (1993).
21. Kvandal P., Stefanovska A., Veber M. Regulation of human cutaneous circulation evaluated by laser Doppler flowmetry, iontophoresis, and spectral analysis: importance of nitric oxide and prostanglazines, **Microvascular Research.** (2003).
22. Krupatkin, A.I., Sidorov V.V. Lazernaya dopplerovskaya floumetriya mikrotsirkulyatsii krovi: rukovodstvo dlya vrachey. *M.: Meditsina*, (2005).
23. Schmid – Schonbein H., Ziege S., Grebe R .Synergetic interpretation of patterned vasomotor activity in microvascular perfusion: discrete effects of myogenic and neurogenic vasoconstriction as well as arterial and venous pressure fluctuations, *Int. J. Microcir.* **17** (1997).
24. Stefanovska A. Bran'ko V.V., Bogdanova Ê.A. Physics of the human cardiovascular system, *Contemporary Physics.*, **40.** (1999).
25. Makolkin V.I. Metod lazernoy dopplerovskoy floumetrii v kardiologii. Posobiye dlya vrachey, (*M., Rossel'khozakademiya*, 1999), p. 48.
26. Kryzhanovskiy G. N. Osnovy obshchey patofiziologii. (M. MIA. 2011), p. 257.
27. Kulinskiy, V.I. Ol'khovskiy I.A. Dve adaptatsionnyye stra-tegii v neblagopriyatnykh usloviyakh - rezistentnaya i tolerantnaya. Rol' gormonov i retseptorov, *Uspekhi sovremennoy biologii.*, **56** (1992).
28. Prosser L., Braun F. Sravnitel'naya fiziologiya zhitovnykh. (M.: Mir, 1967), p. 766.
29. Stepanichev M. YU., Tishkina A. O., Novikova M. R., Levshina I. P., Piskunov A. K., Lazareva N. A., Gulyayeva N. V. Effekty khronicheskogo kombinirovannogo stressa: izmeneniya povedeniya krysa s raznoy reaktsiyey na noviznu, *Zhurnal vyshey nervnoy deyatelnosti*, **66** (2016).
30. Meyerson F.Z. Osnovnyye zakonmernosti individual'noy adaptatsii. Fiziologiya adaptatsionnykh protsessov (M.: Nauka, 1986), p. 278.

УДК 582.477: 635.92 (477.75)

МЕТОДИКА ОЦЕНКИ ДЕКОРАТИВНОСТИ САДОВЫХ ФОРМ ТУИ ЗАПАДНОЙ (*THUJA OCCIDENTALIS* L.)

Савушкина И. Г., Сеит-Аблаева С. С., Сейтбуллаева Э. Ж.

*Таврическая академия (структурное подразделение) ФГАОУ ВО «Крымский федеральный университет имени В. И. Вернадского», Симферополь, Республика Крым, Россия
E-mail: limodorum2001@rambler.ru*

На основании литературных данных и собственных многолетних наблюдений разработана новая шкала для оценки декоративности садовых форм туи западной (*Thuja occidentalis* L.), включающая 8 основных признаков (продолжительность периода декоративности, форма кроны, ее плотность и охвоенность, окраска хвои в летний и зимний периоды, декоративность шишек, относительная поражаемость вредителями и болезнями, повреждаемость абиотическими факторами). Каждый из признаков оценивается от 1 до 5 баллов и умножается на значение переводного коэффициента, величина которого варьирует в зависимости от значимости признака от 1 до 4. Приведены результаты изучения декоративных качеств 20 культиваров туи западной, используемых в озеленении в условиях Предгорного Крыма. Выявлено 3 высокодекоративных, 13 декоративных и 4 среднедекоративных таксона.

Ключевые слова: *Thuja occidentalis*, признаки декоративности, методика, шкала, культивары, Предгорный Крым.

ВВЕДЕНИЕ

В современном мире, с его многочисленными проблемами урбанизированной среды, существенно возрастает значимость зеленых насаждений, среди которых ведущая роль принадлежит древесным растениям. Одной из важнейших задач современного озеленения является обогащение культурной флоры новыми видами и формами растений. Значительный практический интерес в этом вопросе представляют хвойные древесные растения, большинство которых отличаются сохранением декоративности на протяжении всего года, проявляя при этом фитонцидную активность и экологическую пластичность.

В садоводстве сейчас насчитывается около 3 000 форм хвойных растений [1]. Особое место среди этого разнообразия занимают представители рода *Thuja* L. Род включает в себя 5-6 видов из Северной Америки и Восточной Азии [2]. Отличаясь большим формовым разнообразием, наибольший интерес представляет *Thuja occidentalis* L. В Европу туя западная интродуцирована из Восточной части Северной Америки предположительно в 1534 г. [3].

Это медленно растущее дерево, реже кустарник, высотой 12-20 метров, с компактной пирамидальной или яйцевидной кроной, по виду напоминает кипарис. Кора у молодых деревьев гладкая, красно-бурая, позднее серо-коричневая, к старости отделяющаяся узкими продольными лентами. Хвоя чешуевидная, зелёная,

зимой буро-зелёная или коричневая, мелкая, плотно прижатая к побегу, сохраняется 2-3 года и опадает вместе с мелкими веточками (веткопад). Верхняя сторона побегов тёмно-зелёная и блестящая, нижняя матовая, светлая.

В настоящее время в озеленении используют преимущественно многочисленные садовые формы, число которых превышает 150 [1]. Все формовое разнообразие классифицируют, используя различные подходы. Так Карпун Ю.Н., основываясь на характере габитуса, типе и окраске хвои, выделяет 12 групп [4]. Также к туе применима и пользуется популярностью классификация, предложенная Голландским обществом любителей хвойных растений, в основу которой положены величина годового прироста и габариты в зрелом возрасте. Согласно этой классификации выделяют 5 групп: полнорослые, среднерослые и полукарликовые (*semidwarf*), карликовые (*dwarf*), миниатюрные (*mini*), микроскопические (*micro*).

В связи с наличием большого количества разнообразных форм и культиваров туи, нередко возникает необходимость сравнительной оценки их декоративных качеств. Декоративность – понятие эстетическое и зачастую носит субъективный характер. Это приводит к значительным трудностям при необходимости сравнения декоративных качеств отдельных сортов или видов с целью отбора наиболее перспективных для тех или иных почвенно-климатических условий. С целью исключения возможного субъективизма разрабатываются и используются методы оценки качественных и количественных декоративных характеристик, поддающихся оценке. Это, прежде всего, размеры и форма кроны; форма ствола; текстура коры; размеры, окраска и обилие цветков, соцветий и плодов; форма и окраска листьев; продолжительность цветения и сохранения листьев и др.

В литературе широко представлены методики, позволяющие выполнять сравнительную оценку декоративности древесных растений, формирующих насаждения и относящихся к разным родам и семействам. В основу разработки этих методик могут быть положены различные аспекты и критерии. Например, в шкалах, предложенных Котеловой Н.В., Виноградовой О.Н. [5], а также Емельяновой О.Ю. [6] учитывается динамика изменения декоративных качеств в течение года. Оценка проводится ежемесячно, а на ее основе выстраиваются графики, демонстрирующие степень изменчивости декоративности. Использование этих методик позволяет оценивать и сравнивать общую степень декоративности видов, форм и сортов между собой, выявить периоды наибольшей декоративности растений, а также помогает при подборе растений для создания ландшафтных композиций.

Широкое распространение получила комплексная методика декоративной оценки зеленых насаждений городов, приведенная Н.А. Бабич и др. в монографии «Интродуценты в зеленом строительстве северных городов» [7]. Декоративность деревьев и кустарников авторы этой методики предлагают оценивать по 10 критериям: архитектура кроны, длительность и степень цветения, окраска и величина цветков, привлекательность внешнего вида плодов, длительность удержания плодов на ветвях, аромат цветков и плодов, цветовая гамма осенней окраски листьев, поврежденность растений, зимостойкость видов. Данная методика послужила основой для шкалы, разработанной Ханиной М.В. и Довканюком А.И., позволяющей проводить оценку декоративности деревьев и кустарников в зимний

период [8]. Необходимость разработки этой шкалы обусловлена достаточно длительным холодным временем года, характерным для значительной территории России, когда внешний облик насаждений кардинально изменяется. Для оценки отобраны 6 наиболее значимых в зимнее время критериев: архитектура кроны, окраска коры, привлекательность плодов, поврежденность, зимостойкость.

Коляда Н.А. в своей методике оценки декоративности видов кустарников дендрария Горнотаежной станции Дальневосточного отделения РАН предлагает шкалу, включающую 14 признаков [9]. Автором учитываются особенности морфологии цветков и соцветий (размер, окраска, аромат, продолжительность и обильность цветения), листьев (размер, форма, время опадения, осенняя окраска), плодов (декоративность), а также кроны (плотность, фактура) и коры (фактура и окраски), оказывающие наиболее сильное эмоциональное воздействие на человека.

Еще большее количество шкал разработано для оценки видов, форм и сортов отдельных родов. Они предназначены для характеристики селекционного материала, при сравнительной оценке сортов одного вида, а также видов интродуцентов из одного рода.

При оценке декоративности таксонов, относящихся к покрытосеменным древесным растениям (например, рода *Sorbus* L., *Acer* L., *Hydrangea* L., *Syringa* L., *Lonicera* L., *Hibiscus* L.) в качестве наиболее значимых и весомых признаков авторами выделяются декоративность цветков, соцветий, плодов и листьев [10-14]. Особое внимание при оценке уделяется форме, размеру, окраске цветков (соцветий) и плодов, облику и продолжительности цветения и плодоношения, форме и окраске листьев, продолжительности облиственности, форме, структуре и облиственности кроны и т.д. В качестве дополнительных, но немаловажных критериев могут учитываться такие показатели как оригинальность, аромат цветков и плодов, период декоративности, жизненное состояние, устойчивость к болезням и вредителям, зимостойкость и т. д.

Шкалы для оценки декоративности голосеменных растений значительно меньше и первостепенную значимость в них приобретают архитектура ствола и ветвей, форма, структура и охвоенность кроны, цвет хвои и ее изменчивость по сезонам, декоративность шишек. Методики оценки декоративности хвойных растений были предложены для таких родов как *Picea* Dietr. и *Juniperus* L. [15, 16]. Особого внимания заслуживает работа по комплексной оценке регионального ассортимента сортов видов *Thuja occidentalis* и *Thuja plicata*, используемых в озеленении Краснодарского края, выполненная на базе ФГБНУ "Северо-Кавказский федеральный научный центр садоводства, виноградарства, виноделия" [17, 18]. В разработанной оценочной шкале кроме декоративных признаков также учтены критерии адаптивности. Однако подобный подход не позволяет в полной мере дать оценку именно декоративным качествам культиваров.

Целью данной работы является разработка шкалы оценки декоративности для садовых форм *Thuja occidentalis* L. и оценка формового разнообразия туи западной в условиях Предгорного Крыма.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Декоративные качества культиваров туи западной изучали на базе коллекции Ботанического сада им. Н.В. Багрова Таврической академии Крымского федерального университета им. В.И. Вернадского [19] и различных объектов озеленения Предгорной зоны Крыма.

В качестве объектов было выбрано 20 культиваров, наиболее часто используемых в озеленении: 'Smaragd', 'Globosa', 'Hoseri', 'Golden Smaragd' (син. 'Janed Gold'), 'Danica', 'Brabant', 'Lutea', 'Spiralis', 'Ellwangeriana Aurea', 'Rheingold', 'Sunkist', 'Woodwardii', 'Columna', 'Riversii', 'Compacta', 'Ericoides', 'Miky', 'Cristata Argenteovariegata', 'Golden Globe', 'Bowling Ball'. Исследования проводили с 2014 по 2018 год.

При разработке шкалы для оценки декоративных качеств культиваров туи западной были использованы методические разработки Котеловой Н. В. и Виноградовой О. Н. [5], Крековой Я. А., Данчевой А. В., Залесовой С. В. [15], а также предложенная ранее шкала для оценки представителей рода *Juniperus* L. [16]. В основу оценки был положен принцип балльной оценки с использованием переводного коэффициента значимости признака по «Методике государственного сортоиспытания декоративных культур» [20].

Шкала включает 8 основных признаков, учитывающих продолжительность периода декоративности, характеристики кроны (форму, структуру и охвоенность), окраску хвои в летний и зимний периоды, декоративность шишек, а также относительную поражаемость вредителями и болезнями, повреждаемость абиотическими факторами (Таблица 1).

Период декоративности – это промежуток времени в течение года, когда растение не утрачивает своей привлекательности. Этот показатель определяется комплексом нескольких морфологических признаков, таких как окраска хвои и степень ее изменчивости в зимнее время, наличие и обилие шишек на растении, повреждаемость абиотическими факторами (например, солнечные ожоги в летнее время или повреждения весенними возвратными заморозками). Период декоративности является наиболее значимым признаком и именно ему был присвоен максимальный переводной коэффициент – 4.

При оценке декоративности кроны отдельно учитывали ее форму, а также структуру и охвоенность. *Форма кроны* является одной из важнейших характеристик древесных пород, учитываемых при создании ландшафтных композиций. Для вечнозеленых древесных пород характерна стабильная форма, не претерпевающая существенных сезонных изменений, свойственных листопадным видам. Наиболее привлекательными с эстетической точки зрения являются культивары, имеющие геометрически правильную форму – колонновидную, коническую или шаровидную. Эти формы чаще всего выступают в качестве акцентов в группах, а также незаменимы для рядовых посадок и солитерного размещения. Важным показателем, учитываемым при оценке формы кроны является степень ее симметричности и одновершинность.

Не менее важным признаком, определяющим декоративность растения, является *структура (плотность) и степень охвоенности кроны*. Плотность кроны

определяется системой ветвления и является сортоспецифичным признаком. Высокой декоративностью отличаются культивары, для которых характерен массивный, плотный цельнокомпактный тип кроны. Менее привлекательны растения с изреженной и неоднородной кроной. Уровень охвоенности также оказывает влияние на восприятие однородности растения и может у разных культиваров значительно отличаться.

Декоративность хвои оценивали отдельно для летнего и зимнего периодов. Летняя окраска хвои у туи западной в зависимости от культивара может быть одноцветной зеленой с различными оттенками или налетом, иметь незначительные признаки колористической окраски или окраска может быть яркой и эффектной. Именно ярко выраженная окраска – голубоватая, золотистая, желтая или пестрая является наиболее декоративной и оценивается наивысшими баллами. С наступлением холодов окраска хвои, как правило, изменяется и становится более темной, приобретая бронзовые, серые, бурые, сиреневые оттенки. Максимальную оценку получают таксоны, сохраняющие летнюю окраску или изменяющие ее незначительно. Приобретение бурых, серых или бронзовых оттенков приводит к снижению привлекательности. При этом получаемый балл зависит от доли кроны, затронутой изменением окраски.

Оценка *декоративности шишек* туи западной имеет свою специфику. Если при оценке представителей родов *Picea* и *Juniperus* [15, 16] предпочтение отдается видам и сортам, имеющим крупные, интенсивно окрашенные шишки, четко выделяющиеся на фоне кроны, то для рода *Thuja* такой подход неприменим. Женские шишки туи западной и ее культиваров продолговатые, стоячие, иногда отогнутые, 10-15 мм длины, из 3-4 (5-6) пар кожисто-деревянистых узкоовальных чешуй, раскрывающиеся. Образуется на верхушках укороченных веточек. По мере созревания они меняют цвет от зеленых до коричнево-бурых. Созревают осенью первого года. Наличие на растении некрупных, невыразительно окрашенных, но при этом весьма многочисленных шишек вызывает нарушение структуры кроны, ее изреживание и, в конце концов, приводит к потере декоративности растения в целом. Обилие шишек на растении во многом определяется сортоспецифичностью. Для создания композиций и рядовых посадок предпочтительны культивары туи, у которых шишки малочисленны, практически не заметны или не образуются вообще. Для сортов же склонных к массовому образованию шишек, значительно снижающих декоративный эффект, рекомендуется регулярная стрижка растений. Ежегодно весной до начала роста новых побегов проводят обрезку, срезая не более трети длины прошлогоднего прироста. В середине лета обрезку повторяют. Регулярная стрижка позволяет избавляться от шишек и сформировать красивую плотную крону.

Таблица 1.

Шкала градаций признаков для оценки декоративности культиваров
рода *Thuja*

Признак	Р	Баллы				
		1	2	3	4	5
Период декоративности	4	-	-	Определенный период вегетации	Вегетационный сезон	В течение всего года
Форма кроны	2	Крона не сформирована или деградирована	Крона несимметричная или неправильной формы, разваливающаяся	Крона с отдельными отстоящими или отклоняющимися ветвями, имеет несколько вершин	Крона правильной формы, с неравномерно расположенными скелетными ветвями	Крона правильной геометрической формы – конусовидная, колонновидная или округлая, одновершинная
Плотность и охвоенность кроны	3	Крона редкая, неоднородная, охвоенность менее 20 %	Крона ажурная, очень сквозистая, охвоенность 21–50 %	Крона редкая, слабооднородная, охвоенность 51–60 %	Крона среднеплотная, среднеоднородная, охвоенность 61–80 %	Крона плотная, однородная, охвоенность до 100 %
Окраска хвои в летний период	3	Одноцветная (зеленая), тусклая	Одноцветная (зеленая), насыщенная	Одноцветная (зеленая), яркая, блестящая или с сизым налетом	Имеет незначительные признаки колористической окраски (от темно-зеленого до голубоватого, белеющего, сизого и золотистого)	Имеет ярко выраженную колористическую окраску – голубоватую, сизую, золотистую, желтую, пеструю
Окраска хвои в зимний период	3	Бурая, бронзовая или серая окраска хвои всей кроны	Бурая, бронзовая или серая окраска хвои более 50 % кроны	Бурая, бронзовая или серая окраска хвои более 30 % кроны	Бурый, бронзовый или серый налет на концах побегов (до 30 % кроны)	Идентична летней или незначительно отличается от летней окраски

Продолжение таблицы 1

Признак	Р	Баллы				
		1	2	3	4	5
Декоративность шишек	2	Очень обильные, значительно снижают декоративный эффект	Четко выделяются на фоне хвои, снижают декоративный эффект	Заметны, многочисленные	Слабо заметны, немногочисленные, декоративный эффект усиливают незначительно	Практически не заметны. Могут не образовываться или образуются редко
Относительная поражаемость вредителями и болезнями	1	Повреждения вредителями свыше 40 % поверхности растения; поражения болезнями всей хвои, отмирание побегов	Повреждения вредителями до 40 % поверхности растения; поражения болезнями более 50 % хвои, побегов	Повреждения вредителями до 20 % поверхности растения; поражения болезнями до 50 % хвои, побегов	Повреждения вредителями до 10 % поверхности растения; болезнями поражены отдельные хвоинки и побеги в незначительной степени	Повреждения вредителями до 5 % поверхности растения; поражения болезнями отсутствуют
Повреждаемость абиотическими факторами (ветер, солнце, весенние заморозки и др.)	2	Очень сильные повреждения	Сильные повреждения	Незначительные повреждения, снижающие декоративный эффект	Незначительные повреждения, не снижающие декоративный эффект	Без повреждений

Последние два критерия отражают *устойчивость* оцениваемых культиваров к *действию биотических (вредители и болезни) и абиотических факторов* и степень их влияния на декоративность. Стоит согласиться с мнением ряда исследователей, что такие показатели как зимостойкость и засухоустойчивость, включаемые иногда в шкалы декоративности, относятся к адаптации растений к условиям произрастания и их следует оценивать при оценке жизнеспособности растений и успешности интродукции. В то же время такие повреждения как солнечные ожоги, повреждения возвратными заморозками, нарушение структуры кроны под воздействием снега, незначительные повреждения вредителями и болезнями не оказывают влияния на жизнеспособность растений, но существенно сказываются на их декоративных качествах. В связи с этим, считаем целесообразным включение в

шкалу этих критериев. Оценку относительной поражаемости вредителями и болезнями проводили по «Методике государственного сортоиспытания ...» [21].

Каждый из признаков оценивается от 1 до 5 баллов. В зависимости от значимости признака полученный балл умножается на переводной коэффициент, варьирующий в разработанной шкале от 1 до 4. Величина переводного коэффициента определялась продолжительностью действия каждого декоративного признака и силой его эстетического и эмоционального воздействия.

По суммарной балльной оценке культивары туи западной распределены в следующие группы: I – высокодекоративные (86-100 баллов), II – декоративные (71-85 балла), III – среднедекоративные (51-70 баллов), IV – низкодекоративные (менее 50 баллов).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Результаты балльной оценки декоративных признаков культиваров туи западной приведены в таблице 2.

По признаку периода декоративности большинство культиваров получили 4 балла, что связано с различной степенью изменения окраски хвои в зимний период, снижающей декоративный эффект. Более низкую оценку по этому признаку получили 3 культивара – 'Lutea', 'Compacta' и 'Ericoides'. Для них помимо значительного и продолжительного зимнего изменения окраски характерно наличие большого количества шишек, разрушающих структуру куста ('Lutea' и 'Compacta') и относительно высокая поражаемость вредителями ('Ericoides'), также снижающими декоративный эффект. В итоге эти культивары представляют ценность только в течение определенного и, как правило, довольно непродолжительного периода вегетации. Высокая и практически неизменяющаяся декоративность в течение всего года отмечена у трех культиваров – 'Golden Smaragd', 'Smaragd' и 'Columna'.

Таблица 2

Оценка декоративности культиваров туи западной в условиях Предгорного Крыма

Культивар	Декоративный признак								ОБ	ГД
	ПД	ФК	ПОК	ОХЛ	ОХЗ	ДШ	ОПБВ	ПАФ		
	P=4	P=2	P=3	P=3	P=3	P=2	P=1	P=2	max 100	
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
Thuja occidentalis 'Golden Smaragd'	5/20	5/10	4/12	5/15	5/15	5/10	4/4	3/6	92	I
Thuja occidentalis 'Smaragd'	5/20 *	5/10	4/12	3/9	5/15	5/10	4/4	5/10	90	I
Thuja occidentalis 'Rheingold'	4/16	5/10	4/12	5/15	4/12	5/10	5/5	3/6	86	I
Thuja occidentalis 'Danica'	4/16	5/10	5/15	3/9	4/12	5/10	4/4	4/8	84	II

Продолжение таблицы 2

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
Thuja occidentalis 'Riversii'	4/16	5/10	4/12	4/12	4/12	5/10	4/4	3/6	82	II
Thuja occidentalis 'Columna'	5/20	5/10	4/12	2/6	5/15	4/8	4/4	3/6	81	II
Thuja occidentalis 'Globosa'	4/16	4/8	5/15	3/9	3/9	4/8	4/4	5/10	79	II
Thuja occidentalis 'Cristata'	4/16	5/10	3/9	4/12	4/12	3/6	4/4	5/10	79	II
Thuja occidentalis 'Ellwangeriana Aurea'	4/16	2/4	4/12	5/15	3/9	5/10	4/4	3/6	76	II
Thuja occidentalis 'Mr. Bowling Ball'	4/16	5/10	4/12	2/6	4/12	5/10	4/4	3/6	76	II
Thuja occidentalis 'Sunkist'	4/16	5/10	4/12	4/12	3/9	3/6	4/4	3/6	75	II
Thuja occidentalis 'Woodwardii'	4/16	5/10	4/12	2/6	4/12	3/6	4/4	4/8	74	II
Thuja occidentalis 'Spiralis'	4/16	4/8	4/12	3/9	3/9	3/6	4/4	5/10	74	II
Thuja occidentalis 'Golden Globe'	4/16	4/8	4/12	5/15	2/6	3/6	4/4	3/6	73	II
Thuja occidentalis 'Miky'	4/16	3/6	5/15	2/6	3/9	5/10	4/4	3/6	72	II
Thuja occidentalis 'Brabant'	4/16	4/8	4/12	2/6	4/12	2/4	4/4	5/10	72	II
Thuja occidentalis 'Hoseri'	4/16	5/10	4/12	2/6	3/9	3/6	4/4	3/6	69	III
Thuja occidentalis 'Lutea'	3/12	4/8	4/12	5/15	2/6	1/2	4/4	4/8	67	III
Thuja occidentalis 'Compacta'	3/12	5/10	4/12	2/6	3/9	2/4	4/4	4/8	65	III
Thuja occidentalis 'Ericoides'	3/12	2/4	4/12	3/9	2/6	5/10	2/2	4/8	63	III

Примечание: * - балл / балл с учетом переводного коэффициента, ПД - период декоративности, ФК - форма кроны, ПОК - плотность и охвоенность кроны, ОХЛ - окраска хвои в летний период, ОХЗ - окраска хвои в зимний период, ДШ - декоративность шишек, ОПБВ - относительная поражаемость болезнями и вредителями, ПАФ - повреждаемость абиотическими факторами, ОБ - общий балл, Р - переводной коэффициент, ГД - группа

Форма кроны обуславливает различные силуэты у древесных растений, оказывая немалое эмоциональное воздействие, проявляя особый колоритный эффект в озеленяемом пространстве. Для большинства изучаемых садовых форм характерно наличие правильной, одновершинной формы кроны с равномерно расположенными, плотно прилегающими ветвями. Культивары 'Globosa', 'Spiralis', 'Golden Globe', 'Brabant' и 'Lutea', несмотря на правильную крону, имеют неравномерно расположенные скелетные ветви, что нарушает четкость формы и

оценивается в 4 балла. Для некоторых изучаемых сортов характерна крона с отдельными отстоящими или отклоняющимися ветвями, либо наличие нескольких вершин. Тем самым крона приобретает бугорчато-волнистый контур и оценивается в 3 балла. К таким растениям отнесен культивар 'Miky'. Ювенильная форма кроны культиваров 'Ellwangeriana Aurea' и 'Ericoides' правильная и одновершинная, но позднее проявляется ее несимметричность, она становится разваливающейся, что оценивается в 2 балла. Необходимо отметить, что форма кроны соответствует своей сортовой характеристике только в случае соблюдения режима достаточной освещенности и наличия достаточного свободного пространства для роста. В противном случае крона редеет и теряет природную форму.

Характер ветвления и охвоения определяет ажурность или плотность кроны и их художественные особенности. Так среди изученных культиваров наиболее плотную и однородную крону с охвоенностью до 100 % имеют 'Danica', 'Globosa' и 'Miky'. У большинства же изученных растений этот признак оценен в 4 балла за среднеплотную, среднеоднородную охвоенность 61–80 %. Лишь 'Cristata Argenteovariegata' получила 3 балла за формирование слабо-однородной кроны с охвоенностью 51–60 %.

Окраска хвои наряду с формой кроны является важным отличительным признаком садовых форм туи западной. Кроме обычной зеленой, у туи можно встретить разные варианты желтой, голубоватой и пестрой окраски хвои. Однако важно помнить, что цвет может сильно варьировать в зависимости от условий произрастания растения. Желтые и пестрые формы при недостатке света или минерального питания могут утрачивать свою колористическую окраску и становиться зелеными. Поэтому при подборе растений для посадки необходимо оценивать степень освещенности участка для того чтобы растения смогли полностью реализовать свою потенциальную декоративность. Из анализируемых культиваров ярко выраженная колористическая летняя окраска характерна для 'Golden Smaragd', 'Rheingold', 'Ellwangeriana Aurea', 'Golden Globe' и 'Lutea'. Эти таксоны получили максимальную оценку, т.к. окраска оказывает сильное эмоциональное воздействие. Менее выраженная колористическая окраска отмечена еще для трех культиваров. Так для сорта 'Cristata Argenteovariegata' характерно наличие хвои зеленой окраски, но с беловатыми пятнами с верхней стороны побегов, что делает крону растения бело-пестрой. Незначительные признаки желтоватой окраски в летнее время характерны для сортов 'Riversii' и 'Sunkist'. Большинство анализируемых форм получили оценку в 2 и 3 балла, за свойственную для них зеленую окраску, различающуюся оттенками, насыщенностью и яркостью.

Зимнее изменение окраски хвои в той или иной степени характерно для всех культиваров туи западной. Хвоя при этом приобретает бурую, бронзовую или серую окраску. Сильное изменение, затрагивающее более 50 % кроны и оцененное в 2 балла, было отмечено у сортов 'Ericoides', 'Golden Globe' и 'Lutea'. Наименее заметные изменения, не приводящие к снижению декоративности, характерны для садовых форм 'Golden Smaragd', 'Smaragd' и 'Columna'.

Как уже было отмечено, шишки туи западной не представляют ценности и их образование не только не повышает декоративность растений, но и в значительной

мере снижает ее. Очень обильное ежегодное образование шишек было отмечено у культиваров 'Lutea', 'Compacta' и 'Brabant'. Полностью сформировавшиеся созревшие шишки появляются на растениях в конце лета - начале осени. Они приводят к деформации кустов, отгибая ветви и в целом создавая визуальный эффект усыхающих растений. У сортов 'Compacta' и 'Brabant' обилие шишек можно частично регулировать проведением ежегодных стрижек. Для сорта 'Lutea' такая операция эффекта не дает, т.к. шишки образуются в основном на веточках, расположенных в центре кроны и нередко в непосредственной близости к стволу. Соответственно эти сорта при проведении оценки по признаку наличия шишек и их обилия получили 2 и 1 балл. Менее обильное образование шишек, оцененное в 3 балла, зарегистрировано у 6 культиваров ('Cristata Argenteovariegata', 'Sunkist', 'Woodwardii', 'Spiralis', 'Golden Globe', 'Hoseri'). При этом шишки были довольно хорошо заметны в кроне растений, но не приводили к ее деформации и потере декоративности. Наиболее высокие баллы получили садовые формы, у которых шишки не образуются вообще или их образуется очень мало и они не заметны в общей массе кроны. Как видно из данных таблицы 2, такие сорта довольно многочисленны и составляют почти половину из изучаемых.

Повреждения болезнями и вредителями были отмечены практически на всех изучаемых культиварах. При этом обнаруженные патогены приводят к частичной утрате декоративности (прежде всего к изреживанию кроны и уменьшению степени охвоенности), но не снижают уровень жизнеспособности растений в целом. Для подавляющего большинства используемых в озеленении Предгорного Крыма садовых форм туи характерно незначительное поражение, существенно не сказывающееся на декоративных качествах растений. Из вредителей чаще всего встречаются туевая моль-пестрянка (*Argyresthia thuiella* Packard, 1871) и туевая ложнощитовка (*Parthenolecanium fletcheri* Cockerell, 1893). На четырех культиварах ('Riversii', 'Lutea', 'Compacta', 'Ericoides') отмечены поражения паутиным клещом (*Oligonychus ununguis* Jacobi, 1905). Наиболее сильные поражения вредителями, затронувшие до 40 % поверхности растения, отмечены у туи западной 'Ericoides'.

По отношению к болезням туя достаточно устойчива. Болезни возникают, как правило, на фоне предварительного ослабления растения, вызываемого различными неблагоприятными факторами (погодные условия, дисбаланс питательных веществ в почве, повреждение вредителями и др.). В условиях культуры при проведении необходимых агротехнических мероприятий вероятность поражения можно минимизировать. На исследуемых растениях в отдельных случаях были отмечены заболевания грибного происхождения, такие как кабатинный некроз (возбудитель – гриб *Kabatina juniperi* R. Schneid. & Arx), песталоциопсисовый некроз (возбудитель – гриб *Pestalotiopsis funerea* (Desm.) Steyaert), фомопсисовый некроз (возбудитель – гриб *Phomopsis juniperovora* G. Hahn), цитоспоровый некроз, или остеопороз (возбудители – грибы из рода *Cytospora*), диплодиевый некроз, или диплодиоз (возбудитель – гриб *Diplodia thujae* Sacc.), бурое шютте (возбудитель – гриб *Herpotrichia juniperi* (Duby) Petr.).

Общеизвестно, что большинство туй довольно неприхотливы в культуре. Они теневыносливы, нетребовательны к плодородию и типам почв. Одним из важных

преимуществ этих растений является стойкость к городским условиям. Однако можно говорить о целом комплексе факторов абиотической природы, воздействие которых может привести к снижению декоративности растений, не снижая их жизнеспособность. Во многом эти факторы обусловлены региональными почвенно-климатическими особенностями. Для условий Предгорного Крыма такие факторы довольно многочисленны. Прежде всего, успешное выращивание туи западной возможно только при обеспечении регулярного полива. Именно недостаток влаги является для туи основным лимитирующим фактором, обуславливающим возможность ее выращивания в данном регионе. Часто растения страдают от низкой влажности воздуха, характерной для предгорий. Еще одним региональным фактором, приводящим к снижению декоративности в весеннее время, являются возвратные заморозки, которые могут происходить в конце марта – начале апреля, реже в мае. Также опасностью для растений представляют вегетационные оттепели, которые наблюдаются в 40-50 % зим. После воздействия отрицательных температур в весеннее время, а также после длительных зимних оттепелей на растениях появляются усыхающие кончики веточек. Однако эти повреждения исчезают с началом весеннего роста побегов. В зимнее время возможно повреждение кустов во время снегопадов. Несмотря на то, что снежный покров в Предгорном Крыму лежит в среднем в течение 41-43 дней, а обильные снегопады являются редким явлением, в отдельные зимы наблюдается отклонение ветвей и даже их надламывание под тяжестью снега. Для предотвращения этого требуется регулярное стряхивание снега и связывание кустов. Повреждение кроны может происходить и под действием ветров, особенно в тех случаях, когда растение расположено на открытом пространстве. Культивары с выраженной колористической окраской могут получить солнечные ожоги.

Из всех изучаемых культиваров только 5 проявили абсолютную устойчивость к описанному комплексу факторов и получили по этому признаку 5 баллов – 'Smaragd', 'Globosa', 'Cristata Argenteovariegata', 'Spiralis', 'Brabant'. У 10 культиваров ('Golden Smaragd', 'Rheingold', 'Riversii', 'Columna', 'Ellwangeriana Aurea', 'Mr. Bowling Ball', 'Sunkist', 'Golden Globe', 'Miky', 'Hoseri') были отмечены незначительные повреждения, приведшие к незначительному кратковременному снижению декоративности.

Согласно результатам балльной оценки изученных таксонов туи западной, в группу I – высокодекоративные вошли культивары 'Golden Smaragd', 'Smaragd' и 'Rheingold', набрав от 86 до 100 баллов. Группа II – декоративные (от 71 до 85 баллов) является наиболее многочисленной. По итогам оценки к ней отнесены 13 садовых форм – 'Danica', 'Riversii', 'Columna', 'Globosa', 'Cristata Argenteovariegata', 'Ellwangeriana Aurea', 'Mr. Bowling Ball', 'Sunkist', 'Woodwardii', 'Spiralis', 'Golden Globe', 'Miky', 'Brabant'. К группе III среднедекоративные отнесены 4 культивара – 'Hoseri', 'Lutea', 'Compacta' и 'Ericoides'.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

1. На основании многолетних наблюдений и литературных данных разработана методика оценки декоративности садовых форм туи западной. В основу оценки

положены следующие признаки: период декоративности, форма кроны, ее плотность и охвоенность, окраска хвои в летний и зимний периоды, декоративность шишек, относительная поражаемость вредителями и болезнями, повреждаемость абиотическими факторами. Переводной коэффициент значимости каждого признака составляет от 1 до 4.

2. В результате оценки декоративности 20 садовых форм туи западной, используемых в озеленении в Предгорном Крыму, 3 культивара отнесены к группе высокодекоративные, 13 культиваров к группе декоративные и 4 – к группе среднедекоративные.

Статья публикуется в рамках выполнения госзадания Министерства образования и науки РФ с госбюджетным финансированием № 6.7794.2017/БЧ по теме «Разработка системы рационального использования декоративных фитобиологических ресурсов на территории Крыма».

Список литературы

1. Шевырева Н. Хвойные растения. Большая энциклопедия / Н. Шевырева, Т. Коновалова. – М.: Эксмо, 2012. – 280 с.
2. Матюхин Д. Л. Виды и формы хвойных, культивируемых в России. Часть 2. *Picea A.Dietr.*, *Thuja L.* / Д. Л. Матюхин, О. С. Манина, Е. С. Сысоева. – М.: Товарищество научных изданий КМК. – 2009. – 288 с.
3. Грюссман Г. Хвойные породы / Г. Грюссман. – М.: Лесн. пром-сть, 1986. – 256 с.
4. Карпун Ю. Н. Классификация садовых форм туи западной (*Thuja occidentalis L.*) / Ю. Н. Карпун, Г. Ф. Перфильева // *Hortus botanicus*. – 2004. – № 2. – С. 33-41.
5. Котелова Н. В. Оценка декоративности деревьев и кустарников по сезонам года / Н. В. Котелова, О. Н. Виноградова // Физиология и селекция растений, озеленение городов. – М.: МЛТИ, 1974. – С. 37-44.
6. Емельянова О. Ю. К методике комплексной оценки декоративности древесных растений / О. Ю. Емельянова // Современное садоводство. Электронный журнал. – 2016. – № 3. – [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <http://journal.vniispk.ru/pdf/2016/3/38.pdf>
7. Бабич Н. А. Интродуценты в зеленом строительстве северных городов: монография / Н. А. Бабич, О. С. Зальвская, Г. И. Травникова. – Архангельск: Архангельский ГТУ, 2008. – 144 с.
8. Ханина М. В., Довганюк А. И. Разработка шкалы оценки декоративности деревьев и кустарников в зимний период / М. В. Ханина, А. И. Довганюк // Вестник ландшафтной архитектуры. – 2015. – № 5. – С. 95-99.
9. Коляда Н. А. К методике оценки декоративности некоторых видов кустарников дендрария Горнотаежной станции Дальневосточного отделения РАН / Н. А. Коляда // Сибирский вестник сельскохозяйственной науки. – 2011. – № 9-10. – С. 57-65.
10. Абдуллина Р. Г. Методика оценки декоративности видов и сортов рода *Sorbus L.* / Р. Г. Абдуллина, Н. А. Рязанова // Известия Самарского научного центра Российской академии наук. – 2015. – Т. 17, № 4-1. – С. 240-244.
11. Мурзабулатова Ф. К., О методике оценки декоративности гортензий (*Hydrangea L.*) / Ф. К. Мурзабулатова, Н. В. Полякова // Известия Самарского научного центра Российской академии наук. – 2014. – Т. 16, № 1-1. – С. 266-270.
12. Рязанова Н.А. Оценка декоративности кленов в Уфимском Ботаническом саду / Н.А. Рязанова, В.П. Путенихин // Вестник ИрГСХА. – 2011. – Т.4. № 44. – С. 121-128.
13. Савушкина И. Г. Результаты сортооценки *Syringa vulgaris L.* и *Syringa × hyacinthiflora Rehd.* в условиях Предгорной зоны Крыма / И. Г. Савушкина, А. Ю. Федькина // Ученые записки Таврического национального университета имени В.И. Вернадского. Серия: Биология, химия. – 2014. – Т. 27 (66), № 5. – С. 140-147.

14. Тыщенко Е.Л. Методические аспекты оценки декоративных признаков гибискуса сирийского (*Hibiscus syriacus* L.) / Е. Л. Тыщенко, Ю. В. Тимкина // Политематический сетевой электронный научный журнал Кубанского государственного аграрного университета (Научный журнал КубГАУ) [Электронный ресурс]. – Краснодар: КубГАУ, 2011. – №02(066). С. 309 – 318. – Шифр Информрегистра: 0421100012\0055, IDA [article ID]: 0661102028. – Режим доступа: <http://ej.kubagro.ru/2011/02/pdf/28.pdf>
15. Крекова Я. А. Оценка декоративных признаков у видов рода *Picea* Dieter в Северном Казахстане / Я. А. Крекова, А. В. Данчева, С. В. Залесов // Современные проблемы науки и образования [Электронный ресурс]. – 2015. – Вып. 1. Ч. 1. – Режим доступа: <http://www.science-education.ru/ru/article/view?id=17204>
16. Савушкина И. Г. Методика оценки декоративности представителей рода *Juniperus* L. / И. Г. Савушкина, С. С. Сейт-Аблаева // Экосистемы. - 2015. - Вып. 1. – С. 97-105.
17. Заремук Р. Ш. Методика комплексной оценки сортов рода *Thuja* L. / Р. Ш. Заремук, Р. Б. Хупов // Плодоводство и виноградарство Юга России [Электронный ресурс]. – 2018. – № 50 (2). – С. 180-190. URL: <http://journalkubansad.ru/pdf/18/02/16.pdf>. DOI: 10.30679/2219-5335-2018-2-50-180-190.
18. Заремук Р. Ш. Формирование перспективного сортимента *Cupressocyparis Leylandii* J. и *Thuja* L. в условиях юга России / Р. Ш. Заремук, Р. Б. Хупов // Политематический сетевой электронный научный журнал Кубанского государственного аграрного университета (Научный журнал КубГАУ) [Электронный ресурс]. – Краснодар: КубГАУ. – 2018. – № 01 (135). – С. 113 – 124. IDA [article ID]: 1351801011. – Режим доступа: <http://ej.kubagro.ru/2018/01/pdf/11.pdf>
19. Репецкая А.И. Голосеменные растения Ботанического сада Таврического национального университета им. В.И. Вернадского / А.И. Репецкая, В.В. Леонов, И.Г. Савушкина, С.С. Сейт-Аблаева // Ученые записки Таврического национального университета им. В.И.Вернадского. Серия Биология, химия. – 2010. – Т. 23(62), № 4. – С.174-180.
20. Методика государственного сортоиспытания декоративных культур. – М.: Изд-во Мин-ва с/х РСФСР, 1960. – 182 с.
21. Методика государственного сортоиспытания сельскохозяйственных культур. Вып.6 (декоративные культуры). – М.: Колос, 1968. – 223 с.

METHOD OF EVALUATION OF ORNAMENTAL GARDEN FORMS OF THUJA OCCIDENTALIS (*THUJA OCCIDENTALIS* L.)

Savushkina I. G., Seit-Ablaeva S. S., Seytbulaeva E. J.

*V. I. Vernadsky Crimean Federal University, Simferopol, Crimea, Russia
E-mail: limodorum2001@rambler.ru*

The presence of an extensive range of forms and cultivars of *Thuja* often necessitates a comparative assessment of their decorative qualities. In the literature are widely presented techniques to perform a comparative assessment of decorative woody plants that form the plantings and belonging to different genera and families. There are a little bit of scales for the assessment of the decorativeness of gymnosperms and the paramount importance in them acquire architectonics of the trunk and branches, form, structure and coniferous the crown, the color of the needles and its variability seasonal, decorative cones.

The aim of this work is to develop a scale for assessing decorative garden forms *Thuja occidentalis* and evaluation of the form diversity in the Foothills of the Crimea.

Decorative qualities of cultivars of *Thuja occidentalis* were studied on the basis of a collection of a Botanical Garden named after. N.V. Bagrov Taurida Academy of the

V. I. Vernadsky Crimean Federal University. and various objects of greening of Foothill zone of Crimea.

As objects were selected 20 cultivars the most commonly used in landscaping: 'Smaragd', 'Globosa', 'Hoseri', 'Golden Smaragd' (syn. 'Janed Gold'), 'Danica', 'Brabant', 'Lutea', 'Spiralis', 'Ellwangeriana Aurea', 'Rheingold', 'Sunkist', 'Woodwardii', 'Columna', 'Riversii', 'Compacta', 'Ericoides', 'Miky', 'Cristata Argenteovariegata', 'Golden Globe', 'Bowling'. The research was conducted from 2014 to 2018.

When developing a scale for evaluating ornamental qualities of the cultivars of *Thuja occidentalis* were used methodological developments of N. Katelova and O. N. Vinogradova, Y. A. Krekova, A. V. Dancheva, S. V. Zalesova, as well as the previously proposed scale for the assessment of the genus *Juniperus* L. The evaluation was based on the principle of point evaluation using the conversion factor of the sign significance according to the "Method of state variety testing of ornamental crops".

The scale includes 8 main features, taking into account the duration of the decorative period, crown characteristics (shape, structure and coverage), color of needles in summer and winter, decorative cones, as well as the relative incidence of pests and diseases, damage by abiotic factors. Each of the signs is estimated from 1 to 5 points. Depending on the significance of the feature, the obtained score is multiplied by a conversion factor varying in the developed scale from 1 to 4. The value of the conversion factor was determined by the duration of each decorative feature and the strength of its aesthetic and emotional impact.

On the basis of the period of decoration is high and virtually unchanging ornamental for the whole year was observed in cultivars – 'Golden Smaragd', 'Smaragd' and 'Columna'. For most of the studied garden forms is characterized the presence of a regular, single-vertex crown shape with evenly spaced, tight-fitting branches. The most dense and homogeneous crown with needles to 100% have 'Danica', 'Globosa' and 'Miky'. Pronounced coloristic summer coloring is typical for 'Golden Smaragd', 'Rheingold', 'Ellwangeriana Aurea', 'Golden Globe' and 'Lutea'. Winter change in color of needles is typical for all cultivars of *Thuja occidentalis* the least noticeable changes that do not lead to a decrease in decorative, characteristic of garden forms 'Golden Smaragd', 'Smaragd' and 'Columna'. The highest scores were garden forms in which cones are not formed at all or they are formed very little and they are not noticeable in the total mass of the crown. Damage by diseases and pests was observed in almost all studied cultivars. In this case, the detected pathogens lead to a partial loss of decorative, but do not reduce the level of viability of plants as a whole.

According to the results of a point evaluation of the studied thuja's taxa, most of them were assigned to the II group – decorative (from 71 to 85 points). This group includes 13 garden forms. The Group I is highly decorative, scoring from 86 to 100 points, included the cultivars 'Golden Smaragd', 'Smaragd' and 'Rheingold'. The group III is medium decorative, where are related 4 cultivars – 'Hoseri', 'Lutea', 'Compacta' and 'Ericoides'.

Keywords: *Thuja occidentalis*, decorative effect signs, method, scale, cultivars, Foothill Crimea.

References

1. Shevyreva N., Konovalova T. *Coniferous plants. Great Encyclopedia*, 280 p. (Eksmo, Moscow, 2012).
2. Matyukhin D.L., Manina O.S., Sysoeva E.S. *Types and forms of conifers, cultivated in Russia. Part 2. Picea A.Dietr., Thuja L.*, 288 p. (Association of scientific publications KMK, Moscow, 2009).
3. Krüssmann G. *Conifers*, 256 p. (Lesnaya promishlennost, Moscow, 1986).
4. Karpun J.N., Perfilieva G.F. Classification of the garden forms Western thuja (*Thuja occidentalis* L.), *Hortus botanicus*, **2**, 33 (2004).
5. Kotelova N.V., Vinogradova O.N. Evaluation of decorative effect of trees and shrubs during the seasons of the year. In: *Physiology, plant breeding and urban greening*. Moscow, MLTI: 37 (1974).
6. Emelyanova O.Yu. For method of complex assessment of woody plants decorativeness, *Contemporary horticulture. Electronic Journal*, **3**, 54 (2016) – <http://journal.vniispk.ru/pdf/2016/3/38.pdf>
7. Babich N.A., Zalyvskaya O.S., Travnikova G.I. *Introductions in the green construction of northern cities: a monograph*, 144 p. (Arkhangelsk State Technical University, Arkhangelsk, 2008).
8. Khanina M.V., Dovganyuk A.I. Development of a scale for assessing the decorativeness of trees and shrubs in the winter period, *Bulletin of landscape architecture*, **5**, 95 (2015).
9. Kolyada N.A. On the method for evaluating ornamental qualities of certain shrubs in the arboretum of Mountain-Taiga Station, Far Eastern Branch of the Russian Academy of Sciences, *Siberian Herald of Agricultural Science*, **9-10**, 57 (2011).
10. Abdullina R.G., Ryazanova N.A. Method of estimation of decorative effect of species and genus *Sorbus* L., *Izvestia of Samara Scientific Center of the Russian Academy of Sciences*, **17**, **4**, 240 (2015).
11. Murzabulatova F.K., Polyakova N.V. Method of estimation of decorative effect of *Hydrangea* L., *Izvestia of Samara Scientific Center of the Russian Academy of Sciences*, **16**, **1**, 266 (2014).
12. Ryazanova N.A., Putenikhin V.P. Evaluation of ornamental maple in Ufa Botanical Garden, *Vestnik IrGSHA*, **4**, **44**, 121 (2011).
13. Savushkina I.G., Fedkina A.Y. Results of evaluation of *Syringa vulgaris* L. and *Syringa × hyacinthiflora* Rehd. in the foothill zone of Crimea, *Scientific Notes of Taurida V.Vernadsky National University. Series: Biology, chemistry*, **27** (**66**), **5**, 140 (2014).
14. Tyshchenko E.L., Timkina J.V. Methodological aspects of evaluation of ornamental characters of *Hibiscus syriacus* (*Hibiscus syriacus* L.), *Scientific Journal of KubSAU*, **2** (**66**), 309 (2011) – IDA [article ID]: 0661102028, <http://ej.kubagro.ru/2011/02/pdf/28.pdf>
15. Krekova J.A., Dancheva A.V., Zalesov S.V. Decorative sign estimations of some kind of *Picea Dieter* in North Kazakhstan, *Scientific journal Modern problems of science and education*, **1** (**1**), (2015) – URL: <http://www.science-education.ru/ru/article/view?id=17204>
16. Savushkina I. G., Seit-Ablaeva S. S. Technique of assessment of the decorative genus *Juniperus* L. representatives, *Ekosystemy*, **1** (**31**), 97 (2015).
17. Zaremuk R.S., Hupov R.B. Method of integrated varieties assessment of genus *Thuja* L., *Fruit growing and viticulture of South Russia*, **50** (**2**), 180 (2018) – URL: <http://journal.kubansad.ru/pdf/18/02/16.pdf>. DOI: 10.30679/2219-5335-2018-2-50-180-190
18. Zaremuk R.S., Hupov R.B. Formation of the perspective assortment of *Cupressocyparis Leylandii* J. and *Thuja* L. in the conditions of the south of Russia, *Scientific Journal of KubSAU*, **1** (**135**), 113 (2018) – IDA [article ID]: 1351801011, <http://ej.kubagro.ru/2018/01/pdf/11.pdf>
19. Repetskaya A.I., Savushkina I.G., Leonov V.V., Seit-Ablaeva S.S. Gymnosperm plants in Botanic Garden of the Taurida National V.I. Vernadsky University, *Scientific Notes of Taurida V.Vernadsky National University. Series: Biology, chemistry*, **23** (**62**), **4**, 174 (2010).
20. *Methods of state variety testing of decorative crops*, 182 p. (Publishing house of the Ministry of agriculture of the RSFSR, Moscow, 1960).
21. *Methods of state variety testing of agricultural crops. Issue 6 (decorative cultures)*, 223 p. (Kolos, Moscow, 1968).

УДК 574 [574.5] [579]

ДИНАМИКА СОДЕРЖАНИЯ ОРГАНИЧЕСКОГО ВЕЩЕСТВА В ДОННЫХ ОТЛОЖЕНИЯХ ПОРТОВЫХ АКВАТОРИЙ СЕВАСТОПОЛЯ

Соловьёва О. В., Тихонова Е. А.

*ФГБУН «Институт морских биологических исследований имени А. О. Ковалевского РАН»,
Севастополь, Россия
E-mail: tihonova@mail.ru*

Проведена оценка современной динамики (2009 – 2015 гг.) содержания органических веществ в донных отложениях, а также сравнение тенденций изменения их состояния в различных портовых акваториях Севастопольского побережья (бухты Стрелецкая, Казачья, Камышовая) в условиях изменения антропогенной нагрузки с использованием различных подходов. Установлено, что в период исследований в б. Стрелецкой отмечено (в среднем по акватории) снижение уровня органического загрязнения. В остальных бухтах уровень, соответствующий условно-чистым акваториям, сохранялся. Статистические оценки не позволили выявить различия, которые существуют в соответствии с экспертными оценками, основанными на реакции донного сообщества на наличие хлороформ-экстрагируемых веществ в донных отложениях.

Ключевые слова: хлороформ-экстрагируемые вещества, нефтяные углеводороды, донные отложения, U-критерий Манна–Уитни, сравнение средних рангов, портовые акватории, Чёрное море.

ВВЕДЕНИЕ

Особенностью Севастопольского побережья является наличие многочисленных бухт. В пределах региона их насчитывается более 30-ти. Самые крупные из них – Большая Севастопольская, в т.ч. Северная и Южная, Стрелецкая, Круглая, Камышовая, Казачья, Балаклавская. На протяжении многих десятилетий они функционируют в условиях антропогенной нагрузки. Их акватории используются как порты, а берега застраиваются жилыми массивами.

Севастопольская бухта является наиболее изученной из перечисленных акваторий [1]. Кроме того, она отличается стабильно высоким органическим загрязнением донных отложений [2], в других бухтах не отмечены такие уровни [2]. При этом в силу исторических факторов, в последнее время интенсивность эксплуатации отдельных акваторий имеет разнонаправленные тренды. Так, например, в результате введения санкционного режима, с 2014 г. существенно сократился грузооборот рыбного порта б. Камышовой, уменьшилось количество входящих в порт судов. Так, в период с 2013 по 2017 гг. грузооборот упал с 2.5 млн. до 300 тыс. т [3]. Изменения, происходящие на поверхности водоёма, в конечном итоге, имеют отклик в донных отложениях, но это процессы длительного характера. Так, в условиях снижения интенсивности эксплуатации акватории указанной бухты, в период до 2015 г. наблюдался постоянный уровень загрязнения донных отложений, а на отдельных участках даже некоторое его снижение [4]. На

акваторию б. Стрелецкой нагрузка, связанная с функционированием военно-морской базы несколько сократилась, что повлекло за собой достоверное снижение количества нефтяных углеводородов (НУ) в донных отложениях [5]. С другой стороны, берега таких бухт как Казачья и Стрелецкая в настоящее время интенсивно застраиваются жилыми домами. Например, из общей площади в 181,3 га восточного массива б. Казачьей планируемая многоэтажная застройка займёт 82 га [6]. Она может повлечь за собой увеличение поступления органических веществ в прибрежные воды. В результате массового, зачастую хаотичного строительства изменяются физико-химические характеристики донных отложений в местах поступления органических веществ, из-за чего на некоторых участках содержание хлороформ-экстрагируемых веществ (ХЭВ) увеличивается [4, 5, 7]. Кроме того, в данных водоёмах несколько возрос уровень органики вследствие заморных явлений, которые, по нашим наблюдениям, характерны для вершинной части всех исследуемых акваторий.

В связи с изменяющимся уровнем антропогенного пресса экологическое состояние акватории также претерпевает определённые изменения. О том, в какой степени эти изменения выражены, можно судить по динамике органического загрязнения донных отложений, отражающей хронические процессы поступления поллютантов в воды акватории. Основными показателями, характеризующими данный вид загрязнения, являются содержание ХЭВ и НУ.

Целью настоящей работы стала оценка современной динамики (2009 – 2015 гг.) содержания органических веществ в донных отложениях, а также сравнение тенденций изменения их состояния в различных портовых акваториях Севастопольского побережья в условиях изменения антропогенной нагрузки с использованием различных подходов.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Основой для анализа многолетней динамики органического загрязнения отдельных портовых акваторий послужили данные по содержанию ХЭВ и НУ в донных отложениях. Пробы последних отбирались в рамках многолетнего мониторинга отдела морской санитарной гидробиологии ФГБУН «Институт морских биологических исследований имени А. О. Ковалевского РАН» летом 2009, 2012, 2015 гг. (рис. 1). Нумерация станций пробоотбора донных отложений сохранена в соответствии с использованной ранее. Концентрацию ХЭВ определяли весовым методом, НУ – методом ИК-спектрии [8] на спектрофотометре ФСМ-1201.

Для оценки экологического состояния акватории использовалось деление донных отложений по уровням загрязнения с I по V, принятое в соответствии с реакцией бентосного сообщества на содержание ХЭВ в донных отложениях. I-му уровню соответствуют природно-чистые морские грунты с высокими показателями биоразнообразия. V-ый уровень – это практически безжизненные донные отложения [9].

Наряду с оценками, основанными на экологических показателях, была сделана попытка использования статистических методов анализа данных. Использование параметрической статистики в настоящем исследовании исключено ввиду малого

объёма выборок. В данном случае применимы непараметрические методы статанализа. В качестве статистических инструментов для сравнения временной динамики содержания загрязняющих веществ (ЗВ) в донных отложениях отдельных акваторий был использован U-критерий Манна–Уитни ($p=0.05$), позволяющий выявить достоверность отличия пары независимых выборок. Оценка достоверности в различии содержания ЗВ в донных отложениях отдельных акваторий проводили посредством сравнения средних рангов, исследуемых выборок ($p=0,05$). Вычисления проводились с использованием программного пакета Statistica 6.0.

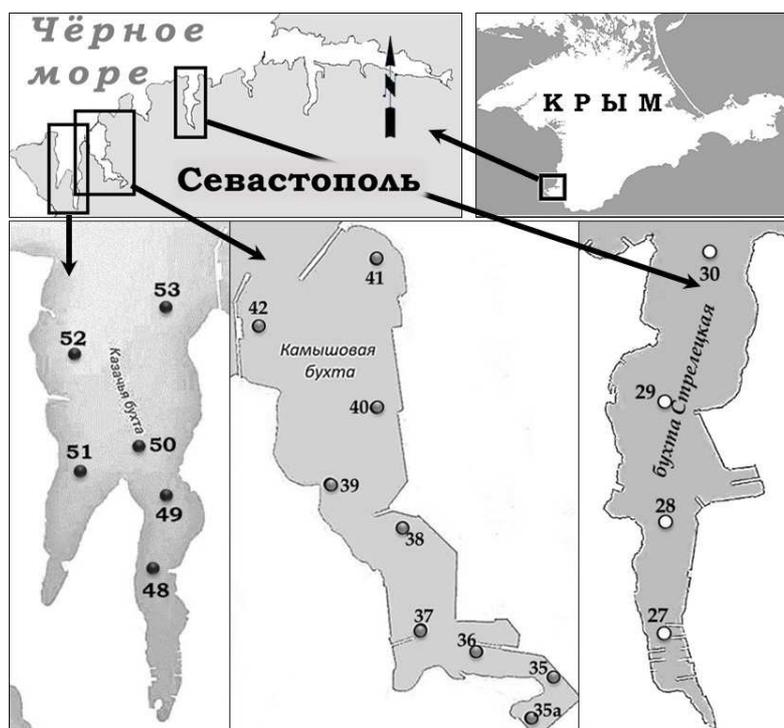


Рис. 1. Схема расположения станций пробоотбора донных отложений в рамках мониторинговых съёмок 2009, 2012, 2015 гг.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Донные отложения исследуемых портовых акваторий имеют различный гранулометрический состав. Основная часть Камышовой бухты – серые илы с примесью песка, за исключением ракушняка на ст. 39. Показатели натуральной влажности в разные периоды колебались от 37 % в ракушняхках до 71 % в илах, рН – от 7,2 до 8,1. Показатели Eh изменялись от положительных значений (+332 мВ) в ракушняхках до отрицательных в илах (-94 мВ) [4].

Донные отложения в вершине и центральной части бухты Стрелецкой, также как и в Камышовой представлены чёрными или тёмно-серыми илами, но с большим

количеством гниющей органики (ст. 29), запахом сероводорода (ст. 27а – 30) и/или с примесью песка. Натуральная влажность в разные годы колебалась от 48,7 % в илах с примесью песка до 68,2 % в илах, рН составлял 7,6 – 7,8. В илах сформировались резко восстановительные условия (отрицательные значение окислительно-восстановительного потенциала) [5].

Состав донных отложений б. Казачьей изменялся с течением времени. Ранее [10] он был представлен чёрными илами с большим количеством гниющей органики и запахом сероводорода, и илами с примесью песка. В 2015 г. авторами [7] отмечены следующие изменения: нехарактерный запах и увеличение доли перегнившей органики. Физико-химические параметры, такие, как натуральная влажность, рН и Eh донных осадков акватории бухты в исследуемом временном промежутке оставались в среднем неизменными, и соответствовал характеру осадков [7].

На протяжении 2009-2015 гг. наибольшее содержание ХЭВ среди исследуемых акваторий было в донных отложениях б. Стрелецкой и среднее по акватории значение колебалось в диапазоне 975-1493 мг/100 г возд.-сух. в-ва, что относится к IV-V уровням загрязнения. Их концентрации в донных осадках бухт Казачья и Камышовая были достаточно низкими (168-179 мг/100 г и 167-187 мг/100 г соответственно), в среднем они характеризовались как чистые акватории.

Среднее содержание НУ в донных отложениях исследуемых акваторий также существенно различалось для исследуемых бухт. В б. Стрелецкой оно составляло от 560 мг/100 г до 360 мг/100 г, что в период 2009 и 2012 гг. превышало условные нормативы, предлагаемые т.н. «Голландскими листами» [11]. Концентрация НУ в донных отложениях б. Камышовой и Казачьей в период исследований не превышали 100 мг/100 г, что соответствует природному уровню содержания данного класса веществ.

Если говорить о тенденции изменения исследуемых показателей во времени, то в б. Стрелецкой отмечено (в среднем по акватории) снижение уровня органического загрязнения. В остальных бухтах уровень, соответствующий условно-чистым акваториям, сохранялся.

Следует обратить внимание на то, что общая тенденция изменения содержания ЗВ в донных отложениях бухты не характеризует локальные процессы, происходящие на отдельных участках акваторий. В б. Стрелецкой (рис. 2) снижение содержания ХЭВ отмечено на наиболее загрязнённых станциях (ст. 27 – почти в 2 раза). На участках, где содержание ХЭВ было ниже (ст. 28 и 29) – этот показатель снизился примерно на 30 %. На относительно чистом участке дна (ст. 30) содержание органических веществ выросло вдвое. Это может быть связано с увеличением или перераспределением нагрузки по акватории бухты.

Снижение в период исследования содержания НУ (рис. 3) было наибольшим на ст. 28 и 29 (48 %, и 57 % соответственно), на ст. 27 оно уменьшилось менее заметно (21 %). Повышение концентрации НУ почти в 3 раза отмечено на самой благополучной ст. 30, но, тем не менее, уровень загрязнения остался низким.

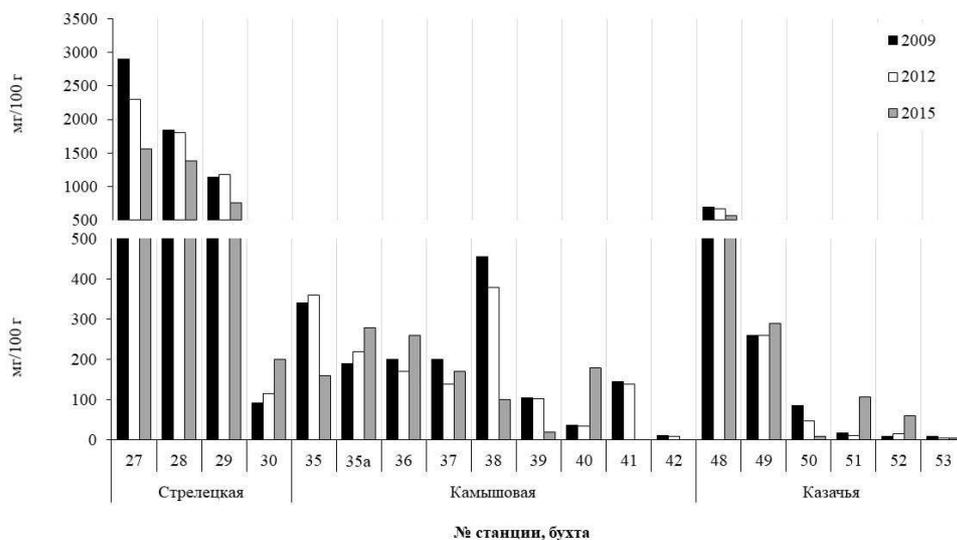


Рис. 2. Концентрации ХЭВ в донных отложениях севастопольских портовых акваторий по данным мониторинговых съёмки 2009, 2012, 2015 гг.

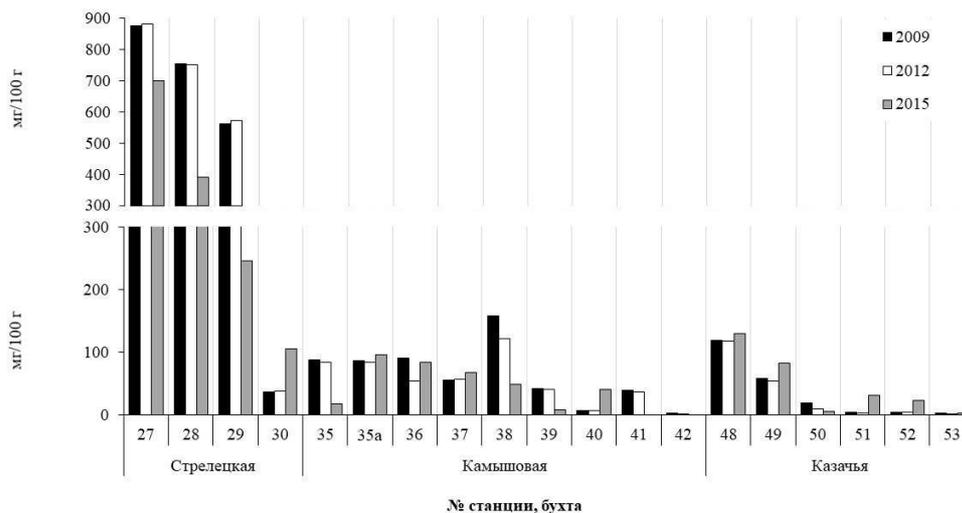


Рис. 3. Концентрации НУ в донных отложениях севастопольских портовых акваторий по данным мониторинговых съёмки 2009, 2012, 2015 гг.

Таким образом, при снижении средних показателей по акватории, отмечается перераспределение загрязняющих веществ в её пределах; отдельные участки очищаются, другие интенсивнее накапливают загрязнение.

Южнее по побережью находится б. Камышовая. В ней на 4-х из 9-ти станций пробоотбора (ст.35, 37, 38, 39) отмечено уменьшение содержания ХЭВ. Данное снижение составляло от 15 % (что можно отнести к погрешности метода) до 360 %. Последнее определённо характеризует изменение содержания ХЭВ в донных отложениях. На трёх станциях отмечен рост содержания органических веществ (35а, 36, 40), который также колебался от 21 % до 470 %.

Снижение содержания НУ отмечено на ст. 35, 38, 39. На всех перечисленных участках оно было значительным и колебалось от 3-х до 6-ти раз. Значимый рост содержания НУ отмечен на ст. 40, где за последние годы данный показатель увеличился почти в 6 раз.

При всех описанных колебаниях содержания органических веществ, ни одно из зафиксированных значений не превышает допустимых норм [11] или относительных уровней, характеризующих санитарно-биологическое благополучие акватории [9].

В 2015 г. в б. Казачьей относительно высокие (до 700 мг/100 г) показатели ХЭВ отмечены в южной (кутовой) части (ст. 48). При этом содержание НУ за весь период исследований снижалось. На соседней ст. 49 содержание ХЭВ практически не менялось. Рост содержания органического вещества отмечен на ст. 51 и 52 (в 9 и 4 раза соответственно), которые являются условно чистыми. Рост содержания НУ отмечен на следующих станциях: несущественно ст. 48, в 1,5 раза ст. 49. Наиболее выраженным данное явление было на ст. 51 (в 11 раз) и 52 (в 5 раз), которые в предыдущие годы были практически чистыми. В б. Казачьей рост содержания НУ отмечен практически по всей акватории, и наиболее интенсивным он был на её чистых участках.

Описанное выше изменение и различие параметров не имеет статистической оценки, а определяется лишь экспертным мнением авторов. Такая практика имеет место в статьях, посвящённых данной тематике [12–15]. В настоящей работе сделана попытка провести статистический анализ материала и оценить применимость некоторых статистических методов в рамках такого рода исследований. Из-за малого количества данных в выборке использование параметрической статистики невозможно. Из известных критериев, используемых в непараметрических методах статистики для сравнения временной динамики содержания органических веществ в донных отложениях некоторых портовых акваторий во времени был применён U-критерий Манна–Уитни ($p=0.05$). Он позволяет провести анализ по выявлению достоверности отличий пары независимых выборок. Данный анализ в период с 2009 по 2015 гг. не показал наличия значимых различий в уровнях загрязнения ХЭВ и НУ исследуемых акваторий.

Оценка достоверности в различии содержания ЗВ в донных отложениях различных акваторий проводили посредством сравнения средних рангов, исследуемых выборок ($p=0,05$). В 2009 г. достоверные различия в содержании ХЭВ и НУ в донных отложениях исследуемых бухт отсутствовали. При этом исследуемые акватории, на основании имеющихся в гидробиологии представлений [9], имели различный уровень органического загрязнения: Камышовая и Казачья

бухты – III, Стрелецкая - V. Различие в состоянии донных отложений бухт, полученное на основании предложенных оценок, представлено на рис. 4. В дальнейшем ситуация изменялась. Так, в 2012 г. отмечено статистически значимое различие в содержании ХЭВ в донных осадках б. Стрелецкой и Казачьей. Уровень загрязнения акваторий в этот период можно в целом классифицировать, как и в предшествующий. По содержанию НУ достоверных различий не выявлено. В результате последней съёмки (2015 г.) по содержанию ХЭВ достоверные различия были между донными отложениями б. Стрелецкой и Казачьей. Достоверных различий в содержании ХЭВ в морских грунтах б. Камышовой и Казачьей не выявлено. Также отсутствуют достоверные отличия для б. Камышовой и Стрелецкой. По содержанию НУ различие было достоверным для б. Стрелецкой и Казачьей. Концентрация НУ в донных осадках б. Камышовой не имела достоверных отличий с другими исследуемыми участками севастопольского побережья. Уровень загрязнения б. Стрелецкой в этот период можно характеризовать как IV. Остальных бухт – III. Таким образом, в период настоящего исследования (2009 – 2015 гг.) отмечены изменения, которые противоречат тренду изменения средних показателей. Они обусловлены изменениями в пределах отдельных станций. На некоторых, ранее практически чистых участках, в настоящее время наблюдается нарастание содержания ЗВ.

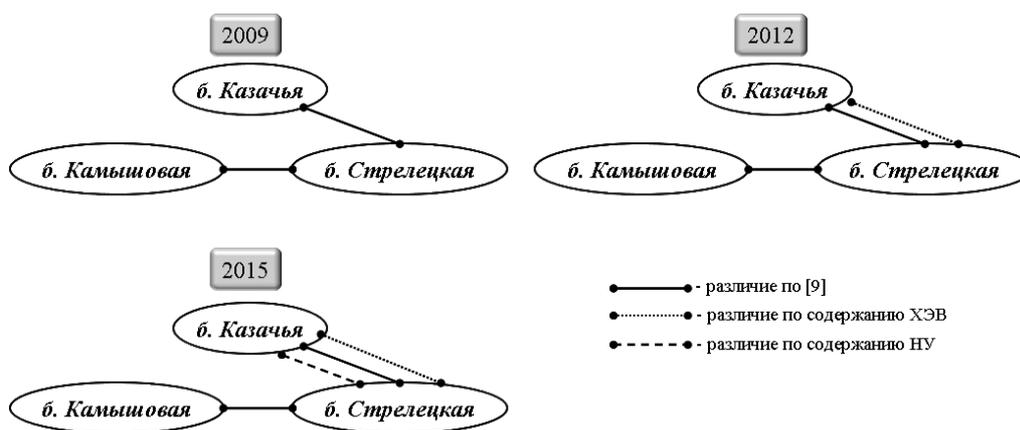


Рис. 4. Различие в содержании органических веществ в донных отложениях некоторых портовых акваторий в период 2009, 2012, 2015 гг.

Из представленных на рис. 4 данных о различии в загрязнении донных отложений исследуемых бухт, основанных на статистических и экспертных оценках видно, что наибольшее различие существует для б. Казачьей и Стрелецкой и с течением времени оно нарастает. В 2009 г. данное различие выявляет только деление донных отложений по уровню загрязнения. В 2012 г. содержание ХЭВ в донных отложениях статистически различимо, а по результатам съёмки 2015 г. статистически различимо не только содержание ХЭВ, но и НУ.

Состояние донных отложений б. Казачьей и Камышовой в период исследований существенно не различалось не по одному из рассматриваемых критериев.

Донные отложения б. Камышовой и Стрелецкой за годы исследований имели различные уровни загрязнения, выделенные на основании реакции донной биоты на содержание в донных осадках поллютантов [9], но данное различие не подтверждено статистически. На основании сравнения данных статистической обработки полученных с использованием U-критерия Манна–Уитни для оценки межгодовой изменчивости исследуемых параметров и сравнения средних рангов для оценки достоверности различий в состоянии донных отложений исследуемых объектов в пределах одного года были получены статистические оценки, противоречащие экспертным. Различие в содержании ХЭВ в донных отложениях, которое существенно сказывается на состоянии донного сообщества, не определялось как значимое, при использовании указанного статистического критерия. В данном случае можно говорить о неприменимости данных непараметрических методов для оценки исследуемых величин.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

1. В период исследований (2009 – 2015 гг.) в б. Стрелецкой отмечено (в среднем по акватории) снижение уровня органического загрязнения. В остальных бухтах уровень, соответствующий условно-чистым акваториям, сохранялся.
2. В б. Стрелецкой с 2009 по 2015 гг., при снижении средних показателей загрязнения ХЭВ и НУ по акватории, отмечалось пространственное перераспределение ЗВ; отдельные участки очищаются, другие накапливают загрязнение.
3. Использование некоторых статистических инструментов (U-критерия Манна–Уитни и сравнения средних рангов) показала недостаточную чувствительность данных критериев, для использования в подобных исследованиях. Статистические оценки не позволили выявить различия, которые существуют в соответствии с экспертными оценками, основанными на реакции донного сообщества на наличие ХЭВ в донных отложениях.

Работа выполнена в рамках государственного задания ФГБУН ИМБИ по теме государственного задания «Молисмологические и биогеохимические основы гомеостаза морских экосистем» (№ 0828-2018-0001).

Список литературы

1. Санитарно-биологические исследования в прибрежной акватории региона Севастополя / Под общ. ред. О. Г. Миронова: ИнБИОМ НАН Украины. – Севастополь: ЭКОСИ-Гидрофизика, 2009. – 192 с.
2. Миронов О. Г. Санитарно-биологические аспекты экологии севастопольских бухт в XX веке: монография / О. Г. Миронов, Л. Н. Кирюхина, С. В. Алёмов. – Севастополь: ЭКОСИ – Гидрофизика, 2003. – 185 с.
3. <https://www.sevmp.ru>
4. Полисовая А. И., Тихонова Е. А. Экологическое состояние донных отложений портовой акватории (на примере бухты Камышовой, Чёрное море) / А. И. Полисовая, Е. А. Тихонова //

- Тезисы X Всероссийской научно-практической конференции «PontusEuxinus 2017» молодых учёных по проблемам водных экосистем, в рамках проведения Года экологии в Российской Федерации (11-16 сентября 2017 г.). Севастополь: DigitPrint. – С. 169 – 171.
5. Тихонова Е. А., Котельянец Е. А., Волков Н. Г. Характеристика загрязнения донных отложений прибрежной акватории Севастополя на примере Стрелецкой бухты (Чёрное море) / Е. А. Тихонова, Е. А. Котельянец, Н. Г. Волков // Экологическая безопасность прибрежной и шельфовой зон моря. – 2018. – Вып. 1. – С. 74 – 80.
 6. Проект Стратегии социально-экономического развития города Севастополя до 2030 года // Постановление Правительства Севастополя от 17.04.2017 г. №315-ПП. – Севастополь, 2017. – 133 с.
 7. Котельянец Е. А., Гуров К. И., Тихонова Е. А., Соловьёва О. В. Некоторые геохимические показатели донных отложений прибрежной акватории под влиянием антропогенного фактора (на примере б. Казачья, г. Севастополь) / Е. А. Котельянец, К. И. Гуров, Е. А. Тихонова, О. В. Соловьёва // Вестник Удмурдского университета. Сер. Биология. Науки о Земле. – 2017, №1. – С. 5 – 13.
 8. Руководство по методам химического анализа морских вод / Под ред. С. Г. Орадовского. – Л.: Гидрометеоиздат, 1977. – 208 с.
 9. Миронов О. Г., Миловидова Н. Ю., Кирюхина Л. Н. О предельно допустимых концентрациях нефтепродуктов в донных осадках прибрежной зоны Чёрного моря // Гидробиол. журнал. – Т. 22, № 6. – 1986. – С. 76 – 78.
 10. Алёмов С. В., Тихонова Е. А. Характеристика донных осадков и макрозообентоса б. Казачья в первой декаде XXI века / С. В. Алёмов, Е. А. Тихонова // Экологическая безопасность прибрежной и шельфовой зон и комплексное использование ресурсов шельфа. – 2012. – Т. 1., Вып. 26. – С. 38 – 50.
 11. Neue Niederlandische Liste // Altlasten Spektrum 3/95.
 12. Игнатъева О. Г., Орехова Н. А., Романов А. С., Котельянец Е. А. Физико-химические характеристики донных отложений бухты Казачьей (Черное море), как показатели ее экологического состояния / О. Г. Игнатъева, Н. А. Орехова, А. С. Романов, Е. А. Котельянец // Учёные записки Таврического национального университета им. В. И. Вернадского. Сер. биология, химия. – 2005. – Т. 18 (58), №2. – С. 43 – 48.
 13. Тихонова Е. А. Многолетняя динамика загрязнения органическими веществами донных осадков бухты Круглая (Севастополь, Чёрное море) / Е. А. Тихонова // Морской биологический журнал. – 2016. – Т. 1, № 1. – С. 70 – 75.
 14. Stuart G. Wakeham and Roy Carpenter Aliphatic hydrocarbons in sediments of Lake Washington' / G. Stuart // Limnology and oceanography. – 1976. – Vol. 21(5). – P. 711 – 723.
 15. Charles R. Phillips, James R. Payne, James L. Lambach, Garry H. Farmer, Robert R. Sims. Georges bank monitoring program: hydrocarbons in bottom sediments and hydrocarbons and trace metals in tissues / Phillips Charles R., Payne James R., Lambach James L., Farmer Garry H., Sims Robert R. // Marine Environmental Research. – Vol. 22, Iss. 1. – 1987. – P. 33 – 74.

THE ORGANIC MATTER CONTENT DYNAMICS IN THE SEA BOTTOM SEDIMENTS OF THE SEVASTOPOL HARBOR WATER AREA

Soloveva O. V., Tikhonova E. A.

*A. O. Kovalevsky Institute of Marine Biological Research RAS, Sevastopol, Russia
E-mail: tihonova@mail.ru*

In view of the anthropogenic press level changing, the ecological state of the water area undergoes certain changes. The scale of these changes are expressed can be judged by the organic pollution of sea bottom sediments dynamics, reflecting the chronic processes of pollutants entering the waters of the water area. The main indicators characterizing this type of pollution are the content of chloroform-extractable substances and oil hydrocarbons.

The purpose of this work was to assess the current dynamics (2009 - 2015) of organic matter content in the sea bottom sediments, as well as a comparison of their state trends in different port areas of the Sevastopol coast in the face of changes in anthropogenic load using different approaches.

The analysis of organic pollution long-term dynamics of individual port waters based on the data on the content of chloroform-extracted substances and oil hydrocarbons in the sea bottom sediments. The samples were collected as part of the long-term monitoring of the Department of Marine Sanitary Hydrobiology A. O. Kovalevsky Institute of Marine Biological Research of the RAS in the summer of 2009, 2012, 2015. The concentration of chloroform-extracted substances was determined by the gravimetric method, oil hydrocarbons - by the method of IR-spectrometry. To assess the ecological state of the water area, the division of the sea bottom sediments according to pollution levels from I to V was used, based on the reaction of the benthic community to the content of chloroform-extractable substances in the sea bottom sediments. Along with estimates based on environmental indicators, an attempt was made to use statistical data analysis methods. The application of parametric statistics in this study is excluded due to the small sample number. In this case is applicable non-parametric methods of statistical analysis. The Mann-Whitney U-criterion ($p = 0.05$) was used as a statistical tool for comparing the temporal dynamics of the pollutant content in the sea bottom sediments of individual water areas ($p = 0.05$), which makes it possible to reveal the reliability of differences in a pair of independent samples. The assessment of the reliability of the difference in the content of pollutants in the sea bottom sediments of individual waters was through the time was carried out by comparing the average ranks of the studied samples ($p = 0.05$).

According to the obtained data on the difference in pollution of sea bottom sediments of the studied bays, based on statistical and expert estimates, it can be seen that the greatest difference exists for of Kozachya and Streletskaya bays and over the time it increases. In 2009, this distinction reveals only the division of sea bottom sediments according to the level of pollution. In 2012, the content of chloroform-extracted substances in sea bottom sediments is statistically distinguishable, and according to the 2015 survey, not only the content of chloroform-extractable substances, but also oil hydrocarbons is statistically distinguishable.

The sediments state of Kozachya and Kamyshovaya bays during the study period did not differ significantly by any of the criteria under consideration.

The sea bottom sediments of Kamishovaya and Streletskaya bays over the years of research had different pollution levels, but this difference was not confirmed statistically. Based on a comparison of statistical data obtained using the Mann-Whitney U-test estimation of the interannual studied parameters variability and comparison of the average ranks to assess the significance of differences in the state of sea bottom sediments of the studied objects within one year was made. Statistical estimates were obtained contradicting the expert ones. The difference in the content of chloroform-extractable substances in the sea bottom sediments, which significantly affects the state of the bottom community, was not identified as significant when using the specified statistical criterion. In this case, we can point to the inapplicability of these non-parametric methods for the studied parameters evaluation.

Thus, in the research period (2009 - 2015) in Streletskaya bay registered (on average over the water area) a decrease of organic pollution level. In the remaining bays, the level corresponding to the relatively clean water areas was reserved. In Streletskaya bay from 2009 to 2015, with a decrease in the average pollution indicators of chloroform-extractable substances and oil hydrocarbons in the water area, there was a spatial redistribution of pollutants change; some areas are cleaned, others accumulate pollution. The use of some statistical tools (Mann-Whitney U-test and comparison of average ranks) showed insufficient sensitivity of these criteria for use in such studies. Statistical estimates did not reveal differences that exist in accordance with expert estimates based on the response of the bottom community to the presence of chloroform-extractable substances in sea bottom sediments.

Keywords: chloroform-extractable substances, oil hydrocarbons, sea bottom sediments, Mann-Whitney U criteria, comparison of mean ranks, harbor waters, Black Sea.

References

1. Sanitary-biological investigation in coastal area of Sevastopol region. 192 p. (Sevastopol: ECOSY-Hydrophysics, 2009)
2. Mironov O. G., Kiryukhina L. N., Alyomov S. V. Sanitary-biological aspects of the Sevastopol bays ecology in XX century. 185 p. (Sevastopol: ECOSY-Hydrophysics, 2003)
3. <https://www.sevmp.ru>
4. Polisovalaya A. I., Tikhonova E. A. Ecological condition of sea bottom sediments of the port water area (on the example of Kamyshova Bay, the Black Sea). *Proceedings of the X All-Russian Scientific and Practical Conference «Pontus Euxinus 2017»* (Sevastopol, 2017), P. 169 – 171.
5. Tikhonova E. A., Kotelyanets E. A., Volkov N. V. Characteristic of pollution of the bottom deposits in the coastal area of Sevastopol on the example on the Streletskaya bay (the Black Sea), *Ecological safety of coastal and shelf zones of sea*, **1**, 74 (2018).
6. Draft Strategy for Social and Economic Development of the City of Sevastopol until 2030, Resolution of the Government of Sevastopol from 17.04.2017 № 315-PP. 133 p. (Sevastopol, 2017)
7. Kotelyanets E. A., Gurov K. I., Tikhonova E. A., Soloveva O. V., Some geochemical indicators of sea bottom sediments in coastal waters under the influence of anthropogenous factor (using Kazachya bay, Sevastopol, as an example), *Bulletin of Udmurt University Series Biology. Earth Sciences*, **1**, 5 (2017)
8. Oradovsky S. G., A guideline to methods of chemical analysis of sea waters, 208 p. (L., Gidrometeoizdat, 1977).
9. Mironov O. G., Milovidova N. Yu., Kiryukhina L. N. About the maximum permissible concentrations of oil products in bottom sediments of the coastal zone of the Black Sea, *Hydrobiological journal*, **22**, 6, 76 (1986).
10. Alyomov S. V., Tikhonova E. A. Harakteristika donnyh osadkov i makrozoobentosa b. Kazach'ya v pervoj dekadke XXI veka, *Ecological safety of coastal and shelf zones and comprehensive use of shelf resources*, **1**, 26 (2012).
11. Neue Niederlandische Liste // Altlasten Spektrum 3/95.
12. Ignat'eva O. G., Orekhova N. A., Romanov A. S., Kotel'yanec E. A. Fiziko-himicheskie harakteristiki donnyh otlozhenij buhty Kazach'ej (Chernoe more), kak pokazateli ee ehkologicheskogo sostoyaniya, *Scientific Notes of V.I. Vernadsky Crimean Federal University. Ser. biology, chemistry*, **18** (58), 43 (2005).
13. Tikhonova E.A. The long-term dynamics of the sea bottom sediments pollution of the Kruglaya bay (Black sea), *Marine Biological Journal*, **1**, 1, 70 (2016).
14. Stuart G. Wakeham and Roy Carpenter Aliphatic hydrocarbons in sediments of Lake Washington', *Limnology and oceanography*, **21** (5), 711 (1976).
15. Charles R. Phillips, James R. Payne, James L. Lambach, Garry H. Farmer, Robert R. Sims. Georges bank monitoring program: hydrocarbons in bottom sediments and hydrocarbons and trace metals in tissues, *Marine Environmental Research*, **22**, 1, 33 (1987).

УДК 594.121:591.134 262

**О ВЗАИМОСВЯЗИ ПРОЦЕССОВ ФИЛЬТРАЦИИ И ДЫХАНИЯ
ТИХООКЕАНСКОЙ УСТРИЦЫ (*CRASSOSTREA GIGAS*, THUNBERG),
ИНТРОДУЦИРОВАННОЙ В АЗОВО-ЧЕРНОМОРСКИЙ БАССЕЙН**

Сытник Н. А., Золотницкий А. П.

*ФГБОУ ВО «Керченский государственный морской технологический университет», Керчь,
Республика Крым, Россия
E-mail: zap6@mail.ru*

Исследована скорость фильтрации и дыхания тихоокеанской устрицы (*Crassostrea gigas*, Thunberg) при различной температуре воды в Керченском проливе. Определены количественные параметры степенных уравнения, связывающие зависимость исследованных функций от массы тела в интервале температуры воды 5 - 19 °С. Показано, что при нижнем термическом режиме (5 – 12 °С) значение температурного коэффициента Вант-Гоффа (Q_{10}) варьирует в пределах 2,18 - 2,56, тогда как с повышением температуры (12 – 19 °С) снижается – 1,58 – 1,76. В указанном интервале температур интенсивность фильтрации и потребления кислорода возрастают, тогда как отношение F/R (индекс фильтрационной активности) варьирует в сравнительно незначительных пределах – от 5,31 до 6,06. Устойчивое соотношение интенсивности фильтрации и дыхания в ходе естественного сезонного ритма свидетельствует о компенсаторном изменении интенсивности фильтрации и метаболизма в условиях изменяющейся температуры воды.

Ключевые слова: тихоокеанская устрица, фильтрация, дыхание, интенсивность, индекс фильтрации.

ВВЕДЕНИЕ

Тихоокеанская (японская, гигантская) устрица (*Crassostrea gigas*, Thunberg) является одним из наиболее важных объектов мировой марикультуры моллюсков (конхиокультуры). Из общего объема выращивания моллюсков в 2013 г., равного 15,2 млн. тонн, наибольший удельный вес представлял этот вид [1].

Тихоокеанская устрица характеризуется широкой экологической пластичностью (эвригалинностью и эвритермностью), высоким продукционным потенциалом, определённой устойчивостью к паразитарным и инфекционным заболеваниям, а также хорошими вкусовыми качествами. В связи с перспективой акклиматизации тихоокеанской устрицы в Черном море [2, 3], которая почти в 2 раза ниже по своей солёности естественного биотопа (Японское море), представляло интерес исследовать различные аспекты жизнедеятельности этого вида в новом водоеме-реципиенте.

Несмотря на весьма значительное число работ, посвященных изучению различным аспектам жизнедеятельности тихоокеанской устрицы в Чёрном море [2 - 5], многие вопросы остались мало исследованными. Одним из таких вопросов является исследование количественной взаимосвязи процессов питания и дыхания

моллюсков, которые тесно интегрированы между собой. Известно, что получение как пищи, так и кислорода из воды осуществляется с помощью вододвижущего аппарата, основой которого является мерцательный эпителий, выстилающий жабры и околотростовые лопасти моллюска [6, 7].

Обе функции чрезвычайно важны для жизнедеятельности моллюсков, поскольку скорость фильтрации является одним из важнейших параметров, характеризующих величину скорости потребления пищи (рациона) за определенный период жизни, тогда как уровень потребления кислорода определяет метаболические траты организма, и является своеобразным отражением уровня организации животного [9, 10]. В связи с этим, изучение соотношения этих показателей позволяет получить важную информацию о величине рациона и трат энергии на этот процесс в различных экологических условиях, которые представляют, как теоретический, так и практический интерес для тихоокеанской устрицы и других видов моллюсков.

В задачу настоящей работы входило количественное исследование взаимосвязи процессов фильтрации и дыхания тихоокеанской устрицы и их изменение при различной температуре воды.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Материалом для исследования служили 200 особей, высотой 10-160 мм и живой массой (со створкой) 0,35 до 230 г., собранные лимане Донузлав Чёрного моря и доставленные в Керченский пролив. Опыты проводили при температуре 5 –19 °С и солености 13,4 – 14,6 ‰. Изучению скорости фильтрации устриц проводили в сосудах с профильтрованной морской водой после освобождения их желудочно-кишечного тракта от содержимого. В качестве корма использовали диатомовую микроводоросль *Nitzshia sp.*, со средним объемом клетки 1200 мкм³. Опыты проводили в аквариумах, объемом 2-30 дм³ (в отдельных случаях до 15 дм³), в зависимости от размера и числа особей в опыте. Фильтрационную активность моллюсков определяли непрямым методом по разнице концентрации корма в начале и конце опыта. Скорость фильтрации устриц определяли по формуле Голда [6, 9]:

$$F = \frac{\ln K_0 - \ln K_t}{n \cdot t} \cdot V$$

где F – скорость фильтрации (л/экз. час), K_0 и K_t – начальная и конечная концентрация водорослей (мг/л), V – объем сосуда (л), n – число моллюсков в опыте, t – продолжительность опыта (час.). Проведенными опытами было установлено, что оптимум фильтрационной активности при температуре 12 °С близок к концентрации 1,0 - 1,5 мг/л, которая и использовалась в наших опытах.

При статистическом анализе полученных данных использовали результаты опытов, где концентрация водорослей уменьшилась не более чем на 25 % от исходной плотности взвеси. Продолжительность опытов составляла $3 \pm 0,2$ часа, в зависимости от объема сосудов и размера моллюсков.

Изучение скорости потребления кислорода (СПК) моллюсками проводили методом замкнутых сосудов. Продолжительность опыта также составляла $3 \pm 0,2$

часа, исходная концентрация кислорода варьировала в пределах 6,4 - 8,1 мл·О₂/л. Содержание исходного и потребленного моллюсками кислорода (СПК) определяли йодометрическим методом Винклера [7]. Скорость потребленного кислорода (R , мл О₂ /час экз.) определяли по формуле:

$$R = \frac{(O_1 - O_2) \cdot V}{n \cdot t}$$

где O_1 и O_2 – соответственно, исходное и конечное содержание кислорода в опытном респирометре, n - число животных в опыте, t – продолжительность опыта (час.). При анализе материалов учитывали лишь результаты экспериментов, в которых содержание кислорода в респирометрах за время опыта снижалось не более чем на 20 % от исходной величины. Скорости фильтрации (дыхания) описывались степенной функцией:

$$F(R) = F_1(R_1) \cdot W^{n(m)},$$

где $F(R)$ – соответственно, сухая масса тела и искомая функция (фильтрация или дыхание), $F_1(R_1)$ и $n(m)$ - коэффициенты пропорциональности и регрессии. После завершения опыта моллюсков подвергали биологическому анализу (определяли длину животного, общую массу, массу мягких тканей, пол, стадию зрелости). Сухую массу тканей определяли путём высушивания её в течение 3-х суток мягких тканей моллюсков (W , г) при температуре 65 °С. Значение температурного коэффициента Вант-Гоффа (Q_{10}), указывающего во сколько раз возрастает скорости фильтрации и дыхания и определяли по формуле:

$$Q_{10} = (V_2/V_1)^{10/(t_2-t_1)},$$

где V_1 и V_2 – скорости физиологических реакций за интервал температур от t_1 до t_2 .

Статистическую обработку экспериментальных данных осуществляли по общепринятым методам, с помощью компьютерной статистической программы «Statistica-10» и электронных таблиц «Excel-2007».

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Фильтрационная активность тихоокеанской устрицы. Изучение скорости фильтрации устриц в зависимости от массы тела в исследованном районе показало, что, как и у других видов двустворчатых моллюсков [6, 9, 11, 12] этот показатель тесно связан с массой тела и хорошо аппроксимируются степенной функцией:

$$F = F_1 \cdot W^n \quad (1)$$

где F – скорость фильтрации (л/ час экз.), W – масса тела, выраженная в сухом веществе (г), F_1 – интенсивность фильтрации (л/час·г) n – коэффициент регрессии, характеризующий изменение фильтрационной активности в зависимости от массы тела. На рис. 1 приведена связь скорости фильтрации тихоокеанской устрицы в зависимости от сухой массы тела при температуре 5 °С и солёности ($S = 14,6 ‰$) в Керченском проливе, которая выражается уравнением:

$$F = (1.43 \pm 0.095) \cdot W^{0.48 \pm 0.068}, n = 24, R^2 = 0,763 \quad (2)$$

При возрастании температуры воды фильтрационная активность существенно возрастает, о чём свидетельствует заметное увеличение коэффициента пропорциональности F_1 (л/час·г). Параметры уравнения, связывающих скорость

фильтрации (F) и сухой массой тела (W) тихоокеанской устрицы при различной температуре воды приведены в таблице 1.

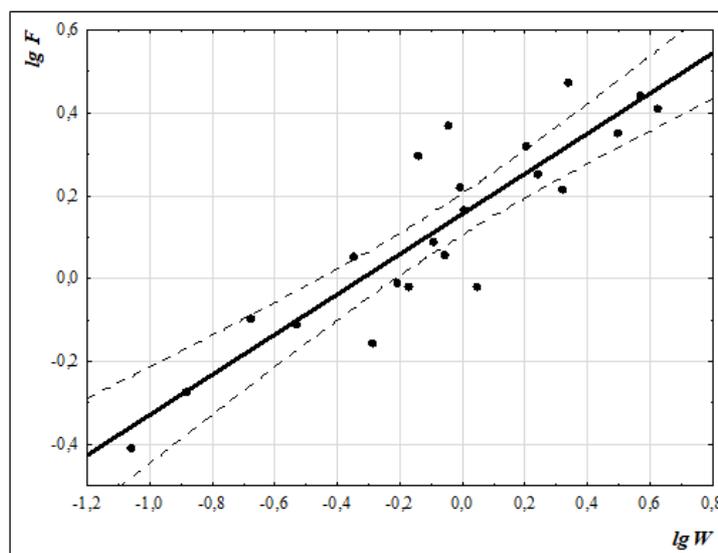


Рис. 1. Зависимость скорости фильтрации (F, л/час·экз) от сухой массы тела (W, г) устриц, T = 5 °C, S = 14,6 ‰ (масштаб логарифмический, штриховые линии – 95% доверительный интервал).

Таблица 1.

Параметры уравнения связи между скоростью фильтрации (F, л/ч экз.) и сухой массой тела (W, г) у тихоокеанской устрицы при различной температуре воды*

Период работ (T, °C)	N	W	F _l	S _F	n	S _n	R ²
ноябрь (5)	24	0,09-4,21	1,43	0,095	0,48	0,068	0,763
март (12)	24	0,16-2,81	2,73	0,141	0,52	0,075	0,748
июнь (19)	23	0,16-2,98	3,81	0,222	0,60	0,078	0,809

*N – число особей в опыте, W – предельные значения сухой массы моллюсков в опыте, S_F – стандартная ошибка F_l, S_n – стандартная ошибка n; R² – коэффициент детерминации.

Полученные данные по фильтрации устриц достаточно близки с материалами, приведенными в статьях других авторов на этом и других видах двустворчатых

моллюсков [13 – 15]. Так, в работе Гердеса [13], исследовавшей влияние разной плотности альгофлоры (от 100 до $50 \cdot 10^6$ кл/л) было показано, что при 20 °С у тихоокеанской устрицы зависимость скорости фильтрации (при концентрации $100 \cdot 10^6$ кл/л) от сухой массы тела описывается уравнением:

$$F = 2,7 \cdot W^{0,78} \quad (3)$$

В то же время, при снижении плотности фитопланктона фильтрационная активность возрастала и при $50 \cdot 10^6$ кл/л она достигала до 5,5 л/час экз. Близкие к этим данным были получены А.В. Кучерявенко (1985) при исследовании питания тихоокеанской устрицы. Им было обнаружено, что этого вида интенсивность фильтрации близка к 5 л/час на 1 г сухой массы. Аналогичные данные были обнаружены французскими исследователями [14] - авторами показано, что в интервале температур 5 – 25 °С интенсивность фильтрации (F_1) варьировала в пределах 2,17 – 4,92 л/час.экз.

Интенсивность дыхания тихоокеанской устрицы. Параллельно с изучением фильтрационной активности нами были проведены опыты по изучению скорости потребления кислорода (дыхания) тихоокеанской устрицы. Было обнаружено, что зависимость скорости дыхания (R) от сухой массы тела (W) в разные сезоны года также хорошо аппроксимируется аналогичным степенным уравнением (1). Параметры уравнения связи между этими показателями в исследуемом районе в разные сезоны года приведены в таблице 2.

Таблица 2.
Параметры уравнения связи между скоростью потребления кислорода (R) и сухой массы тела (W) тихоокеанской устрицы при различной температуре воды *

Период работ, (Т, °С)	N	W	R_1	S_R	m	S_m	R^2
ноябрь (5)	19	0,11-4,69	0,255	0,037	0,658	0,024	0,78 5
март (12)	21	0,18-3,82	0,452	0,075	0,791	0,027	0,83 4
июнь (19)	20	0,12-3,12	0,667	0,11	0,704	0,048	0,79 1

*N – число особей в опыте, W – пределы индивидуальной сухой массы моллюсков в опыте, S_R - стандартная ошибка R_1 , S_m - стандартная ошибка m ; R^2 - коэффициент детерминации.

Из приведенных в табл. 2 данных видно, что с изменением температуры воды скорость потребления кислорода устрицами заметно изменяется и характеризуется аналогичным трендом, что и скорость фильтрации. Наиболее низкая интенсивность дыхания у моллюсков зарегистрирована при 5 °С:

$$R = (0,255 \pm 0,037) \cdot W^{0,658 \pm 0,24}, n=21, R^2 = 0,785 \quad (4)$$

С повышением температуры воды наблюдалось устойчивое возрастание его значений (табл. 2). Полученные данные хорошо соответствуют материалам, полученных другими авторами. Например, в работе Гердеса [16], показано, что при температуре воды 20 °С скорость потребления кислорода в зависимости от сухой массы тела описывалась уравнением:

$$R = 0,645 \cdot W^{0,77} \quad (5)$$

Близкие результаты получены в работах других авторов на этом виде [14, 17, 18], которые показали, что скорость дыхания в зависимости от массы тела у тихоокеанской устрицы в интервале температур 5 - 25 °С варьирует от 0,281 до 4,14 мг O₂/час·г. Аналогичные данные были получены и другими авторами [11, 17, 18].

В то же время из таблиц 1 и 2 видно, что в зависимости от сезона года значения параметров F_I (R_I) и n (m) также существенно изменялись: с повышением температуры воды происходило заметное возрастание не только коэффициента пропорциональности F_I (R_I), но и существенное варьирование коэффициента регрессии n (m). Это обусловлено тем, что опыты по влиянию температуры на фильтрационную активность и скорость потребления кислорода проводились на особях разного размера и массы, а также различных значениях температуры, что и обусловило разные значения коэффициентов пропорциональности и регрессии полученных уравнений. Сравнение интенсивности физиологических функций возможно лишь при равенстве констант m (n) или по величине удельного значения (F/W и R/W) животных одинаковой массы [6, 10].

Для оценки взаимосвязи интенсивности питания и дыхания при разных температурных условиях было необходимо привести корректировку значений F и R . Для этого в настоящее время широко используется следующее уравнение [10, 19]:

$$Y_{st} = Y_e \cdot \left[\frac{X_{st}}{X_e} \right]^n$$

где Y_{st} и Y_e – стандартизированное и экспериментальное значение исследуемой функции (в данном случае F или R); X_{st} и X_e – стандартизированное и экспериментальное значение аргумента (стандартизированное значение масса тела обычно принимается равной 1 г); n (m) – коэффициент регрессии, связывающий скорость физиологического процесса с определённой массой тела при данной температуре воды. После нормировки и преобразования исходных данных были рассчитаны значения интенсивности фильтрации (I_F) и дыхания (I_R) для каждой опытной группы. Обнаружено, что после нормировки интенсивность фильтрационной активности (I_F) в интервале температур 5, 12 и 19 °С составляло 1,46, 2,84 и 3,91 л/час·г, тогда как интенсивность потребления кислорода (I_R) при указанных выше температурах была, соответственно, 0,275, 0,469 и 0,698 мл O₂/час·г.

Значение коэффициента Вант-Гоффа (Q_{10}) при исследованных температурных режимах показало, что интенсивность фильтрации в интервале 5 – 12 °С составляла 2,56, а при 12 до 19 °С величина его уменьшилась до 1,58. Соответственно, при анализе интенсивности дыхания величина Q_{10} при температуре от 5 до 12 °С составила 2,18, а при ее возрастании с 12 до 19 °С снизилась до 1,76.

Обсуждение результатов. На основе полученных данных мы попытались исследовать связь между интенсивностью дыхания и фильтрации при различной температуре воды. Из представленного рис. 2 видно, что с возрастанием температуры воды в интервале 5 - 19 °С отношение I_F к I_R устойчиво возрастало и связь между ними можно описать линейным уравнением.

$$I_F = 5,76 \cdot I_R - 0,03, R^2 = 0,98 \quad (6)$$

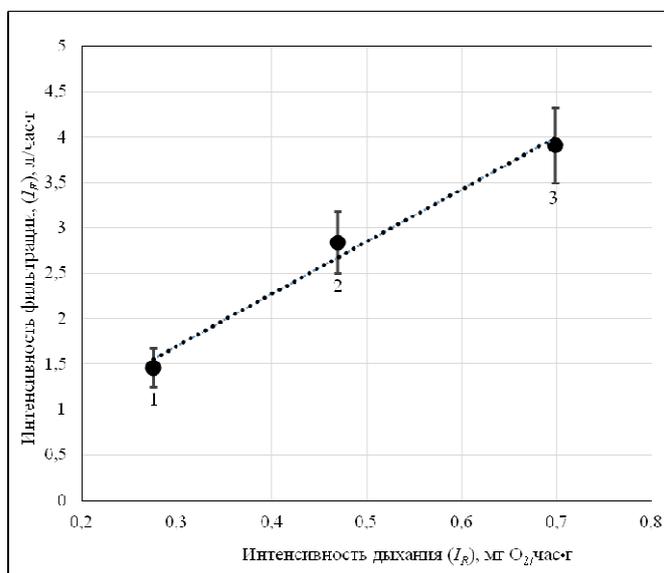


Рис. 2. Связь между интенсивностью фильтрации (I_F , л/час) и дыханием (I_R , мл·O₂/час) у тихоокеанской устрицы при различной температуре воды – 5 °С (1), 12 °С (2), 19 °С (3) (вертикальные линии – 95 % доверительный интервал)

Таким образом, в пределах биокинетической зоны при увеличении температуры воды параллельно с повышением интенсивность дыхания достаточно синхронно возрастает и интенсивность фильтрации. Отрицательное значение свободного члена этого уравнения указывает на небольшое снижение I_F по мере возрастания I_R . Следовательно, при увеличении скорости дыхания на 1 мл O₂ интенсивность фильтрации тихоокеанской устрицы в среднем возрастала до 5,76 л/час. В то же время, при сравнительном количественном анализе индекса фильтрации ($I = F/R$) тихоокеанской устрицы можно видеть, что его значение хотя и варьирует, но в сравнительно небольших пределах: 5,31 – 6,06 л/мл O₂, в среднем несколько меньше, чем в формуле (6), составляя 5,66 л/ мл O₂ (рис. 3).

Представляло интерес сравнить полученные нами материалы с результатами других исследователей на этом виде моллюска. Данные Гердеса [13, 16], полученные на тихоокеанской устрице свидетельствуют, что при температуре 20 °С значения F/R близки к 3,85. Близкие к этим получены материалы Бугрие с соавт. [14] – 4,4 и Барилла с соавт. [17], где F/R варьировал в пределах 4,3 – 6,2. Лишь в

работе Солечника с соавт. [19] значения индекса фильтрации были заметно ниже – 1,0 – 1,2. Таким образом, в большинстве исследований по тихоокеанской устрице, кроме последней работы, достаточно близки к нашим данным.

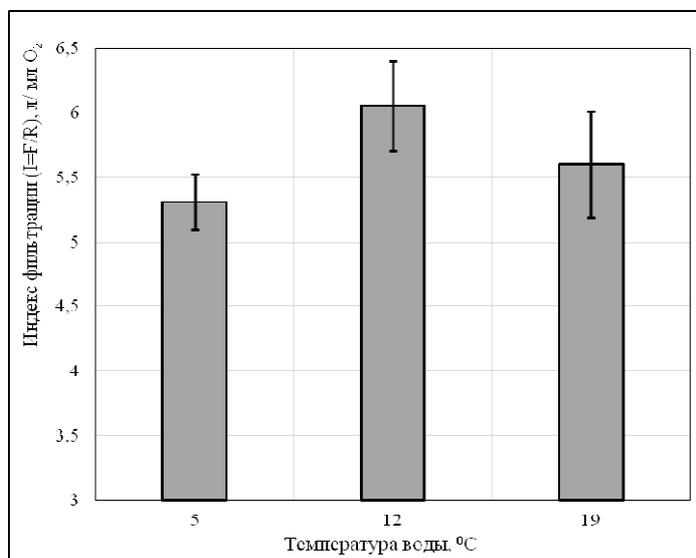


Рис. 3. Сравнительная характеристика индекса фильтрации (F/R) тихоокеанской устрицы при различной температуре воды

Необходимо отметить, что данную работу проводили в Керченском проливе, где солёность воды в среднем на 4 ‰ ниже, чем в открытой части Чёрного моря (17 – 18 ‰). Возможно, что некоторое повышение индекса фильтрации в этом районе связано с осмотической и ионной регуляцией водного обмена тихоокеанской устрицы. Хотя этот вид устриц и является эвригалинным организмом, т.е. осуществляет гиперосмотическую регуляцию и поддерживает концентрацию солей в теле на более высоком уровне, чем в новой среде обитания, снижение солёности обуславливает необходимость определённых затрат энергии на поддержание водно-солевого баланса организма. Следовательно, чем больше разница осмотического давления в среде и теле устриц, тем энергичнее приходится выводить им поступающую внутрь тела воду. Поэтому часть энергии потреблённой пищи, которая должна расходоваться на рост и синтез генеративной ткани организма, идет на стабилизацию тоничности внутренней среды организма [21].

Теоретическим аспектам взаимосвязи интенсивности фильтрации и дыхания других видов моллюсков также посвящено и ряд других работ. Так, Йоргенсен [9], показал, что индекс фильтрации (конвекции) у устриц, морского гребешка и асцидий варьирует от 2 до 20 и зависит от различных экологических – парциального давления кислорода (pO_2), степени накормленности животных, концентрации пищи и генетических факторов - размера тела, уровня энергетического обмена и ряда других факторов, часто неучтёнными условиями среды. Например, в результате

работ, проведенной на жемчужнице (*Pinctada fucata*) было обнаружено, что F/R изменялся от 4,0 до 4,8 [22], у мидий – *Mytilus californianus* и *Perna perna* индекс фильтрации (конвекции) колебался вблизи 4-х [12, 23], а у плоской устрицы в пределах 4,41 - 4,82 л/мл O_2 [24].

В то же время другие авторы приводили более высокие значения этого коэффициента. Например, Валь [24] показал, что у кардиума (*Cardium edule*) соотношение F/R колеблется между 5 и 10, а Юкихира с соавт. [26] определили, что у жемчужницы (*Pinctada maxima*) значение индекса фильтрации может достигать 10 – 12 л/мл O_2 . Следовательно, в большинстве работ значение индекса фильтрации - F/R , как правило, не превышает 10 л/мл O_2 .

Таким образом, с возрастанием температуры интенсивность фильтрации (I_F) и потребления кислорода (I_R) возрастают, тогда как отношение F/R (индекс фильтрации или конвекции) для каждой из исследованных температур варьирует в незначительных пределах – от 5,31 до 6,06. Сравнительно устойчивое соотношение интенсивности фильтрации и дыхания в ходе естественного сезонного ритма свидетельствует о компенсаторном изменении интенсивности фильтрации и метаболизма в условиях изменяющейся температуры воды.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

1. Исследовано влияние массы тела и температуры воды на скорость фильтрации и дыхания тихоокеанской устрицы. Показано, что в пределах биокинетической зоны с возрастанием температуры воды происходит увеличение скорости этих физиологических процессов.
2. Показано, что при повышении температуры с 5 до 12 °С температурный коэффициент (Q_{10}) для фильтрации и дыхания, соответственно, составляет 2,56 и 2,12, тогда как в интервале 12 - 19 °С он снижается до 1,58 и 1,76.
3. Обнаружено, что соотношение между интенсивностью фильтрации и дыхания у тихоокеанской устрицы (F/R) при изменении температуры воды от 5 до 19 °С колеблется в незначительных пределах и составляет 5,31 – 6,06.
4. Сравнительно устойчивое значение индекса фильтрационной активности (F/R) в ходе естественного сезонного ритма изменений температуры воды свидетельствует о достаточно близкой синхронности изменений скорости фильтрации и метаболизма у тихоокеанской устрицы.

Список литературы

1. ФАО. Состояние мирового рыболовства и аквакультуры в 2012 г. – Рим, 2013. – 237 с.
2. Золотницкий А.П. Биологические основы культивирования промысловых двустворчатых моллюсков (*Bivalvia*, *Mytiliformes*) в Черном море: автореф. дисс....докт. биол. наук. – К.: Институт гидробиологии. - 2004. – 39 с.
3. Холодов В. И. Выращивание мидий и устриц в Черном море / В. И. Холодов, А. В. Пиркова, Ладыгина Л. В. // Институт биологии южных морей НАНУ (ред. акад. В.Н. Еремеев). – Севастополь, 2010. – 424 с.
4. Раков, В. А. Биологические основы культивирования тихоокеанской устрицы *Crassostrea gigas* в заливе Петра Великого / Автореф. дисс...канд. биол. наук. – Владивосток, 1984. – 24 с.

5. Кучерявенко, А.В. Расчет потенциальных возможностей устричного хозяйства в бухте Новгородской Японского моря / А.В. Кучерявенко // Биол. моря. – 1985. – №1. – С. 52-62.
6. Алимов, А. Ф. Функциональная экология пресноводных двустворчатых моллюсков / А. Ф. Алимов. - Л.: Наука, 1981. – 248 с.
7. Ивлева И. В. Температура среды и скорость энергетического обмена у водных животных / И. В. Ивлева. – К.: Наук. думка, 1981. - 232 с.
8. Алимов, А. Ф. Продукционная гидробиология/ А. Ф. Алимов, В.В. Богатов, С.М. Голубков// М.: Наука, 2013. – 340 с.
9. Jorgensen C. В. Biology of suspension feeding/ С. В. Jorgensen. - Pergamon Press, Oxford, 1966. - 357 p.
10. Bayne, В. L., Comparisons of measurements of clearance rates in bivalve mollusks/ В. L. Bayne// Mar. Ecol. Prog. Ser., 1983. – V. 276. - P. 305–306.
11. Haure J. Etude comparative des caractéristiques écophysiologicalues et des performances de croissance de l'huître creuse *Crassostrea gigas* diploïde et triploïde en milieu contrôlé/ J. Haure, A. Fortin, B. Dupuy, M. Nourry, H. Palvadeau, M. Papin, C. Péniisson et J.L. Martin // Ifremer. Laboratoire Conchylicole des Pays de Loire Polder des Champs 85230 Bouin. - 2001. – 39 p.
12. Gosling, E. Bivalve Molluscs: Biology, Ecology and Culture/ E. Gosling. - Fish. News Books, Oxford, 2003. - 443 p.
13. Gerdes, D. The pacific oyster *Crassostrea gigas*. Part.1. Feeding behaviour of larve and adults. Aquaculture. – 1983a. - 31. - P. 63 -70.
14. Bougrier, S. Allometric relationships and effects of temperature on clearance and oxygen consumption rates of *Crassostrea gigas* (Thunberg) / S. Bougrier, P. Geairon, J.M. Deslous-Paoli, C. Bacher, G. Jonquieres // Aquaculture. – 1995. - V. 134. - № 1-2. - P. 143-154
15. Enríquez-Díaz, M. R. Variabilité et bioénergétique de la reproduction chez l'huître creuse *Crassostrea gigas*/ Enríquez-Díaz M. R. // Thèse de doctorat l'Université de Bretagne Occidentale. - 2004. – 194 p.
16. Gerdes, D. The pacific oyster *Crassostrea gigas*. Part. 2. Oxygen consumption of larvae and adults / D. Gerdes // Aquaculture. – 1983b. –V 31. P.195-219.
17. Barille, L. Finding new diatoms for intensive rearing of the Pacific oyster (*Crassostrea gigas*): energy budget as a selective tool / L. Barille, J. Haure, E. Pales-Espinosa, M. Morañais // Aquaculture. - 2003. – V. 217. – P. 501-514.
18. Bougrier, S. Respiratory time activity of the Japanese oyster *Crassostrea gigas* (Thunberg)/ S. Bougrier, B. Collet, P. Geairon, O. Geffard, M. Heral, J.M. Deslous-Paoli // J. Exp. Mar. Biol. Ecol. – 1998. - V. 219. - № 1-2. - P. 205-216.
19. Soletchnik, P. Ecophysiology de la maturation sexuelle et de la ponte de l'huître creuse *Crassostrea gigas*: reponses metaboliques (respiration) et alimentaires (filtration, absorption) en fonction des differents stades de maturation / P. Soletchnik, D. Razet, P. Geairon, N. Faury, P. Gouilletquer // Aquat. Living Resour. Ressour. Vivantes Aquat. – 1997. – V.10. – № 3. – P.177-185.
20. Константинов А.С. Общая гидробиология / А.С. Константинов. - М.: Высш. школа, 1972. – 472 с.
21. Mondal, S. K., 2006. Effect temperature and body size of food utilization in the marine pearl oyster *Pinctada fucata* (Bivalve: Pteridae)/ S. K., Mondal// Ind. J. Mar. Sci. - 2006. V. 35. № 1. – P. 43-49.
22. Enríquez-Ocaña, L. F. Evaluation of the combined effect of temperature and salinity on the filtration, clearance rate and assimilation efficiency of the mangrove oyster *Crassostrea corteziensis* (Hertlein, 1951) / L. F. Enríquez-Ocaña, M. Nieves-Soto, P. Piña-Valdez, L. R. Martinez-Cordova and M.A. Medina-Jasso// Arch. Biol. Sci. - 2012. – V. 64 (2). – P. 479-488.
23. Resgalla, J. R. Brasil C. L, S. L. Salomão., 2006. Physiological rates in different classes of sizes of *Perna perna* (Linnaeus, 1758) submitted to experimental laboratory conditions/ Resgalla, J. R. Brasil C. L, S. L. Salomão// Braz. J. Biol. - 2006. – V.66 (1 B). P. 325-336.
24. Сытник, Н.А. О соотношении процессов фильтрации и дыхания у плоской устрицы (*Ostrea edulis* L.) при различной температуре воды / Н.А. Сытник, А.П. Золотницкий // Гидробиол. журн. – 2014. – Т. 50, № 2. – С. 98-105.
25. Vahl, O. Porosity of the gill, oxygen consumption and pumping rate in *Cardium edule* (L.) (Bivalvia)/ O. Vahl // Ophelia, 1973. – V. 10. – P. 109-118.

26. Yukihiro, H. Comparative effects of temperature on suspension feeding and energy budgets of the pearl oysters *Pinctada margaritifera* and *P. maxima*/ H. Yukihiro, J.S. Lucas, D.V. Klumpp// Mar. Ecol. Prog. Ser., 2000. - V. 195. - P. 179-188.

**ON THE RELATIONSHIP BETWEEN FILTRATION AND RESPIRATION
PROCESSES OF THE PACIFIC OYSTER (*CRASSOSTREA GIGAS*,
TUHUNBERG), INTRODUCED INTO THE AZOV-BLACK SEA BASIN**

Sytnik N. A., Zolotnitsky A. P.

*FGBOU HE «Kerch State Marine Technological University», Kerch, Crimea, Russia
E-mail: zap6@mail.ru*

The processes of filter feeding (F) and respiration (R) of the Pacific oyster (*Crassostrea gigas*, Thunberg) in the context of its acclimatization to the conditions in the Kerch Strait of the Azov and Black Sea Basin have been studied. It is shown that rates of these processes, depending on dry body weight, are described by exponential function: $F(R) = F_1 (R_1) \cdot W^{n(m)}$. It was found out that, with water temperature increase from 5 to 19 °C, the factor of proportionality (F_1) was increasing from 1.43 to 3.81 l/hour·g, while regression coefficient (n) varied in the range of 0.48–0.60. When respiration was studied, the value of R_1 under the specified temperatures changed in similar fashion: its value was increasing from 0.255 to 0.667 ml O₂/hour·g, when regression coefficients were 0.658–0.791. Based on the obtained data, normalization of the primary data was performed, and values of filter feeding intensity (I_F) and respiration intensity (I_R) were calculated as per 1 g of dry body weight. It is shown that, in case of temperature increase from 5 to 12 °C, the temperature coefficient (Q_{10}) of filter feeding intensity was 2.56, while in the range of 12–19 °C, the value of Q_{10} decreased to 1.58. Accordingly, when respiration intensity in the temperature range from 5 to 12 °C was analyzed, the Q_{10} value was 2.18, and, when the temperature range was 12–19 °C, the Q_{10} value decreased further down to 1.76. Comparative analysis of changes in IF and IR has shown that, with water temperature increase, dependence between these two variables is described by a linear function. Simultaneously, analysis of individual values of filter feeding index ($I_n = F/R$) showed only minor variations throughout the studied temperature range; it varied from 5.31 to 6.06 l/ml O₂. Relatively stable correlation of filter feeding intensity and respiration intensity in the course of natural seasonal rhythm is indicative of compensatory change in filter feeding intensity and metabolic rate under the condition of changing water temperature.

Keywords: Pacific oyster, filter feeding, respiration, intensity, filter-feeding index.

References

1. FAO. The state of world fisheries and aquaculture in 2012, 237 (Rome, 2013).
2. Zolotnitsky A.P. Biological bases of cultivation of commercial bivalve mollusks (Bivalvia, Mytiliformes) in the Black Sea, D thesis Institute of Hydrobiology, 39 (Kiev, 2004).

3. Kholodov V.I., Pirkova A.V., Ladygina L.V. *Cultivation of mussels and oysters in the Black Sea*, of Red. V. N. Eremeev, NAS of Ukraine, Institute of biology of south seas, of NAS of Ukraine, 424 (Sevastopol, 2010).
4. Rakov V.A. Biological bases of cultivation of the Pacific oyster *Crassostrea gigas* in the Peter the Great Bay, PhD thesis Institute of Marine Biology, 24 (Vladivostok, 1984).
5. Kucheryavenko A.V. Calculation of potential opportunities for oyster farming in the bay of the Novgorod Sea of Japan Sea, *Biol. Sea*, **1**, 52 (1985).
6. Alimov A.F. *Functional ecology of freshwater bivalve molluscs*, 248 (Nauka, Leningrad, 1981).
7. Ivleva I.V. *The temperature of the medium and the rate of energy metabolism in aquatic animals*, 232 (Naukova dumka, Kiev, 1981).
8. Alimov A.F., Bogatov V.V., Golubkov S.M. *Productive hydrobiology*, 340 (Nauka, Moscow, 2013).
9. Jorgensen S. B. Biology of suspension feeding, 357 (Pergamon Press, Oxford, 1966).
10. Bayne B. L., Comparisons of measurements of clearance rates in bivalve mollusks, *Mar. Ecol. Prog. Ser.* **276**, 305 (1983)
11. Haure, J., Fortin, B. Dupuy, M. Nourry, H. Palvadeau, M. Papin, C. Pénisson et J.L. Martin Etude comparative des caractéristiques écophysiological et des performances de croissance de l'huître creuse *Crassostrea gigas* diploïde et triploïde en milieu contrôlé, *Ifremer. Laboratoire Conchylicole des Pays de Loire Polder des Champs*, Bouin, (2001).
12. Gosling E. *Bivalve Molluscs: Biology, Ecology and Culture* (Fish. News Books, Oxford, 2003).
13. Gerdes D. The pacific oyster *Crassostrea gigas*. Part.1. Feeding behaviour of larve and adults, *Aquaculture*, **31**, 63 (1983a).
14. Bougrier S., Geairon P., Deslous-Paoli J.M., C. Bacher, Jonquieres G. Allometric relationships and effects of temperature on clearance and oxygen consumption rates of *Crassostrea gigas* (Thunberg), *Aquaculture*, **134**, 1-2., 143 (1995).
15. Enríquez-Díaz M. R. Variabilité et bioénergétique de la reproduction chez l'huître creuse *Crassostrea gigas*, Thèse de doctorat l'Université de Bretagne Occidentale, 194 (2004).
16. Gerdes D. The pacific oyster *Crassostrea gigas*. Part. 2. Oxygen consumption of larvae and adults, *Aquaculture*, **31**, P. 195 (1983b).
17. Barille, L. Haure, E. Pales-Espinosa, Moranchais M. Finding new diatoms for intensive rearing of the Pacific oyster (*Crassostrea gigas*): energy budget as a selective tool, *Aquaculture*, **217**, 501 (2003).
18. Bougrier S. Collet B., Geairon P., Geffard O., Heral M., Deslous-Paoli J.M. Respiratory time activity of the Japanese oyster *Crassostrea gigas* (Thunberg), *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.*, **219**, 1-2, 205 (1998).
19. Soletchnik P., Razet D., Geairon P., Faury N., Gouletquer P. Ecophysiology de la maturation sexuelle et de la ponte de l'huître creuse *Crassostrea gigas*: reponses metaboliques (respiration) et alimentaires (filtration, absorption) en fonction des differents stades de maturation, *Aquat. Living Resour. Ressour. Vivantes Aquat.*, **10**, 3, 177 (1997).
20. Konstantinov A.S. General Hydrobiology, 472 (Higher school, Moscow, 1972).
21. Mondal S. K. Effect temperature and body size of food utilization in the marine pearl oyster *Pinctada fucata* (Bivalve: Pteridae Ind), *J. Mar. Sci.*, **35**, 1, 43 (2006)
22. Enríquez-Ocaña L. F., Piña-Valdez P., Martínez-Cordova L. R. and M.A. Medina-Jasso. Evaluation of the combined effect of temperature and salinity on the filtration, clearance rate and assimilation efficiency of the mangrove oyster *Crassostrea corteziensis* (Hertlein, 1951), *Arch. Biol. Sci.*, **64** (2), 479 (2012).
23. Resgalla J. R., Brasil C. L., Salomão S. L. Physiological rates in different classes of sizes of *Perna perna* (Linnaeus, 1758) submitted to experimental laboratory conditions, *Braz. J. Biol.*, **66** (1), 325 (2006).
24. Sytnik N.A., Zolotnitsky A.P. On the ratio of filtration and respiration processes in a flat oyster (*Ostrea edulis* L.) at different water temperatures, *Hydrobiol. Jour*, **50**, 2, 98 (2014).
25. Vahl O. Porosity of the gill, oxygen consumption and pumping rate in *Cardium edule* (L.) (Bivalvia), *Ophelia*, **10**, 109 (1973).
26. Yukihiro H., Lucas J.S., Klumpp D.V. Comparative effects of temperature on suspension feeding and energy budgets of the pearl oysters *Pinctada margaritifera* and *P. maxima*, *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, **195**, 179 (2000).

УДК 591.473.3:612.741:615.357:616.74-007.23

МОДУЛЯЦИЯ β_2 -АДРЕНАГОНИСТОМ ФОРМОТЕРОЛОМ НАРУШЕНИЙ СОКРАТИТЕЛЬНОЙ ФУНКЦИИ СКЕЛЕТНОЙ МЫШЦЫ БЕЛЫХ КРЫС, ВЫЗВАННЫХ ДЛИТЕЛЬНЫМ ВВЕДЕНИЕМ ДЕКСАМЕТАЗОНА

Труш В. В.¹, Соболев В. И.²

¹ГОУ ВПО «Донецкий национальный университет», Донецк, Украина

²Институт педагогики, психологии и инклюзивного образования Гуманитарно-педагогической академии (филиал) ФГАОУ ВО «Крымский федеральный университет им. В.И. Вернадского», Ялта, Республика Крым, Россия
E-mail: ver.trush@yandex.ru

В экспериментах на половозрелых крысах-самках с помощью электрофизиологических методов изучали эффективность β_2 -адреноагониста формотерола («Форадил», «Novartis», Швейцария, 1,5 мкг/кг/ежесуточно, подкожно) в компенсации нарушений сократительной функции скелетной мышцы смешанного типа (*m. tibial anterior*), вызванных длительным введением дексаметазона («КРКА», Словения, 0,25 мг/кг/ 1 раз в 2-е суток, внутривенно). Препараты вводили на протяжении 30 дней. Установлено, что формотерол (Ф), вводимый в комплексе с дексаметазоном (Д), предотвратил уменьшение количества активируемых двигательных единиц мышцы и ее массы, типичные для 30Д-группы. Введение Ф в комплексе с Д нивелировало ухудшение амплитудных и временных параметров одиночного и тетанического сокращений мышцы, типичное для животных 30Д-группы, и даже обусловило улучшение в сравнении с контролем ($p < 0,05$) скорости развития тетанического сокращения (на 274%). Ф, вводимый в комплексе с Д, не только предотвратил повышение утомляемости мышцы, типичное для 30Д-группы, но и обусловил увеличение ее устойчивости к утомлению в сравнении с контролем. В пользу этого свидетельствует отсутствие значимого снижения у животных 30Д+Ф-группы амплитуды одиночных сокращений и количества активируемых двигательных единиц мышцы после выполнения утомляющей работы, типичное не только для животных 30Д-, но и К-группы. Вместе с тем, длительность максимальной и субмаксимальной работоспособности мышцы у животных 30Д+Ф-группы не претерпевала значимых изменений относительно контроля, тогда как у 30Ф-группы – превосходила уровень контроля ($p < 0,05$), амплитуда тетануса крыс 30Д+Ф-группы значимо не отличалась от контроля, но оказалась ниже ($p < 0,05$) таковой 30Ф-группы на 40%. Оба эти факта указывают в пользу того, что негативное действие Д на скелетную мышцу в некоторой степени ограничило проявление эффектов длительно вводимого Ф.

Полученные в модельных экспериментах на животных в условиях *in situ* данные свидетельствуют о способности селективного β_2 -адреноагониста формотерола эффективно компенсировать ухудшение амплитудных и временных параметров одиночного и тетанического сокращений скелетной мышцы смешанного типа с преимущественным преобладанием гликолитических волокон при длительном введении дексаметазона.

Ключевые слова: скелетная мышца; дексаметазон; ятрогенный гиперкортицизм; стероидная миопатия; адреноагонисты; формотерол.

ВВЕДЕНИЕ

Одним из тяжелых и часто встречающихся осложнений эндогенного или ятрогенного гиперкортицизма является стероидная миопатия, проявляющаяся миалгиями, слабостью и повышенной утомляемостью скелетных мышц [1]. Несмотря на достаточно хорошую изученность клиники миопатических изменений при гиперкортицизме, вопросы, касающиеся механизмов развития стероидной миопатии и тем более способов ее компенсации, остаются открытыми. Учитывая дистрофические изменения в скелетной мускулатуре под действием фармакологических доз глюкокортикоидов, вызванные катаболическим их эффектом на мышечные волокна, ряд авторов [2-4] высказывают предположение относительно эффективности анаболических средств и физической нагрузки в компенсации негативных эффектов ГК на скелетные мышцы.

Исследованиями последних лет установлено, что анаболическое действие в организме могут оказывать не только стероидные анаболики, но и некоторые мембранотропные гормоны, в том числе катехоламины через опосредованную активацией протеинкиназы Akt и киназы кальмодулина II стимуляцию активности генов, контролирующих синтез миогенных белков [5-7], а также путем подавления Ca^{2+} -зависимого протеолиза в мышечных волокнах [8] и активности гена миогенспецифической убиквитин-лигазы [9]. Более того, в ряде работ показана способность именно β_2 -адреноагонистов и, в частности, кленбутерола, стимулировать рост скелетных мышц путем гипертрофии мышечных волокон [10], улучшать генную экспрессию в мышечных волокнах при некоторых наследственно обусловленных заболеваниях скелетной мускулатуры [11, 12]. Вместе с тем, не все авторы признают способность катехоламинов стимулировать гипертрофию мышечных волокон и подтверждают эффективность только β_2 -адреноагонистов в предотвращении атрофии мышц путем изменения активности генов, кодирующих атрогин-1, MuRF-1 и катепсин L [13]. Имеются и сообщения относительно зависимость от длительности введения эффекта кленбутерола на мышцу [14]: а именно, способность β_2 -адреноагониста в первую неделю введения стимулировать гипертрофию мышечных волокон жевательной мышцы крысы через активацию путем фосфорилирования протеинкиназы Akt и рецептора к ИФР-I, тогда как спустя 21 день введения – напротив, тормозить дальнейший рост мышцы путем увеличения экспрессии миостатина.

В связи с установленными анаболическими эффектами β_2 -адреноагонистов в последнее время их рассматривают в качестве потенциальных средств, способных компенсировать миодегенеративные заболевания различного генеза [11, 12, 15]. Так, в сравнительно недавней экспериментальной работе [16] показана эффективность селективного β_2 -адреноагониста кленбутерола в предотвращении дексаметазон-индуцированной атрофии жевательной мышцы крыс и изменения паттерна изоформ тяжелого миозина через модуляцию пути Akt/mTOR и эффективности действия ИФР-1 на мышечные волокна. Вместе с тем, оценки функциональных параметров скелетной мышцы в этой работе не проводилось.

В то же время, учеными Казанской научной школы [17] установлено, что ухудшение силовых характеристик скелетной мышцы под влиянием фармакологических доз глюкокортикоидов может быть обусловлено не только структурными, но и быстро развивающимися функциональными изменениями в нервно-мышечном аппарате. Отсюда следует, что предотвращение мышечной атрофии при глюкокортикоидной терапии может и не обеспечить полной компенсации функциональных расстройств в скелетной мускулатуре.

В более ранних наших исследованиях [18] установлена способность фармакологических доз адреналина частично компенсировать электрофизиологические и сократительные нарушения скелетной мышцы, вызванные длительным введением гидрокортизона.

Целью настоящей работы явилось изучение эффективности селективного β_2 -адреноагониста формотерола (1,5 мкг/кг/сутки) в компенсации нарушений сократительной функции скелетной мышцы смешанного типа (*m. tibial anterior*), вызванных длительным введением дексаметазона (0,25 мг/кг/2-е суток, на протяжении от 30 дней).

Выбор формотерола для возможной компенсации стероидной миопатии был обусловлен следующими обстоятельствами. Во-первых, в связи с тем, что преобладающим типом адренорецепторов в скелетных мышечных волокнах являются β_2 -адренорецепторы [19], селективный β_2 -адреноагонист должен эффективно влиять на скелетную мускулатуру, при этом не оказывая побочных сосудосуживающего и кардиостимулирующего эффектов, типичных для адреналина, проявляющего как α -, так и β -адренергическую активность.

Во-вторых, в недавних исследованиях [20] установлена способность именно формотерола индуцировать митохондриальный биогенез, что может оказаться важным в компенсации стероидной миопатии, одним из патогенетических механизмов развития которой является повреждение митохондриального аппарата [21]. Кроме того, показана эффективность формотерола в ослаблении протеолиза в мышечных волокнах икроножной мышцы крыс, индуцированного сепсисом [22].

В-третьих, экспериментально доказана способность β_2 -адреноагонистов, в частности, кленбутерола, изменять гистохимический профиль скелетных мышц путем увеличения экспрессии гена, кодирующего изоформу тяжелого миозина быстрого типа (IIb) [23], что может оказаться полезным в предотвращении стероидной миопатии, сопровождающейся усилением протеолиза тяжелых цепей миозина быстрого типа в мышечных волокнах [24].

В-четвертых, формотерол, в отличие от адреналина и кленбутерола, обладает пролонгированным действием и согласно данным клинических исследований [25] в фармакологических дозах (до 108 мкг/сутки) безопасен и хорошо переносится даже детьми.

Наконец, учитывая тот факт, что при лечении некоторых заболеваний (в частности, бронхиальной астмы) зачастую для достижения максимального терапевтического эффекта прибегают к комплексному введению глюкокортикоидов и формотерола, а также то, что глюкокортикоиды модулируют проявление эффектов β -адреноагонистов на клетки-мишени, изменяя плотность β -

адренорецепторов и их чувствительность к симпатомиметикам [26], представляло немалый практический интерес выяснить, как эти два типа препаратов при комплексном введении повлияют на функциональное состояние скелетной мышцы смешанного типа с преимущественным преобладанием гликолитических волокон, более чувствительных в сравнении с оксидативными к катаболическому действию глюкокортикоидов [3, 27].

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Все эксперименты выполнены в соответствии с директивой Европейского совета (The European Council Directive 86/609/ЕЕС) по соблюдению этических принципов в работе с лабораторными животными и «Руководством по проведению доклинических исследований лекарственных средств» [28]. Исследования проводились на 40 половозрелых крысах-самках 4-5-ти месячного возраста с исходной массой тела 180-210 г. Животные были случайным образом разделены на 4 группы: контрольную (интактная, не подвергались никаким воздействиям, n=10, *К-группа*), I опытную (n=10, на протяжении 30 дней получали дексаметазон, *30Д-группа*), II опытную (n=10, на протяжении 30 дней получали дексаметазон в комплексе с формотеролом, *30Д+Ф-группа*) и III опытную (n=10, на протяжении 30 дней получали формотерол, *30Ф-группа*). Дексаметазон («KRKA», Словения) вводили внутривенно, 1 раз в 2 суток, в дозе, адекватной терапевтической для человека, – 0,25 мг/кг. Формотерол (торговая марка «Форадил», «Novartis», Швейцария) вводили ежедневно в дозе 1,5 мкг/кг, подкожно.

Выбор в качестве объекта исследований особей женского пола связан с большей их чувствительностью, в сравнении с особями мужского пола, к катаболическому действию глюкокортикоидов [29]. Выбор в качестве исследуемой мышцы передней большеберцовой был предопределен тем, что она относится к смешанному типу с существенным преобладанием быстрых мышечных волокон, характеризующихся, в сравнении с медленными, более высокой чувствительностью к катаболическому действию глюкокортикоидов [3]. Выбор дексаметазона для инициации стероидной миопатии был обусловлен тем, что данный препарат широко используется в клинической практике в связи с гораздо более выраженным (в 30 раз) и длительным (в 4-7 раз) противовоспалительным эффектом в сравнении с естественными глюкокортикоидами [30].

По окончании месячного периода введения препаратов на наркотизированных животных (тиопентал натрия, 100 мг/кг, внутривенно) проводили острый опыт, в ходе которого изучали некоторые функциональные параметры передней большеберцовой мышцы с помощью экспериментальной установки, включающей 3 канала: *канал электростимулятора* (использовался для электрического раздражения малоберцового нерва), *электромиографический* (предназначался для регистрации М-ответов мышцы) и *эргометрический* (служил для измерения высоты, на которую поднимается груз во время сокращения мышцы с грузом). *Канал электростимулятора* представлен собственно электростимулятором (построен на основе функционального генератора ICL8038CCDP), оптронной гальванической развязкой и биполярными игольчатыми стальными электродами с межэлектродным

расстоянием 1 мм. *Электромиографический канал* представлен отводящими биполярными игольчатыми стальными электродами (с межэлектродным расстоянием 1 мм) и электромиографическим биоусилителем (построен на основе измерительного усилителя INA118). *Эргометрический канал* включал потенциометрический датчик ПТП-1 с усилителем. Все каналы были связаны с регистрирующим устройством – запоминающим цифровым осциллографом Tektronix (TDS2004C).

Ход опыта был следующим. У наркотизированного животного в области бедра препаровали малоберцовый нерв и на расстоянии 1 см проксимальнее коленного сустава подводили под него раздражающие электроды. Стопу задней лапки животного крепили зажимом, на уровне большого пальца затягивали лигатуру, соединенную с потенциометрическим датчиком, и в среднюю часть передней большеберцовой мышцы (*m. tibialis anterior*) вводили отводящие игольчатые электроды.

Вначале путем плавного (в течение 4 с) увеличения силы электрического раздражения от подпороговой до сверхпороговой (от 0,01 до 2 В) при частоте 10 имп/с записывали серию из сорока М-ответов мышцы. На основании процентного изменения амплитуды максимального М-ответа относительно амплитуды минимального определяли приблизительное количество активируемых двигательных единиц мышцы (методика Galea V. [31]).

После этого, раздражая малоберцовый нерв с частотой 4 имп/с сверхпороговыми электрическими импульсами (длительность – 150 мкс каждый, сила тока – 500 мкА), регистрировали в течение 5 с серию одиночных сокращений мышцы с внешней нагрузкой 20 г. На основании полученных записей определяли некоторые параметры одиночного сокращения мышцы: латентный период, амплитуду сокращения, скорость укорочения и расслабления.

На следующем этапе проводилась регистрация кривой вызванного тетанического сокращения мышцы с внешней нагрузкой 70 г, которое индуцировали путем раздражения электрическим током малоберцового нерва с частотой 70 имп/с (длительность импульсов 0,5 мс и сила тока 1000 мкА). Электрическое раздражение малоберцового нерва и соответственно сокращение мышцы осуществлялось до тех пор, пока она почти полностью не расслаблялась на фоне продолжающейся электрической стимуляции вследствие утомления. На основании полученных записей определяли максимальную амплитуду тетанического сокращения мышцы, время ее достижения, скорость сокращения, продолжительность удержания амплитуды сокращения на максимально возможном уровне (период максимальной работоспособности) и до момента полурасслабления (период субмаксимальной работоспособности).

После выполнения мышцей утомляющей работы вновь регистрировали серию М-ответов при увеличении силы электрического раздражения от подпороговой до сверхпороговой (от 0,01 до 2 В при частоте 10 имп/с) и серию одиночных сокращений при раздражении малоберцового нерва с частотой 4 имп/с. На основании изменения параметров М-ответа и одиночных сокращений мышцы после выполнения утомляющей работы относительно соответствующих исходных значений судили об

утомляемости нервно-мышечного аппарата у животных разных групп.

По окончании острого опыта в условиях глубокого наркоза проводили эвтаназию животных путем введения летальной дозы (300 мг/кг) тиопентала натрия.

Полученные экспериментальные данные обрабатывали с использованием *t*-критерия Стьюдента, предварительно убедившись в том, что распределение значений в исследуемых вариационных рядах близко к нормальному (*W*-тест Шапиро-Уилка, Statistica, 7.0), и *F*-статистики на основании проверки нулевой и альтернативной гипотез. Значения $p < 0,05$ рассматривали как статистически достоверные. Исследуемые параметры выражали в виде «среднее \pm стандартная ошибка».

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Длительное изолированное введение дексаметазона (Д) негативно отразилось на сократительной функции передней большеберцовой мышцы. Так, для животных 30Д-группы было характерно в сравнении с контролем (К) ($p < 0,05$) уменьшение амплитуды одиночного сокращения (на 54%), удлинение его латентного периода (на 48%), снижение скорости укорочения (на 69%) и расслабления (на 56%, см. табл. 1). Отмеченные изменения могут быть связаны с нарушением под действием фармакологических доз глюкокортикоидов (ГК) степени синхронизации возбуждения и сокращения в скелетной мышце (СМ), энергетического обеспечения сократительного акта [32], дистрофическими изменениями части мышечных волокон (МВ), особенно гликолитического типа [3, 27], и даже частичным выключением патологически измененных волокон из сокращения.

В пользу возможных дистрофических изменений МВ у крыс 30Д-группы свидетельствует наблюдаемое нами хоть и не очень выраженное, но статистически значимое относительно К, уменьшение массы СМ (на 9%, $p < 0,05$) и существенное уменьшение количества активируемых ее двигательных единиц (ДЕ) (на 43%, $p < 0,05$, см. табл. 2), косвенно отражающее выключение части патологически измененных МВ из вызванного возбуждения и сокращения.

Наряду с ухудшением параметров исходных одиночных сокращений СМ, у крыс 30Д-группы наблюдалось более выраженное в сравнении с К их изменение после выполнения утомляющей работы (УР). Так, для животных 30Д-группы было характерно более выраженное, чем у К ($p < 0,05$), снижение амплитуды одиночных сокращений (см. табл. 1) и количества активируемых ДЕ СМ (см. табл. 2), а также не типичное для К уменьшение скорости укорочения и расслабления после выполнения УР (см. табл. 1). Все эти факты указывают в пользу повышенной утомляемости СМ животных, подвергавшихся изолированному введению Д на протяжении 30 дней.

Длительное изолированное введение Ф не повлияло на исходные параметры одиночного сокращения СМ, но обусловило уменьшение степени их изменения после выполнения УР (см. табл. 1). Так, у животных 30Ф-группы после УР латентный период одиночных сокращений удлинялся в меньшей степени, чем у контроля ($p < 0,05$), а их амплитуда и количество активируемых ДЕ значимо не изменялись, тогда как у К они снижались (см. табл. 1, 2). Данные факты свидетельствуют в пользу более высокой устойчивости СМ животных 30Ф-группы к утомлению, что может быть следствием улучшения энергообеспечения и доступности субстратов окисления в ней под

действием катехоламинов (КА) [33], в том числе в результате повышения активности гормон-чувствительной липазы и киназы 1/2 в МВ [34]. Более того, в недавних исследованиях иностранных авторов [20] доказана способность Ф индуцировать биогенез митохондрий через активацию пути G β γ -Akt-eNOS-sGC, что также должно приводить к улучшению энергообеспечения МВ.

Таблица 1

Средние значения ($\bar{X} \pm m$) параметров одиночного сокращения мышцы контрольных животных (К) и крыс, получавших на протяжении 30 дней дексаметазон (30Д) и формотерол (30Ф) изолированно и комплексно (30Д+Ф)

Параметры одиночного сокращения СМ	Группа животных			
	К	30Д	30Ф	30Д+Ф
<i>Значения до утомляющей работы</i>				
Амплитуда, мм	3,0 \pm 0,22	1,4 \pm 0,32 [-54*]	3,2 \pm 0,24	3,0 \pm 0,38
Латентный период, мс	11,2 \pm 0,57	16,5 \pm 0,50 [+48*]	11,4 \pm 0,48	11,3 \pm 0,45
Скорость укорочения, мм/мс	0,10 \pm 0,005	0,03 \pm 0,003 [-69*]	0,09 \pm 0,005	0,09 \pm 0,007 +186 ^x
Скорость расслабления, мм/мс	0,05 \pm 0,004	0,02 \pm 0,003 [-56*]	0,05 \pm 0,003	0,05 \pm 0,004 +101 ^x
<i>Значения после утомляющей работы</i>				
Амплитуда, мм	2,3 \pm 0,21 (-24 \pm 2,2 \bullet)	0,6 \pm 0,11 (-57 \pm 8,7 \bullet) [-74*]	3,0 \pm 0,21 [+30*]	2,8 \pm 0,50 +369 ^x
Латентный период, мс	16,0 \pm 0,83 (+43 \pm 7,5 \bullet)	24,5 \pm 1,15 (+48 \pm 8,2 \bullet) [+53*]	13,9 \pm 0,61 (+22 \pm 4,1 \bullet)	13,6 \pm 0,72 (21 \pm 1,4 \bullet) -45 ^x
Скорость укорочения, мм/мс	0,09 \pm 0,008	0,01 \pm 0,002 (-60 \pm 7,9 \bullet) [-86*]	0,08 \pm 0,006	0,09 \pm 0,015 +604 ^x
Скорость расслабления, мм/мс	0,04 \pm 0,004	0,01 \pm 0,002 (-70 \pm 7,9 \bullet) [-83*]	0,05 \pm 0,004	0,05 \pm 0,005 +598 ^x

Примечание: \bullet – в круглых скобках указана статистически значимая разница показателя относительно исходного значения соответствующей группы (в %, $p < 0,05$); * – в квадратных скобках указана статистически значимая разница показателя относительно соответствующего значения контрольной группы (в %, $p < 0,05$); ^x – указана статистически значимая разница показателя животных группы 30Д+Ф относительно соответствующего значения группы 30Д (в %, $p < 0,05$).

Несмотря на отсутствие существенных изменений исходных параметров одиночного сокращения СМ животных 30Ф-группы, у них наблюдалось значимое относительно К увеличение массы СМ (на 13%, $p < 0,05$) и тенденция к увеличению количества активируемых ее ДЕ, косвенно указывающие в пользу возможной

гипертрофии СМ (см. табл. 2). Способность β_2 -адреноагонистов (β_2 -АА) и, в частности, кленбутерола, стимулировать гипертрофию СМ и увеличение диаметра МВ была установлена в исследованиях других авторов [10]. Более того, в некоторых работах [7] показано, что более выраженный анаболический эффект β_2 -АА кленбутерола достигается в быстрых мышцах по сравнению с медленными.

Ф, вводимый в комплексе с Д, предотвратил типичное для 30Д-группы ухудшение параметров исходных (до УР) одиночных сокращений мышцы (см. табл. 1), уменьшение количества активируемых ее ДЕ и массы (см. табл. 2). Данные факты косвенно свидетельствуют в пользу отсутствия выраженных дистрофических изменений СМ крыс 30Д+Ф-группы и могут быть обусловлены способностью β_2 -АА стимулировать биосинтез миофибриллярных белков в МВ, в том числе тяжелых цепей миозина [35], протеолиз которых усиливается под влиянием Д [27]. Кроме того, в недавних исследованиях [36] установлена способность Д ослаблять экспрессию MuRF1 и усиливать экспрессию атрогин-1 в МВ, что отчасти предопределяет дистрофические их изменения, тогда как β_2 -АА противоположным образом влияют на экспрессию этих белков [13].

Таблица 2

Средние значения ($\bar{X} \pm m$) массы передней большеберцовой мышцы и количества активируемых ее двигательных единиц¹ у контрольных животных (К) и крыс, получавших на протяжении 30 дней дексаметазон (30Д) и формотерол (30Ф) изолированно и комплексно (30Д+Ф)

Группа животных	Масса мышцы, мг	Количество активируемых двигательных единиц мышцы	
		исходное (до утомляющей работы)	после утомляющей работы
К	399,8±6,81	14,1±1,21	10,4±0,91 (-26±2,0●)
30Д	363,9±8,50 [-9*]	8,1±0,95 [-43*]	5,3±0,61 (-34±2,4●) [-49*]
30Ф	454,3±7,79 [+13*]	18,8±2,36	18,5±2,65 [+78*]
30Д+Ф	393,8±8,48 +8 ^x	15,2±1,67 +87 ^x	12,0±0,82 +124 ^x

Примечание: ¹ – количество активируемых двигательных единиц мышцы определяли по методике Galea V. [31]; * – в квадратных скобках указана статистически значимая разница показателя относительно контрольной группы (в %, $p < 0,05$); ^x – указана статистически значимая разница показателя животных группы 30Д+Ф относительно соответствующего значения группы 30Д (в %, $p < 0,05$); ● – в круглых скобках указана статистически значимая разница показателя относительно исходного значения соответствующей группы (в %, $p < 0,05$).

Наряду с нивелированием нарушений исходных параметров одиночных сокращений СМ, Ф, вводимый в комплексе с Д, предотвратил более выраженное, в сравнении с К, ухудшение этих параметров после выполнения УР (см. табл. 1). Более того, подобно 30Ф-группе, у животных 30Д+Ф-группы наблюдалось отсутствие значимого ухудшения параметров одиночного сокращения СМ и снижения количества активируемых ее ДЕ после выполнения УР, тогда как у крыс 30Д-группы и в меньшей степени у К эти параметры ухудшались (см. табл. 1, 2). Данный факт свидетельствует в пользу более высокой устойчивости к утомлению СМ крыс как 30Ф-, так и 30Д+Ф-групп в сравнении с К и, по всей видимости, обусловлен способностью β_2 -АА повышать не только доступность субстратов окисления для СМ, но и в определенных концентрациях увеличивать поглощение глюкозы МВ [37] и, как уже отмечалось выше, индуцировать биогенез митохондрий [20], что предопределяет повышение эффективности биологического окисления.

Наряду с ухудшением параметров одиночного сокращения СМ у животных 30Д-группы наблюдалось и ухудшение параметров тетанического ее сокращения: уменьшение в сравнении с К ($p < 0,05$) его амплитуды (на 24%), удлинение времени достижения максимальной амплитуды тетануса (на 81%) и существенное уменьшение скорости развития тетанического сокращения (на 57%), а также укорочение периода максимальной устойчивой работоспособности СМ (на 34%, см. табл. 3).

Таблица 3

Средние значения ($\bar{X} \pm m$) силовых и временных параметров тетанического сокращения мышцы контрольных животных (К) и крыс, получавших на протяжении 30 дней дексаметазон (30Д) и формотерол (30Ф) изолированно и комплексно (30Д+Ф)

Группа животных	Амплитуда тетанического сокращения, мм	Время достижения максимальной амплитуды сокращения, с	Скорость тетанического сокращения, мм/с	Длительность удержания максимальной амплитуды тетанического сокращения, с	Длительность снижения амплитуды сокращения на 50% относительно максимальной, с
К	13,4±1,17	0,8±0,13	16,1±1,18	3,6±0,39	9,1±1,08
30Д	10,3±0,70 [-24*]	1,5±0,09 [+81*]	6,9±0,79 [-57*]	2,4±0,23 [-34*]	8,4±0,92
30Ф	15,7±0,87	0,4±0,04 [-56*]	42,8±2,84 [+165*]	6,1±0,68 [+67*]	15,2±0,85 [+65*]
30Д+Ф	11,2±0,76	0,2±0,03 [-78*], -88 ^x	60,3±9,01 [+274*], +778 ^x	5,5±0,81 +127 ^x	11,0±0,92

Примечание: * – в квадратных скобках указана статистически значимая разница показателя относительно контрольной группы (в %, $p < 0,05$); ^x – указана статистически значимая разница показателя животных группы 30Д+Ф относительно соответствующего значения группы 30Д (в %, $p < 0,05$).

В основе ухудшения амплитудных параметров тетанического сокращения СМ животных 30Д-группы, подобно снижению амплитуды одиночных ее сокращений, могут лежать уменьшение силы сокращения, развиваемой патологически измененными МВ, полное их выключение из возбуждения и сокращения, а также уменьшение степени синхронизации возбуждения и сокращения в СМ. Замедление скорости тетанического сокращения у животных 30Д-группы может быть обусловлено нарушением электромеханического сопряжения в МВ, а также десинхронизацией возбуждения и сокращения в СМ, в пользу которых свидетельствуют и отмеченные нами удлинение латентного периода и уменьшение амплитуды одиночных сокращений СМ. Укорочение продолжительности максимальной устойчивой работоспособности СМ у крыс 30Д-группы отражает более выраженное нарушение энергообмена в МВ в динамике выполнения УР в сравнении с К, обуславливающее более быстрое наступление ацидоза, снижение возбудимости МВ и частичное их выключение из сокращения в процессе развития утомления. В пользу определенных нарушений энергообмена в СМ при длительном введении ГК указывают и другие исследователи [21, 32].

Длительное изолированное применение Ф обуславливало некоторое улучшение временных параметров тетанического сокращения СМ, а также повышение ее работоспособности. Так, у животных 30Ф-группы продолжительность достижения максимальной амплитуды тетануса укорачивалась в сравнении с К (на 56%, $p < 0,05$), вследствие чего на фоне неизменной амплитуды тетануса скорость развития тетанического сокращения существенно возрастала (на 165%, $p < 0,05$ относительно К, см. табл. 3). Полученные нами данные согласуются с результатами исследований других авторов [38], показавших что длительное введение (на протяжении 21 дня) в организм крыс β_2 -АА кленбутерола существенно не отразилось на сократительной способности быстрой мышцы (*m. digitorum longus*), но привело к значительному изменению кинетики ее сокращения и расслабления.

Улучшение временных параметров тетанического сокращения СМ крыс 30Ф-группы может быть обусловлено улучшением под влиянием Ф уровня кровоснабжения и энергообеспечения МВ [33, 34], степени синхронизации возбуждения и электромеханического сопряжения в них, скорости актомиозинового взаимодействия [39] и, возможно, усилением синтеза сократительных белков при длительном введении β_2 -АА [5, 10]. В сравнительно недавних исследованиях иностранных авторов [6] установлена способность селективного β_2 -АА кленбутерола через ассоциированный с β_2 -адренорецептором G-белок активировать киназу 2 в быстрой скелетной мышце (длинном разгибателе пальцев), что приводит к улучшению ее силовых характеристик.

Длительное введение Ф в целом позитивно сказывалось не только на временных параметрах тетанического сокращения, но и на работоспособности СМ. Так, у животных 30Ф-группы наблюдалось значимое относительно К ($p < 0,05$) удлинение периода удержания амплитуды тетанического сокращения на максимальном (на 67%) и субмаксимальном (на 65%) уровне при выполнении УР (см. табл. 3).

Таким образом, при анализе работоспособности СМ в тесте с выполнением ею

УР, были получены данные, указывающие в пользу способности длительно вводимого β_2 -АА улучшать скоростные параметры тетанического сокращения СМ и существенно повышать ее максимальную и субмаксимальную работоспособность. В пользу более высокой устойчивости мышцы животных 30Ф-группы к утомлению указывает и обсуждаемое нами ранее менее выраженное в сравнении с К ухудшение параметров одиночных сокращений СМ после выполнения УР (см. табл. 1).

Ф, вводимый в комплексе с Д, нивелировал ухудшение амплитуды тетануса и максимальной работоспособности СМ, типичных для изолированного введения Д, и обусловил не просто нормализацию в сравнении с 30Д-группой скоростных параметров тетанического сокращения, а даже некоторое их повышение в сравнении с К. Так, время достижения максимальной амплитуды тетануса у животных 30Д+Ф-группы существенно укорачивалось (на 78% относительно контроля, $p < 0,05$), что было характерно и для 30Ф-группы, тогда как в 30Д-группе оно удлинялось (на 81%, относительно контроля, $p < 0,05$, см. табл. 3). Вместе с тем, это укорочение у животных 30Д+Ф-группы носило более выраженный характер в сравнении с 30Ф-группой ($p < 0,05$, см. табл. 3). Как следствие, скорость тетанического сокращения у животных 30Д+Ф- и 30Ф-групп возрастала (на 274% относительно контроля в 30Д+Ф-группе и 165% в 30Ф-группе, $p < 0,05$), и средние значения этого параметра между 30Д+Ф- и 30Ф-группами значимо не различались, тогда как некоторая тенденция к его повышению в 30Д+Ф-группе относительно 30Ф-группы имела место (см. табл. 3).

В то же время, несмотря на отсутствие значимых изменений амплитуды тетануса крыс 30Д+Ф- и 30Ф-групп относительно К, этот параметр у животных 30Ф-группы значимо превышал таковой 30Д+Ф-группы (на 40%, $p < 0,05$, см. табл. 3). Аналогично амплитуде тетануса, продолжительность ее удержания на субмаксимальном уровне у крыс 30Д+Ф-группы была меньше таковой 30Ф-группы (на 39%, $p < 0,05$, см. табл. 3). Полученные факты указывают в пользу того, что некоторое негативное влияние Д на амплитудные параметры тетанического сокращения и субмаксимальную работоспособность СМ у животных, получавших его в комплексе с Ф, все же проявлялось, что и обусловило более низкие значения этих параметров у крыс 30Д+Ф-группы в сравнении с 30Ф-группой.

Следовательно, спустя 1 месяц комплексного введения Д с Ф позитивные эффекты β_2 -АА на работоспособность СМ не могли проявиться в полной мере, подобно тому, как они проявлялись в 30Ф-группе, хотя Ф предотвратил существенное укорочение периода максимальной работоспособности СМ, отмеченное в 30Д-группе.

Наблюдаемое нами ускорение развития тетанического сокращения, у животных 30Д+Ф-группы, по всей видимости, вызывалось Ф, поскольку было характерно и для крыс 30Ф-группы. Вместе с тем, в литературе существуют сведения [26] относительно способности ГК, особенно при длительном введении, увеличивать экспрессию в тканях-мишенях адренорецепторов, что должно обуславливать повышение их чувствительности к КА. Как следствие, при комплексном введении КА и ГК следует ожидать более выраженный эффект КА по сравнению с тем, что имеет место при изолированной адренергической стимуляции. В наших

исследованиях, у животных, подвергавшихся комбинированному введению Д и Ф, существенных различий в большинстве исследуемых параметров функционального состояния СМ (в том числе и временных параметров тетанического сокращения) по сравнению с 30Ф-группой выявлено не было. Более того, некоторые параметры (амплитуда тетануса, продолжительность субмаксимальной работоспособности) у крыс 30Д+Ф-группы были ниже таковых 30Ф-группы. В основе данного обстоятельства могут лежать 2 причины. Во-первых, при длительном совместном введении ГК с КА хроническая адренергическая стимуляция может вызывать некоторую десенситизацию адренорецепторов, в результате чего существенного повышения их плотности в тканях-мишенях под действием ГК не достигается. Как следствие, и степень изменения исследуемых параметров мышцы у животных 30Ф- и 30Д+Ф-групп не имеет существенных различий. Во-вторых, длительное введение фармакологических доз Д на фоне адренергической стимуляции могло вызывать определенные дистрофические, энергетические и функциональные изменения в исследуемой СМ, делающие не возможным полноценную потенциацию эффектов ГК и КА на ее волокна даже при условии увеличения под влиянием ГК плотности адренорецепторов в них.

По всей видимости, оба эти обстоятельства могли послужить причиной отсутствия более выраженного улучшения параметров тетанического сокращения и работоспособности мышцы у крыс 30Д+Ф-группы в сравнении с 30Ф-группой. В пользу этого свидетельствует тот факт, что некоторые параметры (скорость тетанического сокращения) у крыс 30Ф- и 30Д+Ф-групп улучшались примерно в равной мере, тогда как другие – амплитуда тетанического сокращения и продолжительность субмаксимальной работоспособности – у животных 30Д+Ф-группы значимо не изменялись относительно контроля, тогда как в 30Ф-группе максимальная и субмаксимальная работоспособность была повышена. Вместе с тем, время достижения максимальной амплитуды тетануса у крыс 30Д+Ф-группы было укорочено в большей степени, чем в 30Ф-группе.

Подводя итог результатам исследований, необходимо отметить, что длительное изолированное введение Д сопровождалось ухудшением амплитудных и временных параметров одиночного сокращения, уменьшением амплитуды тетанического сокращения, его скорости, а также укорочением периода максимальной устойчивой работоспособности СМ. Введение Ф в комплексе с Д предотвратило ухудшение параметров одиночного сокращения, амплитуды тетануса и максимальной устойчивой работоспособности СМ, типичных для изолированного введения Д, и обусловило не просто нормализацию в сравнении с 30Д-группой скорости развития тетанического сокращения СМ, а существенное ее повышение (на 274%) в сравнении с К. Кроме того, Ф, вводимый в комплексе с Д, не только предотвратил повышение утомляемости СМ, типичное для 30Д-группы, но и обусловил увеличение ее устойчивости к утомлению в сравнении с К. Вместе с тем, некоторые параметры тетанического сокращения (амплитуда тетануса, продолжительность периода максимальной работоспособности) у животных 30Д+Ф-группы оказались ниже таковых 30Ф-группы, что, по-видимому, указывает в пользу ограничения Д полноценного проявления эффектов длительно вводимого Ф на СМ.

Полученные в модельных экспериментах на животных в условиях *in situ* данные свидетельствуют о способности селективного β_2 -адреноагониста формотерола эффективно компенсировать ухудшение амплитудных и временных параметров одиночного и тетанического сокращений скелетной мышцы смешанного типа с преимущественным преобладанием гликолитических волокон при длительном введении дексаметазона.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

1. Формотерол, вводимый в комплексе с дексаметазоном, предотвратил уменьшение количества активируемых двигательных единиц мышцы и ее массы, типичные для 30Д-группы.
2. Формотерол, вводимый в комплексе с дексаметазоном, нивелировал ухудшение амплитудных и временных параметров одиночного и тетанического сокращений мышцы, типичное для животных 30Д-группы, и обусловил улучшение в сравнении с контролем ($p < 0,05$) скорости развития тетанического сокращения (на 274%).
3. Формотерол, вводимый в комплексе с дексаметазоном, не только предотвратил повышение утомляемости мышцы, типичное для 30Д-группы, но и обусловил увеличение ее устойчивости к утомлению в сравнении с контролем. В пользу этого свидетельствует отсутствие значимого снижения у животных 30Д+Ф-группы амплитуды одиночных сокращений и количества активируемых двигательных единиц скелетной мышцы после выполнения утомляющей работы, типичное не только для животных 30Д-, но и К-группы.
4. Длительность максимальной и субмаксимальной работоспособности мышцы у животных 30Д+Ф-группы не претерпевала значимых изменений относительно контроля, тогда как у 30Ф-группы – превосходила уровень контроля ($p < 0,05$), амплитуда тетануса крыс 30Д+Ф-группы значимо не отличалась от контроля, но оказалась ниже ($p < 0,05$) таковой 30Ф-группы на 40%. Оба эти факта, по-видимому, указывают в пользу того, что негативное действие дексаметазона на скелетную мышцу в некоторой степени ограничило проявление эффектов длительно вводимого формотерола.

Список литературы

1. Полунина А.Г. Стероидная миопатия / А.Г. Полунина, Ф.В. Исаев, М.А. Демьянова // Журнал неврологии и психиатрии им. С.С. Корсакова. – 2012. – Т. 112, No 10-2. – С. 60-64.
2. Pinheiro C.H. Exercise prevents cardiometabolic alterations induced by chronic use of glucocorticoids / C.H. Pinheiro, W.M. Sousa Filho, J. Oliveira Neto [et al.] // Arq. Bras. Cardiol. – 2009. – Vol. 93, No 4. – P. 400-408.
3. Schakman O. Mechanisms of glucocorticoid-induced myopathy / O. Schakman, H. Gilson, J.P. Thissen // J. Endocrinology. – 2008. – Vol. 197. – P. 1-10.
4. Yamamoto D. Branched-chain amino acids protect against dexamethasone-induced soleus muscle atrophy in rats / D. Yamamoto, T. Maki, E.H. Hemingtyas // Muscle Nerve. – 2010. – Vol. 41, No 6. – P. 819-827.
5. Shimamoto S. β_1 - and β_2 -adrenergic receptor stimulation differ in their effects on PGC-1 α and atrogen-1/MAFbx gene expression in chick skeletal muscle / S. Shimamoto, D. Ijiri, M. Kawaguchi [et al.] // Comp. Biochem. Physiol. A Mol. Integr. Physiol. – 2017. – Vol. 211 (Sep). – P. 1-6.

6. Woodall B.P. Skeletal Muscle-specific G Protein-coupled Receptor Kinase 2 Ablation Alters Isolated Skeletal Muscle Mechanics and Enhances Clenbuterol-stimulated Hypertrophy / B.P. Woodall, M.C. Woodall, T.S. Luongo [et al.] // *J. Biol. Chem.* – 2016. – Vol. 291, No 42. – P. 21913-21924.
7. Ohnuki Y. Role of phosphodiesterase 4 expression in the Epac1 signaling-dependent skeletal muscle hypertrophic action of clenbuterol / Y. Ohnuki, D. Umeki, Y. Mototani [et al.] // *Physiol Rep.* – 2016. – Vol. 4, No 10. – pii: e12791.
8. Manfredi L.H. Adrenodemedullation activates the Ca²⁺-dependent proteolysis in soleus muscles from rats exposed to cold / L.H. Manfredi, D. Lustrino, J. Machado [et al.] // *J. Appl. Physiol.* – 2017. – Vol. 122, No 2. – P. 317-326.
9. Shimamoto S. Clenbuterol changes phosphorylated FOXO1 localization and decreases protein degradation in the sartorius muscle of neonatal chicks / S. Shimamoto, D. Ijiri, K. Nakashima [et al.] // *Biosci. Biotechnol. Biochem.* – 2016. – Vol. 80, No8. – P. 1499-14504.
10. Brown D.M. Effect of sodium 4-phenylbutyrate on Clenbuterol-mediated muscle growth / D.M. Brown, S. Jones, Z.C.T.R. Daniel [et al.] // *PLoS One.* – 2018. – Vol. 13, No 7. – e0201481.
11. Koeberl D.D. Correction of Biochemical Abnormalities and Improved Muscle Function in a Phase I/II Clinical Trial of Clenbuterol in Pompe Disease / D.D. Koeberl, L.E. Case, E.C. Smith [et al.] // *Mol. Ther.* – 2018. – Jul 5. – pii: S1525-0016(18)30309-5.
12. Milioto C. Beta-agonist stimulation ameliorates the phenotype of spinal and bulbar muscular atrophy mice and patient-derived myotubes / C. Milioto, A. Malena, E. Maino [et al.] // *Sci. Rep.* – 2017. – Vol. 24, No 7. – P. 41046.
13. Wannenes F. In vitro effects of Beta-2 agonists on skeletal muscle differentiation, hypertrophy, and atrophy / F. Wannenes, L. Magni, M. Bonini [et al.] // *World Allergy Organ J.* – 2012. – Vol. 5, No 6. – P. 66-72.
14. Abo T. IGF and myostatin pathways are respectively induced during the earlier and the later stages of skeletal muscle hypertrophy induced by clenbuterol, a β 2-adrenergic agonist / T. Abo, R.H. Iida, S. Kaneko [et al.] // *Cell Biochem. Funct.* – 2012. – Vol. 30, No 8. – P. 671-676.
15. Dutt V. Skeletal muscle atrophy: Potential therapeutic agents and their mechanisms of action / V. Dutt, S. Gupta, R. Dabur [et al.] // *Pharmacol Res.* – 2015. – Vol. 99 (Sep). – P. 86-100.
16. Umeki D. Protective Effects of Clenbuterol against Dexamethasone-Induced Masseter Muscle Atrophy and Myosin Heavy Chain Transition / D. Umeki, Y. Ohnuki, Y. Mototani [et al.] // *PLoS One.* – 2015. – Vol. 10, No 6. – e0128263.
17. Камалиев Р.Р. Воздействие гидрокортизона, АТФ и аденозина на скелетную мышцу крысы / Р.Р. Камалиев, С.Н. Гришин, Ж.Ю. Фалу [и др.] // *Казанский медицинский журнал.* – 2009. – Т. 90, No 4. – С. 556-559.
18. Труш В.В. Модулирующее влияние адреналина на развитие стероидной миопатии у белых крыс, индуцированной длительным введением гидрокортизона / В.В. Труш, В.И. Соболев // *Патологическая физиология и экспериментальная терапия.* – 2017. – Т. 61, No 4. – С. 104-111.
19. Ohnuki Y. Role of cyclic AMP sensor Epac1 in masseter muscle hypertrophy and myosin heavy chain transition induced by β 2-adrenoceptor stimulation / Y. Ohnuki, D. Umeki, Y. Mototani [et al.] // *J. Physiol.* – 2014. – Vol. 592, No 24. – P. 5461-5475.
20. Cameron R.B. Structural and pharmacological basis for the induction of mitochondrial biogenesis by formoterol but not clenbuterol / R.B. Cameron, C.C. Beeson, R.G. Schnellmann // *Sci Rep.* – 2017. – Vol. 7, No 1. – P. 10578.
21. Kaasik P. The mechanism of action of glucocorticoids in the rat skeletal muscle / P. Kaasik, T. Seene, M. Umnova [et al.] // *Balt. J. Lab. Anim. Sci.* – 2000. – Vol. 10, No (3-4). – P. 185-193.
22. Martin A.I. Formoterol treatment prevents the effects of endotoxin on muscle TNF/NF-kB, Akt/mTOR and proteolytic pathways in a rat model. Role of IGF-I and miRNA 29b / A.I. Martin, A.B. Gómez-San Miguel, T. Priego [et al.] // *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.* – 2018. – Jul 3. – P. E705-E714.
23. Sirvent P. Effects of chronic administration of clenbuterol on contractile properties and calcium homeostasis in rat extensor digitorum longus muscle / P. Sirvent, A. Douillard, O. Galbes [et al.] // *PLoS One.* – 2014. – Vol. 9, No 6. – e100281.
24. Rios R. Myostatin regulates cell survival during C2C12 myogenesis / R. Rios, I. Carneiro, V.M. Arce [et al.] // *Biochem. Biophys. Res. Commun.* – 2001. – Vol. 280. – P. 561-566.

25. Вознесенский Н.А. Формотерол (Форадил) в лечении бронхиальной астмы / Н.А. Вознесенский // Лечебное дело. – 2006. – No 4. – С. 52-56.
26. Black J.L. Molecular mechanisms of combination therapy with inhaled corticosteroids and long-acting beta-agonists / J.L. Black, B.G. Oliver, M. Roth // Chest. – 2009. – Vol. 136, No 4. – P. 1095-1100.
27. Riso E.M. Relationship between extracellular matrix, contractile apparatus, muscle mass and strength in case of glucocorticoid myopathy / E.M. Riso, A. Ahtikoski, K. Alev [et al.] // Journal of Steroid Biochemistry & Molecular Biology. – 2008. – Vol. 108. – P. 117-120.
28. Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств / Под ред. А.Н. Миронова, Н.Д. Бунатян. – Москва : Минздрав РФ, ЗАО «Гриф и К», 2012. – 944 с.
29. Kim J.H. Alteration in skeletal muscle mass in women with subclinical hypercortisolism / J.H. Kim, M.K. Kwak, S.H. Ahn [et al.] // Endocrine. – 2018. – Vol. 61, No 1. – P. 134-143.
30. Борисова Е.О. Клиническая фармакология парентеральных форм глюкокортикоидов / Е.О. Борисова // Лечебное дело. – 2007. – No 3. – С. 17-24.
31. Galea V. The number and relative size of motor units estimated by computer / V. Galea, H. de Bruin, R. Cavasin [et al.] // Muscle and Nerve. – 1991. – Vol. 14. – P. 1123-1130.
32. Jiao H. A high-caloric diet rich in soy oil alleviates oxidative damage of skeletal muscles induced by dexamethasone in chickens / H. Jiao, K. Zhou, J. Zhao [et al.] // Redox Rep. – 2018. – Vol. 23, No 1. – P. 68-82.
33. Кулинский В.И. Катехоламины: биохимия, фармакология, физиология, клиника / В.И. Кулинский, Л.С. Колесниченко // Вопросы медицинской химии. – 2002. – Т. 48, No 1. – С. 45-67.
34. Watt M.J. Effects of plasma adrenaline on hormone-sensitive lipase at rest and during moderate exercise in human skeletal muscle / M.J. Watt, T. Stellingwerff, G.J.F. Heigenhauser [et al.] // J. Physiol. – 2003. – Vol. 550, No 1. – P. 325-332.
35. Knych H.K. Differential expression of skeletal muscle genes following administration of clenbuterol to exercised horses / H.K. Knych, L.M. Harrison, S.J. Steinmetz [et al.] // BMC Genomics. – 2016. – Vol. 17, No 9. – P. 596.
36. Sakai H. Dexamethasone exacerbates cisplatin-induced muscle atrophy / H. Sakai, M. Kimura, Y. Tsukimura [et al.] // Clin. Exp. Pharmacol. Physiol. – 2018. – Aug 23. – PMID: 30137654.
37. Ngala R.A. β_2 -adrenoceptor agonists can both stimulate and inhibit glucose uptake in mouse soleus muscle through ligand-directed signalling / R.A. Ngala, J.F. O'Dowd, C.J. Stocker [et al.] // Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharmacol. – 2013. – Vol. 386, No 9. – P. 761-773.
38. Py G. Chronic clenbuterol treatment compromises force production without directly altering skeletal muscle contractile machinery / G. Py, C. Ramonaxto, P. Sirvent [et al.] // J. Physiol. – 2015. – Vol. 593, No 8. – P. 2071-2084.
39. MacIntosh B. Skeletal muscle. Form and function / B. MacIntosh, Ph. Gardiner, A.J. McComas. – 2th edition. – Champaign : Human Kinetics, 1998. – 432 p.

MODULATION BY β_2 -ADRENERGIC AGONIST FORMOTEROL OF CONTRACTILE DYSFUNCTION OF THE SKELETAL MUSCLE OF WHITE RATS CAUSED BY THE LONG DEXAMETHASONE ADMINISTRATION

Trush V. V.¹, Sobolev V. I.²

¹*Donetsk national university, Donetsk, Ukraine*

²*V.I. Vernadsky Crimean Federal University, Yalta, Russian Federation*

E-mail: ver.trush@yandex.ru

Research objective consisted in the studying of the efficiency of β_2 -adrenergic agonist formoterol (F) in the compensation of the contractile dysfunction of a skeletal muscle of the mixed type (*m. tibial anterior*) caused by long dexamethasone (D) administration.

Method. Experiments were performed on sexually mature rats-females of 4-5 monthly

age divided into 4 groups: control (n=10, C-group), the I-st experienced (n=10, for 30 days received of the dexamethasone, 30D-group), the II-nd experienced (n=10, for 30 days received of the dexamethasone in a complex with formoterol, 30D+F-group) and II-nd experienced (n=10, for 30 days received of the formoterol, 30F-group). Dexamethasone ("KRKA", Slovenia) was entered once in 2 days intraperitoneally in the dose adequate therapeutic for the human, – 0,25 mg/kg. Formoterol (the trademark "Foradil", "Novartis", Switzerland) entered every day in a dose 1,5 mkg/kg, subcutaneously. On the anesthetized animals (sodium thiopental, 100 mg/kg) with the use of the stimulation electromyography and myography the some parameters of a functional condition of the forward tibial muscle was studied. The muscle's excitation and contraction was induced by the irritation of the fibular nerve by superthreshold electric current.

Results. F, which had been administrated in a complex with D, prevented the reduction of quantity of the activated motor units of the muscle and its weight, typical for 30D-group. Administration of F in the complex with D prevented the deterioration in amplitude and temporary parameters of single and tetanic contractions of the muscle, which was typical for the animals of 30D-group, and has even caused the improvement in comparison with control ($p<0,05$) the speeds of the development of tetanic contraction (for 274%). Administration of F in the complex with D not only prevented the increased fatigue of the muscle, which was typical for the 30D-group, but also led to an increase in muscle resistance to fatigue in comparison with control. In favor of this testifies the absence at animals of 30D+F-group of a significant decrease in the amplitude of single contractions and the number of activated motor units of the muscle after performing the fatiguing work, which was typical not only for animals of 30D- but also for the C-group. At the same time, the duration of maximal and submaximal working capacity of the muscle in animals of the 30D+F-group did not undergo significant changes with respect to control, while in the 30F-group it exceeded the level of control ($p<0,05$), the amplitude of tetanic contraction of the rats of 30D+F-group did not significantly differ from control, but it turned out to be lower ($p<0,05$) of that of 30F-group by 40%. Both of these facts specify that the negative effect of D on the skeletal muscle to some extent limited the manifestation of the effects of F.

Conclusion. The experimental data obtained in model experiments on animals in the conditions of in situ testify to ability of selective β_2 -adrenergic agonist formoterol to effectively compensate the deterioration in amplitude and temporary parameters of single and tetanic contractions of the skeletal muscle of the mixed type with predominant prevalence of glycolytic fibers at long dexamethasone administration.

Keywords: skeletal muscle; dexamethasone; iatrogenic hypercorticism; steroid myopathy; adrenergic agonists, formoterol.

References

1. Polunina A.G., Isaev F.V. and Dem'ianova M.A., Steroid myopathy, *Zhurnal nevrologii i psikiatrii imeni S.S. Korsakova*, **112** (10-2), 60 (2012). (In Russian)
2. Pinheiro C.H., Sousa Filho W.M., Oliveira Neto J. and Marinho Mde., Exercise prevents cardiometabolic alterations induced by chronic use of glucocorticoids, *Arq. Bras. Cardiol.*, **93** (4), 400 (2009).
3. Schakman O., Gilson H. and Thissen J.P., Mechanisms of glucocorticoid-induced myopathy, *J. Endocrinology.*, **197**, 1 (2008).

4. Yamamoto D., Maki T. and Hemingtyas E.H., Branched-chain amino acids protect against dexamethasone-induced soleus muscle atrophy in rats, *Muscle Nerve*, **41** (6), 819 (2010).
5. Shimamoto S., Ijiri D., Kawaguchi M., Nakashima K., Tada O., Inoue H. and Ohtsuka A., β_1 - and β_2 -adrenergic receptor stimulation differ in their effects on PGC-1 α and atrogin-1/MAFbx gene expression in chick skeletal muscle, *Comp. Biochem. Physiol. A Mol. Integr. Physiol.*, **211** (Sep.), 1 (2017).
6. Woodall B.P., Woodall M.C., Luongo T.S., Grisanti L.A., Tilley D.G., Elrod J.W. and Koch W.J., Skeletal Muscle-specific G Protein-coupled Receptor Kinase 2 Ablation Alters Isolated Skeletal Muscle Mechanics and Enhances Clenbuterol-stimulated Hypertrophy, *J. Biol. Chem.*, **291** (42), 21913 (2016).
7. Ohnuki Y., Umeki D., Mototani Y., Shiozawa K., Nariyama M., Ito A., Kawamura N., Yagisawa Y., Jin H., Cai W., Suita K., Saeki Y., Fujita T., Ishikawa Y. and Okumura S., Role of phosphodiesterase 4 expression in the Epac1 signaling-dependent skeletal muscle hypertrophic action of clenbuterol, *Physiol Rep.*, **4** (10), e12791 (2016).
8. Manfredi L.H., Lustrino D., Machado J., Silveira W.A., Zanon N.M., Navegantes L.C. and Kettelhut I.C. Adrenomedullation activates the Ca²⁺-dependent proteolysis in soleus muscles from rats exposed to cold, *J. Appl. Physiol.*, **122** (2), 317 (2017).
9. Shimamoto S., Ijiri D., Nakashima K., Kawaguchi M., Ishimaru Y., Furukawa A. and Ohtsuka A., Clenbuterol changes phosphorylated FOXO1 localization and decreases protein degradation in the sartorius muscle of neonatal chicks, *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, **80** (8), 1499 (2016).
10. Brown D.M., Jones S., Daniel Z.C.T.R., Brearley M.C., Lewis J.E., Ebling F.J.P., Parr T. and Brameld J.M., Effect of sodium 4-phenylbutyrate on Clenbuterol-mediated muscle growth, *PLoS One.*, **13** (7), e0201481 (2018).
11. Koeberl D.D., Case L.E., Smith E.C., Walters C., Han S.O., Li Y., Chen W., Hornik C.P., Huffman K.M., Kraus W.E., Thurberg B.L., Corcoran D.L., Bali D., Bursac N. and Kishnani P.S., Correction of Biochemical Abnormalities and Improved Muscle Function in a Phase I/II Clinical Trial of Clenbuterol in Pompe Disease, *Mol. Ther.*, Jul 5, S1525-0016(18)30309-5 (2018).
12. Milioto C., Malena A., Maino E., Polanco M.J., Marchioretto C., Borgia D., Pereira M.G., Blaauw B., Lieberman A.P., Venturini R., Plebani M., Sambataro F., Vergani L., Pegoraro E., Sorarù G. and Pennuto M., Beta-agonist stimulation ameliorates the phenotype of spinal and bulbar muscular atrophy mice and patient-derived myotubes, *Sci. Rep.*, **24** (7), 41046 (2017).
13. Wannenes F., Magni L., Bonini M., Dimauro I., Caporossi D., Moretti C. and Bonini S., In vitro effects of Beta-2 agonists on skeletal muscle differentiation, hypertrophy, and atrophy, *World Allergy Organ J.*, **5** (6), 66 (2012).
14. Abo T., Iida R.H., Kaneko S., Suga T., Yamada H., Hamada Y. and Yamane A., IGF and myostatin pathways are respectively induced during the earlier and the later stages of skeletal muscle hypertrophy induced by clenbuterol, a β_2 -adrenergic agonist, *Cell Biochem. Funct.*, **30** (8), 671 (2012).
15. Dutt V., Gupta S., Dabur R., Injeti E. and Mittal A., Skeletal muscle atrophy: Potential therapeutic agents and their mechanisms of action, *Pharmacol Res.*, **99** (Sep.), 86 (2015).
16. Umeki D., Ohnuki Y., Mototani Y., Shiozawa K., Suita K., Fujita T., Nakamura Y., Saeki Y. and Okumura S., Protective Effects of Clenbuterol against Dexamethasone-Induced Masseter Muscle Atrophy and Myosin Heavy Chain Transition, *PLoS One.*, **10** (6), e0128263 (2015).
17. Kamaliev R.R., Grishin S.N., Falou Zh.Yu. and Ziganshin A.U., The effect of hydrocortisone, ATP and adenosine on rat skeletal muscle contraction, *Kazan medical journal*, **90** (4), 556 (2009) (In Russian).
18. Trush V.V. and Sobolev V.I., The modulating influence of adrenaline on the development of the steroid myopathy induced by long application of hydrocortisone at white rats, *Patologicheskaya Fiziologiya i Eksperimental'naya terapiya. (Pathological Physiology and Experimental Therapy, Russian Journal)*, **61** (3), 104 (2017) (In Russian).
19. Ohnuki Y., Umeki D., Mototani Y., Jin H., Cai W., Shiozawa K., Suita K., Saeki Y., Fujita T., Ishikawa Y. and Okumura S., Role of cyclic AMP sensor Epac1 in masseter muscle hypertrophy and myosin heavy chain transition induced by β_2 -adrenoceptor stimulation, *J. Physiol.*, **592** (24), 5461 (2014).
20. Cameron R.B., Beeson C.C. and Schnellmann R.G., Structural and pharmacological basis for the induction of mitochondrial biogenesis by formoterol but not clenbuterol, *Sci Rep.*, **7** (1), 10578 (2017).
21. Kaasik P., Seene T., Umnova M. and Alev K., The mechanism of action of glucocorticoids in the rat skeletal muscle, *Balt. J. Lab. Anim. Sci.*, **10** (3-4), 185 (2000).

22. Martin A.I., Gómez-San Miguel A.B., Priego T. and Lopez-Calderon A., Formoterol treatment prevents the effects of endotoxin on muscle TNF/NF- κ B, Akt/mTOR and proteolytic pathways in a rat model. Role of IGF-I and miRNA 29b, *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.*, Jul 3, E705 (2018).
23. Sirvent P., Douillard A., Galbes O., Ramonatxo C., Py G., Candau R. and Lacampagne A., Effects of chronic administration of clenbuterol on contractile properties and calcium homeostasis in rat extensor digitorum longus muscle, *PLoS One*, **9** (6), e100281 (2014).
24. Rios R., Carneiro I., Arce V.M. and Devesa J., Myostatin regulates cell survival during C2C12 myogenesis, *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **280**, 561 (2001).
25. Voznesenskij N.A., Formoterolum (Foradil) in treatment of bronchial asthma, *Lechebnoe delo (Medical Act)*, 4, 52 (2006) (In Russian).
26. Black J.L., Oliver B.G. and Roth M., Molecular mechanisms of combination therapy with inhaled corticosteroids and long-acting beta-agonists, *Chest*, **136** (4), 1095 (2009).
27. Riso E.M., Ahtikoski A., Alev K., Kaasik P., Pehme A. and Seene T., Relationship between extracellular matrix, contractile apparatus, muscle mass and strength in case of glucocorticoid myopathy, *Journal of Steroid Biochemistry & Molecular Biology*, **108**, 117 (2008).
28. Mironova A.N. and Bunatyan N.D., eds. *Rukovodstvo po provedeniyu doklinicheskikh issledovanij lekarstvennykh sredstv* (Moscow: Minzdrav RF, ZAO «Grif i K», 2012) (In Russian).
29. Kim J.H., Kwak M.K., Ahn S.H., Kim H., Cho Y.Y., Suh S., Kim B.J., Song K.H., Lee S.H. and Koh J.M., Alteration in skeletal muscle mass in women with subclinical hypercortisolism, *Endocrine*, **61** (1), 134 (2018).
30. Borisova E.O., Clinical pharmacology of parenteral forms of glucocorticoids, *Lechebnoe delo (Medical Act)*, 3, 17 (2007) (In Russian).
31. Galea V., De Bruin H., Cavašin R. and McComas A.J., The number and relative size of motor units estimated by computer, *Muscle and Nerve*, **14**, 1123 (1991).
32. Jiao H., Zhou K., Zhao J., Wang X. and Lin H., A high-caloric diet rich in soy oil alleviates oxidative damage of skeletal muscles induced by dexamethasone in chickens, *Redox Rep.*, **23** (1), 68 (2018).
33. Kulinskij V.I. and Kolesnechenko L.S., Catecholamine: biochemistry, pharmacology, physiology, clinic, *Topics in Medicinal Chemistry*, **48** (1), 45 (2002) (In Russian).
34. Watt M.J., Stellingwerff T., Heigenhauser G.J.F. and Spriet L.L., Effects of plasma adrenaline on hormone-sensitive lipase at rest and during moderate exercise in human skeletal muscle, *J. Physiol.*, **550** (1), 325 (2003).
35. Knych H.K., Harrison L.M., Steinmetz S.J., Chouicha N. and Kass P.H., Differential expression of skeletal muscle genes following administration of clenbuterol to exercised horses, *BMC Genomics*, **17** (9), 596 (2016).
36. Sakai H., Kimura M., Tsukimura Y., Yabe S., Isa Y., Kai Y., Sato F., Kon R., Ikarashi N., Narita M., Chiba Y. and Kamei J., Dexamethasone exacerbates cisplatin-induced muscle atrophy, *Clin. Exp. Pharmacol. Physiol.*, Aug 23, 30137654 (2018).
37. Ngala R.A., O'Dowd J.F., Stocker C.J., Cawthorne M.A. and Arch J.R., β 2-adrenoceptor agonists can both stimulate and inhibit glucose uptake in mouse soleus muscle through ligand-directed signalling, *Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharmacol.*, **386** (9), 761 (2013).
38. Py G., Ramonatxo C., Sirvent P., Sanchez A.M., Philippe A.G., Douillard A., Galbès O., Lionne C., Bonniou A., Chopard A., Cazorla O., Lacampagne A. and Candau R.B., Chronic clenbuterol treatment compromises force production without directly altering skeletal muscle contractile machinery, *J. Physiol.*, **593** (8), 2071 (2015).
39. MacIntosh B., Gardiner Ph. and McComas A.J., *Skeletal muscle. Form and function* (Champaign: Human Kinetics, 2th ed., 1998).

УДК 594.124:577.1(262.5)

**СОДЕРЖАНИЕ АСКОРБИНОВОЙ КИСЛОТЫ, КАЛЬЦИЯ, МЕДИ И
ЦИНКА В МЕЖСТВОРЧАТОЙ ЖИДКОСТИ МИДИИ *MYTILUS
GALLOPROVINCIALIS* LAM., КУЛЬТИВИРУЕМОЙ НА ЮГО-ЗАПАДНОМ
ПОБЕРЕЖЬЕ КРЫМА**

Челядина Н. С.¹, Смирнова Л. Л.²

¹*Институт морских биологических исследований им. А. О. Ковалевского РАН, Севастополь, Республика Крым, Россия*

²*ФГБНУ Институт природно-технических систем, Севастополь, Республика Крым, Россия
E-mail: chelydina2007@mail.ru*

Проведено сравнительное изучение основных гидрохимических показателей (соленость, величина рН, растворенное органическое вещество), а также аскорбиновой кислоты, магния, кальция, цинка и меди в межстворчатой жидкости культивируемой мидии *M. galloprovincialis* и морской воде. Повышение солености в межстворчатой жидкости до 20,1–21,5‰ определяют ионы кальция, медь и цинк. Концентрация растворенного в межстворчатой жидкости органического вещества выше, чем в морской воде и достигает 0,50–0,68 мг/мл. На преднерестовой стадии гаметогенеза содержание аскорбиновой кислоты в межстворчатой жидкости у самок мидий составляет 31,6±1,3 мг/л, самцов – 38,8±1,8 мг/л, её доля в растворенном органическом веществе может достигать 4,4–7,6 %.

Ключевые слова: Чёрное море, мидия *Mytilus galloprovincialis*, межстворчатая жидкость, аскорбиновая кислота, медь, цинк, ионы магния и кальция.

ВВЕДЕНИЕ

Черноморская мидия *M. galloprovincialis*, является не только важным элементом кормовой базы рыб и беспозвоночных, но и объектом промышленного культивирования [1, 2]. Этот моллюск является ценным пищевым продуктом и служит сырьём для приготовления медицинских препаратов [1, 2–4]. Мидии, как организмы – фильтраторы, вносят значительный вклад в процессы круговорота вещества в прибрежных акваториях. В этих процессах участвуют различные органы и ткани мидий, в том числе и межстворчатая жидкость (МЖ) [1, 5].

МЖ играет важную роль в обмене веществ, происходящем между клетками тканей и незамкнутой кровеносной системой мидии, в результате чего формируется её химический состав. Она, так же как фекалии, псевдофекалии и половые клетки мидий при нересте, входит в систему выделения моллюсков [6], влияет на состав морской воды и развитие бактерио- и фитопланктона в акватории фермы [7]. В литературе есть сведения о весовой доле МЖ в моллюсках и её биологической активности [5, 8]. Из МЖ получают гидролизат, который применяют для профилактики простудных заболеваний и лечения больных с радиационным поражением [9]. В МЖ содержится ценное биологически-активное соединение

таурин, которое обладает широким спектром лечебного действия [9, 10]. Для реализации принципа комплексной утилизации мидии и получения максимального количества полезной для человека продукции, необходимо систематическое изучение химического состава её побочных продуктов, в частности МЖ.

Целью нашей работы было определение содержания растворенного органического вещества (РОВ), аскорбиновой кислоты, меди цинка, ионов Ca^{+2} и Mg^{+2} в межстворчатой жидкости *M. galloprovincialis* в зависимости от пола моллюска на преднерестовой стадии зрелости гонад.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Исследования проводили на моллюсках *M. galloprovincialis*, отобранных на мидийно-устричной ферме, расположенной на внешнем рейде г. Севастополя (44°37'13,4" с. ш. 33°30'13,6" в. д.) с экспериментального верёвочного коллектора (глубина 2–3 м). Учитывая зависимость массы МЖ от стадии зрелости гонад, моллюсков отбирали на 4-ой (преднерестовой) стадии зрелости гонад в марте и августе 2012–2016 гг. В этот период масса МЖ была максимальной и составляла 29–30 % массы моллюска [5], а мягкие ткани содержали максимальное количество аминокислот, таурина, витаминов группы В и С, макро-, микроэлементов [3]. Одновременно в районе акватории фермы на той же глубине проводили отбор проб морской воды. Из выборки мидий с размером раковин $50,30 \pm 1,25$ мм, методом температурной стимуляции нереста каждой особи отделяли самцов и самок [11]. Мидий вскрывали, разрезая мускул-замыкатель скальпелем, из открытой раковины, надрезав мантию в передней части, сливали МЖ в стеклянную пробирку. МЖ самцов и самок собирали в отдельные стеклянные стаканы, центрифугировали и отбирали надосадочную жидкость, которую использовали для экспериментальных работ.

В надосадочной жидкости и пробах морской воды определяли, концентрацию катионов Ca^{+2} и Mg^{+2} , величину рН по общепринятым методикам [12], РОВ методом ультрафиолетовой фотометрии [13] и аскорбиновую кислоту с 2,6-дихлорфенол-индофенолятом натрия (реактивом Тильманса) [14]. Цинк и медь определяли после кислотной минерализации 5–10 мл МЖ методом пламенной атомно-абсорбционной спектроскопии [15], соленость – электрометрическим методом на приборе "Sansion-5" (Hitachi) [16]. Концентрацию исследуемых компонентов химического состава МЖ выражали в мг/мл или $\text{мкг}^{-1}\text{мл}$.

Всего обработано 1850 мидий. Для статистического анализа материала использовался пакет программ Microsoft Office Excel 2007.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

2.1. Основные химические элементы в составе МЖ и их влияние на ее соленость и величину рН.

Ранее нами было показано [5], что физико-химический состав МЖ отличается от состава морской воды в районе морской фермы. Результаты сравнительного изучения основных интегральных химических показателей морской воды и МЖ

культивируемых мидий, на преднерестовой стадии в осенний период, приведены в таблице.

Таблица
Основные химические характеристики МЖ мидий и морской воды из акватории мидийной фермы, конец августа–сентябрь 2014-2015гг.

Параметры	Акватория мидийной фермы	МЖ культивируемых мидий	
		♂	♀
S, ‰	17,85–18,35	17,72–20,10	17,27–21,50
pH	7,92–8,40	7,34–8,17	7,82–8,09
РОВ, мг/мл	0,020±0,010	0,50±0,13	0,68±0,11

Повышение солёности МЖ культивируемых мидий связано с накоплением в ней растворённых неорганических солей. Основу солевого состава МЖ, как и морской воды, составляют катионы Ca^{+2} и Mg^{+2} . В МЖ так же преобладает Mg^{+2} – основной катион морской воды, но его концентрация ($1,1\pm 0,1$ мг/мл) в МЖ ниже, чем в морской воде – до 1,3 мг/мл. Концентрация катионов Ca^{+2} ($0,5\pm 0,1$ мг/мл) в МЖ в 1,5–2,0 раза превышает их содержание в морской воде ($0,3\pm 0,1$ мг/мл). Обогащение МЖ ионами Ca^{+2} происходит в результате обменных процессов при формировании раковины мидии или при нарушении кальциевого гомеостаза клеток периостракума [17–19].

Содержание ионов Ca^{+2} и Mg^{+2} в МЖ культивируемых мидий на преднерестовой стадии гаметогенеза в зависимости от пола приведены на рис. 1.

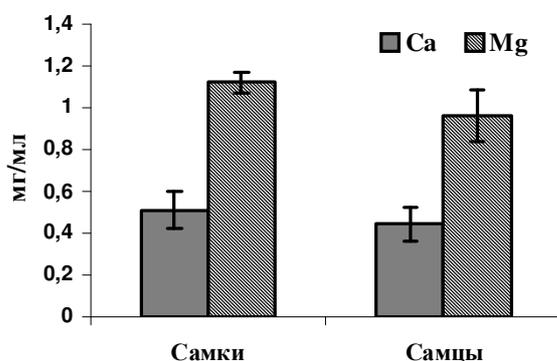


Рис.1. Концентрация катионов Ca^{+2} и Mg^{+2} в МЖ самцов и самок *M. galloprovincialis* (2013–2014 гг.).

При сравнении полученных результатов, можно отметить, что в МЖ самцов и самок содержание изучаемых катионов различается. У самцов концентрация Mg^{+2} и Ca^{+2} ниже, чем у самок на 18 и 9% соответственно. Более высокое содержание исследуемых катионов у самок возможно связано с различными потребностями

моллюсков различного пола в ионах Ca^{+2} и Mg^{+2} . Наступление половой зрелости многих живых организмов происходит при достижении определённой концентрации микроэлементов [20]. Заключительный этап полового созревания – вителлогенез, в процессе которого происходит синтез, и накопление желтка в ооцитах, этот процесс происходит при участии кальция [21]. Овогенез – процесс более сложный, требующий больших энергетических затрат чем сперматогенез [22]. Поэтому потребности в Ca^{+2} и Mg^{+2} у самок возрастают по сравнению с самцами. Соотношение концентраций ($\text{Mg}^{+2}/\text{Ca}^{+2}$) в МЖ как у самцов, так и у самок поддерживается на одном уровне и составляет 2,1, что может свидетельствовать о сбалансированности обменных процессов протекающих с участием Mg^{+2} и Ca^{+2} .

К распространенным в морской воде химическим элементам, определяющим соленость, можно отнести Zn и Cu. Эти микроэлементы при фильтрации моллюсков поступают с пищей и морской водой в мантийную полость, накапливаются в тканях, в которых деактивируются цитоплазматическими белками – металлотионеинами или включаются в биохимические процессы [23]. Они определяют активность ферментов, благодаря способности образовывать хелатные комплексы с функциональными группами аминокислотных остатков, обеспечивающие стабильность белков-ферментов. Медь, как металл переменной валентности, участвует в окислительно-восстановительных реакциях [24]. В отличие от Cu, Zn в большей степени влияет на рост, развитие, воспроизводство и обменные процессы моллюсков [25, 26]. Поэтому, его содержание в мягких тканях моллюсков в преднерестовый период достигает $225,3 \pm 71,2$ мкг/г сух. ткани, в отличие от Cu – $78,6 \pm 26,2$ мкг/г сух. ткани [6, 27]. Мягкие ткани способны накапливать и быстро выводить микроэлементы в МЖ, которая участвует в обмене веществ между клетками тканей и циркулирующей кровью. При определении концентрации этих микроэлементов в МЖ моллюсков отмечено, что у самцов, и самок количество Cu в три раза ниже, чем Zn (рис. 2).

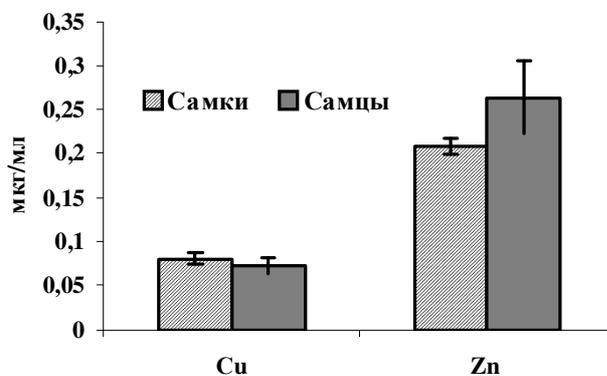


Рис. 2. Концентрации Zn и Cu в МЖ *M.galloprovincialis*. в зависимости от пола (2012–2015 гг.).

Содержание Zn и Cu в МЖ в 15–25 раз превышает концентрацию этих элементов в морской воде $0,01 \pm 0,004$ мкг/мл и $0,005 \pm 0,001$ мкг/мл соответственно. У самок мидий в МЖ в большем количестве поступает Cu, у самцов – Zn. В МЖ эти микроэлементы, как и в морской воде, находятся в составе органических комплексных соединений, в виде ионов Zn^{+2} Cu^{+2} и неорганических солей $CuOHCl$, $CuOH^+$, $ZnOH^+$, $ZnCl_3^-$ [28].

Экспериментальные работы с мидиями показали [23, 29], что в присутствии солей тяжелых металлов величина рН МЖ приближается к нейтральным значениям. Максимальное снижение величины рН вызывают соли Cu и Zn [23]. Величина рН МЖ у самок, которые в большем количестве накапливают Cu (рис.2), изменяется в более узком диапазоне по сравнению с самцами, у которых эта величина более вариабельна (табл.1).

2.2. Органические соединения в составе МЖ мидий.

Определение концентрации РОВ показало, что его содержание в МЖ 25–35 раз выше, чем в морской воде (табл. 1). У моллюсков находящих на преднерестовой стадии обменные процессы активизируются, и МЖ в большем количестве обогащается РОВ. На рис. 3 приведены данные, иллюстрирующие зависимость содержания РОВ в МЖ от пола моллюска.

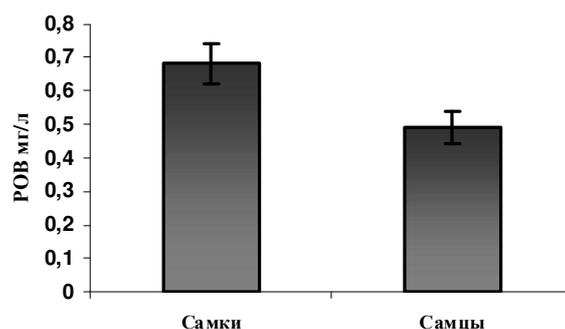


Рис. 3. Концентрация РОВ в МЖ самцов и самок *M. galloprovincialis* (2015–2016 гг.)

Накопление РОВ в МЖ самок достоверно выше (при $p < 0,05$) по сравнению с самцами. Одним из компонентов РОВ является таурин, содержание и значение которого хорошо изучено [8, 9, 30]. Одной из физиологических функций таурина (2-аминоэтансульфоновой кислоты), продуцируемого мидией, может быть его участие в процессах трансформации кальция, влияние на ионный обмен клеток, что может сопровождаться подкислением среды [10]. Среди разнообразных биологически активных природных соединений, присутствующих в МЖ, внимание уделяется изучению содержания различных витаминов [3], в том числе и витамина С, о роли которого для организма человека известно давно [31]. Это соединение присутствует в тканях моллюсков, принимает участие в укреплении раковины моллюска, в

окислительно-восстановительных реакциях, метаболизме углеводов, синтезе липидов и белков, метаболизме железа, процессах клеточного дыхания [3].

Нами проведено исследование МЖ на содержание витамина С (аскорбиновой кислоты). Изменение содержания этого биологически активного соединения в МЖ мидий в зависимости от пола показано на рис. 4.

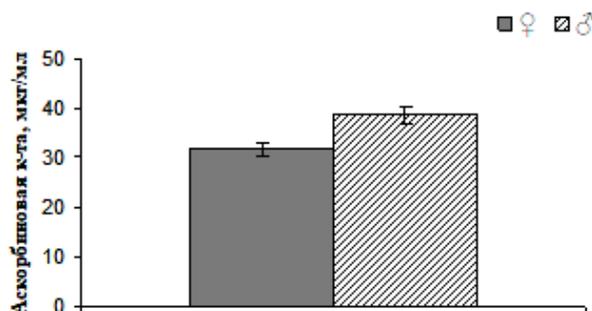


Рис. 4. Концентрация аскорбиновой кислоты в МЖ самцов и самок *M. galloprovincialis* (2014–2016 гг.).

Аскорбиновая кислота является важной составляющей МЖ, её доля в РОВ может достигать 4,4–7,6 %. Содержание витамина С в МЖ самцов более вариабельно, изменяется от 28,8 до 50,0 мкг/мл и, в среднем, составляет 38,8±1,8 мкг/мл, у самок от 27,0 до 36,4, что в среднем составляет 31,6±1,3 мкг/мл. В МЖ самцов, в отличие от концентрации ионов Ca^{+2} и Mg^{+2} и Cu , содержание аскорбиновой кислоты достоверно выше (при $p < 0,05$), чем у самок. Обогащение МЖ культивируемых мидий несложными по химическому составу органическими кислотами – 2-аминоэтансульфоновой (таурин) и аскорбиновой, влияет на величину рН, которая значительно отличается от морской воды и у некоторых особей самцов достигает 7,40–7,34 ед.рН.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

1. Показано, что повышение солёности в МЖ у самцов и самок культивируемой мидии *M. galloprovincialis* определяют ионы Ca^{+2} , Zn и Cu . В МЖ содержание Ca^{+2} в два раза, а Zn и Cu в составе органических соединений и неорганических солей в 15–25 раз выше, чем в морской воде.
2. В результате обменных процессов между органами моллюска, незамкнутой кровеносной системой и МЖ, концентрация растворенного в ней органического вещества достигает 0,50–0,68 мг/мл. Содержание РОВ в МЖ самок *M. galloprovincialis* достоверно выше по сравнению с самцами.
3. На преднерестовой стадии гаметогенеза у самок *M. galloprovincialis* содержание аскорбиновой кислоты в межстворчатой жидкости составляет 31,6±1,3 мкг/мл, самцов – 38,8±1,8 мкг/мл, её доля в РОВ может достигать 4,4–7,6 %.
4. Величина рН в МЖ ниже, чем в морской воде (7,92–8,40). Снижение рН в МЖ самцов (7,34–8,17) и самок (7,82–8,09) определяют высокое содержание Cu , Zn и

РОВ, обогащенного веществами кислой природы – аскорбиновой кислотой и таурином (2-аминоэтансульфоновая кислота).

Работа выполнена в рамках госзадания ФГБУН ИМБИ по теме «Разработка научных принципов воспроизводства в искусственных биотехнологических комплексах водных биоресурсов – возобновляемого природного сырья для получения целевых продуктов» (гос. рег. № 1001-2014-0017)

Список литературы

1. Биология культивируемых мидий / под ред. В. Н. Иванова; Киев: Наукова думка, 1989. – 100 с.
2. Холодов В. И. Выращивание мидий и устриц в Чёрном море / В. И. Холодов, Л. В. Пиркова, Л. В. Ладыгина – Воронеж: ООО ИЗДАТ-ПРИНТ, 2017. – 508 с.
3. Гадзева С. В. Беломорские мидии *Mytilus edulis* L. основы культивирования и полезная из них продукция: Автореф. дис. ... канд. биол. наук. / С. В. Гадзева. – Москва: 2004. – 27 с.
4. Апрышко Г. Н. Противоопухолевые препараты из морских организмов / под ред. В. Н. Иванова. / Апрышко Г. Н., Нехорошев М. В. – Севастополь: Аквавита, 2000. – 106 с.
5. Челядина Н. С. Химический состав межстворчатой жидкости *Mytilus galloprovincialis*, культивируемой в Черном море / Н. С. Челядина, Л. Л. Смирнова // Актуальные проблемы рыбного хозяйства и аквакультуры бассейнов южных морей России. Материалы международной конференции. – Ростов-на-Дону, 01.10–3.10. 2014 г. –Ростов-на-Дону: ЮНЦ РАН, 2014. – С. 334–338.
6. Chelyadina N. S. Distribution of copper in the tissues of males and females of *Mytilus galloprovincialis* / N. S. Chelyadina, N. V. Pospelova, Yu. P. Kopytov // Hydrobiol. J. – 2015. – V. 51, No 4. – P. 74–79.
7. Абаев В. Ю. Влияние культивирования мидий на экосистемы Анапского шельфа Черного моря. Автореф. дис... канд. геогр. наук. / Абаев В. Ю. – Краснодар, 2001. – 25 с.
8. Шумянцева В. В. Таурин как модулятор каталитической активности цитохрома р450 3а4 / В. В. Шумянцева, А. А. Махова, Т. В. Булко [и др.] // Биохимия. – 2015. – Т. 80, №. 3. – С. 439–448.
9. Аюшин Н. Б. Таурин: фармацевтические свойства и перспективы получения из морских организмов / Н. Б. Аюшин // Известия ТИПРО. – 2001. – № 129. – С. 129–145.
10. Грінченко О. А. Вплив таурину на іонний склад шлункового соку при стимуляції секреції гістаміном у собак / О. А. Грінченко, В. М. Бабін, П. І. Янчук // Ученые записки ТНУ. Серия: Биология. Химия. – 2010. – Т. 24(63), № 2.– С.107–116.
11. Пиркова А. В. Размножение мидии *Mytilus galloprovincialis* Lam. и элементы биотехнологии её культивирования : Автореф. дис. ... канд. биол. наук. / А. В. Пиркова. – Севастополь, 1994. – 25 с.
12. Унифицированные методы анализа вод / под ред. Ю. Ю. Лурье. – М.:Химия,1973. – 380 с.
13. Горбенко Ю. А. Экология морских микроорганизмов перифитона / Ю. А. Горбенко – Киев: Наук. Думка, 1977 – 252 с.
14. Левашова О. Л. Особенности определения аскорбиновой кислоты в витаминно-минеральном комплексе *Gesticare* / О. Л. Левашова, С. Н. Коваленко / Актуальні питання фармацевтичної і медичної науки та практики. – 2011. – Т. 24, № 2. – С. 24–29.
15. Онищенко Г. Г. Современные методы анализа и оборудование в санитарно-гигиенических исследованиях. Научно-практическое руководство / под. ред. Онищенко Г. Г., Шестопалова Н. В. – Москва: ФГУП «Интерсэн», 1999. – 496 с.
16. IOC, SCOR and IAPSO. The international thermodynamic equation of Seawater-2010: Calculation and use of thermodynamic properties Intergovernmental oceanographic Commission, Manuals and Guides No. 56. UNESCO, 2010. 196 p. [Электронный ресурс]:: <http://www.TEOS-10.org>.
17. Аксенова М. Е. Тяжелые металлы: механизмы нефротоксичности / Аксенова М. Е. // Нефрология и диализ. – 2000. – Т. 2, № 1–2. – С. 39–43.
18. Казимирко В. К. Кальциевый гомеостаз и вопросы его коррекции / В. К. Казимирко, И. А. Козак, Л. Н. Иваницкая, Т. С. Силантьева [и др.] // Український ревматологічний журнал. – 2015. – № 60 (2). – С. 14–19.

19. Виноградова А. К. Экспериментальное изучение устойчивости морских гидробионтов к повышенным концентрациям магния / А. К. Виноградова, В. И. Белецкий // Известия Академии Наук СССР Серия биологическая. Москва. – 1985. – С. 790–793.
20. Маврин А. С. Содержание катионов в позвонках зрелых и незрелых самок плотвы *Rutilus rutilus* (L.) перед нерестом / А. С. Маврин, В. И. Мартемьянов // Труды Зоологического института РАН. – 2013 б. – Приложение № 3. – С.151–154.
21. Follet B. K. The vitellogenic response in the South African clawed toad (*Xenopus laevis* Daudin) / B. K. Follet, T. J. Nicholls, M. R. J. Redshaw // *Cell Physiol.* – 1968. – V. 72. – P. 91–102.
22. Масленникова Л. А. Сперматогенез двустворчатого моллюска *Anadara broughtoni* (Schrenck) / Л. А. Масленникова // Известия ТИНРО. – 2000. – Т. 127, № 1–2. – С. 453–460.
23. Павловская В. В. Экологические аспекты реакции моллюсков *Dreissena Polymorpha* (Pallas, 1771) на действие ионов тяжелых металлов : Автореф дис. ... канд. биол. наук. / В. В. Павловская. – Калининград: 2007. – 25 с.
24. Химия биологически активных соединений / под ред. Н.А. Преображенского, Р.П. Евстегнеевой. – Москва: Химия, 1970. – 512 с.
25. Viarengo A. Heavy metal effects on lipid peroxidation in the tissues of *Mytilus galloprovincialis* Lam. / A. Viarengo, L. Canesi, M. Pertica [et. all] // *Comparative Biochemistry and Physiology.* – 1990. – V. 97. – P. 37–42.
26. Franca S. Heavy metal concentrations in sediment, benthic invertebrates and fish in three salt marsh areas subjected to different pollution loads in the Tagus Estuary (Portugal) / S. Franca, C. Vinagre, I. Cacador, [et. al] // *Mar. Poll. Bull.* – 2005. – V. 50. – P. 993–1018.
27. Поспелова Н. В. Элементы баланса каротиноидов, α -токоферола и некоторых металлов в системе «взвешенное вещество – мидии – биоотложения: Автореф дис. ... канд. биол. наук. / Н. В. Поспелова. – Севастополь, 2008. – 25 с.
28. Попов Н. И. Морская вода. Справочное руководство / Н. И. Попов, К. Н. Федоров, В. М. Орлов [под ред. А. С. Мониной]. – Москва: Наука, 1979. – 167 с.
29. Методы изучения двустворчатых моллюсков. / под ред. Г. Л. Шкорбатова, Я. И. Старобогатова – Ленинград: АН СССР ЗИН, 1990. – 208 с.
30. Кузьмина В. В. Таурин. Влияние на экзотрофию и обмен веществ у млекопитающих и рыб / В. В. Кузьмина, Л. К. Гавровская, О. В. Рыжова // *Журн. эволюционной биохимии и физиологии.* – 2010. – Т. 46, № 1. – С. 17–23.
31. Ушаков А. А. Влияние витамина С на организм человека и изменение его содержания под воздействием экологических факторов / А. А. Ушаков, А. А. Тюнин // *Современные научные исследования и инновации.* – 2012. – № 1. [Электронный ресурс]: URL: <http://web.snauka.ru/issues/2012/01/6678>

CONTENT OF ASCORBIC ACID, CALCIUM, COPPER, AND ZINC IN THE INTERSTITIAL FLUID OF CULTIVATED MUSSEL *MYTILUS GALLOPROVINCIALIS* LAM. IN WATERS OF THE SOUTH-WEST COAST OF CRIMEA

Chelyadina N. S., Smirnova L. L.

¹*Kovalevsky Institute of Marine Biological Research, Russian Academy of Sciences, Sevastopol, Crimea, Russia*

²*Institute of Natural & Technical Systems, Sevastopol, Crimea, Russia*
E-mail: chelyadina2007@mail.ru

Mussel *M. galloprovincialis* is the main object of cultivation in the waters of the Crimean coast of the Black Sea. It has high food and biological value. Coproducts from the processing of mollusks, mainly interstitial fluid, are used to produce a bioactive

substances – taurine, which has a wide range of therapeutic effects. The volume and chemical composition of the interstitial fluid in *M. galloprovincialis* mussels are varied depending on the stage of gonad maturity. The results of the determination of the main hydrochemical parameters (salinity, pH, dissolved organic matter), ascorbic acid, Zn, Cu, Ca^{+2} and Mg^{+2} ions in the interstitial fluid of *M. galloprovincialis* at the prespawning stage of gonad maturity are presented. An interstitial fluid was studied in males and females sampling from a selection of mussels collected with a shell size of 50.30 ± 1.25 mm after stimulation of spawning of each individual. To obtain the interstitial fluid, the mussels were opened by cutting the muscle-clasp with a scalpel from an open shell, notching the mantle in the anterior part, pour out the interstitial fluid into glass separately for females and males. Ascorbic acid was determined with 2,6-dichlorophenol-indophenolate sodium (Tilmans reagent), salinity – on the “Sansion-5” (Hitachi) device, Zn and Cu was determined by atomic absorption spectroscopy. It was shown that Ca^{+2} , Zn and Cu ions are determined the increase salinity in interstitial fluid. The content of Zn and Cu in the interstitial fluid reaches $0.21\text{--}0.26 \mu\text{g ml}^{-1}$ and $0.07\text{--}0.08 \mu\text{g ml}^{-1}$, respectively, this is in 15-25 times higher than in seawater. The concentration of Ca^{+2} ions in the interstitial fluid reaches $0.5 \pm 0.1 \mu\text{g ml}^{-1}$, it is in twice time higher then content in sea water. As a result of metabolic processes between the organs of the mollusk, unclosed circulatory system and interstitial fluid, the concentration of organic matter dissolved in it reaches $0.50\text{--}0.68 \mu\text{g ml}^{-1}$. At the prespawning stage of gametogenesis in *M. galloprovincialis* females, the content of ascorbic acid in the interstitial fluid is $31.6 \pm 1.3 \mu\text{g ml}^{-1}$, of males – $38.8 \pm 1.8 \mu\text{g ml}^{-1}$, its fraction in dissolved organic matter can reach 4.4–7.6%. The pH value in interstitial fluid is lower than in sea water (7.92–8.40). The decrease the pH value in males (7.34–8.17) and females (7.82–8.09) determines the high content of copper and dissolved organic matter enriched with acidic substances – ascorbic acid and taurine (2-aminoethanesulfonic acid).

Keywords: Black Sea, mussel *Mytilus galloprovincialis*, interstitial fluid, ascorbic acid, copper, zinc, magnesium and calcium ions.

References

1. Ivanov V.N., Holodov V.I., Senicheva M.I., Pirkova A.V., Bulatov K.V. *Biologiya kultiviruemykh midi*, 100 (K.: Nauk. dumka, 1989).
2. Xolodov V.I., Pirkova A.V., Ladygina L.V. *Vyrashhivanie midij i ustric v Chyornom more*, 508 (Voronezh: OOO Izdat-print, 2017).
3. Gadzeeva S.V. *Belomorskie midii Mytilus edulis L. osnovy kul'tivirovaniya i poleznaya iz nih produkcija: Avtoref. dis. ... kand. biol. nauk, Moskva, 27 (2004).*
4. Apryshko G.N., Nekhoroshev M.V. *Protivoopuholevye preparaty iz morskikh organizmov / pod red. V.N. Ivanov, Sevastopol': Akvavita, 106 (2000).*
5. Chelyadina N.S. and Smirnova L.L. *Himicheskij sostav mezhstvorchatoj zhidkosti Mytilus galloprovincialis, kul'tiviruemoj v Chernom more, Aktual'nye problemy rybnogo hozyajstva i akvakul'tury bassejnov yuzhnyh morej Rossii. Materialy mezhdunarodnoj konferencii. – Rostov-na-Donu, 01.10–3.10. 180 (Rostov-na-Donu: YUNC RAN, 2014).*
6. Chelyadina N.S., Pospelova N.V., Kopytov Yu. P. *Distribution of copper in the tissues of males and females of Mytilus galloprovincialis, Hydrobiol. J., 51, 4 (2015).*
7. Abaev V.YU. *Vliyanie kul'tivirovaniya midij na ehkositemy Anapskogo shel'fa Chernogo morya. Avtoref. dis... kand. geogr. nauk, Krasnodar, 25 (2001).*

8. Shumyanceva V.V., Mahova A.A., Bulko T.V., Bernhardt R., Kuzikov A.V., SHih E.V., Kukes V.G. Taurin kak modulyator kataliticheskoy aktivnosti citohroma r450 3a4, *Biohimiya*, **80**, 3 (2015).
9. Ayushin N.B. Taurin: farmacevticheskie svoystva i perspektivy polucheniya iz morskikh organizmov, *Izvestiya TINRO*, 129 (2001).
10. Grinchenko O.A., Babin V.M., YAnchuk P.I. Vpliv taurinu na ionnij sklad shlunkovogo soku pri stimulyacii sekrecii gistaminom u sobak, *Uchenye zapiski TNU. Seriya: Biologiya. Himiya*, **24**(63), 2 (2010).
11. Pirkova A.V. Razmnozhenie midii *Mytilus galloprovincialis* Lam. i jelementy biotekhnologii ejo kul'tivirovaniya : Dis. kand. biol. nauk, Sevastopol', 198, (1994).
12. Unificirovannyye metody analiza vod / pod red. Yu.Yu. Lur'e. Moskva: Himiya, 380 (1973).
13. Gorbenko Yu.A. Eologiya morskikh microorganizmov perifitona, 252 (K.: Nauk. Dumka, 1977).
14. Levashova O.L., Kovalenko S.N. Osobennosti opredeleniya askorbinovoy kisloty v vitaminno-mineral'nom komplekse Gesticare, *Aktual'ni pitannya farmacevtichnoy i medichnoy nauki ta praktiki*, 24, 2 (2011).
15. Onishchenko G. G. Sovremennyye metody analiza i oborudovanie v sanitarno-gigienicheskikh issledovaniyakh. Nauchno-prakticheskoe rukovodstvo / pod red. G. G Onishchenko, H.V. Shestopalova, Moskva: FGUP «Intersehn», 496 (1999).
16. IOC, SCOR and IAPSO. The international thermodynamic equation of Seawater-2010: Calculation and use of thermodynamic properties Intergovernmental oceanographic Commission, Manuals and Guides, UNESCO, 196 (2010). [Elektronnyj resurs]: <http://www.TEOS-10.org>.
17. Aksenova M.E. Tyazhelye metally: mekhanizmy nefrotoksichnosti, *Nefrologiya i dializ*, **2**, 1–2 (2000).
18. Kazimirko V.K., Kozak, L.N., Ivanickaya L.N., Silant'eva T.S., Dubkova A.G., Kutovoj V.V. Kal'cievyj gomeostaz i voprosy ego korekcii. *Ukrains'kij revmatologichnij zhurnal. № 60* (2) (2015).
19. Vinogradova. A.K. Beleckij V.I. Ehksperimental'noe izuchenie ustojchivosti morskikh gidrobiontov k povyshennym koncentraciyam magniya. *Izvestiya Akademii Nauk SSSR Seriya biologicheskaya, Moskva*. (1985).
20. Mavrin A.S. Martem'yanov V.I. Soderzhanie kationov v pozvonkah zrelyh i nezrelyh samok plotvy Rutilus rutilus (L.) pered nerestom. *Trudy Zoologicheskogo instituta RAN. Prilozhenie № 3*. (2013 b).
21. Follet B.K., Nicholls T.J., Redshaw M.R. The vitellogenic response in the South African clawed toad (*Xenopus laevis* Daudin). *Cell Physiol*, V. 72 (1968).
22. Maslennikova L.A. Spermatogenez dvustvorchatogo mollyuska *Anadara broughtoni* (Schrenck). *Izvestiya TINRO*, **127**, № 1-2 (2000).
23. Pavlovskaya V. V. Ehkologicheskije aspekty reakcii mollyuskov *Dreissena Polymorpha* (Pallas, 1771) na dejstvie ionov tyazhelyh metallov : Avtoref dis. ... kand. biol. nauk. / V. V. Pavlovskaya. – Kaliningrad: 2007. – 25 s.
24. Himiya biologicheskij aktivnyh soedinenij / pod red. N.A. Preobrazhenskogo, R.P. Evstegneevoj, Moskva: Himiya, 512 (1970).
25. Viarengo A. Canesi L., Pertica M.et. all. Heavy metal effects on lipid peroxidation in the tissues of *Mytilus galloprovincialis* Lam., *Comparative Biochemistry and Physiology*, 97 (1990).
26. Franca S., Vinagre C., Cacador I., Cabral H.N., Franca S. Heavy metal concentrations in sediment, benthic invertebrates and fish in three salt marsh areas subjected to different pollution loads in the Tagus Estuary (Portugal), *Mar. Poll. Bull.*, 50 (2005).
27. Pospelova N.V. Ehlementy balansa karotinoidov, α -tokoferola i nekotoryh metallov v sisteme «vzveshennoe veshchestvo – midii – biootlozheniya: Avtoref dis. ... kand. biol. nauk, Sevastopol', 25 (2008).
28. Popov N.I., Fedorov K.N., Orlov V.M. Morskaya voda. Spravochnoe rukovodstvo / pod red. A.S. Monina, Moskva: Nauka, 167 (1979).
29. Metody izucheniya dvustvorchatyh mollyuskov. / pod red. G.L. Shkorbatova, YA.I.Starobogatova; Leningrad, 208 (AN SSSR ZIN, 1990).
30. Kuz'mina V.V., Gavrovskaya L.K., Ryzhova O.V. Taurin. Vliyanie na ehkzotrofiyu i obmen veshchestv u mlekopitayushchih i ryb, *Zhurnal ehvolyucionnoj biohimii i fiziologii*. **46**, 1 (2010).
31. Ushakov A.A., Tyunin A.A. Vliyanie vitamina S na organizm cheloveka i izmenenie ego sodержaniya pod vozdejstviem ehkologicheskikh faktorov, *Sovremennyye nauchnye issledovaniya i innovacii*. 1. (2012). [Elektronnyj resurs]: URL: <http://web.snauka.ru/issues/2012/01/6678>

УДК 612.159:615.3

БИОСКРИНИНГ ЭФФЕКТОВ 1-ГИДРОКСИЭТАН-1,1-ДИФОСФОНОВОЙ КИСЛОТЫ НА ПОВЕДЕНИЕ КРЫС-САМЦОВ В ТЕСТЕ ПОРСОЛТА

Черетаев И. В., Чайка А. 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 данные биоскрининга эффектов различных доз 1-гидроксиэтан-1,1-дифосфоновой кислоты на поведение лабораторных крыс-самцов в тесте Порсолта. Результаты исследования показали, что это вещество не оказывает существенного влияния на депрессивноподобное поведение крыс-самцов и не обладает побочными эффектами в отношении депрессивного статуса организма, не проявляя ни анти-, ни продепрессантного эффекта.

Ключевые слова: биоскрининг, 1-гидроксиэтан-1,1-дифосфоновая кислота, тест Порсолта, депрессия.

ВВЕДЕНИЕ

В современном мире депрессивные аффективные расстройства стали глобальной проблемой всего человечества. Число лиц с психотической депрессией только в странах Европейского Союза с общей численностью населения 466 млн. человек к 2004 г. превышало 21 млн. человек [1], а в Российской Федерации к этому же времени частота депрессивных расстройств в общей медицинской практике составляли от 24 до 64 % среди всех случаев заболеваний [2]. Спустя более 10 лет ситуация не изменилась в лучшую сторону. К 2020 г. по прогнозам Всемирной организации здравоохранения депрессивные расстройства займут второе место в мире по распространенности в структуре всех заболеваний, а по данным за 2015 г. всего в мире около 322 млн. человек из разных возрастных групп страдало депрессией, что составляло 4,4 % населения всего земного шара [3, 4].

Депрессия считается основной причиной инвалидности (7,5 % всех лет к 2015 г., прожитых с инвалидностью), а также является причиной около 800 тысяч самоубийств в год на планете. Каждый год 25 % населения ЕС страдает от депрессии или тревоги. Психоневрологические расстройства в ЕС составляют до 40% лет, прожитых с инвалидностью с депрессией в качестве основной причины. До 50% хронических больничных листов связано с депрессией, а общий ущерб от расстройств настроения и тревоги составляет около 170 млрд. евро в год [4].

Согласно ряду исследований [5-16], 1-гидроксиэтан-1,1-дифосфоновая кислота (ДК) является химическим веществом из группы бисфосфонатов, которое обладает рядом уникальных эффектов: ДК используется в медицине в качестве основного действующего компонента в составе препаратов ксидифон и этидронат для лечения остеопороза, опухолевых поражений костей, других костных и онкологических

заболеваний, обладает антирезорбционной активностью, оказывает влияние на обмен кальция в костной ткани и является основой для синтеза ряда производных, обладающих выраженной биологической активностью. Кроме того, известно, что ДК способна включаться в молекулы аденозинтрифосфата (АТФ) и, образуя негидролизуемые аналоги АТФ, ингибирует АТФ-зависимые клеточные процессы, вызывая таким образом, апоптоз остеокластов [17-19].

Как известно [20-26], кальций и АТФ принимают ключевое участие в функционировании структурных элементов нервной системы на клеточном уровне организации живого. Так, при стрессе, повышается уровень возбуждающего нейромедиатора глутамата, что увеличивает вероятность повышения внутриклеточной концентрации кальция внутри нейрона и активирует кальций-зависимые «ферменты смерти», вызывая апоптоз нейронов, вследствие чего развиваются аффективные расстройства поведения, в том числе депрессия [27]. Согласно литературным данным [28], существует положительная взаимосвязь между дисфункцией и митохондрий, продукцией внутриклеточного АТФ и депрессивными расстройствами настроения. Учитывая выше изложенное, вполне уместно предположить, что ДК посредством участия в кальциевой сигнализации и в АТФ-зависимых клеточных процессах может влиять на депрессивное поведение, отражающее функциональное состояние ЦНС.

Согласно [29], изучение антидепрессантной активности обязательно при проведении доклинических исследований биологической активности веществ.

Цель работы – провести биоскрининг эффектов различных доз 1-гидроксиэтан-1,1-дифосфоновой кислоты на поведение крыс-самцов в тесте Порсолта.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Исследования выполнены на 50 белых лабораторных крысах-самцах линии Вистар («ФГУП «Питомник лабораторных животных «Рапполово») массой 180-200 г (5 групп по 10 особей в каждой), содержащихся в стандартных условиях вивария при температуре 18 – 22 °С на подстилке «Рехофикс МК 2000» (на основе початков кукурузы) с естественным 12-часовым свето-темновым циклом, свободным доступом к воде и (ГОСТ 33215-2014 «Руководство по содержанию и уходу за лабораторными животными. Правила оборудования помещений и организации процедур») и полноценному гранулированному корму ГОСТ Р-50258-92. Предварительно в тесте «открытое поле» [30] были отобраны животные со средним уровнем двигательной активности и низким уровнем эмоциональности (для этого использовали инфракрасный актиметр и программное обеспечение Actitrack 2.0 компании «Pan Lab Harvard Apparatus», Испания). Контрольной группе животных однократно внутрибрюшинно вводили физиологический раствор объёмом 0,2 мл. Животным четырёх экспериментальных групп однократно вводили внутрибрюшинно ДК (синтезирована на кафедре общей и неорганической химии Таврической академии ФГАОУ «Крымский федеральный университет им. В.И. Вернадского, химическая чистота составляла не менее 98 %) в дозах 50, 100, 150 и 200 мг/кг соответственно. 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.

Поведение животных через 1 час после инъекции ДК исследовали в тесте принудительного неизбежного плавания Порсолта [31], который используется для обнаружения антидепрессантной активности веществ [29]. Установка данного теста представляет собой прозрачный цилиндр из оргстекла высотой 45 см и диаметром 20 см (НПК «Открытая наука», Россия). Цилиндр заполняли на 2/3 водой температурой $+22 \pm 1^\circ\text{C}$. Длительность тестирования составляла 5 минут (однократно без предварительного стрессирования животных). Во время тестирования установка теста Порсолта находилась в изолированном от внешних воздействий малом экспериментальном комплексе (НПК «Открытая наука», Россия). Регистрировали продолжительность в секундах следующих показателей: «климбинг» – карабканье на стенку установки, «плавание» – плавательные движения в воде и ныряния, «иммобильность» – полное отсутствие плавательных движений. Кроме основных показателей теста рассчитывали индекс депрессивности (отношение суммарного времени иммобильности животных к суммарному времени активного плавания) аналогично работам [32-35]. Активное плавание состояло из суммы продолжительности показателей «плавание» и «климбинг». Достоверность различий между группами определяли с помощью однофакторного дисперсионного анализа (ANOVA) с апостериорным тестом Тьюки согласно официальным методическим рекомендациям по статистической обработке результатов доклинических исследований лекарственных средств [29]. Данные представлены в виде медианы и межквартильного диапазона, их статистический анализ и графическое представление выполнены в программном пакете Graph Pad Prism 7.0.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Как показано на рис. 1, ДК в дозах 50, 100, 150 и 200 мг/кг достоверно не изменяла время климбинга, активного плавания и иммобильности по сравнению с контролем (рис. 1, А, В, Г), однако достоверно снижала время плавания в дозах 150 ($n=10$, $p \leq 0,05$, рис. 1, Б) и 200 мг/кг ($n=10$, $p \leq 0,01$, рис. 1, Б) соответственно.

Следовательно, исследуемое вещество в дозах 50, 100, 150 и 200 мг/кг не вызывало существенных изменений депрессивноподобного поведения крыс по сравнению с контролем, на что указывают отсутствие различий в показателях «активное плавание» и «иммобильность» относительно контрольной группы. Обнаруженные под влиянием ДК достоверные изменения показателя «плавание» и увеличение межквартильного диапазона показателя «климбинг» (рис. 1, А) в дозах 150 и 200 мг/кг свидетельствуют о том, что данная кислота в указанных дозах изменяла структуру плавательного поведения животных.

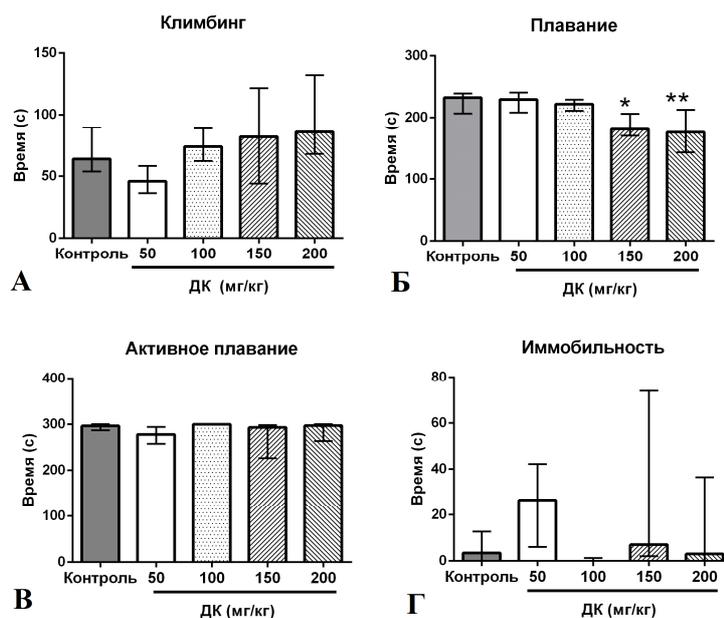


Рис. 1. Влияние 1-гидроксиэтан-1,1-дифосфоновой кислоты в дозах 50, 100, 150 и 200 мг/кг на поведенческие показатели лабораторных крыс-самцов в тесте Порсолта. *Примечание:* на рис. А – климбинг, Б – пассивное плавание, В – активное плавание, Г – иммобильность соответственно. ДК - 1-гидроксиэтан-1,1-дифосфоновая кислота; * – $p \leq 0,05$, ** – $p \leq 0,01$ – достоверные изменения показателя относительно контроля.

Для того чтобы более детально проследить динамику уровня депрессивноподобного поведения у крыс под влиянием различных доз ДК в тесте Порсолта (рис. 2). Данный показатель у экспериментальных групп существенно не отличался от значений контрольной группы.

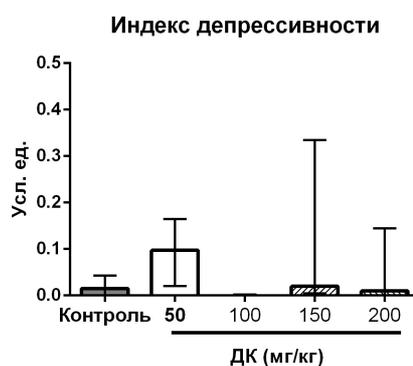


Рис. 2. Влияние 1-гидроксиэтан-1,1-дифосфоновой кислоты (ДК) в дозах 50, 100, 150 и 200 мг/кг на индекс депрессивности лабораторных крыс-самцов в тесте Порсолта.

Таким образом, ДК в дозах 50, 100, 150 и 200 мг/кг не оказывает существенного влияния на депрессивноподобное поведение крыс-самцов и не проявляет ни анти-, ни продепрессантного эффекта и может быть рекомендовано как основной компонент для синтеза новых производных, не способствующий возникновению аффективных депрессивных расстройств.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Биоскрининг ДК в дозах 50, 100, 150 и 200 мг/кг в тесте Порсолта показал, что это вещество не оказывает существенного влияния на депрессивноподобное поведение крыс-самцов и не обладает побочными эффектами в отношении депрессивного статуса организма, не проявляя ни анти-, ни продепрессантного эффекта.

Работа выполнена при финансовой поддержке гранта Российского научного фонда № 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. Sobocki, P. Cost of depression in Europe / P. Sobocki, B. Jönsson, J. Angst et al. // J. Ment. Health Policy Econ. – 2006. – V. 9, № 2. – P. 87–98.
2. Оганов Р. Г. Депрессии и расстройства депрессивного спектра в общемедицинской практике. Результаты программы КОМПАС / Р. Г. Оганов, Л. И. Ольбинская, А. Б. Смулевич [и др.] // Кардиология. – 2004. – № 1. – С. 48–54.
3. World Federation for Mental Health. Depression: A Global Crisis. / World Federation for Mental Health. – J.: WFMH, 2012. – 32 p.
4. World Health Organization. Depression and Other Common Mental Disorders: Global Health Estimates. – J.: WHO, 2017. – 24 p.
5. Silverman, S. L. Rachitic syndrome after disodium etidronate therapy in an adolescent / S. L. Silverman, E. A. Hurvitz, V. S. Nelson, A. Chiodo // I. Arch. Phys. Med. Rehabil. – 1994. – Vol. 75, No 1. – P. 118–120.
6. Reszka, A. A. Mechanism of Action of Bisphosphonates / A. A. Reszka, G. A. Rodan // Curr. Osteoporos. Rep. – 2003. – Vol. 3, No 2. – P. 45–52.
7. Дедов, И. И. Роль и место бисфосфонатов в профилактике и лечении остеопороза 10-летний опыт применения алендроната (фосамакса) / И. И. Дедов, Л. Я. Рожинская, Ж. Е. Белая // Остеопороз и остеопатии. – 2005. – № 1. – С. 20–30.
8. Russell, R. Determinants of structure-function relationships among bisphosphonates / R. Russell // Bone. – 2007. – Vol. 40, No 5. – P. 21–25.
9. Высоцкая, И. В. Рекомендации по применению бисфосфонатов при лечении больных раком молочной железы и изучение состояния костной ткани у больных: по материалам Американского общества клинической онкологии (ASCO). Часть I. Рекомендации по применению бисфосфонатов в лечении рака молочной железы / И. В. Высоцкая // Опухоли женской репродуктивной системы. – 2008. – № 2. – С. 14–22.

10. Высоцкая, И. В. Рекомендации по применению бисфосфонатов при лечении больных раком молочной железы и изучение состояния костной ткани у больных: по материалам Американского общества клинической онкологии (ASCO). Часть II. Бисфосфонаты в адьювантном лечении рака молочной железы / И. В. Высоцкая // *Опухоли женской репродуктивной системы*. – 2008. – № 3. – С. 36-40.
11. Петриев, В. М. Остеотропные радиофармпрепараты на основе фосфоновых кислот для лечения костных метастазов человека (обзор) / В. М. Петриев, Е. Л. Афанасьева, В. Г. Скворцов // *Хим.-фарм. журн.* – 2008. – Т. 42, № 5. – С. 1-10.
12. Drake, M. T. Bisphosphonates: Mechanism of Action and Role in Clinical Practice / M. T. Drake, B. L. Clarke, S. Khosla // *Mayo. Clin. Proc.* – 2008. – Vol. 83, No 9. – P. 1032-1045.
13. Дроздов, В. Эффективность и безопасность лечения остеопении и остеопороза бисфосфонатами / В. Дроздов, Ю. Эмбутниекс // *Врач*. – 2010. – № 5. – С. 67-71.
14. Ковальчук, П. А. Бисфосфонаты и их роль в лечении опухолевых поражений костей (обзор литературы) / П. А. Ковальчук, А. Г. Дедков, С. И. Бойчук, И. Б. Волков // *Клиническая онкология*. – 2012. – № 7 (3). – С. 1-4.
15. Cattalini, J. P. Bisphosphonate-Based Strategies for Bone / J. P. Cattalini, M. Pharm, A. R. Voccaccini // *Tissue engineering: Part B*. – 2012. – V. 18, No 5. – P. 324-326.
16. Мостовой, С. О. Коррекция с помощью хелатообразующих веществ остеосклеротических изменений в нижнечелюстной кости крыс, вызванных приёмом бисфосфонатов / С. О. Мостовой, В. Ф. Шульгин, В. М. Пешков // *Цитология*. – 2018. – Т. 60, № 6. – С. 476-481.
17. Further insight into mechanism of action of clodronate: inhibition of mitochondrial ADP/ATP translocase by a nonhydrolyzable, adenine-containing metabolite [et al.]. / P. P. Lehenkari, M. Kellinsalmi, J. P. Näpänkangas // *Mol. Pharm.* – 2002. – Vol. 61, No 5. – P. 1255-1262.
18. The molecular mechanism of action of the antiresorptive and antiinflammatory drug clodronate: evidence for the formation in vivo of a metabolite that inhibits bone resorption and causes osteoclast and macrophage apoptosis / J. Frith, J. Monkkonen, S. Auriola [et al.]. // *Arthritis Rheum.* – 2001. – Vol. 44, No 9. – P. 2201-2210.
19. Berridge, M. G. Neuronal calcium signaling / M. G. Berridge // *Neuron*. – 1998. – Vol. 21, No 1. – P. 13-18.
20. Беспрозванный, И. Б. Система кальциевой сигнализации при нейродегенерации / И. Б. Беспрозванный // *Acta Naturae*. – 2010. – Т. 2, № 1. – С. 80-88.
21. Berridge, M. G. The Inositol Trisphosphate/Calcium Signaling Pathway in Health and Disease / M. G. Berridge // *Physiol. Rev.* – 2016. – Vol. 96, No 4. – P. 1261-1296.
22. Burnstock, G. Physiology and pathophysiology of purinergic neurotransmission / G. Burnstock // *Physiol. Rev.* – 2007. – Vol. 87, No 2. – P. 659-797.
23. Характеристика и механизмы импульсной активности нейронов виноградной улитки / И. В. Черетаев, Д. Р. Хусаинов, И. И. Коренюк [и др.]. // *Ученые записки Таврического национального университета им. В. И. Вернадского. Серия «Биология, химия»*. – 2009. – Т. 22 (61), № 4. – С. 202-215.
24. Анализ АТФ-зависимых и кальциевых механизмов в реализации нейротропного действия аспирина и его производных / И. В. Черетаев, И. И. Коренюк, Д. Р. Хусаинов [и др.] // *Успехи современного естествознания*. – 2013. – № 4. – С. 64-69.
25. АТФ-зависимые и кальциевые механизмы влияния салицилатов на электрические потенциалы нейронов моллюска *Helix albescens* / И. В. Черетаев, И. И. Коренюк, Д. Р. Хусаинов [и др.]. // *Российский физиологический журнал им. И. М. Сеченова*. – 2015. – Т. 101, № 3. – С. 326-336.
26. ATP-Dependent and Calcium Mechanisms of the Effects of Salicylates on Electrical Potentials in Neurons in the Mollusk *Helix Albescens* / I. V. Cheretaev, I. I. Korenyuk, D. R. Khusainov [et al.]. // *Neuroscience and Behavioral Physiology*. – 2016. – Vol. 46, No. 6. – P. 644-651.
27. Role of calcium, glutamate and NMDA in major depression and therapeutic application / L. Deutschenbaur, J. Beck, A. Kiyhankhadiv [et al.]. // *Prog. Neuro-Psychopharmacol. Biol. Psychiatry*. – 2016. – Vol. 64. – P. 325-333.
28. Bansal, Y. Mitochondrial Dysfunction in Depression / Y. Bansal, A. Kuhad // *Current Neuropharmacology*. – 2016. – Vol. 14, No 6. – P. 610-618.

29. 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.
30. Буреш, Я. Методики и основные эксперименты по изучению мозга и поведения / Я. Буреш, О. Бурешова, Д. Хьюстон. – М.: Высшая школа, 1991. – 399 с.
31. Porsolt, R. D. Depression: a new animal model sensitive to antidepressant treatments / R. D. Porsolt, M. Le Pinchon, M. Jalfre // *Nature*. – 1977. – No 5604. – P. 730–732.
32. Черетаев, И. В. Влияние сверхнизких концентраций 2-аминометилбензимидазола на поведение крыс в тесте Порсолта в норме и на фоне активации дофаминергической системы юмексом / И. В. Черетаев // *Молодой учёный*. – 2014. – № 19 (78). – С. 100-104.
33. Влияние сверхмалых концентраций бензимидазола на поведенческие реакции крыс в тесте Порсолта в норме и на фоне активации дофаминергической системы юмексом / И. В. Черетаев, И. И. Коренюк, Т. В. Гамма [и др.]. // *Учёные записки Таврического национального университета им. В. И. Вернадского. Серия «Биология, химия»*. – 2014. – Т. 27 (66), № 4. – С. 192-199.
34. Минина, Е. Н. Влияние малых доз даларгина при интраназальном введении на поведение крыс в тесте Порсолта / Е. Н. Минина, И. В. Черетаев // *Крымский журнал экспериментальной и клинической медицины*. – 2016. – Т. 6, № 4. – С. 22-26.
35. Влияние сверхмалых доз ацетилсалицилата цинка на поведение крыс в тесте Порсолта в норме и при активации дофаминергической системы юмексом / И. В. Черетаев, Д. Р. Хусаинов, И. И. Коренюк [и др.]. // *Ученые записки Крымского федерального университета имени В.И. Вернадского. Биология, химия*. – 2016. – Т. 2 (68), № 3. – С. 36-44.

BIOSCREENING EFFECTS 1-HYDROXYETHANE-1,1-DIPHOSPHONIC ACID ON THE BEHAVIOR OF MALE RATS IN THE PORSOLT'S TEST

Cheretaev I. V., Chajka A. 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 data of bioscreening of the effects of various doses of 1-hydroxyethane-1,1-diphosphonic acid on the behavior of laboratory male rats in the Porsolt test.

In the modern world, depressive affective disorders have become a global problem for all of humanity. The number of persons with psychotic depression only in the European Union countries with a total population of 466 million people by 2004 exceeded 21 million people, and in the Russian Federation by this time the frequency of depressive disorders in general medical practice ranged from 24 to 64% among all cases of disease. After more than 10 years, the situation has not changed for the better. By 2020, according to the World Health Organization, depressive disorders will occupy the second place in the world in terms of the prevalence in the structure of all diseases, and according to data for 2015, about 322 million people from different age groups in the world suffered from depression, which amounted to 4.4 % of the population of the entire globe.

According to a number of studies, 1-hydroxyethane-1,1-diphosphonic acid (DC) is a chemical substance from the group of bisphosphonates, which has a number of unique effects: DK is used in medicine as the main active ingredient in xidiphon and etidronate for the treatment of osteoporosis, tumor lesions of bones, other bone and cancer diseases, has antiresorption activity, affects the exchange of calcium in bone tissue and is the basis for the synthesis of a number of derivatives that have Agen biological activity. In addition,

it is known that DK is capable of being incorporated into adenosine triphosphate (ATP) molecules and, forming non-hydrolyzable analogs of ATP, inhibits ATP-dependent cellular processes, thus causing osteoclast apoptosis.

Considering the above, it is quite appropriate to assume that DC, by participating in calcium signaling and in ATP-dependent cellular processes, can affect depressive behavior reflecting the functional state of the CNS.

The study of antidepressant activity is necessary when conducting preclinical studies of the biological activity of substances.

The aim of the work is to conduct bioscreening of the effects of various doses of 1-hydroxyethane-1,1-diphosphonic acid on the behavior of male rats in the Porsolt test.

The studies were performed on 50 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 [30], 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. The control group of animals was once intraperitoneally injected with a saline of 0.2 ml. The animals of the four experimental groups were once intraperitoneally injected with DK (synthesized at the Department of General and Inorganic Chemistry of the Tavrichesky Academy FGAOU "Crimean Federal University. VI Vernadsky, chemical purity was at least 98%) in doses of 50, 100, 150 and 200 mg / kg, respectively. The experimental part of the work was performed in the center for collective use of scientific equipment "Experimental Physiology and Biophysics" of the Department of Human and Animal Physiology and Biophysics.

The behavior of animals 1 hour after the injection of DC was investigated in the test of the forced unavoidable swimming of Porsolt, which is used to detect the antidepressant activity of substances. The significance of differences between groups was determined using univariate analysis of variance (ANOVA) with Tukey's a posteriori test in accordance with the official guidelines for the statistical processing of the results of preclinical studies of drugs. The data are presented in the form of a median and interquartile range, their statistical analysis and graphical representation are made in the software package Graph Pad Prism 7.0.

The results of the study showed that 1-hydroxyethane-1,1-diphosphonic acid does not have a significant effect on the depressive-like behavior of male rats and does not have side effects in relation to the depressive status of the body, showing no anti- or prodepressant effect.

Keywords: bioscreening, 1-hydroxyethane-1,1-diphosphonic acid, Porsolt test, depression.

References

1. Sobocki P., Jönsson B., Angst J. et al., Cost of depression in Europe, *J. Ment. Health Policy Econ.* 9 (2), 87 (2006).
2. Oganov R. G., Ol'binskaya L. I., Smulevich A. B., Depressii i rasstrojstva depressivnogo spektra v obshchemedicinskoj praktike. Rezul'taty programmy KOMPAS, *Kardiologiya*, 1, 48 (2004).
3. World Federation for Mental Health, *Depression: A Global Crisis*, 32 p. (Geneva., WFMH, 2012).
4. World Health Organization, *Depression and Other Common Mental Disorders: Global Health Estimates*, 24 p. (Geneva., WHO, 2017).
5. Silverman S. L., Hurvitz E. A., Nelson V. S., Chiodo A., Rachitic syndrome after disodium etidronate therapy in an adolescent, *I. Arch. Phys. Med. Rehabil.*, 75, 1, 118 (1994).
6. Reszka A. A., Rodan G. A. Mechanism of Action of Bisphosphonates, *Curr. Osteoporos. Rep.*, 3, 2, 45 (2003).
7. Dedov I. I., Rozhinskaya L. Ya., Belaya Zh. E., Rol' i mesto bisfosfonatov v profilaktike i lechenii osteoporoza 10-letnij opyt primeneniya alendronata (fosamaksa), *Osteoporoz i osteopatii*, 1, 20 (2005).
8. Russell R., Determinants of structure-function relationships among bisphosphonates, *Bone*, 40, 5, 21 (2007).
9. Vysockaya I. V., Rekomendacii po primeneniyu bisfosfonatov pri lechenii bol'nyh rakom molochnoj zhelezy i izuchenie sostoyaniya kostnoj tkani u bol'nyh: po materialam Amerikanskogo obshchestva klinicheskoy onkologii (ASCO). Chast' I. Rekomendacii po primeneniyu bisfosfonatov v lechenii raka molochnoj zhelezy, *Opuholi zhenskoy reproductivnoj sistemy*, 2, 14 (2008).
10. Vysockaya I. V., Rekomendacii po primeneniyu bisfosfonatov pri lechenii bol'nyh rakom molochnoj zhelezy i izuchenie sostoyaniya kostnoj tkani u bol'nyh: po materialam Amerikanskogo obshchestva klinicheskoy onkologii (ASCO). Chast' II. Bisfosfonaty v ad"yuvantnom lechenii raka molochnoj zhelezy, *Opuholi zhenskoy reproductivnoj sistemy*, 3, 36 (2008).
11. Petriev V. M., Afanas'eva E. L., Skvorcov V. G., Osteotropnye radiofarmpreparaty na osnove fosfonovyh kislot dlya lecheniya kostnyh metastazov cheloveka (obzor), *Him.-farm. zhurn.*, 42, 5, 1 (2008).
12. Drake, M. T. Clarke B. L., Khosla S., Bisphosphonates: Mechanism of Action and Role in Clinical Practice, *Mayo. Clin. Proc.*, 83, 9, 1032 (2008).
13. Drozdov V., Ehmbutnieks YU., Effektivnost' i bezopasnost' lecheniya osteopenii i osteoporoza bifosfonatami, *Vrach*, 5, 67 (2010).
14. Koval'chuk P.A., Dedkov A. G., Bojchuk S. I., Volkov I. B., Bifosfonaty i ih rol' v lechenii opuholevyh porazhenij kostej (obzor literatury), *Klinicheskaya onkologiya*, 7, 3, 1 (2012).
15. Cattalini J. P., Pharm M., Boccaccini A. R., Bisphosphonate-Based Strategies for Bone, *Tissue engineering: Part B*, 18, 5, 324 (2012).
16. Mostovoj S. O., Shul'gin V. F., Peshkov V. M., Korrekciya s pomoshch'yu helatoobrazuyushchih veshchestv osteoskleroticheskikh izmenenij v nizhnechelyustnoj kosti krys, vyzvannyh priyomom bisfosfonatov, *Citologiya*, 60, 6, 476 (2018).
17. Lehenkari P. P., Kellinsalmi M., Näpänkangas J. P., Ylitalo K. V., Mönkkönen J., Rogers M. J., Azhayev A., Väänänen H. K., Hassinen I. E., Further insight into mechanism of action of clodronate: inhibition of mitochondrial ADP/ATP translocase by a nonhydrolyzable, adenine-containing metabolite, *Mol. Pharm.*, 61, 5, 1255 (2002).
18. Frith J., Monkkonen J., Auriola S., Mönkkönen H., Rogers M., The molecular mechanism of action of the antiresorptive and antiinflammatory drug clodronate: evidence for the formation in vivo of a metabolite that inhibits bone resorption and causes osteoclast and macrophage apoptosis, *Arthritis Rheum.*, 44, 9, 2201 (2001).
19. Berridge M. G., Neuronal calcium signaling, *Neuron*, 21, 1, 13 (1998).
20. Besprozvannyj I. B., Sistema kal'cievoj signalizacii pri nejrodegeneracii, *Acta Naturae*, 2, 1, 80 (2010).
21. Berridge M. G., The Inositol Trisphosphate/Calcium Signaling Pathway in Health and Disease, *Physiol. Rev.*, 96, 4, 1261 (2016).
22. Burnstock G., Physiology and pathophysiology of purinergic neurotransmission, *Physiol. Rev.*, 87, 2, 659 (2007).

23. Cheretaev I. V., Husainov D. R., Korenyuk I. I., Gamma T. V., Charakteristika i mekhanizmy impul'snoj aktivnosti nejronov vinogradnoj ulitki, *Uchenye zapiski Tavricheskogo nacional'nogo universiteta im. V. I. Vernadskogo. Seriya «Biologiya, himiya»*, **22 (61), 4**, 202 (2009).
24. Cheretaev I. V., Korenyuk I. I., Husainov D. R., Katyushina O. V., Gamma T. V., Kolotilova O. I., Analiz ATF-zavisimyh i kal'cievyyh mekhanizmov v realizacii nejrotropnogo dejstviya aspirina i ego proizvodnyh, *Uspekhi sovremennogo estestvoznaniya*, **4**, 64 (2013).
25. Cheretaev I. V., Korenyuk I. I., Husainov D. R., Katyushina O. V., Gamma T. V., Kolotilova O. I., ATF-zavisimye i kal'cievye mekhanizmy vliyaniya salicilatov na ehlektricheskie potentsialy nejronov molluska *Helix albescens*, *Rossijskij fiziologicheskij zhurnal im. I. M. Sechenova*, **101, 3**, 326 (2015).
26. Cheretaev I. V., Korenyuk I. I., Khusainov D. R., Gamma T. V., Kolotilova O. I., Nozdrachev A. D., ATP-Dependent and Calcium Mechanisms of the Effects of Salicylates on Electrical Potentials in Neurons in the Mollusk *Helix Albescens*, *Neuroscience and Behavioral Physiology*, **46, 6**, 644 (2016).
27. Deutschenbaur L., Beck J., Kiyhankhadiv A., Mühlhauser M., Borgwardt S., Walter M., Hasler G., Sollberger D., Lang U. E., Role of calcium, glutamate and NMDA in major depression and therapeutic application, *Prog. Neuro-Psychopharmacol. Biol. Psychiatry*, **64**, 325 (2016).
28. Bansal Y., Kuhad A., Mitochondrial Dysfunction in Depression, *Current Neuropharmacology*, **14, 6**, 610 (2016).
29. Mironov A. N., Bunatjan A. D., Vasil'ev A. N. i dr., *Rukovodstvo po provedeniju doklinicheskikh issledovanij lekarstvennyh sredstv*. Ch. 1. 944 s. (Moskva: Grif i K, 2012).
30. Buresh Ja., Bureshova O., H'juston D. *Metodiki i osnovnye jeksperimenty po izucheniju mozga i povedenija*, 399 p. (Moscow, Vysshaja shkola, 1991).
31. Porsolt R. D., Le Pinchon M., Jalfre M., Depression: a new animal model sensitive to antidepressant treatments, *Nature*, **5604**, 730 (1977).
32. Cheretaev I. V., Vliyanie sverhnizkikh koncentracij 2-aminometilbenzimidazola na povedenie kryv v teste Porsolta v norme i na fone aktivacii dofaminergicheskoy sistemy yumeksom, *Molodoy uchyonyj*, **19 (78)**, 100 (2014).
33. Cheretaev I. V., Korenyuk I. I., Gamma T. V., Husainov D. R., Vliyanie sverhmalyh koncentracij benzimidazola na povedencheskie reakcii kryv v teste Porsolta v norme i na fone aktivacii dofaminergicheskoy sistemy yumeksom, *Uchyonye zapiski Tavricheskogo nacional'nogo universiteta im. V. I. Vernadskogo. Seriya «Biologiya, himiya»*, **27 (66), 4**, 192 (2014).
34. Minina E.N., Cheretaev I.V., Vliyanie malyh doz dalargina pri intranazal'nom vvedenii na povedenie kryv v teste Porsolta, *Krymskij zhurnal ehksperimental'noj i klinicheskoy mediciny*, **6, 4**, 22 (2016).
35. Cheretaev I. V., Husainov D. R., Korenyuk I. I., Yakovleva M. A., Vliyanie sverhmalyh doz acetilsalicilata cinka na povedenie kryv v teste Porsolta v norme i pri aktivacii dofaminergicheskoy sistemy yumeksom, *Uchenye zapiski Krymskogo federal'nogo universiteta imeni V.I. Vernadskogo. Biologiya, himiya.*, **2 (68), 3**, 36 (2016).

УДК 612.763

ВЛИЯНИЕ БИОУПРАВЛЕНИЯ ПО ОПОРНОЙ РЕАКЦИИ НА ФУНКЦИОНАЛЬНОЕ СОСТОЯНИЕ ВОЛОНТЕРОВ

*Чуян Е. Н., Бирюкова Е. А., Миронюк И. С., Чертаев И. В., Чайка А. В.,
Непритимова Е. А.*

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

Исследовано изменение функционального состояния условно-здоровых волонтеров под влиянием биоуправления виртуальным объектом в системе с биологической обратной связью по опорной реакции. Показано, что 10-тидневный БОС-тренинг по опорной реакции оказывает положительное влияние на функциональное состояние здоровых волонтеров, о чем свидетельствует изменение состояния системы поддержания равновесия, вегетативного статуса и психофизиологических характеристик. Полученные данные имеют фундаментальное и практическое значение для повышения эффективности применения биоуправления по опорной реакции, как в норме, так и при различных патологиях.

Ключевые слова: стабилметрия, функциональное состояние, вариабельность сердечного ритма, психофизиологическое тестирование, тренинги, биоуправление.

ВВЕДЕНИЕ

В настоящее время проблема оценки и коррекции системы поддержания равновесия у человека приобрела значительную актуальность, поскольку известно, что двигательные расстройства являются следствием множества нарушений со стороны как центральной, так и периферической нервной системы [1]. Кроме того, высокую актуальность данные исследования несут в современной спортивной физиологии, что связано с поиском средств контроля и оптимизации статокINETических и статодинамических функций спортсменов различных видов спорта для достижения ими максимальной спортивной результативности. Таким образом, на сегодняшний день остро назрела проблема поиска эффективных неинвазивных методик, которые позволяют оценить параметры системы поддержания равновесия испытуемых не только при различных патологиях, но и условно-здоровых волонтеров, не имеющих значимых функциональных нарушений.

Заметим, что значительную актуальность среди методов исследования функционального состояния опорно-двигательного аппарата приобретает использование метода компьютерной стабилметрии, позволяющего получать значительное количество ценной информации о качестве контроля поддержания вертикальной позы на основе измерения координат центра давления, создаваемого человеком на плоскость опоры, в определенных условиях за определенный период времени. В клинических условиях стабилметрия применяется в случаях, когда

надо уточнить диагноз, управлять восстановительным лечением и фиксировать динамику, обследовать клинически сложных пациентов.

При всей сложности комплекса аппаратуры, используемой в методике стабиллографии, человек во время измерений не обременяется креплением датчиков к различным частям тела, ему лишь необходимо встать на стабиллографическую платформу и выполнить ряд тестов на равновесие [2].

Кроме того, данный метод позволяет проводить мероприятия, направленные на повышение эффективности контроля системы равновесия человека путем биоуправления системой поддержания заданной позы по опорной реакции, а именно тренировки с биологической обратной связью (БОС) на стабиллометрической платформе [2,3]. БОС-интерфейс представляет для человека своего рода «физиологическое зеркало», в котором отражаются его внутренние процессы.

Особенностью применения БОС тренировок по опорной реакции является, с одной стороны, целостный подход к организму, поиск нарушений системной регуляции функций организма, а, с другой стороны – точность, возможность проверки, объективность и достоверность. Объединение таких подходов дает возможность оптимизировать диагностику, позволив выявлять наличие функциональных изменений до появления первых клинических симптомов, начать корректирующие мероприятия на ранних стадиях, проводить мониторинг состояния, оценить правильность выбранных методов и тактики коррекции функционального состояния волонтеров.

Следует подчеркнуть, что как любая модель биоуправления, БОС по опорной реакции требует вовлечения центральных механизмов регуляции. На наш взгляд, успешность проведения БОС-тренингов как когнитивно-поведенческой процедуры напрямую зависит от индивидуальных особенностей функционального состояния организма человека, характеризующихся активностью вегетативной и центральной нервной систем.

Таким образом, исследование изменения функционального состояния условно-здоровых волонтеров под влиянием биоуправления виртуальным объектом в системе с биологической обратной связью по опорной реакции важно не только для понимания закономерностей данного процесса, но и имеет огромное практическое значение для повышения эффективности применения биоуправления, как в норме, так и при различных патологиях. В связи с этим, целью настоящего исследования явилось изучение влияния биоуправления по опорной реакции на функциональное состояние условно-здоровых волонтеров.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Исследование проведено на базе Лаборатории оценки функционального состояния Центра коллективного пользования научным оборудованием «Экспериментальная физиология и биофизика» кафедры физиологии человека и животных и биофизики факультета биологии и химии Таврической академии ФГАОУ ВО «Крымский федеральный университет имени В.И. Вернадского».

Дизайн экспериментальной работы включал неинвазивное наблюдение на 20 условно-здоровых волонтерах женского пола в возрасте 20-25 лет с соблюдением

современных этических норм. Все испытуемые были разделены на 2 группы по 10 человек: контрольную и экспериментальную. Эксперимент проводился на сертифицированном оборудовании, прошедшем метрологическую поверку, в тихом, хорошо проветриваемом помещении с постоянной температурой $+20 - +22 \text{ C}^0$ в утренние часы, что позволило исключить влияние суточных колебаний биологических ритмов на результаты исследования.

Со всеми испытуемыми в 1-е сутки исследования проводили психофизиологическое тестирование на компьютерном комплексе НС – Психотест (ООО «Нейрософт» г. Иваново, тесты: «Простая зрительно-моторная реакция», «Оценка внимания», «таблицы Шульце-Платонова», методика Мюнстерберга и «Числовой квадрат» [4]); стабилметрическое исследование в модификации «тест Ромберга» [5] (в течение 30 секунд с открытыми и в течение 30 секунды с закрытыми глазами) с помощью стабилметрической платформы «ST-150» со штатным программным обеспечением STPL (ООО Мера-ТСП, г. Москва [3]); оценку вегетативного статуса волонтеров методом variability сердечного ритма (VSR) [6,7] с помощью программно-аппаратного комплекса оценки variability сердечного ритма «Омега-М» (ООО «Динамика», Санкт Петербург).

Испытуемые экспериментальной группы после предварительного инструктажа, обучения работе со стабилметрической платформой ST-150 и предварительной регистрации стабилметрических характеристик, ежедневно в течение 10-ти дней проходили 5-тиминутные сеансы тренировок с биоуправлением на стабилметрической платформе. Суть тренировок заключалась в следующем: испытуемому в положении стоя на стабилметрической платформе предлагалось перемещать метку центра давления на стабилметрическую платформу в различных направлениях, сохраняя равновесие в соответствии с алгоритмом, заданным на экране монитора [2].

После проведения тренировок на 10-е сутки исследования у волонтеров обеих групп повторно были зарегистрированы показатели психофизиологического тестирования, VSR, компьютерной стабилметрии.

Обработка и графическое оформление полученных в работе данных проводились с использованием пакета программ «Статистика-8.0» и «Microsoft Excel 2010», НС-Психотест [4] и STPL [3].

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

У испытуемых контрольной и экспериментальной групп в первые сутки исследования до проведения БОС-тренингов (фон) не было зарегистрировано значимых различий ни в одном из изученных показателей компьютерной стабилметрии, VSR и психофизиологических тестов (табл. 1-3). Однако после 10-тидневного тренинга были выявлены существенные различия в значениях изученных показателей у волонтеров выделенных групп.

Изменение показателей компьютерной стабилметрии под влиянием БОС-тренингов по опорной реакции. При оценке изменений показателей статокнезиограммы в пробе Ромберга у волонтеров контрольной группы на 10-е сутки исследования было зарегистрировано увеличение значений следующих

показателей: площади статокинезиограммы (S , мм²) в фазе с открытыми глазами (ОГ) на 10,63 % ($p < 0,05$), с закрытыми (ЗГ) на 25,39% ($p < 0,05$), длины статокинезиограммы (L , мм) в фазе с ЗГ на 14,57% ($p < 0,05$), показателя работы (A , Дж): ОГ на 31,71% ($p < 0,05$), ЗГ на 31,68% ($p < 0,05$) относительно фоновых значений этих показателей (табл. 1).

Таблица 1.
Показатели компьютерной стабилотрии у испытуемых выделенных групп под влиянием 10-ти сеансов БОС-тренингов по опорной реакции

Фаза	Показатель	фон		10 сутки	
		Контрольная группа	Экспериментальная группа	Контрольная группа	Экспериментальная группа
глаза открыты	S , мм ²	110,77±2,32	113,375±1,31	122,55±2,46 $p_1 < 0,05$	98,33±1,11 $p_1 < 0,05$ $p_2 < 0,05$
	L , мм	239,44±9,10	226,33±8,24	238,34±7,77	201,21±5,25 $p_1 < 0,05$ $p_2 < 0,05$
	A , Дж	2,05±0,12	2,40±0,13	2,70±0,15 $p_1 < 0,05$	1,74±0,80 $p_1 < 0,05$ $p_2 < 0,05$
глаза закрыты	S , мм ²	168,55±3,15	174,22±5,29	211,34±3,22 $p_1 < 0,05$	124,68±3,14 $p_1 < 0,05$ $p_2 < 0,05$
	L , мм	275,15±10,89	282,31±11,07	315,24±8,35 $p_1 < 0,05$	264,55±9,36 $p_1 < 0,05$ $p_2 < 0,05$
	A , Дж	4,04±0,16	4,21±0,90	5,32±0,40 $p_1 < 0,05$	3,22±0,22 $p_1 < 0,05$ $p_2 < 0,05$

Примечание: p_1 – достоверность различий по критерию Вилкоксона относительно значений, полученных в контрольной группе испытуемых; p_2 – относительно значений, полученных в первые сутки исследования у испытуемых той же группы.

Проведение 10-тидневного БОС-тренинга у испытуемых экспериментальной группы привело к противоположному относительно контрольной группе результату. У этих волонтеров было зарегистрировано уменьшение как площади и длины статокинезиограммы, так и работы, по смещению испытуемыми центра давления на стабилотрическую платформу. Так, в фазе с открытыми глазами пробы Ромберга значения показателя площади статокинезиограммы (S , мм²) снизились на 13,27% ($p < 0,05$), длины (L , мм) на 11,10% ($p < 0,05$), работы (A , Дж) – на 27,50% ($p < 0,05$). В фазе с закрытыми глазами было значения показателя S снизились на 28,44% ($p < 0,05$), L – на 6,29% ($p < 0,05$), A на 23,52% ($p < 0,05$) по сравнению со значениями, полученными в первые сутки исследования до начала БОС-тренингов (табл. 1).

Следует отметить, что при анализе изменений показателей статокинезиограммы волонтеров экспериментальной группы по сравнению с данными, полученными в

контрольной группе волонтеров, эти изменения были выражены в еще большей степени (табл. 1). В фазе пробы Ромберга с открытыми глазами было зарегистрировано снижение значений показателя S, на 19,76% ($p < 0,05$), L на 15,58% ($p < 0,05$), A – на 35,56% ($p < 0,05$). В фазе с закрытыми глазами S на 41,01% ($p < 0,05$), L – на 16,08% ($p < 0,05$), A на 39,47% ($p < 0,05$) по отношению к значениям, полученным в контрольной группе волонтеров (табл. 1).

Из литературных источников известно, что изменения площади и длины стабиллограммы прямо пропорциональны изменениям амплитуды колебаний центра давления на стабиллометрическую платформу, а показатель работы напрямую отражает энергозатраты испытуемых по перемещению центра давления в плоскости стабиллометрической платформы [1, 8]. Следовательно, полученные нами у испытуемых контрольной группы данные свидетельствуют о незначительном изменении контроля заданной позы в пробе Ромберга, что может быть проявлением естественной биологической ритмики волонтеров, либо адаптационной реакции на внешние условия (климатические, хронологические и др. факторы). В то же время, у испытуемых экспериментальной группы нами зарегистрировано значительное снижение значений исследуемых показателей, свидетельствующее о выраженном увеличении контроля заданной позы [2] у данных волонтеров, что может быть расценено как позитивные изменения в системе поддержания равновесия испытуемых под влиянием 10-тидневного курса БОС-тренингов. Подтверждением полученных данных о высокой эффективности проведения БОС-тренингов по опорной реакции для коррекции функционального состояния волонтеров служат изменения показателей ВСР у испытуемых выделенных групп.

Изменение показателей вариабельности сердечного ритма под влиянием БОС-тренингов на стабиллометрической платформе. У волонтеров выделенных групп не было зарегистрировано значимых различий в значениях изученных показателей ВСР до начала исследования (табл. 2). Однако на 10-е сутки исследования у испытуемых контрольной группы были зарегистрированы изменения ВСР, связанные со снижением значений некоторых показателей, в частности, значения SDNN снизились на 6,7% ($p < 0,05$), RMSSD – на 7,3% ($p < 0,05$) по отношению к значениям, полученным у испытуемых этой группы в первые сутки исследования (табл. 2). Кроме того, выявлено снижение спектральных показателей сердечного ритма у данных волонтеров. Так, показатель HF снизился на 17,3 % ($p < 0,05$), LF на 14,7% ($p < 0,05$) TP на 13,4% ($p < 0,05$) по отношению к значениям, полученным на первые сутки исследования (табл. 2).

При анализе внутригрупповых результатов исследования ВСР испытуемых экспериментальной группы, напротив, зарегистрировано значимое увеличение показателей статистического анализа ВСР: SDNN на 10,02 % ($p < 0,05$), RMSSD – на 25,2% ($p < 0,05$), pNN50 на 30,2% ($p < 0,05$) по отношению к значениям, полученным в первые сутки исследования (табл. 2). Кроме того, при оценке значений спектральных показателей сердечного ритма у волонтеров экспериментальной группы было зарегистрировано увеличение значений показателя HF на 35,2 % ($p < 0,05$), LF на 10,1% ($p < 0,05$), TP на 23,4% ($p < 0,05$) по отношению к значениям, полученным на первые сутки исследования (табл. 2). При этом наблюдалось снижение значений

индекса напряженности по Баевскому (ИН, усл.ед) на 22,4% ($p < 0,05$), а также частоты сердечных сокращений (HR, уд/мин) на 8,2% ($p < 0,05$; табл. 2).

Таблица 2.
Показатели вариабельности сердечного ритма у испытуемых выделенных групп под влиянием 10-ти сеансов БОС-тренингов по опорной реакции

Показатель	1 сутки (фон)		10 сутки	
	Контрольная группа	Экспериментальная группа	Контрольная группа	Экспериментальная группа
SDNN, мс	65,45±1,25	64,17±1,47	61,07±0,99 $p_2 < 0,05$	70,60±1,86 $p_1 < 0,05$ $p_2 < 0,05$
RMSSD, мс	43,09±0,71	41,92±0,54	39,93±0,26 $p_2 < 0,05$	52,47±0,79 $p_1 < 0,05$ $p_2 < 0,05$
pNN50, %	19,84±1,22	18,95±0,55	17,79±1,14	24,67±1,56 $p_1 < 0,05$ $p_2 < 0,05$
HR, уд./мин.	80,78±2,34	80,92±3,12	80,81±2,96	74,27±1,58 $p_1 < 0,05$ $p_2 < 0,05$
HF, мс ²	1135,73±23,12	1069,17±54,22	939,67±23,87 $p_2 < 0,05$	1445,73±12,35 $p_1 < 0,05$ $p_2 < 0,05$
LF, мс ²	2417,45±22,54	2303,42±35,14	2061,67±32,12 $p_2 < 0,05$	2535,07±22,35 $p_1 < 0,05$ $p_2 < 0,05$
VLF, мс ²	1222,00±12,43	1214,00±11,04	1132,33±15,66	1680,60±33,65 $p_1 < 0,05$ $p_2 < 0,05$
TP, мс ²	4775,18±112,24	4586,58±129,35	4133,67±123,34 $p_2 < 0,05$	5661,40±114,18 $p_1 < 0,05$ $p_2 < 0,05$
LF/HF	2,55±0,24	2,60±0,12	2,86±0,22	2,28±0,23 $p_1 < 0,05$ $p_2 < 0,05$
ИН, у.е.	78,38±8,12	79,21±9,14	83,50±11,23	61,45±5,8 $p_1 < 0,05$ $p_2 < 0,05$

Примечание: обозначения те же, что и в табл. 1.

Следует отметить существенные различия в изменении показателей ВСР у волонтеров контрольной и экспериментальной групп на 10-е сутки исследования

под влиянием БОС-тренингов по опорной реакции. Так, у испытуемых экспериментальной группы значения показателей статистического анализа ВСР на 10-е сутки исследования были выше на 15-40%, чем у волонтеров контрольной группы и составили SDNN – 115,61% ($p < 0,05$), RMSSD – 131,39% ($p < 0,05$), pNN50 – 138,72% ($p < 0,05$) от значений соответствующих показателей, полученных в контрольной группе волонтеров (табл. 2). Аналогичные изменения были зарегистрированы при оценке значений спектральных показателей сердечного ритма. У волонтеров экспериментальной группы значения показателя HF были на 53,86% ($p < 0,05$), LF на 22,96% ($p < 0,05$), VLF на 48,42% ($p < 0,05$), TP на 136,96% ($p < 0,05$) выше значений, полученных у волонтеров контрольной группы на 10-е сутки наблюдения (табл. 2). Кроме того, нами зарегистрировано значительное снижение у волонтеров экспериментальной группы значений индекса напряженности по Баевскому (ИН, усл.ед) на 26,4% ($p < 0,05$), а также частоты сердечных сокращений (HR, уд/мин) на 8,0% ($p < 0,05$) по сравнению со значениями, полученными в контрольной группе испытуемых (табл. 2).

Из литературных данных известно [6,9], что снижение значений статистических и спектральных показателей СР обусловлено активацией симпатического контура вегетативной регуляции в следствие адаптационных перестроек ВСР испытуемых. Так, полученные нами данные о напряжении регуляторных систем у волонтеров контрольной группы на 10-е сутки исследования могут быть проявлением реакции адаптации, обусловленной как непосредственным участием данных испытуемых в исследовании, так и другими причинами, не связанными напрямую с процедурой тестирования, например, социальными факторами.

Однако у волонтеров экспериментальной группы под влиянием 10-тидневного курса БОС-тренингов по опорной реакции получены противоположные данные о снижении значений ЧСС, индекса напряженности регуляторных систем, а также увеличении статистических и спектральных показателей ВСР, что свидетельствует о снижении напряжения регуляторных систем и усилении вегетативных влияний на сердце, об увеличении адаптационного потенциала организма испытуемых под влиянием данного фактора. В свою очередь, это может быть одним из механизмов достижения высокой эффективности контроля заданной позы и успешности выполнения двигательно-когнитивных тестов на стабилметрической платформе.

В связи с этим, большой интерес, на наш взгляд, представляют результаты проведения двигательно-когнитивных тестов для оценки скорости сенсомоторной реакции, объема и направленности внимания волонтеров под влиянием 10-тидневного курса тренингов с биоуправлением по стабилметрическому сигналу.

Роль тренингов с биоуправлением в изменении психофизиологических характеристик волонтеров. В данном тесте у испытуемых контрольной группы не было зарегистрировано значимых различий в показателях двигательно-когнитивных тестов в 1-е и 10-е сутки исследования (табл. 3), что, по нашему мнению, свидетельствует об устойчивости сенсомоторной реакции и отсутствии выраженных изменений когнитивных процессов волонтеров контрольной группы на протяжении исследования.

У испытуемых экспериментальной группы под влиянием ежедневных 5-минутных БОС-тренингов были зарегистрированы значительные изменения показателей сенсомоторных тестов. Так, при оценке латентного периода сенсомоторной реакции в тесте «Простая зрительно-моторная реакция» на 10-е сутки исследования у этих волонтеров регистрировали уменьшение данного показателя на 1,34% ($p < 0,05$), в тесте «Оценка внимания» на – 2,70% ($p < 0,05$) по сравнению с данными, полученными у волонтеров контрольной группы (табл. 3.). Кроме того, при оценке результатов теста «Красно-черные таблицы Шульте-Платонова» у испытуемых экспериментальной группы нами зарегистрировано значительное снижение (на 41,51% ($p < 0,05$) относительно значений этого показателя в контрольной группе испытуемых) показателя времени прохождения данного теста (табл. 3.). Полученные данные подтверждаются анализом результатов исследования объема внимания в тесте Мюнстерберга и «Числовой квадрат». Результаты прохождения теста Мюнстерберга свидетельствуют об увеличении значений показателя объема внимания у волонтеров экспериментальной группы на 23,01% ($p < 0,05$), в то время как при исследовании значений данного показателя в тесте «Числовой квадрат» было зарегистрировано их увеличение на 16,89% ($p < 0,05$) относительно значений, полученных у волонтеров контрольной группы (табл. 3.).

Таблица 3.

Показатели двигательного-когнитивных тестов у испытуемых выделенных групп под влиянием 10-ти сеансов БОС-тренингов по опорной реакции

Группа	Латентный период реакции (t, мс) в тесте «Простая зрительно-моторная реакция»		Латентный период реакции (t, мс) в тесте «Оценка внимания»		Время прохождения (сек) в тесте «Таблицы Шульте-Платонова»		Объем внимания (V, усл.ед) в тесте Мюнстерберга		Объем внимания (V, усл.ед) в тесте «Числовой квадрат»	
	сутки		сутки		сутки		сутки		сутки	
	1	10	1	10	1	10	1	10	1	10
Контрольная (n=10)	230,95±1,5	229,8±1,2	297,65±25	298,05±3,3	2,12±3,3	2,24±3,3	358,95±58,3	342,89±25,1	34,3±2,3	36,7±3,4
Экспериментальная (n=10)	229,67±1,8	226,78±1,4 p₁<0,05 p₂<0,05	301,77±3,2	289,99±4,1 p₁<0,05 p₂<0,05	22,14±3,3	1,31±3,3 p₁<0,05 p₂<0,05	359,7±42,1	421,8±37,1 p₁<0,05 p₂<0,05	34,5±3,1	42,9±2,6 p₁<0,05 p₂<0,05

Примечание: обозначения те же, что и в табл. 1

Известно, что величина латентного периода сенсомоторной реакции зависит от абсолютных величин времени реакции, характеризует скорость произвольной реакции и напрямую обусловлена изменением объема внимания волонтеров в ответ на предъявление сигнала на экране монитора [5]. Снижение латентного периода

сенсомоторной реакции в сенсомоторных тестах свидетельствует об увеличении скорости реакции в ответ на предъявление стимула и может быть связано с увеличением концентрации внимания у испытуемых экспериментальной группы под влиянием 10-тидневного курса 5-ти минутных БОС-тренингов по опорной реакции [5, 6].

Коме того заметим, что снижение времени прохождения теста «Красно-черные таблицы Шульте-Платонова» напрямую связано с увеличением концентрации внимания испытуемых [5]. В свою очередь, под объемом внимания в тестах Мюнстерберга и «Числовой квадрат» авторы [5] понимают то количество объектов, которые могут быть отчетливо восприняты в относительно короткий период времени. Увеличение объема внимания напрямую обуславливает процессы переключения внимания с одного объекта или вида деятельности на другой и свидетельствует о возможности субъекта направлять и сосредотачивать внимание на нескольких независимых переменных одновременно.

Как показали результаты исследования изменения психофизиологических характеристик волонтеров экспериментальной группы, 10-тидневный курс 5-минутных сеансов биоуправления по опорной реакции оказывал направленное действие на когнитивные процессы волонтеров, что было выражено в увеличении скорости сенсомоторной реакции, объема и концентрации внимания в ответ на данное воздействие.

Таким образом, полученные нами данные об изменении отдельных показателей ВСП и стабиллометрии у волонтеров контрольной группы на протяжении 10-ти суток исследования согласуются как с литературными [10], так и с полученными нами ранее [11, 12] и свидетельствуют о том, что ВСП, как и изменение показателей статокинезиограммы не является стационарным процессом, а зависит от множества внешних влияний, в том числе и индивидуальной ритмики физиологических процессов. Незначительное снижение показателей функционального состояния испытуемых данной группы на протяжении исследования может быть обусловлено как проявлением адаптационной реакции волонтеров на непосредственное участие в исследовании, так и другими причинами, не связанными напрямую с процедурой тестирования, например, социальными, экологическими, хронобиологическими и другими факторами.

В то же время у волонтеров экспериментальной группы зарегистрированы значимые изменения практически всех изученных показатели статокинезиограммы, ВСП и психофизиологического статуса, свидетельствующие об увеличении контроля заданной позы, снижении напряжения регуляторных систем, увеличении скорости сенсомоторной реакции, объема и концентрации внимания. Как показали результаты исследования, 10-тидневный БОС-тренинг по опорной реакции оказывал направленное влияние как на функциональное состояние системы поддержания равновесия, так и изменение вегетативного статуса, характеристики внимания у волонтеров экспериментальной группы. Возможным объяснением этого факта может быть то, что изменения, наблюдаемые в организме испытуемых в ответ на специфические требования по реализации многократно повторяющейся двигательной задачи, как и для многих других физико-химических факторов,

происходят на всех уровнях организма [13]. Степень синхронизации физиологических реакций, адекватная такому типу биоуправления в данном случае определяет уровень эффективности системы контроля заданной позы, а успешность выполнения двигательных тестов на стабилометрической платформе может быть напрямую обусловлена как вегетативным статусом волонтеров, так и особенностью их когнитивных процессов. Полученные нами данные могут стать основой принципиально новых подходов к обоснованию режимов и методик биоуправления движением с использованием силовых платформ. Это позволит более точно прогнозировать результаты БОС и избегать ошибок при выборе стратегий коррекции системы контроля заданной позы.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

1. 10-тидневный БОС-тренинг по опорной реакции оказывает положительное влияние на функциональное состояние здоровых волонтеров, о чем свидетельствует изменение состояния системы поддержания равновесия, вегетативного статуса и когнитивных процессов волонтеров.
2. У здоровых волонтеров под влиянием 10-тидневного курса БОС-тренингов по опорной реакции зарегистрированы изменения показателей вариабельности сердечного ритма по сравнению с данными, полученными у волонтеров контрольной группы: снижение частоты сердечных сокращений, индекса напряженности регуляторных систем, увеличение статистических и спектральных характеристик, что свидетельствует о снижении напряжения регуляторных систем и увеличении адаптационного потенциала организма испытуемых под влиянием курсового применения биоуправления по опорной реакции.
3. Применение 10-тидневного курса БОС-тренингов на стабилометрической платформе привело к увеличению контроля заданной позы, что выразилось в снижении значений изученных показателей пробы Ромберга.
4. 10-тидневный курс сеансов биоуправления по опорной реакции оказал направленное действие на когнитивные процессы волонтеров, что выразилось в увеличении скорости сенсомоторной реакции, объема и концентрации внимания в ответ на данное воздействие.

Выполнено на базе Центра коллективного пользования “Экспериментальная физиология и биофизика”. Поддержано Программой развития ФГАОУ ВО «КФУ имени В.И. Вернадского на 2015-2024 г. в рамках проекта «Системные механизмы изменения функционального состояния волонтеров под влиянием биоуправления по опорной реакции» приказ № от 23.11. 2017 № 1033.

Список литературы

1. Скворцов Д. В. Стабилометрическое исследование/ Д.В. Скворцов. – М.: Маска. – 2010. –176 с.
2. Кубряк О. В. Биологическая обратная связь по опорной реакции: методология и терапевтические аспекты // О. В. Кубряк, С. С. Гроховский, Е. В. Исакова, С. В. Котов. – М.: Маска, 2015. – 128 с.
3. Кубряк О. В. Исследование опорных реакций человека (постурография, стабилометрия) и биологическая обратная связь в программе STPL / О. В. Кубряк, С. С. Гроховский, А. В. Доброродный. – Москва: Мера – ТСП, 2018. – 121 с.
4. Мантрова И. Н. Методическое руководство по психофизиологической и психологической диагностике/ И. Н. Мантрова. – Иваново: ООО Нейрософт, 2007.–216 с.
5. Шутова С. В., Муравьева И. В. Сенсомоторные реакции как характеристика функционального состояния ЦНС./ С. В. Шутова, И. В. Муравьева.– Тамбов: Вестник ТГУ. – 2013.–Т.18, Вып. 5. – с. 2831-2840.
6. Task Force of the European Society of Cardiology and the North American Society of Pacing and Electrophysiology. Heart Rate Variability. Standards of measurement, physiological interpretation, and clinical use // Eur. Heart J. – 1996. – V. 17. – P. 354-381.
7. Баевский Р. М. Оценка функционального состояния организма на основе математического анализа сердечного ритма: метод.рек. / Р. М. Баевский, Ж. Ю. Барсукова. – Владивосток: ДЦО АН СССР.– 1989. – 40 с.
8. Гроховский С. С. Метрологическое обеспечение стабилометрических исследований/ С.С. Гроховский, О.В. Кубряк // Медицинская техника. – 2014. – № 4. – С. 22–24.
9. Михайлов В. М. Вариабельность ритма сердца: опыт практ. применения / В. М. Михайлов. – Иваново: Гос. мед. академия, 2002.– 290 с.
10. Панова Е.Н. Вертикальная поза человека и смены функциональных состояний в опорных реакциях: обзор/ Е. Н. Панова, О. В. Кубряк // Вестн. Новг. гос. ун-та. Сер.: Медицинские науки. – 2018. – № 2 (108). – С.15–20.
11. Опорные реакции волонтеров в условиях вариаций геомагнитных факторов: влияние управляемого дыхания / Е. А. Бирюкова, И. С. Миронюк, Е. Н. Чуян // Научные труды VIII Международного конгресса «Слабые и сверхслабые поля и излучения в биологии и медицине». – СПб.– 2018. – Том 8. – С.108.
12. Бирюкова Е. А. Исключение влияния обучения в длительной серии постуральных тестов добровольцев / Е. А. Бирюкова, И. С. Миронюк, О. В. Кубряк // Журнал фундаментальной медицины и биологии. – 2018. – № 2. – С. 54-58.
13. Postural control ability and autonomic and central nervous system parameters in healthy volunteers / A. V. Kovaleva, E. A. Birukova, O. V. Kubryak// International Journal of Psychophysiology. – 2018. – № 131. – P. 47.

**THE INFLUENCE OF THE SUPPORTIVE REACTION BIOFEEDBACK
TRAININGS ON VOLUNTEERS FUNCTIONAL STATE**

*Chuyan E. N., Birukova E. A., Mironyuk I. S., Cheretaev I. V., Chaika A. V.,
Nepretimova E. A.*

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

The change of the functional state of 20 healthy volunteers under the support reaction biofeedback influence was studied. The two groups of the volunteers' were compared: biofeedback (BFB) group (n=10) and control group (n=10).

Before and after trainings background physiological values (psychophysiological, heart rate variability and stabilometric parameters) were recorded in both groups.

BFB group subjects after preliminary instruction and physiological values registration, daily were exposed of 5-minute biofeedback trainings of support reaction influence.

The research is aimed at studying a 10-day course of 5-minute biofeedback trainings of support reaction influence on healthy volunteers' postural control, heart rate variability and psychophysiological characteristics.

All subjects of the BFB group changed the body position in response to the mark shifting on the screen.

The results of this study indicate a significant effect of biofeedback supportive reaction trainings on the stabilometric platform on volunteers' postural control, heart rate variability, speed and latent period of sensorimotor reaction. The results can be implemented to improve postural control and psychophysiological reaction of professional athletes and social groups with balance disfunction.

Keywords: stabilometry, functional state, heart rate variability, psychophysiological tests, training, biofeedback.

Supported by the V.I. Vernadsky Crimean Federal University Development Program for 2015 – 2024.

References

1. Skvorcov D. V. *Stabilometric research* (Maska, Moscow, 2010), p. 176.
2. Kubryak O. V., Grohovsky S. S., Isakova E. V., Kotov S. V. *Biofeedback on basic reaction: methodology and therapeutic aspects* (Maska, Moscow, 2015), p.128.
3. Kubryak O. V., Grokhovsky S. S., Dobrorodny A. V. *The research of human support reactions (posturography, stabilometry) and biofeedback in STPL software*. (Moscow: Mera-TSP, 2018), p. 121.
4. Mantrova I. N. Methodological guideline of psychophysiological and psychological diagnostics (Neurosoft, Ivanovo, 2007), p.216.
5. Shutova S. V., Muravyova I. V. Sensorimotor reactions as characteristics of functional state of CNS – Tambov: *Vestnik TGU*, **18**, **5**, 2831 (2013).
6. Task Force of the European Society of Cardiology and the North American Society of Pacing and Electrophysiology. Heart Rate Variability. Standards of measurement, physiological interpretation, and clinical use, *Eur. Heart J.*, **17**, 354 (1996).
7. Baevsij R. M., Barsukova Z. J. Assessment of a functional state of an organism on the basis of the mathematical analysis of a heart rate: method. rivers (DCO AN SSSR?Vladivostok, 1989).p. 40.
8. Grohovsky S. S., Kubryak O. V. *Metrological assurance of stabilometric study*, **4**, 22 (2014).
9. Mihajlov V. M. *The heart rate variability: experience of practical application*, 290 s. (Ivanovo: Gos. med. akademija, 2002).
10. Panova E. N., Kubryak O. V. Vertical posture of human and change of functional states in supporting reactions: a review, *Vestnik NovSU. Issue: Medical Sciences*, **2(108)**, 15 (2018).
11. Birukova E.A., Mironyuk I.S., Chuyan E. N. The volunteers supporting reactions in geomagnetic variations: controlled breath influence, *Nauchnye trudy VIII Mezhdunarodnogo kongressa «Slabye i sverhslabye polja i izluchenija v biologii i mediciny»*, **8**, p.108 (SPb., 2018).
12. Birukova E. A., Mironyuk I. S., Kubryak O. V. Elimination of the influence of learning in a long series of postural tests in healthy volunteers, *Zhurnal fundamental'noj mediciny i biologii*, **2**, 54 (2018).
13. A.V. Kovaleva, E.A Birukova, O.V. Kubryak Postural control ability and autonomic and central nervous system parameters in healthy volunteers, *International Journal of Psychophysiology*, **131**, p. 47 (2018).

УДК 591.1: 615.849.11

МЕХАНИЗМЫ АДАПТАЦИИ ОРГАНИЗМА К УСЛОВИЯМ СТРЕССА РАЗНОЙ ПРИРОДЫ

Чуян Е. Н., Джелдубаева Э. Р., Раваева М. Ю., Чертаев И. В.

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

Рассмотрены механизмы адаптации организма к условиям стресса разной природы – гипокинетического и инфицирования. Показано, что предварительное девятисуточное ограничение подвижности, соответствующее стадии тревоги гипокинетического стресса, модифицирует адаптационные реакции у животных на развитие инфекционного процесса, приводит к существенному угнетению показателей неспецифической иммунологической реактивности (снижение содержания в крови интерферона- γ и фактора некроза опухолей- α), резистентности и противоиной защиты (бактерицидных, гидролитических и энергетических систем) нейтрофилов и лимфоцитов, развитию неспецифической реакции стресса у инфицированных крыс.

Ключевые слова: перекрестная адаптация, гипокинетический стресс, инфицирование, фактор некроза опухоли, интерферон.

ВВЕДЕНИЕ

Одной из актуальных проблем физиологии является изучение адаптационных изменений в организме под воздействием различных факторов, в том числе и тех, которые вызывают развитие стресс-реакции, а также взаимовлияние этих изменений, вызванных сочетанием нескольких стрессоров – проблема «перекрестной адаптации» [1-4]. Это связано с тем, что в реальной жизни человек сталкивается с комбинированным стрессорным воздействием, в том числе различных заболеваний, которые протекают на фоне неблагоприятных сопутствующих факторов (снижение двигательной активности, экологических, техногенных, температурных и т.п.). При этом комбинация стресс-факторов часто меняется не прогнозируемым образом, что снижает адаптационный потенциал организма и создает условия для развития хронического стресса, нередко переходящего в дистресс.

Проблема изменения иммунологической реактивности в последние годы приобретает все большую актуальность в связи с ростом иммунодефицитных состояний различного характера [5]. Известно, что большинство иммунологических процессов разворачивается на фоне стресса [6]. Экспериментально и клинически было определено отрицательное влияние тяжелого, длительного или часто повторяющегося стресса (дистресса) на их развитие. Отмечены и положительные эффекты влияния некоторых видов стресса (эустресса). Например, у здоровых

людей и интактных животных умеренная стресс-реакция может вызвать стимуляцию активности иммунной системы, усиление неспецифической противоинойфекционной защиты [7, 8].

Однако влияние гипокинетического стресса, который вызывает в организме целый ряд специфических и неспецифических изменений [9], на изменение неспецифической иммунологической реактивности организма практически не изучено.

В связи с этим, целью настоящего исследования явилось выявление модификации адаптационных реакций животных на развитие инфекционного процесса под влиянием гипокинетического стресса.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Исследование проведено в соответствии с ГОСТ Р-53434-2009 «Принципы надлежащей лабораторной практики» [10] и правилами Европейской конвенции по защите позвоночных животных, используемых для экспериментальных и иных научных целей.

Исследования выполнены на 60 беспородных белых крысах-самцах массой 180-220 граммов, содержащихся в стандартных условиях вивария при температуре 18 – 22°C с естественным 12-тичасовым свето-темновым циклом, свободным доступом к воде и полноценному гранулированному корму (ГОСТ 33215-2014 «Руководство по содержанию и уходу за лабораторными животными. Правила оборудования помещений и организации процедур» [11]).

Экспериментальная часть работы выполнялась в центре коллективного пользования научным оборудованием «Экспериментальная физиология и биофизика» кафедры физиологии человека и животных и биофизики.

Для эксперимента отбирали животных одинакового возраста и веса, характеризующихся средней двигательной активностью в тесте «открытого поля», которые, согласно нашим данным [12], преобладают в популяции, поэтому можно утверждать, что у них развивается наиболее типичная реакция на экспериментальные воздействия. Подобный отбор позволил сформировать однородные группы животных с одинаковыми конституциональными особенностями, однотипно реагирующих на действие различных факторов.

Наблюдения за животными проводились в течение 28-ми суток. Предварительно отобранные животные были разделены на три группы по 20 особей в каждой. К первой и второй группам относились животные, которые в течение первых 9-ти дней эксперимента содержались в обычных условиях вивария. Третью группу составляли крысы, подвергнутые действию стресса. Стресс моделировался ограничением подвижности (гипокинезией, ГК), что достигалось помещением крыс в специальные кассеты из оргстекла (140 × 60 × 60 мм для каждой крысы), в которых они находились в течение 9-ти суток по 20 часов. В течение 4-х остальных часов проводили экспериментальные исследования, кормление и уход за животными. Известно, что ограничение подвижности крыс в клетках-пеналах вызывает стрессовую реакцию, интенсивность которой зависит от степени «жесткости» ГК [9]. Полученная экспериментальная модель позволила создать

одинаковую степень «жесткости» ГК для всех животных, что является необходимым условием для получения сопоставимых результатов.

На 10-е сутки эксперимента было проведено введение крысам *Mycoplasma hominis*. К этой группе микроорганизмов относятся прокариоты, объединенные в порядок *Mycoplasmatales* (греч. *mys* – гриб, *plasma* – плазма), характеризующиеся чрезвычайным полиморфизмом. Микоплазмам присущи свойства вирусов и бактерий, однако, отсутствие клеточной стенки обусловило их нечувствительность к антибиотикам, специфически действующих на клеточную стенку бактерий (например, к пеницилину и его аналогам) [13]. Микоплазму получали из промывных вод бронхов больных в лаборатории микробиологии, вирусологии и микологии Института урологии АМН Украины (г. Киев). *M. hominis* вводилась по 0,2 мл (концентрация 10⁶ микробных тел в 1 мл) в хвостовую вену крысам 2-ой (инфицированные, К – И) и 3-ей (ГК – И) групп. 1-ая группа служила биологическим контролем (К).

В периферической крови, полученной из хвостовой вены животных, в одно и то же время суток (11⁰⁰ – 13⁰⁰ час) на 1, 3, 5, 7, 9, 23 и 28 сутки эксперимента цитохимическими методами определяли содержание бактерицидных (пероксидазы (ПО), катионных белков (КБ), гидролитических (кислой фосфатазы (КФ), протеазы (ПР), энергетических (липидов (ЛП) систем в нейтрофилах [14]. Для объективной оценки полученных результатов рассчитывали цитохимический показатель содержания (ЦПС) в расчете на 100 нейтрофилов. В нейтрофилах и лимфоцитах определяли средние активности сукцинат- (СДГ) и α -глицерофосфатдегидрогеназ (α -ГФДГ)) методом Р.П. Нарциссова (1969).

Изменение показателей лейкоцитарной формулы (ЛФ) – процентного содержания лимфоцитов (л) и сегментоядерных нейтрофилов (нс) периферической крови, их отношение (л/нс) проводили для определения типа общих неспецифических адаптационных реакций организма (НАРО) [15]. Показатели лейкоцитарной формулы крыс измеряли на гематологическом анализаторе Mythic 18 («Согмау», Швейцария).

На 28-е сутки эксперимента, т. е. через 18 дней после заражения животных забивали путем моментальной декапитации гильотиной («НПК Открытая Наука», Россия). Цельную кровь после декапитации собирали в пробирки с разделительным гелем для сыворотки, оставляли на 30 минут и затем подвергали центрифугированию на центрифуге ПЭ-6926 («Экрес-Аналитика», Россия) в течение 10 минут при 3000 об/мин. В полученной сыворотке крови методом мультиплексного анализа на мультиплексном анализаторе Bio-Plex-200 («Bio-Rad», США) определяли концентрацию цитокинов интерферона- γ (ИФН), фактора некроза опухолей- α (ФНО- α) в пг/мл с помощью набора Bio-Plex Pro™ Rat Cytokine Th1/Th2 Assay («Bio-Rad», США) [16]. Для обработки результатов использовали программное обеспечение Bio-Plex-Manager Software V. 8.0 («Bio-Rad», США).

Статистическая обработка результатов проводилась с использованием пакета STATISTICA-8.0. После проверки значений переменных на нормальность распределения, оценка достоверности межгрупповых различий проводилась с помощью t-критерия Стьюдента. Различия считались достоверными при $p \leq 0,05$. Силу

и направленность связи между изучаемыми показателями оценивали с помощью корреляционного анализа, вычисляя коэффициент линейной корреляции (r).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Результаты настоящего исследования свидетельствуют о том, что содержание регуляторных веществ в организме, влияющих на неспецифическую реактивность и статус иммунной системы в целом, какими являются изученные цитокины (ФНО- α и ИФН- γ), зависит от исходного состояния организма.

Развитие инфекционного процесса у интактных крыс после введения *M. hominis* привело к заметному повышению продукции ФНО и ИФН (рис. 1). Уровень ФНО- α во 2-ой группе крыс (К – И) повысился в 1,97 ($p < 0,001$) раз, а ИФН- γ – увеличился в 4,17 раз ($p < 0,001$) относительно уровня значений в контроле. Полученные данные согласуются с литературными, которые свидетельствуют о том, что иммунные лейкоциты вырабатывают в 2-8 раз больше ИФН- γ , чем лейкоциты контрольных животных [17]. По-видимому, это можно расценить как адаптивный ответ организма, направленный на борьбу с антигеном.

При этом у крыс, которые до инфицирования находились в условиях, ограничивающих их подвижность (ГК – И), наблюдалось снижение уровня ФНО- α на 11,58 % ($p < 0,001$) и уровня ИФН- γ на 53,51% ($p < 0,001$) по сравнению с инфицированными животными, которые до введения *M. hominis* оставались интактными (рис. 1).

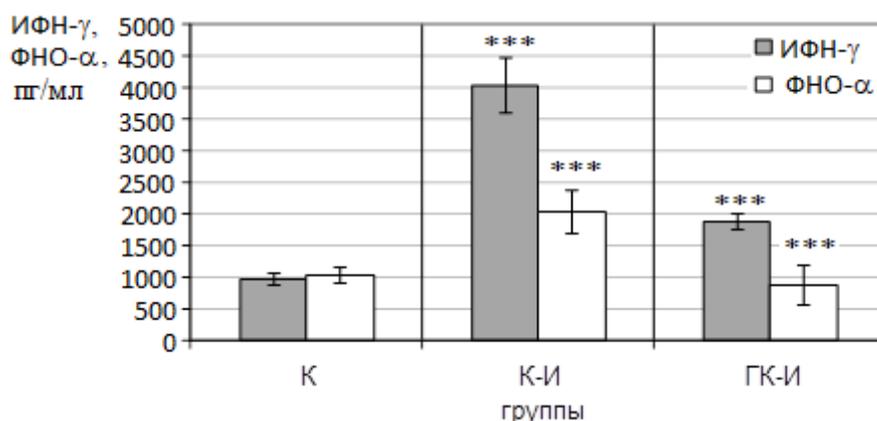


Рис. 1. Изменение уровня интерферона- γ (ИФН- γ , пг/мл) и фактора некроза опухолей- α (ФНО- α , пг/мл) в плазме крови крыс контрольной группы (К), подвергнутым инфицированию (К – И) и последовательному действию девятисуточной гипокинезии и инфицирования (ГК – И) на 28 сутки эксперимента.

Следует обратить внимание на сходную динамику и положительную корреляционную связь ($r = 0,91$; $p < 0,05$) между содержанием ФНО и ИФН в плазме крови крыс при различных воздействиях, что связано, по-видимому, с

кооперативным действием этих цитокинов. Так, показана синергичность действия ФНО- α и ИФН- γ [18, 19], проявляющееся как *in vitro*, так и *in vivo*. Показано также, что образование ФНО- α в организме индуцируется не только различными видами бактерий и паразитов, но и некоторыми цитокинами, в частности ИФН- γ , который и используется в качестве активирующего стимула [20]. Одним из возможных механизмов кооперативного действия ФНО- α и ИФН- γ является способность последнего регулировать экспрессию рецепторов ФНО- α [21].

Известно, что ИФН- γ и ФНО- α обладают широким спектром биологического действия, гормоноподобным действием, повышают функциональную активность макрофагов и гранулоцитов, стимулируют активность иммунной системы, участвуют в регуляции воспалительной реакции, обеспечивают взаимодействие клеток иммунной, кроветворной, нервной и эндокринной систем [19, 20, 22]. Интенсивность продукции цитокинов лейкоцитами отражает устойчивость организма к инфекциям и является показателем общей физиологической реактивности организма. Так, активация продукции ИФН- γ лейкоцитами является признаком мобилизации всего комплекса иммунологических реакций в организме, поскольку существует положительная корреляционная связь между количественной динамикой продукции ИФН- γ в организме зараженных животных, людей и ходом освобождения организма от вирусного возбудителя заболевания [17].

Таким образом, исходя из собственных экспериментальных и литературных данных, можно полагать, что обнаруженное нами снижение содержания изученных цитокинов в крови инфицированных животных, предварительно подвергнутых действию гипокинетического стресса, привело к снижению уровня неспецифической иммунологической реактивности организма.

Лейкоциты, играющие важную роль в обеспечении иммунологической реактивности организма, являются источниками цитокинов, и, в то же время, мишенью для них. Действие ИФН- γ на лейкоциты выражается в активации их специфических функций, усиливая их фагоцитарную активность, продукцию антител в концентрациях, встречающихся в естественных условиях [19, 22]. Важно подчеркнуть, что макрофаги, активированные ИФН- γ , становятся неспецифическими киллерами без предшествующего контакта со специфическим антигеном [16]. ФНО- α также может активизировать гранулоциты, увеличивая их фагоцитарную активность против паразитов [21], усиливая экзоцитоз содержимого гранул лейкоцитов, хемотаксис, вызывая, таким образом, активацию бактериостатических систем [23].

В проведенных экспериментах обнаружено, что функциональная активность лимфоцитов и нейтрофилов периферической крови крыс изменяется по-разному при изолированном действии инфицирования и при последовательном воздействии ГК стресса и инфицирования.

Развитие инфекционного процесса у животных, которые до введения антигена оставались интактными, привело к активации бактерицидных систем (ПО, КБ) в нейтрофилах. Так, после введения микоплазмы на 23-28 сутки эксперимента ЦПС ПО повысился на 16,5% – 20,3% ($p < 0,001$), ЦПС КБ – на 8,3 – 10,2% ($p < 0,001$) относительно значений в контрольной группе животных. Для гидролитических (ПР

и КФ) и энергетической (ЛП) систем нейтрофилов также характерна аналогичная динамика (см. рис. 2-Б). Еще более выраженные изменения при развитии инфекционного процесса произошли в динамике окислительно-восстановительных ферментов в лимфоцитах и нейтрофилах крови крыс (см. рис. 2-Б). Так, средняя активность СДГ в лимфоцитах увеличилась в 1,5 ($p < 0,001$), в нейтрофилах – в 2,5 раза ($p < 0,001$), средняя активность α -ГФДГ в лимфоцитах – в 2,1 ($p < 0,001$), а в нейтрофилах – в 1,5 ($p < 0,001$) раза по сравнению со значениями соответствующих показателей у интактных животных.

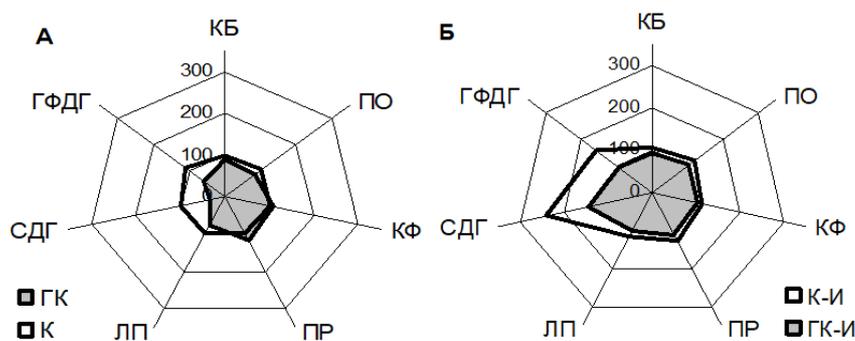


Рис. 2. Цитохимические показатели содержания пероксидазы (ПО), катионных белков (КБ), кислой фосфатаза (КФ), протеазы (ПР), липидов (ЛП), средних активностей сукцинат - (СДГ) и α -глицерофосфатдегидрогеназ (ГФДГ) в нейтрофилах крови крыс после воздействия гипокинезии (ГК) на 9-е сутки эксперимента (А) и последующего инфицирования (И) и 28-е сутки эксперимента (Б) (в % относительно значений в контрольной (К) группе животных).

Таким образом, под влиянием инфицирования в периферической крови крыс произошло существенное увеличение активности бактерицидных, гидролитических и энергетических систем нейтрофилов и лимфоцитов. При этом анализ лейкограммы у инфицированных животных 2-ой группы (К-И) позволил выявить эозинофилию, нейтрофилез и лимфопению, что привело к снижению отношения л/сн до 0,8 и, согласно критериям определения адаптационных реакций [15], указывает на развитие НАРО стресса (рис. 3). Поэтому, можно предположить, что указанные изменения цитохимического статуса нейтрофилов и лимфоцитов крови в условия инфицирования свидетельствуют не о повышении неспецифической резистентности, а о напряжении в исследованных системах клеток.

Под влиянием гипокинетического стресса произошло значительное снижение функциональной активности нейтрофилов и лимфоцитов крови, что проявлялось, прежде всего, в угнетении бактерицидных систем нейтрофилов (рис. 2-А). На 9-е сутки ГК ЦПС ПО снизился на 16% ($p < 0,001$), а ЦПС КБ – на 11% ($p < 0,01$) относительно значений в контроле. Наряду с угнетением бактерицидной активности нейтрофилов, произошло значительное увеличение активности гидролитических ферментов (ЦПС ПР на 16% ($p < 0,001$) и ЦПС КФ – на 8% ($p < 0,05$)). Под влиянием

ограничения подвижности произошло также значительное снижение энергетических систем лейкоцитов (ЦПС ЛП в нейтрофилах – на 26% ($p < 0,001$); средних активностей СДГ – на 36% ($p < 0,001$) и 20% ($p < 0,01$), α -ГФДГ – на 46% ($p < 0,001$) и на 40% ($p < 0,01$) в лимфоцитах и нейтрофилах соответственно) относительно значений этих показателей в контроле.

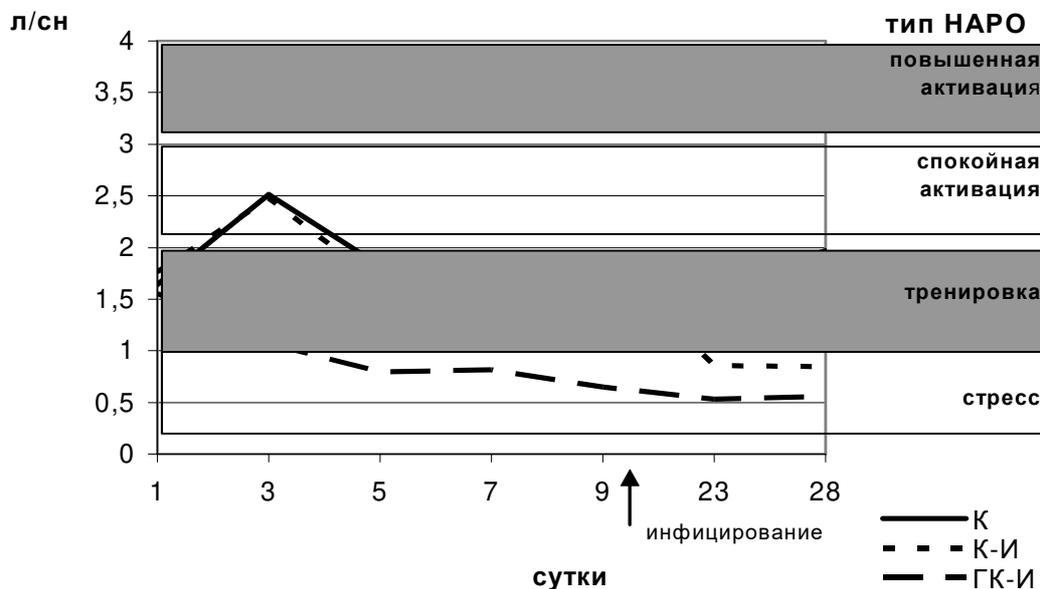


Рис. 3. Динамика отношения количества лимфоцитов и сегментоядерных нейтрофилов в крови крыс контрольной группы (К) и при воздействиях инфицирования (К – И) и последовательного действия гипокинезии и инфицирования (ГК – И), указывающее на развитие неспецифических адаптационных реакций организма (НАРО) разного типа.

Типичная реакция организма на действие стресс-фактора заключается в развитии периферического нейтрофилеза и лимфопении [24]. Подобное явление отмечено и в нашем исследовании. ГК привела к изменению ЛФ, проявляющееся в снижении коэффициента лимфоциты/сегментоядерные нейтрофилы до уровня 0,6 на 9-е сутки наблюдения, что согласно критериям оценки адаптационной реакции [15] свидетельствует о снижении уровня неспецифической резистентности и развитии реакции стресса.

Таким образом, при 9-тисуточном ограничении подвижности, соответствующем стадии тревоги гипокинетического стресса [25] наблюдалось угнетение защитного и энергетического статуса нейтрофилов и лимфоцитов периферической крови и развитие НАРО стресса, что согласуется с нашими [14] и литературными данными [25].

Все эти изменения свидетельствуют о резком напряжении, дезорганизации в функционировании лейкоцитов при гипокинетическом стрессе.

Через 14 дней после введения антигена животным, предварительно находившимся в условиях ограниченной подвижности (ГК – И), обнаружено увеличение исследуемых показателей относительно уровня, достигнутого после ГК, за исключением ЦПС КФ, который после повышения во все сроки ограничения подвижности, снизился на 17,5 усл. ед. ($p < 0,05$) (см. рис. 2-Б). Однако уровень всех изученных показателей у животных этой группы был значительно ниже значений соответствующих показателей у животных, которые до заражения оставались интактными (см. рис. 2-Б). Так, на 23-28 сутки эксперимента ЦПС КБ составлял всего 85,21–85,71% ($p < 0,001$), ПО – 86,56–90,25% ($p < 0,001$), ПР – 83,87–84,87% ($p < 0,001$), КФ – 92,24–92,94% ($p < 0,01$), ЛП – 86,57–86,66% ($p < 0,001$) относительно значений соответствующих показателей 2-ой группы животных (К – И). Средняя активность СДГ в лимфоцитах после инфицирования увеличилась в 1,6 раза ($p < 0,001$), в нейтрофилах – в 6,2 раза ($p < 0,001$) относительно уровня значений данных показателей на 9-й день ограничения подвижности, однако, активность этого фермента на 18,87% ($p < 0,01$) в лимфоцитах и на 23,55% ($p < 0,001$) в нейтрофилах оказалась ниже соответствующих данных у животных, которые до введения антигена не подвергались ГК. Аналогичные изменения выявлены и в динамике средней активности α -ГФДГ в лимфоцитах и нейтрофилах крови крыс.

Таким образом, последовательное действие ГК и инфицирования привело к существенному угнетению бактерицидных, гидролитических и энергетических систем нейтрофилов и лимфоцитов. При этом выявлено разнонаправленное изменение содержания бактерицидных (ПО и КБ) и гидролитических (ПР и КФ) ферментов нейтрофилов («совокупный показатель»), что является неблагоприятным признаком и расценивается как угнетение естественных защитных сил клетки и организма в целом [26].

Известно, что для успешного осуществления клетками их функций необходима взаимосвязь ферментных систем [27, 28]. ПО вместе с перекисью водорода и окисляемыми кофакторами (йодом, хлором, бромом) образует в нейтрофилах мощную антибактериальную систему, эффект которой по своей силе значительно превышает соответствующий эффект составляющих ее компонентов [7]. КБ также обладают высокой бактерицидной активностью, благодаря способности повышать проницаемость клеточных мембран, нарушать структуру и функцию мембран микробной клетки [7]. Таким образом, бактерицидные системы нейтрофилов обеспечивают подавление активности фагоцитированных бактерий. Только после этого они становятся доступными действию гидролитических ферментов нейтрофилов.

В условиях последовательного действия ограничения подвижности и инфицирования, когда падает активность двух бактерицидных систем, активность фагоцитированных бактерий если и подавляется, то значительно меньше, чем у интактных животных. Очевидно, такие бактерии не могут быть доступны действию гидролитических ферментов, которые способны разрушать в фаголизосоме нейтрофила только те бактерии, которые были умерщвлены пероксидазной системой, неферментными катионными белками, лизоцимом, лактоферрином [29,

30]. Поэтому ситуацию, при которой возрастает гидролитический потенциал нейтрофилов на фоне снижения бактерицидной активности, следует рассматривать, с одной стороны, как фактор риска освобождения протеаз из клеток и выход их в ткани, что может привести к развитию цитолитического процесса, а, следовательно, повреждению ткани [29], а, с другой стороны, как нарушение оптимальных условий для реализации функции фагоцитоза.

Снижение специфической для нейтрофилов фагоцитарной функции может быть детерминировано и перестройкой в них метаболизма, в частности, энергетического. В настоящем исследовании выявлено, что у инфицированных крыс, предварительно подвергнутых ГК стрессу, произошло как уменьшение содержания ЛП в нейтрофилах, которые осуществляют энергетические функции клетки и обладают антиоксидантной активностью [31], так и дегидрогеназной активности (СДГ и α -ГФГД) в нейтрофилах и лимфоцитах, адекватно отражающей интенсивность различных путей энергетического обмена в клетках крови: аэробного расщепления глюкозы и гликолиза [32]. В целом это свидетельствует как об истощении энергетических ресурсов и адаптационных возможностей клеток, так и о снижении специфической и неспецифической резистентности организма в целом [15]. Известно, что увеличение энергетического потенциала клеток при стресс-реакции обеспечивает срочную адаптацию организма к стрессорной ситуации. Однако в условиях длительной и/или интенсивной стресс-реакции не происходит увеличения мощности системы энергообеспечения, а интенсивная мобилизация ресурсов перестает быть адаптивным фактором и приводит к прогрессивному истощению организма [15], что и выявлено в настоящем исследовании при последовательном действии на животных длительного ограничения подвижности и инфицирования.

Изменение морфологического состава периферической крови у крыс, подвергнутых последовательному действию ГК и антигена, привело к снижению коэффициента л/сн до 0,5, что указывает на развитие у них еще более выраженной реакции стресса (см. рис. 3).

Наблюдения у людей и эксперименты на животных убедительно свидетельствуют о влиянии тяжелой и (или) длительной стресс-реакции (дистресса) на иммунологическую реактивность. Значительное угнетение иммунного ответа, вплоть до развития иммунодефицитного состояния обнаружено при различных стрессорных воздействиях [33, 34]. Иммунодепрессивное действие стресса, в частности, является причиной того, что вакцинация часто оказывается неэффективной, если иммунизация проводится на фоне стресса. У животных, как и у людей, тяжелый и достаточно длительный стресс подавляет различные звенья иммунитета [35-37]. Следует также подчеркнуть, что существует сходство ответа организма на антиген с ответами на различные стрессоры. Это понятно, так как антигены, по существу, являются стрессорами.

Таким образом, полученные результаты свидетельствуют о том, что изменения изученных показателей у животных после заражения их *M. hominis* зависят от характера превентивного воздействия. Предварительное девятисуточное ограничение подвижности, соответствующее стадии тревоги гипокинетического стресса, модифицирует адаптационные реакции у животных на развитие

инфекционного процесса, приводит к существенному угнетению показателей неспецифической иммунологической реактивности (снижение содержания в крови ИФН и ФНО), резистентности и противoinфекционной защиты (бактерицидных, гидролитических и энергетических систем) нейтрофилов и лимфоцитов, развитию НАРО стресса у инфицированных крыс.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

1. Предварительное девятисуточное ограничение подвижности, соответствующее стадии тревоги гипокинетического стресса, модифицирует адаптационные реакции у животных на развитие инфекционного процесса.
2. Содержание в плазме крови цитокинов (ИФН- γ и ФНО- α) зависит от исходного состояния организма. У крыс, которые до инфицирования находились в условиях гипокинетического стресса, наблюдалось снижение концентрации изученных цитокинов, что привело к снижению уровня неспецифической иммунологической реактивности организма.
3. Последовательное действие хронического гипокинетического стресса и инфицирования приводит к существенному угнетению бактерицидных, гидролитических и энергетических систем нейтрофилов и лимфоцитов; разнонаправленное изменение содержания бактерицидных и гидролитических ферментов нейтрофилов («совокупный показатель») является неблагоприятным признаком и расценивается как угнетение естественных защитных сил клетки и организма в целом.

Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ и Совета Министров Республики Крым в рамках научного проекта № 18-44-910008 p_a.

Список литературы

1. Меерсон Ф. З. Концепция долговременной адаптации / Ф. З. Меерсон – М. : «Дело», 1993. – 136 с.
2. Павлов С. Е. Адаптация / С. Е. Павлов. – М. : Паруса. – 2000. – 282 с.
3. Разумов А. Н. Перекрестная адаптация» и законы «переноса тренированности»/ А. Н. Разумов, С. Е. Павлов, А. С. Павлов // Педагогико–психологические и медико–биологические проблемы физической культуры и спорта. – 2016. – Т. 11, № 3.– С. 42–52.
4. Сонькин В. Д. Физическая работоспособность и энергообеспечение мышечной функции в постнатальном онтогенезе человека / В. Д. Сонькин // Физиология человека. – 2007. – Т. 33, №3. – С. 93–94.
5. Глушкова О. В. Влияние низкоинтенсивных электромагнитных волн сантиметрового диапазона на уровень антителообразования у мышей/ О. В. Глушкова, Е. Г. Новоселова, В. Б. Огай [и др.] // Биофизика. – 2001.– Т. 46, № 1. – С. 126 – 130.
6. Корнева Е. А. Иммунофизиология – истоки и современные аспекты развития / Е. А. Корнева // Аллергия, астма и клиническая иммунология – 2000. – №. 8. – С. 36–44.
7. Пигаревский В. Е. О молекулярном уровне некоторых общепатологических процессов / В. Е. Пигаревский // Архив патологии – 1990. – Т. 52, №1. – С. 24 –28.
8. Пшенникова М. Г. Роль генетических особенностей организма в устойчивости к повреждающим воздействиям и в защитных эффектах адаптации / М. Г. Пшенникова // Патологическая физиология и экспериментальная терапия. – 2011.–N 4.–С.7–16.

9. Коваленко Е. А. Гипокинезия / Е. А. Коваленко, Н. Н. Гуровский. – М. : Медицина, 1980. – 307 с.
10. ГОСТ Р–53434–2009 Принципы надлежащей лабораторной практики. – <http://internet-law.ru/gosts/gost/48600/>
11. ГОСТ 33215–2014. Руководство по содержанию и уходу за лабораторными животными. Правила оборудования помещений и организации процедур. – URL: www.internetlaw.ru/gosts/gost/61242/.
12. Чуян Е. Н. Влияние миллиметровых волн нетепловой интенсивности на развитие гипокинетического стресса у крыс с различными индивидуальными особенностями: Автореф. дис...канд. биол. наук / Е. Н. Чуян – Симферополь, 1992. – 25 с.
13. Гусев М.В. Микробиология: Учебник для студ. биол. специальностей вузов / М. В. Гусев, Л. А. Минеева. — 4-е изд., стер. — М. : Издательский центр «Академия», 2003. — 464 с.
14. Чуян Е. Н. Физиологические механизмы биологических эффектов низкоинтенсивного ЭМИ КВЧ / Е. Н. Чуян, Н. А. Темурьянц, О. Б. Московчук [и др.] – Симферополь: ЧП «Эльиньо», 2003. – 448 с.
15. Гаркави Л. Х. Антистрессорные реакции и активационная терапия. Реакция активации как путь к здоровью через процессы самоорганизации / Л. Х. Гаркави, Е. Б. Квакина, Т. С. Кузьменко. – М. : «Имедис», 1998. – 656 с.
16. Cytokine Levels in Rat Blood and Brain Structures after Administration of Lipopolysaccharide / A. Yu. Abramova, S. S. Pertsov, A. Yu. Kozlov [et al.]. // Bulletin of Experimental Biology and Medicine. – 2013. – Vol. 155, No. 4. – P. 417-420.
17. Мезенцева М. В. Определение клеточной чувствительности к интерферонам цельной крови (расширение показателей ИФН–статуса): Методические рекомендации / М. В. Мезенцева, А. Н. Наровлянский, А. М. Амченкова– М. : Наука, 1997. – 264 с.
18. Aggarwal D. Relevance of serial interferon- γ release assays in health-care workers / D. Aggarwal, P. Aggarwal, P. R. Mohapatra // Chest. – 2012. – Vol.142(6). – P. 1688.
19. Кетлинский С. А. Цитокины / С. А. Кетлинский, А. С. Симбирцев– СПб.: «Фолиант», 2008. – 552 с.
20. Возианов А. Ф. Цитокины. Биологические и противоопухолевые свойства / А. Ф. Возианов, А. К. Бутенко, К. П. Зак. – Киев: Наукова думка, 1998. – 317 с.
21. Pober T. S. Overlapping patterns of activation of human endothelial cells by interleukin-1, TNF and immune interferon / T. S. Pober, M. A. Cimbrone, L. A. Lapierre [et al.] // J. Immunol. – 1986. – Vol. 137, № 6. –P. 1893– 1896.
22. Пальцев М. А. Межклеточные взаимодействия / М. А. Пальцев, А. А. Иванов, С. Е. Северин. – М.: Букинистическое издание, 2003. – 286 с.
23. Меньщикова Е. Б. Окислительный стресс. Патологические состояния и заболевания. Монография. / Е. Б. Меньщикова, Н. К. Зенков., В. З. Ланкин [и др.] — Новосибирск: Арта, 2008. — 284 с.
24. Горизонтов П. Д. Стресс и система крови / П. Д. Горизонтов, О. И. Белоусова, М. М. Федотова. – М.: Медицина, 1983.– 239 с.
25. Верко Н. П. Функціональна активність нейтрофілів крові щурів при розвитку адаптаційних реакцій різного типу: Автореф. дис...к. б. н.: 03.00.13 / ТНУ ім. В.І. Вернадського / Н. П. Верко. – Симферополь, 2003. – 20 с.
26. Тявокин В. В. Изменение показателей иммунореактивности кроликов при различных сроках гипокинезии / В. В. Тявокин, В. П. Сизов, Г. В. Магницкая, В. А. Олейникова // Космич. биология и авиакосмич. медицина. – 1981. – Т. 15, № 4. – С. 90–91.
27. Sternberg E. M. Effects of office workstation type on physical activity and stress / E. M. Sternberg, C. M. Lindberg, K. Srinivasan [et al.] // Occup Environ Med. – 2018. – Vol. 75(10). – P. 689–695.
28. Dinarello C. A. Introduction to the interleukin-1 family of cytokines and receptors: Drivers of innate inflammation and acquired immunity / C. A. Dinarello // Immunol Rev. – 2018. – Vol. 281(1). – P. 5–7.
29. Антоняк Г. Л. Роль протеолитических ферментов в функциональной активности нейтрофильных гранулоцитов / Г. Л. Антоняк // Успехи современной биологии. – 1999. – Т. 119, № 5. – С. 476–486.
30. Клебанов Г. И. Клеточные механизмы прайминга и активации фагоцитов / Г. И. Клебанов, Ю. А. Владимиров // Успехи современной биологии. – 1999. – Т. 119, № 5. – С. 462–465.
31. Лебедько Т. М. Влияние пептидного морфогена гидры на постгипоксические нарушения у крысят, подвергнутых пренатальной гипоксии / Т. М. Лебедько, Т. В. Яценко, С. С. Тимошин, А. Ю. Рубина // Бюллетень экспер. биологии и медицины. – 1997. – Т. 123, № 3. – С. 269–272.

32. Петричук С. В. Модуляция энергетического обмена лимфоцитов ребенка естественными физическими факторами / С. В. Петричук, А. А. Гайтинова, В. М. Шищенко, Р. П. Нарциссов // Биофизика. – 1992. – Т. 37, № 4. – С. 72–78.
33. Сухих Г. Т. Иммунологические аспекты трансплантации фетальных клеток / Г. Т. Сухих, И. М. Богданова, В. В. Малайцев, А. П. Фисенко // Бюл. экспер. биол и мед – 1998 – Т. 126, № 1.–С. 178–181.
34. Кузнецов С. И. Клетки иммунной системы как посредники в реакции других систем организма на стрессорное воздействие / С. И. Кузнецов, И. В. Семенова // Патологическая физиология и экспериментальная терапия. – 1997. – № 2. – С. 27–29.
35. Keller S. Suppression of immunity by stress effect of graded series of stressors on lymphocyte stimulation in the rat / S. Keller, J. Weis, S. Schleifer [et al.] // Science. – 1981.– Vol. 213.– P. 1397– 1400.
36. Levy E. M. Natural killer cells as helper cells in dendritic cell cancer vaccines / E. M. Levy, M. B.Pampena //Front Immunol. – 2015. – Vol. 28 (6). – P. 13.
37. Croiset G. Passive avoidance behavior, vasopressin and the immune system. A link between avoidance latency and immune response / G. Croiset, C. J. Heijnen, D. de Wied // Neuroendocrinology. – 1990. – Vol. 51(2). – P. 156–161.

MECHANISMS OF ADAPTATION OF THE ORGANISM TO THE CONDITIONS OF STRESS OF DIFFERENT NATURE

Chuyan E. N., Dzheldubaeva E. R., Ravaeva M. Yu., Cheretaev I. V.

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

The mechanisms of adaptation of the organism to the conditions of stress of a different nature - hypokinetic and infection are considered. It is shown that the content of regulatory substances in the body that affect the nonspecific reactivity and the status of the immune system as a whole, which are the studied cytokines (interferon- γ and tumor necrosis factor- α), depends on the initial state of the organism.

The development of an infectious process in intact rats after the administration of *M. hominis* led to a marked increase in the production of interferon- γ and tumor necrosis factor- α , which is an adaptive response of the body aimed at combating the antigen.

In infected animals, previously exposed to hypokinetic stress, we found a decrease in the content of studied cytokines in the blood of animals, which indicates a decrease in the level of nonspecific immunological reactivity of the organism.

The functional activity of the lymphocytes and neutrophils of the peripheral blood of rats was found to change differently with the isolated effect of infection and with the sequential exposure of HA to stress and infection. Thus, under the influence of infection in the peripheral blood of rats, there was a significant increase in the activity of bactericidal, hydrolytic and energy systems of neutrophils and lymphocytes. These changes in the cytochemical status of neutrophils and blood lymphocytes under infection conditions do not indicate an increase in nonspecific resistance, but stress in the studied cell systems. With a nine-day restriction of mobility, corresponding to the stage of anxiety of hypokinetic stress, suppression of the protective and energy status of neutrophils and peripheral blood lymphocytes and the development of stress are observed. All these changes indicate a sharp tension, disorganization in the functioning of leukocytes during

hypokinetic stress.

The successive effects of hypokinesia and infection have led to a significant inhibition of the bactericidal, hydrolytic and energy systems of neutrophils and lymphocytes. At the same time, a multidirectional change in the content of bactericidal and hydrolytic enzymes of neutrophils ("aggregate indicator") was revealed, which is an unfavorable sign and is regarded as the inhibition of the natural defenses of the cell and the organism as a whole.

Thus, the obtained results indicate that changes in the studied parameters in animals after infection with *M. hominis* depend on the nature of the preventive effect. Preliminary nine-day restriction of mobility, corresponding to the stage of anxiety of hypokinetic stress, modifies adaptation reactions in animals to the development of an infectious process, leads to a significant inhibition of indicators of nonspecific immunological reactivity (reduction in interferon- γ blood and tumor necrosis factor- α), resistance and anti-infective protection (bactericidal, hydrolytic and energy systems) of neutrophils and lymphocytes, the development of nonspecific adaptation reactive shares of stress in infected rats.

Keywords: cross-adaptation, hypokinetic stress, infection, tumor necrosis factor, interferon.

References

1. Meyerson F. Z., *Kontsepsiya dolgovremennoy adaptatsii*, 136 p. (Delo, Moscow, 1993).
2. Pavlov S. Ye., *Adaptatsiya*, 282 p. (Parusa, Moscow, 2000).
3. Razumov A.N., Pavlov S.Ye., Pavlov A.S. Perekrestnaya adaptatsiya» i zakony «perenosa trenirovannosti», *Pedagogiko–psikhologicheskiye i mediko–biologicheskiye problemy fizicheskoy kul'tury i sporta*, **11** (3), 42 (2016).
4. Son'kin V. D., Fizicheskaya rabotosposobnost' i energoobespecheniye myshechnoy funktsii v postnatal'nom ontogeneze cheloveka, *Fiziologiya cheloveka*, **33** (3), 93 (2007).
5. Glushkova O.V., Novoselova Ye.G., Ogay V.B. [et al.] Vliyaniye nizkointensivnykh elektromagnitnykh voln santimetrovogo diapazona na uroven' antiteloobrazovaniya u myshey, *Biofizika.*, **46** (1), 126 (2001).
6. Korneva Ye.A., Immunofiziologiya – istoki i sovremennyye aspekty razvitiya, *Allergiya, astma i klinicheskaya immunologiya*, **8**, 36 (2000).
7. Pigarevskiy V.Ye., O molekulyarnom urovne nekotorykh obshchepatologicheskikh protsessov, *Arkhiv patologii*, **52** (1), 24 (1990).
8. Pshennikova M.G., Rol' geneticheskikh osobennostey organizma v ustoychivosti k povrezhdayushchim vozdeystviyam i v zashchitnykh effektakh adaptatsii, *Patologicheskaya fiziologiya i eksperimental'naya terapiya*, **4**, 7 (2011).
9. Kovalenko Ye.A., Gurovskiy N.N. *Gipokineziya*, 307 p. (Meditsina, Moscow, 1980).
10. GOST R–53434–2009, *Printsipy nadlezhashchey laboratornoy praktiki*. – <http://internet-law.ru/gosts/gost/48600/>.
11. GOST 33215–2014, *Rukovodstvo po sodержaniyu i ukhodu za laboratornymi zhivotnymi. Pravila oborudovaniya pomeshcheniy i organizatsii protsedur*. – URL: www.internetlaw.ru/gosts/gost/61242/.
12. Chuyan Ye.N., *Vliyaniye millimetrovykh voln neteplovy intenzivnosti na razvitiye gipokineticheskogo stressa u krys s razlichnymi individual'nymi osobennostyami*, 25 p. (Simferopol, 1992).
13. Gusev M.V., Mineyeva L.A., *Mikrobiologiya: Uchebnik dlya stud. biol. spetsial'nostey vuzov*, 4–ye izd., 464 p. (Izdatel'skiy tsentr «Akademiya», Moscow, 2003).
14. Chuyan Ye.N., Temur'yants N.A., Moskovchuk O.B. [et al.], *Fiziologicheskiye mekhanizmy biologicheskikh effektov nizkointensivnogo EMI KVCH*, 448 p. (CHP «El'in'o», Simferopol, 2003).

15. Garkavi L.K., Kvakina Ye.B., Kuz'menko T.S., *Antistressornyye reaktsii i aktivatsionnaya terapiya. Reaktsiya aktivatsii kak put' k zdorov'yu cherez protsessy samoorganizatsii*, 656 p. (Imedis, Moscow, 1998).
16. Abramova A.Yu., Pertsov S.S., Kozlov A.Yu. [et al.], Cytokine Levels in Rat Blood and Brain Structures after Administration of Lipopolysaccharide, *Bulletin of Experimental Biology and Medicine*, **155**, 417 (2013).
17. Mezentseva M.V., Narovlyanskiy A.N., Amchenkova A.M., *Opredeleniye kletochnoy chuvstvitel'nosti k interferonom tsel'noy krovi (rasshireniye pokazateley IFN–statusa)*, 264 p. (Nauka, Moscow, 1997).
18. Aggarwal D., Aggarwal P., Mohapatra P. R., Relevance of serial interferon- γ release assays in health-care workers, *Chest.*, **142**(6), 1688 (2012).
19. Ketlinskiy S.A., Simbirtsev A.S. *Tsitokiny*, 552 p. (Foliant, St. Petersburg, 2008).
20. Vozianov A.F., Butenko A.K., Zak K.P., *Tsitokiny. Biologicheskkiye i protivopukhlevyye svoystva*, 317 p. (Naukova dumka, Kiyev, 1998).
21. Pober T.S., Cimbrone M.A., Lapierre L.A. [et al.], Overlapping patterns of activation of human endothelial cells by interleukin-1, TNF and immune interferon, *J. Immunol.*, **137** (6), 1893 (1986).
22. Pal'tsev M.A., Ivanov A.A., Severin S.Ye., *Mezhkletochnyye vzaimodeystviya*, 286 p. (Bukinisticheskoye izdaniye, Moscow, 2003).
23. Men'shchikova Ye.B., Zenkov N.K., Lankin V.Z. [et al.], *Okislitel'nyy stress. Patologicheskkiye sostoyaniya i zabolevaniya*, 284 p. (Arta, Novosibirsk, 2008).
24. Gorizontov P.D., Belousova O.I., Fedotova M.M., *Stress i sistema krovi*, 239 p. (Meditsina, Moscow, 1983).
25. Verko N.P., *Funktsional'na aktivníst' neytrofilív krovi shchurív pri rozvitku adaptatsíynikh reaktsíy ríznogo tipu*, 20 p. (TNU im. V.Í. Vernads'kogo, Símferepol', 2003).
26. Tyavokin V.V., Sizov V.P., Magnitskaya G.V., Oleynikova V.A., *Izmeneniye pokazateley immunoreaktivnosti krolikov pri razlichnykh srokakh gipokinezi*, *Kosmich. biologiya i aviakosmich. meditsina*, **15** (4), 90 (1981).
27. Sternberg E.M., Lindberg C.M., Srinivasan K. [et al.] Effects of office workstation type on physical activity and stress, *Occup Environ Med.*, **75**(10), 689 (2018).
28. Dinarello C.A., Introduction to the interleukin-1 family of cytokines and receptors: Drivers of innate inflammation and acquired immunity, *Immunol Rev.*, **281**(1), 5 (2018).
29. Antonyak G.L., Rol' proteoliticheskikh fermentov v funktsional'noy aktivnosti neytrofil'nykh granulotsitov, *Uspekhi sovremennoy biologii*, **119** (5), 476 (1999).
30. Klebanov G.I., Vladimirov Yu.A., Kletochnyye mekhanizmy prayinga i aktivatsii fagotsitov, *Uspekhi sovremennoy biologii*, **119** (5), 462 (1999).
31. Lebed'ko T.M., Yatsenko T.V., Timoshin S.S., Rubina A. Yu., Vliyaniye peptidnogo morfogena gidry na postgipoksicheskkiye narusheniya u krysyat, podvergnutykh prenatal'noy gipoksii, *Byulleten' eksper. biologii i meditsiny*, **123** (3), 269 (1997).
32. Petrichuk S.V., Gaytinova A.A., Shishchenko V.M., Nartsissov R.P., Modulyatsiya energeticheskogo obmena limfotsitov rebenka yestestvennymi fizicheskimi faktorami, *Biofizika*, **37** (4), 72 (1992).
33. Sukhikh G.T., Bogdanova I.M., Malaytsev V.V., Fisenko A.P., Immunologicheskkiye aspekty transplantatsii fetal'nykh kletok, *Byul. eksper. biol i med.*, **126** (1), 178 (1998).
34. Kuznetsov S.I., Semenova I.V., Kletki immunnoy sistemy kak posredniki v reaktsii drugikh sistem organizma na stressornoye vozdeystviye, *Patologicheskaya fiziologiya i eksperimental'naya terapiya*, **2**, 27 (1997).
35. Keller S., Weis J., Schleifer S. [et al.], Suppression of immunity by stress effect of graded series of stressors on lymphocyte stimulation in the rat, *Science*, **213**, 1397 (1981).
36. Levy E.M., Pampena M.B., Natural killer cells as helper cells in dendritic cell cancer vaccines, *Front Immunol.*, **28** (6), 13 (2015).
37. Croiset G., Heijnen C.J., de Wied D., Passive avoidance behavior, vasopressin and the immune system. A link between avoidance latency and immune response, *Neuroendocrinology*, **51**(2), 156 (1990).

УДК 631.811.98:635.912

**СТИМУЛЯЦИЯ УКОРЕНЕНИЯ И РАЗВИТИЯ ЧЕРЕНКОВ ХРИЗАНТЕМЫ
МЕЛКОЦВЕТКОВОЙ КОМПОЗИЦИЕЙ НАНОСЕЛЕНА
С β -ИНДОЛИЛУКСУСНОЙ КИСЛОТОЙ**

Юркова И. Н., Омельченко А. В., Пидгайная Е. С.

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

Впервые исследовано комбинированное действие низких концентраций наноселена и β -индолилуксусной кислоты (гетероауксина) на процессы укоренения и развития черенков хризантемы мелкоцветковой. Изучены закономерности увеличения выхода укорененных черенков, морфометрических показателей развития черенков, а также массы сухого вещества корней и надземной части черенков от концентрации наноселена в комбинации с β -индолилуксусной кислотой. Показано, что с увеличением концентрации наноселена от 1,0 до 3,0 мг/л в композиции с β -ИУК содержание пролина в листьях укорененных черенков повышалось в 2,0 – 2,4 раза по сравнению с контрольным вариантом.

Ключевые слова: укоренение, черенки, мелкоцветковая хризантема, наноселен, β -индолилуксусная кислота, пролин.

ВВЕДЕНИЕ

Одной из тенденцией современного декоративного и ландшафтного дизайна является расширение ассортимента цветочных культур, используемых в озеленении территорий в осенний период. К таким культурам, по праву, относится хризантема мелкоцветковая (*Chrysanthemum morifolium* Ramat). Ее популярность связана с длительным периодом цветения и высокой декоративностью [1].

Наиболее перспективным способом размножения хризантем является черенкование, позволяющее получать укорененные растения в промышленных масштабах [2]. Однако, даже при соблюдении оптимальных сроков черенкования и режимов укоренения, зеленые черенки растений различных видов укореняются неодинаково. Для более успешного укоренения черенков в последнее время используют различные стимуляторы корнеобразования ауксинового ряда [3]. Все они относятся к среднетоксичным соединениям. Наиболее эффективные из них производятся за рубежом и имеют достаточно высокую цену.

При посадке черенков в грунт они испытывают стресс, что отрицательно сказывается на их укоренении. В настоящее время показано, что большое значение в регуляции роста растений и процессов их стрессоустойчивости принадлежит селену [4]. Имеющиеся в литературе данные свидетельствуют о влиянии селена на метаболизм растительной клетки [5–8]. Показано, что селен усиливает фотосинтез,

углеводный обмен, дыхание и поглощение минеральных веществ. Он также присутствует в ряде окислительно-восстановительных ферментов вместе с железом и молибденом [9, 10]. Биологическая активность селена зависит от формы, в которой он находится. Наиболее токсичными являются неорганические формы селена (селенит- и селенат-ионы), которые могут вызывать негативные явления. Наночастицы селена являются наименее токсичными и биодоступными. Обладая пролонгированным действием, генерируя ионы и электроны, действующие на клеточном уровне [11]. Это приводит к усилению фотосинтеза, углеводного обмена, дыхания и поглощения минеральных веществ [12].

Целью настоящей работы было исследование комбинированного действия низких концентраций наноселена и β -индолилуксусной кислоты (гетероауксина) на процессы укоренения и развития черенков хризантемы мелкоцветковой.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Объектом исследования была хризантема мелкоцветковая (*Chrysanthemum morifolium* Ramat) сорта Колдунья, широко используемая в ландшафтном дизайне городской среды.

Для обработки черенков использовали смесь водорастворимой композиции наноселена (Se^0) с раствором β -индолилуксусной кислоты (β -ИУК) в концентрации: 1,0 мг/л Se^0 + 5,0 мг/л β -ИУК, 3,0 мг/л Se^0 + 5,0 мг/л β -ИУК, 5,0 мг/л Se^0 + 5,0 мг/л β -ИУК. Контрольные черенки обрабатывали раствором β -ИУК в оптимальной концентрации для корнеобразования 20 мг/л [13]. Схема эксперимента была выбрана по результатам предыдущих исследований [14].

Композицию наноселена получали по оригинальной технологии восстановлением селенистокислого натрия L-цистеином и стабилизацией альгинатом натрия (натриевая соль альгиновой кислоты) [15].

Летние черенки хризантемы мелкоцветковой длиной 10 см погружали в водные растворы регуляторов роста при экспозиции 24 часа и температуре 23 °С. Затем черенки высаживали в субстрат на глубину 5 см в условиях теплицы. Расстояние между черенками соответствовало 4 -5 см. Эксперименты проводили в 3-кратной повторности по 20 черенков в каждой. Стимулирующий эффект наноселена и β -ИУК определяли по выходу укорененных черенков, морфометрическим показателям развития черенков (среднему приросту черенков, диаметру черенков, количеству листьев и состоянию корневой системы), а также по массе сухого вещества корней и надземной части одного черенка и содержанию пролина в листьях. Все измерения проводили на 30-е сутки после посадки.

Состояние корневой системы оценивали по методике В.И. Будаговского: 1 балл - на растении нет корней; 2 балла - укоренение неудовлетворительное (1-2 слабых корешка или только их зачатки); 3 балла - укоренение удовлетворительное (3-4 корешка); 4 балла - укоренение хорошее (на растениях большое количество крупных и мелких корней); 5 баллов - укоренение очень хорошее (от черенков отходит много густо расположенных крупных и мелких корней) [16].

Укореняемость черенков находили из отношения количества укоренённых черенков к числу высаженных и выражали в процентах.

Биомассу надземной части и корней укоренённых черенков измеряли гравиметрическим, фиксируя растительный материал в течение 5 мин. при 110 °С и доводя его до постоянной массы при 60 °С. Содержание пролина определяли спектрофотометрически с нингидриновым реактивом по методу Bates et al. [17].

Статистическую обработку полученных результатов проводили по Г.Ф. Лакину [18], в таблицах представлены средние арифметические значения и их стандартные ошибки.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Анализ полученных ранее результатов влияния наноселена на укореняемость черенков хризантемы мелкоцветковой показал, что максимальный эффект наблюдался после 24-часовой экспозиции черенков в растворе наноселена с концентрацией 10,0 и 20,0 мг/л. При замачивании черенков в растворе наноселена с более высокой концентрацией (30,0 мг/л) увеличивалось время укоренения и снижалась укореняемость и прирост массы сухого вещества [14].

Исследование влияния совместного действия низких концентраций наноселена (1,0 – 5,0 мг/л) и 5,0 мг/л β-ИУК показало, что выход укорененных черенков увеличился на 19,5 - 29,1 % по сравнению с контролем. Максимальный эффект наблюдался в варианте 3,0 мг/л Se⁰ + 5,0 мг/л β-ИУК (табл. 1). Эти результаты превышают полученные ранее на 14,0 – 15,0 % [14].

Как показано в таблице 1, увеличение морфометрических показателей (прирост и диаметр черенков, число листьев и состояние корневой системы) также наблюдалось в интервале концентраций 1,0 – 5,0 мг/л Se⁰ и 5,0 мг/л β-ИУК. Максимальные значения морфометрических показателей отмечались в варианте 3,0 мг/л Se⁰ + 5,0 мг/л β-ИУК. В этом случае увеличение прироста черенков составляло 5,8 см, диаметра черенков – 2,1 мм, числа листьев – 2,8 шт, а состояние корневой системы соответствовало 5 баллам. Наибольший эффект исследованная композиция оказывала на выход укорененных черенков и развитие корневой системы, которые увеличились на 41,1 % и 42,9 % соответственно по сравнению с контрольным вариантом.

Результаты проведенных экспериментов также свидетельствуют об увеличении интегрального показателя абсолютного роста – массы сухого вещества укорененных черенков хризантемы мелкоцветковой после обработки композицией наноселена с β-ИУК (табл. 2). При этом прирост массы сухого вещества как корней, так и надземной части увеличился на 72,0-97,6 % и 56,2-88,3 % соответственно. Максимальные значения массы сухого вещества также наблюдались в варианте 3,0 мг/л Se⁰ + 5,0 мг/л β-ИУК. Анализ приведенных результатов показал, что прирост сухого вещества корней укорененных черенков было значительно выше, чем надземной части (на 97,6 % и 88,3 % соответственно).

Таблица 1
Влияние композиции наноселена с β -индолилуксусной кислотой на укореняемость и морфометрические показатели развития черенков хризантемы мелкоцветковой

Вариант опыта	Выход укорененных черенков, %	Средний прирост черенков, см	Диаметр черенков, мм	Число листьев, шт	Оценка корневой системы, балл
Контроль 20 мг/л β -ИУК	70,7 \pm 2,8	6,3 \pm 0,26	6,7 \pm 0,30	7,2 \pm 0,31	3,5 \pm 0,14
1,0 мг/л Se ⁰ + 5,0 мг/л β -ИУК	90,2 \pm 3,2	8,7 \pm 0,29	7,2 \pm 0,29	9,8 \pm 0,34	4,7 \pm 0,16
3,0 мг/л Se ⁰ + 5,0 мг/л β -ИУК	99,8 \pm 3,5	10,1 \pm 0,40	8,8 \pm 0,27	12,0 \pm 0,43	5,0 \pm 0,17
5,0 мг/л Se ⁰ + 5,0 мг/л β -ИУК	93,4 \pm 3,3	9,3 \pm 0,33	7,8 \pm 0,28	10,5 \pm 0,35	4,5 \pm 0,15

Из результатов, приведенных в работе [14] видно, что максимальные значения укоренения и накопления массы сухого вещества корней и надземной части черенков хризантемы мелкоцветковой наблюдались при концентрации наноселена 10,0 - 20,0 мг/л. Однако, сочетание низких концентраций наноселена (3,0 - 5,0 мг/л) и β -индолилуксусной кислоты (5,0 мг/л) оказывало более высокий эффект, что свидетельствует о их синергизме при стимуляции укоренения и ростовой активности черенков исследуемых растений.

Таблица 2
Влияние композиции наноселена с β -индолилуксусной кислотой на массу сухого вещества корней и надземной части укорененных черенков хризантемы мелкоцветковой

Вариант опыта	Масса сухого вещества			
	корни, мг	надземная часть, мг	корни, %	надземная часть, %
Контроль (β -ИУК) 20 мг/л	0,48 \pm 0,03	1,52 \pm 0,07	100,0	100,0
1,0 мг/л Se ⁰ + 5,0 мг/л β -ИУК	0,95 \pm 0,04	2,37 \pm 0,08	172,0	156,2
3,0 мг/л Se ⁰ + 5,0 мг/л β -ИУК	0,95 \pm 0,05	2,86 \pm 0,09	197,6	188,3
5,0 мг/л Se ⁰ + 5,0 мг/л β -ИУК	0,92 \pm 0,04	2,68 \pm 0,08	192,3	176,5

Черенкование и посадка растений в грунт вызывает стресс, отрицательно сказывающийся на укоренении и развитии черенков. Ряд работ указывает на множественное защитное действие селена при стрессе у растений, которое проявляется на уровне синтеза антиоксидантных органических осмолитов, активности ферментов антиоксидантной системы, торможении процессов перекисного окисления липидов [19].

При адаптации растений к неблагоприятным условиям произрастания важная роль принадлежит универсальному совместимому осмолиту высших растений – пролину [20]. Роль пролина заключается в предотвращении инактивации белков и сохранении структуры и целостности мембран [21,22].

Как видно из результатов, представленных на рисунке, с увеличением концентрации наноселена в композиции с β -ИУК от 1,0 до 3,0 мг/л содержание пролина в листьях укорененных черенков хризантемы мелкоцветковой повышалось в 2,0 – 2,4 раза по сравнению с контрольным вариантом. Дальнейшее увеличение концентрации наноселена вызывало незначительное понижение содержания селена в листьях.

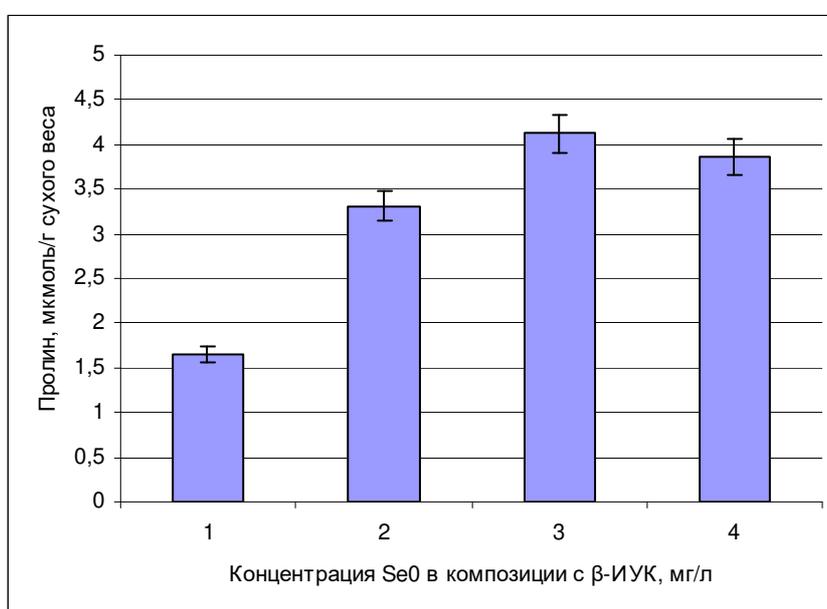


Рисунок. Влияние концентрации наноселена и β -индолилуксусной кислоты на содержание пролина в листьях хризантемы мелкоцветковой: 1 – 20 мг/л β -ИУК (контроль); 2 – 1,0 мг/л Se⁰ + 5,0 мг/л β -ИУК; 3 – 3,0 мг/л Se⁰ + 5,0 мг/л β -ИУК; 4 – 5,0 мг/л Se⁰ + 5,0 мг/л β -ИУК.

Таким образом, отмечается определенная закономерность стимуляции низкими концентрациями наноселена и β -ИУК укоренения и развития черенков, с одной стороны, и накопления пролина в листьях хризантемы мелкоцветковой. Вероятно,

это связано с увеличением концентрации солей за счет усиления поступления питательных веществ под влиянием наноселена или его аккумуляцией в клетках.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

1. Впервые исследовано комбинированное действие низких концентрацией наноселена и β -индолилуксусной кислоты (гетероауксина) на процессы укоренения и развития черенков хризантемы мелкоцветковой.
2. Показано, что в интервале концентраций 1,0 – 5,0 мг/л Se^0 в композиции с β -ИУК наблюдалось значительное увеличение выхода укорененных черенков, их морфометрических показателей, а также прирост массы сухого вещества корней и надземной части.
3. С увеличением концентрации наноселена от 1,0 до 3,0 мг/л в композиции с β -ИУК содержание пролина в листьях укорененных черенков хризантемы мелкоцветковой повышалось в 2,0 – 2,4 раза по сравнению с контрольным вариантом.

Статья публикуется в рамках выполнения госзадания Министерства образования и науки РФ с госбюджетным финансированием № 6.7794.2017/БЧ по теме «Разработка системы рационального использования декоративных фитобиологических ресурсов на территории Крыма»

Список литературы

1. Филатов В.Н. О применении ростовых веществ при размножении хризантемы корейской методом черенкования / В.Н. Филатов // Аграрный научный журнал. – 2016. – № 10. – С. 41-45.
2. Соколова Т.А. Декоративное растениеводство: Цветоводство. 5-изд. / Т.А. Соколова, И.А. Бочкова – М.: Академия, 2012. – 458 с.
3. Вакуленко В.В. Регуляторы роста растений повышают стрессоустойчивость культур / В.В. Вакуленко // Защита и карантин растений. – 2015. – № 2. – С. 13-15.
4. Адаптогенная роль селена в высших растениях / В.А. Вихрева, В.Н. Хрянин, В.К. Гинс [и др.] // Вестник Башкирского университета. – 2001. – № 2. – С.65-66.
5. Барабой В. А. Биологические функции, метаболизм и механизм действия селена / В.А. Барабой // Успехи современной биологии. – 2004. – № 2. – С. 157-168.
6. 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.
7. 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. – М., 2001. – 28 с.
8. 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. Серия: «Биология, химия». – 2016. – Т. 2 (68). – № 2. – С. 79-85.
9. Торшин С.П. Биогеохимия и агрохимия селена и методы устранения селенодефицита в пищевых продуктах и кормах / С.П. Торшин, Т.М. Удельнова, Б.А. Ягодин // Агрохимия. – 1996. – № 8 - 9. – С. 127-144.
10. Селен. Некоторые аспекты химии, экологии и участия в развитии патологии (обзор) / В.В. Вапиров, М. Э. Шубина, Н. В. Вапирова [и др.]. – Петрозаводск: ПетрГУ, 2000. – 68 с.

11. Пролонгированное воздействие ультрадисперсных порошков металлов на семена злаковых культур / В. Н. Селиванов, Е. В. Зорин, Е. Н. Сидорова [и др.] // Перспективные материалы. – 2001. – № 4. – С. 66-69.
12. Усубова Е.З. Влияние селена на физиологические показатели и продуктивность фасоли сорта «Сакса» (*Phaseolus vulgaris* L.) / Е.З. Усубова, А.М. Жижаев, П.В. Миронов // Фундаментальные исследования. – 2012. – № 3. – С. 257-260.
13. Плодоводство: учебник / Под редакцией В.А. Потапова, Ф.Н.Пильщикова. - М.: Колос, 2000. - С.150-153.
14. Юркова И.Н. Влияние селена на размножение мелкоцветковой хризантемы методом черенкования / И.Н. Юркова, Е.С. Пидгайная // Современные научные исследования и разработки. – 2018. – 2 (19). – С. 365-368.
15. 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.
16. Будаговский В.И. Карликовые подвои для яблони / В.И. Будаговский. – М.: Сельхозгиз, 1959. – 352с.
17. 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.
18. Лакин Г. Ф. Биометрия / Г. Ф. Лакин. – М.: Высш. шк., 1990. – 352 с.
19. Кузнецов В.В. Защитное действие селена при адаптации растений пшеницы к условиям засухи : автореф. на соискан. учен. степ. канд. биол. наук / Василий Владимирович Кузнецов. – Москва, 2004. – 21с.
20. Compatible solute accumulation and stress mitigating effects in barley genotypes contrasting in their salt tolerance / Z. Chen, T.A. Cuin, M. – J. Exp. Bot. – 2007. – Vol. 58. – P. 4245-4255.
21. Nawrylak-Nowak B. Beneficial effects of exogenous selenium in cucumber seedlings subjected to salt stress / B. Nawrylak-Nowak // Biol. Trace Elem. – 2009. – Vol. 132. – P. 259-269.
22. Кузнецов В. В. Проллин при стрессе: биологическая роль, метаболизм, регуляция / Кузнецов В. В., Шевякова Н. И. // Физиол. раст. – 1999. – Т. 46, № 2. – С. 305-320.

**STIMULATION OF THE ROOTING AND DEVELOPMENT OF CUTTINGS OF
CHRYSANTHEMUM PARVIFLORUS BY THE COMPOSITION OF
NANOSELENE WITH β -INDOLYLACETIC ACID**

Yurkova I. N., Omel'chenko A. V., Pidgaynaya E. S.

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

One of the trends of modern decorative and landscape design is the expansion of the range of flower crops. Such crops include *Chrysanthemum parviflorus*. The most promising way of chrysanthemums propagation is cutting which allows to receive rooted plants on industrial scale. When planting cuttings in the ground, they experience stress, which negatively affects their rooting. The aim of this work was to investigate the combined action of low concentrations of nanoselenium and β -indolylacetic acid (heteroauxin) on rooting and development of *Chrysanthemum parviflorus* cuttings.

The object of the study was *Chrysanthemum parviflorus* (*Chrysanthemum morifolium* Ramat) of the varieties Sorceress. A mixture of a water-soluble nanoselenium composition

(Se⁰) and a solution of β -indolylacetic acid (β -IAA) was used to treat the cuttings at a concentration of 1.0 mg/L Se⁰ + 5.0 mg/L β -IAA, 3.0 mg/L Se⁰ + 5.0 mg/L β -IAA, 5.0 mg/L Se⁰ + 5.0 mg/L β -IAA. The control cuttings were treated with a solution of β -IAA at the optimum concentration for the root formation of 20 mg/L. The stimulating effect of nanoselenium was determined by the yield of rooted cuttings, the morphometric indices of the development of cuttings (the average increment of cuttings, the diameter of the cuttings, the number of leaves and the state of the root system), and also by the dry matter mass of the roots and the aerial part of one cutting and the proline content in the leaves. All measurements were performed on the 30th day after planting.

Investigation of the effect of combined action of low concentrations of nanoselenium and β -IAA showed that the yield of rooted cuttings increased by 19.5 - 29.1% compared to the control. The maximum effect was observed in the version 3.0 mg/L Se⁰ + 5.0 mg/L β -IAA. An increase in the morphometric parameters (increment and diameter of the cuttings, the number of leaves and the state of the root system) was also observed in the concentration range 1.0-5.0 mg/L Se⁰ + 5.0 mg/L β -IAA. The investigated composition had the greatest effect on the yield of rooted cuttings and the development of the root system. The investigated indicators increased by 41.1% and 42.9%, respectively, compared with the control variant. It is shown that the increase in the dry matter mass of both the roots and the aboveground part increased by 72.0-97.6% and 56.2-88.3%, respectively. With an increase in the concentration of nanoselenium in the composition with β -IAA from 1.0 to 3.0 mg/L, proline content in the leaves of rooted cuttings increased 2.0-2.4 times compared with the control variant.

Thus, the regularity of stimulation with low concentrations of the nanoselenium composition and β -IAA of rooting and development of cuttings, as well as the accumulation of proline in the leaves of *Chrysanthemum parviflorus*, was established.

Keywords: rooting, cuttings, *Chrysanthemum parviflorus*, nanoselen, β -indolylacetic acid.

References

1. Filatov V.N., O primeneniі rostovyh veshchestv pri razmnozhenii hrizntemy korejskoj metodom cherenkovaniya, *Agrarnyj nauchnyj zhurnal*, **4**, 41-45 (2016).
2. Sokolova T.A., Bochkova I.A., *Dekorativnoe rastenievodstvo: Cvetovodstvo. 5-izd.* (M.: Akademiya, 2012).
3. Vakulenko V.V., Regulyatory rosta rastenij povyshayut stressoustojchivost' kul'tur, *Zashchita i karantin rastenij*, **2**, 13-15 (2015).
4. Vihreva V.A., Hryanin V.N., Gins V.A., Blinohvatov A.F., Adaptogennaya rol' selena v vysshih rasteniyah, *Vestnik Bashkirskogo universiteta*, **2**, 65-66 (2001).
5. Baraboj V.A., Biologicheskie funkcii, metabolizm i mekhanizm dejstviya selena, *Uspekhi sovremennoj biologii*, **2**, 157-168 (2004).
6. Nikonov I.N., Folmanis Yu.G., Kovalenko L.V., Laptev Yu., Folmanis G.E., Biologicheskaya aktivnost' nanorazmernogo kolloidnogo selena, *Doklady Akademii nauk*, **447** (6), 675-677 (2012).
7. Vihreva V.A., Vliyanie selena na rost, razvitie i adaptivnyj potencial kozlyatnika vostochnogo (*Galera orientalis*): avtoref. dis. kand. biol. nauk, 28 p. (Moskov, 2001).
8. Yurkova I. N., Zashchitno-stimuliruyushchie svoystva nanoselena pri inkrustacii semyan pshenicy, *Uchenye zapiski Krymskogo federal'nogo universiteta imeni V. I. Vernadskogo. Seriya: «Biologiya, himiya»*, **2**, 79-85 (2016).

9. Torshin S.P., Biogeohimiya i agrohimiya selena i metody ustraneniya selenodeficyta v pishchevyh produktah i kormah, *Agrohimiya*, **8 – 9**, 127-144 (1996).
10. Vapirov V.V., Shubina M.E., Vapirova N.V., Belichenko V.I., Shubin I.V., Selen. Nekotorye aspekty himii, ehkologii i uchastiya v razvitii patologii (obzor) (Petrozavodsk: PetrGU, 2000).
11. Selivanov V.N., Zorin E.V., E.H. Sidorova E.H., Dzidzigur E.L., Folmanis G.E., Prolongirovannoe vozdejstvie ul'tradispersnyh poroshkov metallov na semena zlakovyh kul'tur, *Perspektivnye materialy*, **4**, 66-69 (2001).
12. Usubova E.Z., Zhizhaev A.M., Mironov P.V., Vliyanie selena na fiziologicheskie pokazateli i produktivnost' fasoli sorta «Saksa» (*Phaseolus vulgaris* L.), *Fundamental'nye issledovaniya*, **3**, 257-260 (2012).
13. Plodovodstvo: uchebnik / Pod redakciej V.A. Potapova, F.N. Pil'shchikova (M.: Kolos, 2000).
14. Yurkova I.N., Vliyanie naselena na razmnozhenie melkocvetkovej hrizantemy metodom cherenkovaniya, *Sovremennye nauchnye issledovaniya i razrabotki*, **2**, 65-368 (2018).
15. Pat. 159620 MPK6 A 61 K 33/38, A 61 K 31/00. Sposob polucheniya vodorastvorimoj kompozicii nanochastic, sodержashchej nanochasticy selena / I.N. Yurkova, E.P.Panova, D.A. Panov, A.V. Omel'chenko : patentoobladatel' Krymskij federal'nyj universitet im. V.I. Vernadskogo; – № 2015146880; zayavl. 26.04.13; opubl. 10.02.16. Byul. № 4.
16. Budagovskij V.I., Karlikovye podvoi dlya yabloni (M.: Sel'hozgiz, 1959).
17. Bates L.S., Waldren R.P., Teare I.D., Rapid determination of free proline for water stress studies, *Plant and Soil*, **39**, 205-207 (1973).
18. Lakin G. F., *Biometriya* (Moscov, Vyssh. shk., 1990).
19. Kuznecov V.V., Zashchitnoe dejstvie selena pri adaptacii rastenij pshenicy k usloviyam zasuhi: avtoref. dis. kand. biol. nauk, 21 p. (Moskov, 2004).
20. Chen Z., Cuin T.A., Compatibl solute accumulation and stressmitigating effects in barley genotypes cont rasting in their salt tolerance, *J. Exp. Bot.* **58**, 4245-4255 (2008).
21. Hawrylak-Nowak B., Beneficial effects of exogenous selenium in cucumber seedlings subjected to salt stress, *Biol. Trace Elem.*, 132, 259-269 (2009).
22. Kuznecov V.V., Prolin pri stresse: biologicheskaya rol', metabolizm, regulyaciya, *Fiziol. rast.*, **46** (2), 305-320 (1999).

УДК 612.821

**ВЛИЯНИЕ ЭФИРНОГО МАСЛА ГВОЗДИЧНОГО ДЕРЕВА
НА ПСИХОЭМОЦИОНАЛЬНОЕ СОСТОЯНИЕ И УМСТВЕННУЮ
РАБОТОСПОСОБНОСТЬ ОБУЧАЮЩИХСЯ**

Ярош А. М.¹, Ибрагимова Э. Э.², Тонковцева В. В.¹, Коваль Е. С.¹, Бекмамбетов Т. Р.¹

¹*Никитский ботанический сад – Национальный научный центр, Ялта,
Республика Крым, Россия*

²*ГБОУВО РК «Крымский инженерно-педагогический университет», Симферополь,
Республика Крым, Россия
E-mail: valyalta@rambler.ru*

Исследовано влияние эфирного масла гвоздичного дерева на психоэмоциональное состояние и умственную работоспособность обучающихся во время учебных занятий в двух возрастных группах: 17 – 21 и 22 – 45 лет. Показано, что эфирное масло гвоздичного дерева в обеих возрастных группах улучшило психоэмоциональное состояние обучаемых и слабо повлияло на самооценку тонуса. В корректурной пробе в младшей возрастной группе он не повлияло ни на темп работы, ни на количество ошибок. В старшей возрастной группе исходно темп работы достоверно ниже, чем в младшей, и на 2-й минуте теста в контроле даже снижается к концу занятий. Эфирное масло гвоздичного дерева увеличило темп умственной работы в старшей группе до уровня младшей.

Ключевые слова: эфирное масло, гвоздичное дерево, обучающиеся, умственная работоспособность; психоэмоциональное состояние.

ВВЕДЕНИЕ

Процесс обучения сопровождается увеличением психоэмоциональной нагрузки на обучающихся, что приводит к снижению усвоения теоретического и практического материала, переутомлению, снижению работоспособности и даже к потере интереса к обучению. Становится очевидным необходимость повышения психоэмоционального статуса обучающихся в образовательном процессе. Для достижения данной цели используются различные психолого-педагогические подходы, однако известно, что эфирные масла (ЭМ) растений обладают рядом полезных свойств для организма человека и его психоэмоционального состояния.

В экспериментах на животных у ЭМ гвоздичного дерева (*Syzygium aromaticum* L.) обнаружено многоплановое влияние на нервную систему [6]. Выявлены такие свойства, как противосудорожное, снижающее тревожность, успокоительное [11]. Показана профилактика нарушений поведения при хроническом стрессе, что, видимо, реализуется через синтез в гиппокампе мозгового нейротрофического фактора за счет активации пути pERK1/2-pCREB-BDNF [10]. На модели индуцированного $AlCl_3$ окислительного стресса и нейродегенеративных процессов в нервной системе (кора, гиппокамп) мышей показано защитное действие *Syzygium*

aromaticum L. в этой ситуации [7, 9]. Суммируя изложенное, можно сказать, что ЭМ гвоздичного дерева стабилизирует функционирование нервной системы, предупреждает развитие функционально-метаболических нарушений при стрессе и токсическом воздействии.

В предыдущих наших исследованиях показано, что при концентрации 1 мг/м^3 ЭМ гвоздичного дерева у людей, находящихся в состоянии покоя, улучшается психоэмоциональное состояние, повышается умственная работоспособность [4, 8].

При длительной умеренной физической нагрузке ЭМ гвоздичного дерева вызывает эуфорический эффект, превышающий эуфорическое действие физической нагрузки [5].

Все это послужило основанием для изучения влияния ЭМ гвоздичного дерева на лиц, находящихся в состоянии стресса, в частности, на студентов в учебном процессе.

Цель настоящего исследования заключалась в определении влияния эфирного масла гвоздичного дерева в концентрации 1 мг/м^3 на психоэмоциональное состояние и умственную работоспособность студентов разных возрастных групп во время учебных занятий.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Исследование проводилось на базе ГБОУВО РК «Крымский инженерно-педагогический университет» г. Симферополь. В нем принимали участие обучающиеся двух возрастных групп: 90 человек в возрасте от 17 до 21 года (очная форма обучения) и 60 – в возрасте 22 – 45 лет (заочная форма обучения). Все студенты были проинформированы о цели исследования и согласились на участие в нем. В контрольной группе испытуемые находились на учебном занятии без аромавоздействия. Испытуемым опытных групп проводили учебное занятие с испарением в атмосферу учебного помещения ЭМ гвоздичного дерева в концентрации 1 мг/м^3 . Испарение производили током теплого воздуха (около 40°C) с подложки, на которую наносили ЭМ соответственно объему помещения. Предварительными исследованиями (весовой метод) было установлено, что в течение 5 минут примерно 95% нанесенного ЭМ переходит в атмосферу помещения, к концу занятия (оценка по электрической проводимости воздуха в высоковольтном поле) в атмосфере сохраняется около 80% максимальной концентрации. Длительность аромавоздействия во время учебного занятия составляла 60 минут.

В состав ЭМ гвоздичного дерева входят — 83,62% эвгенола, 6,58% ацетилэвгенола, 4,53% транс-кариофилена, 3,06% лимонена, менее 1% α -кариофилена, α -пинена, р-цимена, 1,8-цинеола, кариофиленоксида. Компонентный состав данного эфирного масла определяли методом газожидкостной хроматографии на хроматографе Agilent Technology 6890 с масс-спектрометрическим детектором 5973.

Для определения психологического и психофизического состояния обучающихся до и после занятий (контроль) и до и после занятий в атмосфере ЭМ (опыт) проводили следующие тесты:

- Исследование самооценки состояния по методике Дембо-Рубинштейн в модификации А.М. Прихожан. Испытуемым предлагается оценить свое состояние на 7 шкалах, которые соответствовали таким показателями как общее состояние, самочувствие, настроение, психологическая напряженность, работоспособность, бодрость, внимательность) [1].

- Методика корректурной пробы (таблицы Иванова-Смоленского [2]), которая применяется для оценки внимания и утомляемости, темпа психомоторной деятельности и работоспособности.

Полученные в исследовании данные подвергали статистической обработке. Для решения вопроса о степени соответствия распределений нормальной кривой использовали тест Шапиро-Уилка. Для сопоставления результатов связанных и несвязанных выборок применяли t-критерий Стьюдента, критерий Вилкоксона и Манна-Уитни с помощью программы Statistika Analystsoft [3].

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

В младшей возрастной группе (17 – 21 год) исходные (до начала занятия и воздействия ЭМ гвоздичного дерева) значения изученных показателей психоэмоционального состояния обучающихся в контроле и в опыте не имели достоверных различий (таблица 1). В процессе занятий (контроль) значения ни одного из показателей психоэмоционального состояния обучающихся в контроле не претерпели достоверных изменений. При проведении занятий на фоне ароматизации атмосферы помещения ЭМ гвоздичного дерева к концу занятий в сравнении с исходными значениями достоверно улучшилась оценка общего состояния и снизилась психологическая напряженность. Оценка последней после занятий в опыте оказалась достоверно лучшей, чем в контроле. Также достоверно лучшей, чем в контроле, в конце занятий в опыте оказалась оценка настроения, хотя в сравнении с исходными значениями ни в опыте, ни в контроле достоверных изменений не было.

В старшей возрастной группе (22 – 45 лет) исходные (до начала занятия и воздействия ЭМ гвоздичного дерева) значения изученных показателей психоэмоционального состояния обучающихся в контроле и в опыте не имели достоверных различий (таблица 2). В процессе занятий (контроль) значения ни одного из показателей психоэмоционального состояния обучающихся в контроле не претерпели достоверных изменений. При проведении занятий на фоне ароматизации атмосферы помещения ЭМ гвоздичного дерева к концу занятий в сравнении с исходными значениями достоверно улучшилась оценка общего состояния и настроения. Оценка общего состояния после занятий в опыте оказалась на уровне тенденции лучшей, чем в контроле. Динамика оценки самочувствия в опыте оказалась не достоверной, его оценка после занятий в опыте оказалась достоверно лучшей, чем в контроле.

Таблица 1.

Влияние ЭМ гвоздичного дерева на самооценку психоэмоционального состояния обучающихся 17 – 21 года через 60 минут экспозиции во время учебного занятия (по показателям теста для исследования самооценки по методике Дембо-Рубинштейн в модификации А.М. Прихожан, мм шкалы)

Показатель	n	Группа	До	После	P
Общее состояние	45	контрольная	119,22±4,11	120,87±3,88	0,05
	45	опытная	120,73±3,33	127,91±4,19	
Самочувствие	45	контрольная	120,29±5,08	120,76±4,58	
	45	опытная	125,67±3,70	125,31±4,60	
Настроение	45	контрольная	124,42±4,28	124,67±4,26	
	45	опытная	129,40±5,20	136,93±4,03	
	$P_{к/о}$			0,05	
Напряженность – расслабленность	45	контрольная	117,78±3,79	120,44±3,90	0,001
	45	опытная	119,47±4,17	135,11±4,97	
	$P_{к/о}$			0,02	

Условные обозначения: P – достоверность различий данных до и после воздействия, $P_{к/о}$ – достоверность различий данных контрольной и опытной групп ($p < 0,05$).

Таблица 2.

Влияние учебного занятия с ЭМ гвоздичного дерева на самооценку психоэмоционального состояния обучающихся 22 – 45 лет через 60 минут экспозиции во время учебного занятия (по показателям теста для исследования самооценки по методике Дембо-Рубинштейн в модификации А.М. Прихожан, мм шкалы)

Показатель	n	Группа	До	После	P
Общее состояние	30	контрольная	111,40±4,75	110,56±3,98	0,005
	30	опытная	110,84±2,93	121,92±4,06	
	$P_{к/о}$			0,1	
Самочувствие	30	контрольная	108,64±5,07	109,20±4,02	
	30	опытная	114,64±3,63	123,00±4,95	
	$P_{к/о}$			0,05	
Настроение	30	контрольная	116,16±4,13	116,88±4,33	0,03
	30	опытная	115,28±4,92	125,12±4,75	
Напряженность – расслабленность	30	контрольная	116,24±5,47	114,76±5,40	
	30	опытная	109,32±3,50	116,60±6,19	

Условные обозначения: P – достоверность различий данных до и после воздействия, $P_{к/о}$ – достоверность различий данных контрольной и опытной групп ($p < 0,05$).

Таким образом, воздействие во время занятия эфирного масла гвоздичного дерева в концентрации 1 мг/м^3 оказало положительное влияние на психоэмоциональное состояние обучающихся обеих возрастных групп.

Исходные (до начала занятия и воздействия ЭМ гвоздичного дерева) значения изученных показателей тонуса обучающихся младшей возрастной группы в контроле и в опыте не имели достоверных различий (таблица 3). В процессе занятий (контроль) значения ни одного из показателей психоэмоционального состояния обучающихся в контроле не претерпели достоверных изменений. При проведении занятий на фоне ароматизации атмосферы помещения ЭМ гвоздичного дерева значения показателей работоспособности и бодрости также не претерпели достоверных изменений. Но оценка внимательности к концу занятий в опыте достоверно улучшилась. При этом в конце занятий в опыте оценка внимательности оказалась достоверно лучшей, чем в контроле.

Таблица 3.

Влияние ЭМ гвоздичного дерева на самооценку тонуса обучающихся 17 – 21 года через 60 минут экспозиции во время учебного занятия (по показателям теста для исследования самооценки по методике Дембо-Рубинштейн в модификации А.М. Прихожан, мм шкалы)

Показатель	n	Группа	До	После	P
Разбитость – работоспособность	45	контрольная	121,93±3,97	126,36±4,26	
	45	опытная	120,62±4,45	130,31±4,71	
Вялость – бодрость	45	контрольная	110,93±5,13	118,24±4,73	
	45	опытная	112,42±6,37	120,73±6,02	
Рассеянность – внимательность	45	контрольная	112,22±3,87	114,89±3,88	
	45	опытная	112,56±5,04	135,58±4,02	0,02
		$P_{к/о}$		0,01	

Условные обозначения: P – достоверность различий данных до и после воздействия, $P_{к/о}$ – достоверность различий данных контрольной и опытной групп ($p < 0,05$).

Исходные (до начала занятия и воздействия ЭМ гвоздичного дерева) значения изученных показателей тонуса обучающихся старшей возрастной группы в контроле и в опыте не имели достоверных различий (таблица 4). В процессе занятий значения ни одного из показателей психоэмоционального состояния обучающихся в контроле не претерпели достоверных изменений. При проведении занятий на фоне ароматизации атмосферы помещения ЭМ гвоздичного дерева значения все показателей также не претерпели достоверных изменений.

Таблица 4.

Влияние ЭМ гвоздичного дерева на самооценку тонуса обучающихся 22 – 45 лет через 60 минут экспозиции во время учебного занятия (по показателям теста для исследования самооценки по методике Дембо-Рубинштейн в модификации А.М. Прихожан, мм шкалы)

Показатель	n	Группа	До	После
Разбитость – работоспособность	30	контрольная	118,76±4,07	115,36±4,56
	30	опытная	115,00±4,45	118,56±6,26
Вялость – бодрость	30	контрольная	111,72±4,77	111,76±4,67
	30	опытная	111,88±3,20	116,64±6,74
Рассеянность – внимательность	30	контрольная	108,80±4,86	114,96±4,98
	30	опытная	118,12±4,83	120,12±6,43

Условные обозначения: Р – достоверность различий данных до и после воздействия ($p < 0,05$).

Исходные (до начала занятия и воздействия ЭМ гвоздичного дерева) значения изученных показателей умственной работоспособности обучающихся младшей возрастной группы (темп работы и ошибки в корректурной пробе) в контроле и в опыте не имели достоверных различий (таблица 5).

В процессе занятий как без ЭМ гвоздичного дерева (контроль), так и на фоне ароматизации атмосферы помещения (опыт) значения темпа работы не претерпели достоверных изменений, а количество ошибок достоверно возросло.

Таблица 5.

Влияние ЭМ гвоздичного дерева на умственную работоспособность (корректурная проба) обучающихся 17 – 21 года через 60 минут экспозиции во время учебного занятия

Показатель	Группа	n	До	После	Р
Темп на 1 минуте, знак/мин	контрольная	45	378,67±10,61	376,00±9,88	
	опытная	45	386,33±12,78	369,78±10,72	
Темп на 2 минуте, знак/мин	контрольная	45	380,00±10,57	366,58 ±10,13	
	опытная	45	385,67±16,39	373,51±11,27	
Ошибки на 1 минуте, знак	контрольная	45	1,58±0,30	2,91±0,36	0,003
	опытная	45	1,20±0,29	2,73±0,46	0,01
Ошибки на 2 минуте, знак	контрольная	45	2,00±0,37	3,09±0,45	0,01
	опытная	45	1,78±0,33	2,96±0,46	0,01

Условные обозначения: Р – достоверность различий данных до и после воздействия ($p < 0,05$).

Исходные (до начала занятия и воздействия ЭМ гвоздичного дерева) значения изученных показателей умственной работоспособности обучающихся старшей возрастной группы (темп работы и ошибки в корректурной пробе) в контроле и в опыте в основном не имели достоверных различий (таблица 6). Отмечено только достоверно меньшее количество ошибок на 2-й минуте теста в контроле, чем в опыте.

В то же время, исходные значения темпа работы в старшей группе и в контроле, и в опыте достоверно ниже, чем в младшей группе.

В процессе занятий (контроль) темп работы на 1-й минуте теста не претерпел достоверных изменений в сравнении с исходным, на 2-й минуте – достоверно снизился. Соответственно, темп работы в контроле после занятий в старшей группе достоверно ниже в сравнении с соответствующими контролями в младшей группе. Ошибки после занятий (контроль) в старшей группе не изменились и стали достоверно меньшими, чем в младшей.

При проведении занятий на фоне ароматизации атмосферы помещения ЭМ гвоздичного дерева темп работы в старшей группе достоверно увеличился на обеих минутах теста и достиг уровня темпа работы после занятий в младшей группе. При этом количество ошибок к концу занятий не изменилось на обеих минутах теста. В результате в опыте ошибки в старшей группе к концу занятий оказались достоверно меньшими, чем в младшей.

Таблица 6.

Влияние ЭМ гвоздичного дерева на умственную работоспособность (корректурная проба) обучающихся 22 - 45 лет через 60 минут экспозиции во время учебного занятия

Показатель	Группа	n	До	После	P
Темп на 1 минуте, знак/мин	контрольная	30	306,67±11,07	313,33±8,59	
	$P_{мл/ст}$		0,05	0,05	
	опытная	30	304,00±10,43	376,00±13,37	0,000004
	$P_{мл/ст}$		0,01		
	$P_{к/о}$			0,001	
Темп на 2 минуте, знак/мин	контрольная	30	308,00±10,35	236,67±9,41	0,03
	$P_{мл/ст}$		0,05	0,01	
	опытная	30	304,00±10,08	364,00±12,03	0,000001
	$P_{мл/ст}$		0,05		
	$P_{к/о}$			0,02	
Ошибки на 1 минуте, знак	контрольная	30	1,00±0,21	1,50±0,32	
	$P_{мл/ст}$			0,05	
	опытная	30	1,50±0,25	1,07±0,36	
	$P_{мл/ст}$			0,05	
Ошибки на 2 минуте, знак	контрольная	30	0,67±0,25	1,43±0,35	
	$P_{мл/ст}$			0,05	
	опытная	30	1,63±0,32	1,03±0,33	
	$P_{мл/ст}$			0,05	
	$P_{к/о}$		0,05		

Условные обозначения: P – достоверность различий данных до и после воздействия, $P_{к/о}$ – достоверность различий данных контрольной и опытной групп, $P_{мл/ст}$ – достоверность различий данных показателя между младшей и старшей группой ($p < 0,05$).

Таким образом, ЭМ гвоздичного дерева в обеих возрастных группах улучшило психоэмоциональное состояние обучаемых и слабо повлияло на самооценку тонуса.

При объективном тестировании умственной работоспособности в простых операциях выявилась разница между разными возрастными группами.

Во-первых, исходный темп работы в корректурной пробе в старшей группе достоверно ниже, чем в младшей на обеих минутах теста.

Во-вторых, в старшей возрастной группе можно обратить на большую в сравнении с младшей утомляемость, о чем говорит снижение в сравнении с исходным темпа работы в контроле на 2-й минуте теста.

В младшей возрастной группе исходно высокий темп работы не изменился при воздействии ЭМ гвоздичного дерева, но увеличилось количество ошибок, что позволяет говорить о рассеивании внимания. Возможно, необходимость напрягаться для поддержания внимания была интерпретирована испытуемыми как повышение внимательности в тесте самооценки тонуса.

В старшей возрастной группе в условиях исходно сниженного в сравнении с младшей группой темпа работы и его дальнейшего снижения на 2-й минуте теста в конце занятий в контроле ЭМ гвоздичного дерева повысило темп работы до уровня младшей группы. При этом количество ошибок не изменилось. Соответственно, ошибок в опыте в старшей группе оказалось достоверно меньше, чем в младшей.

Сопоставляя эти результаты с литературными данными о стимуляции ЭМ гвоздичного дерева синтеза в гиппокампе мозгового нейротрофического фактора [10], можно предположить, что это может быть одним из механизмов, улучшающих психоэмоциональное состояние и умственную работоспособность испытуемых.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

1. В обеих возрастных группах к концу занятия без воздействия ЭМ гвоздичного дерева (контроль) не отмечено достоверных изменений в сравнении с исходными самооценками психоэмоционального состояния и тонуса.
2. ЭМ гвоздичного дерева в обеих возрастных группах улучшило психоэмоциональное состояние обучаемых во время занятий, но практически не повлияло на самооценку тонуса.
3. В корректурной пробе в младшей возрастной группе исходное значение темпа работы на обеих минутах теста достоверно выше, чем в старшей. Достоверной разницы в ошибках нет.
4. В младшей возрастной группе в контроле темп работы к концу занятий не изменяется, а количество ошибок достоверно возрастает. В опыте (ЭМ гвоздичного дерева) динамика этих показателей такая же.
5. В старшей возрастной группе в контроле к концу занятий в сравнении с исходным темп работы на 1-й минуте теста не изменяется, а на 2-й – падает, количество ошибок не изменяется. В опыте (ЭМ гвоздичного дерева) темп работы к концу занятий возрастает в сравнении с исходным на обеих минутах теста и достигает соответствующего уровня младшей группы, а количество ошибок не изменяется и оказывается достоверно меньшим, чем в младшей группе.

Список литературы

1. Яньшин П.В. Клиническая психодиагностика личности. Учебно-методическое пособие. 2-е изд., испр. / Яньшин П.В. – СПб.: Речь, 2007. – 320 с.
2. Столяренко Л.Д. Основы психологии: Практикум / Л.Д. Столяренко. – Ростов-на-Дону: Феникс, 2006. – С. 42-44
3. Программа статистического анализа [Электронный ресурс]. – AnalystSoft Inc. United States, Chicago, 2017, Режим доступа: www.analystsoft.com/ru.
4. Лапшун Г.Н. Влияние эфирного масла гвоздичного дерева на фоне психорелаксационной программы на психоэмоциональное состояние и сердечно-сосудистую систему человека / Г.Н. Лапшун, В.В. Тонковцева, А.М. Ярош // Ароматкоррекция психофизического состояния человека: материалы 3-й международной научно- практической конференции (Ялта, 4 – 7 июня 2013 года). – Ялта, 2012. – С. 52-56.
5. Бекмамбетов Т.Р. Влияние дыхания эфирным маслом гвоздичного дерева в разных концентрациях на психофизиологическое состояние людей при физической нагрузке / Т.Р. Бекмамбетов, В.В. Тонковцева, Н.И. Литвинчук, А.М. Ярош // Бюллетень ГНБС. – 2015. – Вып.117. – С.20-25
6. Djilani A. The Therapeutic Benefits of Essential Oils, Nutrition, Well-Being and Health, Dr. Jaouad Bouayed (Ed.), / A. Djilani, A. Dicko // InTech, Available from: <http://www.intechopen.com/books/nutrition-well-being-and-health/the-therapeutic-benefits-of-essential-oils>
7. Kassab R.B., Bauomy A.A. The neuroprotective efficiency of the aqueous extract of clove (*Syzygium aromaticum*) in aluminium-induced neurotoxicity // International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences. – 2014. - Vol 6. - Issue 5. – P. 503-508
8. Тонковцева В.В. Аромавоздействие эфирного масла гвоздичного дерева на функциональное и психологическое состояния пожилых людей / В.В. Тонковцева, А.М. Ярош, И.А. Батура, Э.Э. Ибрагимова // Ученые записки Крымского инженерно-педагогического университета. Серия: Биологические науки. – 2018. – № 1-2. – С. 65-71.
9. Amber S., *Syzygium aromaticum* ethanol extract reduces AlCl₃-induced neurotoxicity in mice brain through regulation of amyloid precursor protein and oxidative stress gene expression / Amber S, Ali Shah SA, Ahmed T, Zahid S. // Asian Pac J Trop Med. – 2018. – Vol. 11. – Issue 2. – P. 123-130.
10. Liu B.B. Essential oil of *Syzygium aromaticum* reverses the deficits of stress-induced behaviors and hippocampal p-ERK/p-CREB/brain-derived neurotrophic factor expression / Liu B.B., Luo L., Liu X.L., Geng D., Li C.F., Chen S.M., Chen X.M., Yi L.T., Liu Q. // Planta Med. – 2015. – Vol. 81, № 3. – P. 185-192.
11. Azza A.A. Galal and Suhair A. Abdellatief Neuropharmacological studies on *Syzygium aromaticum* (clove) essential oil International / A.A. Azza // Journal of Pharma Sciences. – 2015. – Vol. 5, №. 2. – P.1013-1018.

IMPACT OF CLOVE TREE ESSENTIAL OIL ON THE PSYCHO-EMOTIONAL STATE OF STUDENTS

Yarosh A. M.¹, Ibragimova E. E.², Tonkovtseva V. V.¹, Koval E. S.¹, Bekmambetov T. R.¹

¹FSFIS “The Nikitsky Botanical Gardens – National Scientific Center of the RAS”, Nikita, Yalta, Crimea, Russia

²FSFIHE RC “The Crimean Engineering Pedagogical University”, Simferopol, Crimea, Russia
E-mail: valyalta@rambler.ru

The effect of clove tree essential oil (*Syzygium aromaticum* L.) on the psycho-emotional state and mental performance of students during training sessions in two age groups: 17-21 and 22-45 years is investigated. It was found that in both age groups, by the end of the session, without affecting the essential oil *Syzygium aromaticum* (control), there

were no significant changes in comparison with the initial self-evaluations of psycho-emotional state and tone. At the same time, the essential oil *Syzygium aromaticum* in both age groups had a positive effect on the psycho-emotional state of the trainees during the classes, but practically did not affect the self-esteem of the tone. In the correctional test in the younger age group, the initial rate of work in both minutes of the test was significantly higher than in the older one. In the younger age group in the control, the pace of work did not change by the end of the classes, and the number of errors increased significantly. In the experiment (the effect of the essential oil *Syzygium aromaticum*), the dynamics of these indicators was the same. In the older age group, in the control by the end of classes, compared to the initial rate of work, at the 1st minute of the test did not change, but at the 2nd minute, it decreased, while the number of errors made did not change. In the experiment (the effect of the *Syzygium aromaticum* essential oil), the rate of work by the end of the classes increased in comparison with the baseline in both minutes of the test and reached the corresponding level of the younger group, and the number of errors did not change and was significantly less than in the younger group.

Keywords: essential oil, clove tree, students, intellectual serviceability; psychoemotional state.

References

1. Yanshin P.V., Clinical psychodiagnostics of the person. *Educational and methodical gran*, 320 p (St. Petersburg: Speech, 2007).
2. Stolyarenko L.D., *Fundamentals of psychology: Practical work*, 44 p (Rostov-on-Don: Phoenix, 2006).
3. Program of a statistical analysis (Electronic resource) *AnalystSoft Inc. United States, Chicago*, 2017, www.analystsoft.com/ru.
4. Lapshun G.N., Tonkovtseva V.V., Yarosh A.M., Influence of an essential oil of a clove tree against the background of the psychorelaxational program on a psychoemotional condition and the cardiovascular system of the person, *Aromacorection of a psychophysical condition of the person: materials of the 3rd international scientific practical conference* (Yalta, on June 4 - 7, 2013).
5. Bekmambetov T. R., Tonkovtseva V.V., Litvinchuk N.I., Yarosh A.M., The breath impact by an essential oil of a clove tree in different concentration on a psychophysiological condition of people at an exercise stress, *The Bulletin SBGN*. 117, 20 (2015).
6. Djilani A., Dicko A. (2012). The Therapeutic Benefits of Essential Oils, Nutrition, Well-Being and Health, Dr. Jaouad Bouayed (Ed.), InTech, Available from: <http://www.intechopen.com/books/nutrition-well-being-and-health/the-therapeutic-benefits-of-essential-oils>.
7. Kassab R.B., Bauomy A.A. The neuroprotective efficiency of the aqueous extract of clove (*syzygium aromaticum*) in aluminium-induced neurotoxicity, *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*. 6 (5), 508 (2014).
8. Tonkovtseva V.V., Yarosh A.M., Batura I.A., Ibragimova E.E. Effect of the clove tree essential oil on the functional and psychological state of the elderly, *Scientific notes of the Crimean Engineering and Pedagogical University. Series of Biological Sciences*. 1-2, 71 (2018).
9. Amber S, Ali Shah SA, Ahmed T, Zahid S. *Syzygium aromaticum* ethanol extract reduces A β 1-37-induced neurotoxicity in mice brain through regulation of amyloid precursor protein and oxidative stress gene expression. *Asian Pac J Trop Med* 11 (2), 130 (2018).
10. Liu B.B., Luo L., Liu X.L., Geng D., Li C.F., Chen S.M., Chen X.M., Yi L.T., Liu Q. Essential oil of *Syzygium aromaticum* reverses the deficits of stress-induced behaviors and hippocampal p-ERK/p-CREB/brain-derived neurotrophic factor expression, *Planta Med*. 81 (3), 192 (2015).
11. Azza A. A. Galal and Suhair A. Abdellatif Neuropharmacological studies on *Syzygium aromaticum* (clove) essential oil, *International Journal of Pharma Sciences* 5 (2), 1018 (2015).

Ученые записки Крымского федерального университета имени В. И. Вернадского
Биология. Химия. Том 4 (70). 2018. № 4. С. 302–310.

УДК 544.723:54; 544.723.212

АДСОРБЦИЯ СУЛЬФОНОЛА НА БЕНТОНИТАХ КРЫМСКОГО МЕСТОРОЖДЕНИЯ

Крымова В. В., Филипповский С. С., Нетреба Е. Е.

*Таврическая академия (структурное подразделение) ФГАОУ ВО «Крымский федеральный университет им. В. И. Вернадского», Симферополь, Республика Крым, Россия
E-mail: 777milena@mail.ru*

Исследована адсорбция сульфонола (АПАВ) на бентоните Крымского месторождения (г. Бахчисарай). Сталагмометрическим, вискозиметрическим и кондуктометрическим методами установлена критическая концентрация мицеллообразования (ККМ) сульфонола, используемого в работе. Установлено, что изотермы адсорбции до $S_{ККМ}$ сульфонола имеют ленгмюровский характер. Проведена математическая обработка изотерм адсорбции по уравнению Ленгмюра. Определены физико-химические параметры процесса адсорбции на бентоните: константы адсорбционного равновесия, величины сорбционной емкости (СЕ) и степень извлечения (γ). Установлено, что бентониты Крымского месторождения обладают хорошими адсорбционными свойствами по отношению к АПАВ.

Ключевые слова: бентонит КМ (Крымского месторождения), АПАВ-анионогенное поверхностно-активное вещество (сульфонол), критическая концентрация мицеллообразования (ККМ), адсорбция.

ВВЕДЕНИЕ

Анионогенные синтетические поверхностно-активные вещества (ПАВ) в настоящее время применяются в различных отраслях промышленности: химической, нефтяной, целлюлозно-бумажной, фармацевтической и других. ПДК синтетических ПАВ в очищенной воде зависит от класса соединения и составляет 0,1–0,5 мг/л [1, 2]. Накапливаясь в сточных водах, они оказывают неблагоприятные воздействия на флору и фауну, ухудшают органолептические свойства воды. При концентрациях, превышающих ПДК, ПАВ нарушают кислородный обмен и замедляют процесс фотосинтеза, что впоследствии приводит к гибели гидробионтов [3].

Одним из распространённых способов очистки сточных вод является сорбционный метод. В настоящее время актуальна проблема изучения и практического применения эффективных, дешёвых сорбентов на основе природных минералов и глин [4]. В Крыму имеются месторождения бентонитов, известных

своими сорбционными свойствами [4]. Однако сведения об адсорбции синтетических ПАВ ограничены.

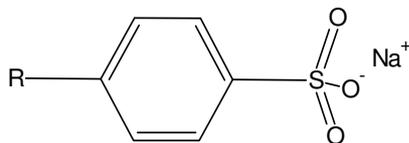
Целью данной работы является исследование адсорбционных свойств монтмориллонитовой глины (бентонит Крымского месторождения, г. Бахчисарай) по отношению к анионогенным ПАВ (АПАВ).

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В работе исследовался бентонит (г. Бахчисарай, Республика Крым). Бентонит входит в группу монтмориллонита, химический состав которого соответствует формуле: $(\text{Na}, \text{Ca})_{0,33}(\text{Al}, \text{Mg})_2\text{SiO}_4(\text{OH})_2 \cdot n\text{H}_2\text{O}$. Минеральный состав бентонита КМ: монтмориллонит 80–85%, каолинит 10–15%, примеси (слюды, кварца, гидроксидов, карбонатов) 5–10% [5].

Для исследования адсорбции использовались природные бентониты дисперсностью 3–5 мм. Образцы бентонита предварительно прокачивали при 100–120°C. В качестве АПАВ использовался сульфонол (ТУ 07510508.135-98, производство Русхим).

Сульфонол – алкилбензолсульфонат, смесь гомологов натриевых солей алкилбензолсульфокислот. Общая формула: $\text{C}_n\text{H}_{2n+1}-\text{C}_6\text{H}_4\text{SO}_3\text{Na}$, где $n=14-18$, хорошо растворим в воде,



где: $\text{R}=\text{C}_n\text{H}_{2n+1}$, и $n=14-18$. Содержание натриевых солей алкилбензолсульфокислот – не менее 80%, Na_2SO_4 – не более 15% [6].

В работе исследовались водные растворы сульфонола. Одной из отличительных особенностей ПАВ является возможность существования как в виде истинных растворов, так и в виде мицеллярных. Для коллоидных растворов характерна критическая концентрация мицеллообразования (ККМ), при достижении которой происходит агрегация молекул с образованием мицелл [7].

Для исследования были приготовлены водные растворы сульфонола с концентрациями от 20 до 200 мг/л. Определение ККМ растворов сульфонола осуществляли по исследованию зависимостей поверхностного натяжения, электропроводности и вязкости от общей концентрации АПАВ в растворе.

Определение ККМ по изменению поверхностного натяжения от концентрации проводились сталагмометрически (диаметр капилляра 0,54 мм) при температуре 22°C. Полученные результаты показали, что ККМ растворов сульфонола соответствует области 150–160 мг/л.

Определение ККМ по изменению вязкости проводились с помощью вискозиметра, диаметр капилляра 0,87 мм, при температуре 24°C, в интервале концентраций раствора АПАВ от 20 до 200 мг/л. Зависимость удельной вязкости от концентрации растворов сульфонола представлена на рис. 1. Как видно, экстремум кривой наблюдается при концентрации сульфонола 150 мг/л.

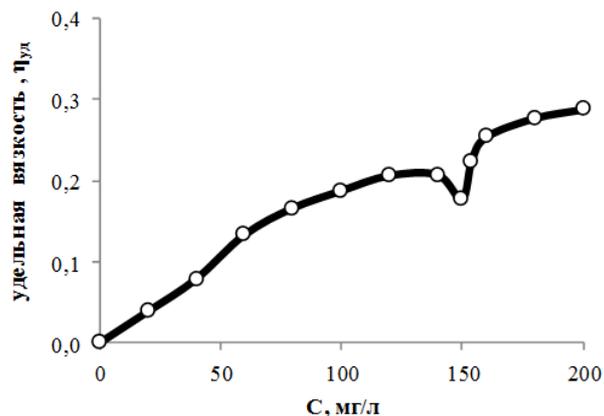


Рис. 1. Зависимость удельной вязкости растворов сульфанола от концентрации, при температуре 24°C.

Для измерения электропроводности в водных растворах сульфанола использовали метод прямой кондуктометрии. Данный физико-химический метод анализа основан на измерении удельной электрической проводимости растворов [8]. Измерение электропроводности исследуемых растворов проводилось с помощью платинового датчика на установке Собра 4 при температуре 24°C. Для этого при указанной температуре установку калибровали по стандартному раствору: HANNA INSTRUMENTS HI 7031 L (1413 мкСм/см) при 298К. При 24°C, электропроводность стандартного раствора составила: $\chi=1386$ мкСм/см, что является константой ячейки.

Результаты по измерению удельной электропроводности в зависимости от концентрации растворов сульфанола приведены на рис. 2, откуда видно, что четкий экстремум наблюдается в интервале концентраций растворов сульфанола 150–155 мг/л.

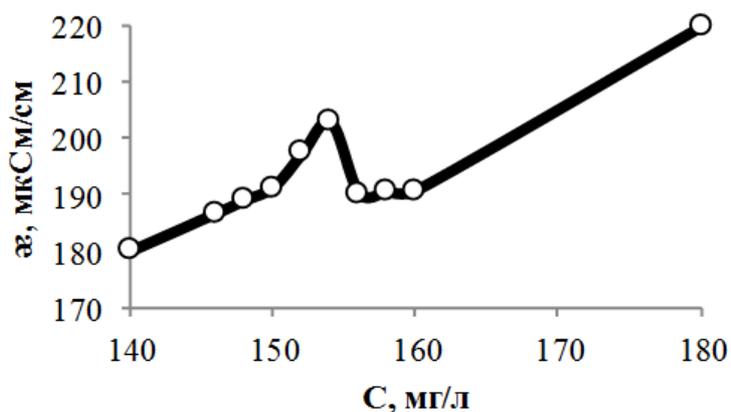


Рис. 2. Зависимость удельной электропроводности растворов сульфанола для интервала концентраций 140–180 мг/л, при температуре 24°C.

Таким образом, экспериментально определенное значение ККМ растворов АПАВ тремя методами (сталагмометрическим, вискозиметрическим, кондуктометрическим) показало, что ККМ данного образца сульфанола достигается при концентрации, равной 150 мг/л.

Адсорбцию сульфанола проводили в статическом режиме при температуре 24°C. Метод исследования адсорбции из растворов основан на определении концентрации исходного раствора и определении концентрации АПАВ, оставшегося не адсорбированным. При исследовании адсорбции брали бентонит массой 2 г с дисперсностью 3–5 мм и добавляли по 50 мл раствора сульфанола с концентрацией от 20 до 180 мг/л. По истечении 1, 2, 3, 4, и 20 часов, по зависимости $\sigma=f(C)$, с помощью метода граничных концентраций находили остаточную (равновесную) концентрацию сульфанола.

Величину адсорбции (A) рассчитывали по формуле:

$$A = (C_0 - C_{\text{равн}}) \cdot V/m \quad (1)$$

где: A – величина адсорбции, (мг/г); C_0 – исходная концентрация сульфанола, (мг/л); $C_{\text{равн}}$ – равновесная концентрация сульфанола (мг/мл); m – масса адсорбента, (г); V – начальный объем раствора, (мл).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Адсорбция ПАВ из растворов на твердых адсорбентах зависит от следующих факторов: природы сорбента, его дисперсности, концентрации растворов АПАВ, температуры, времени сорбции. По результатам измерения поверхностного натяжения от концентрации растворов АПАВ до и после адсорбции получены изотермы адсорбции (рис. 3).

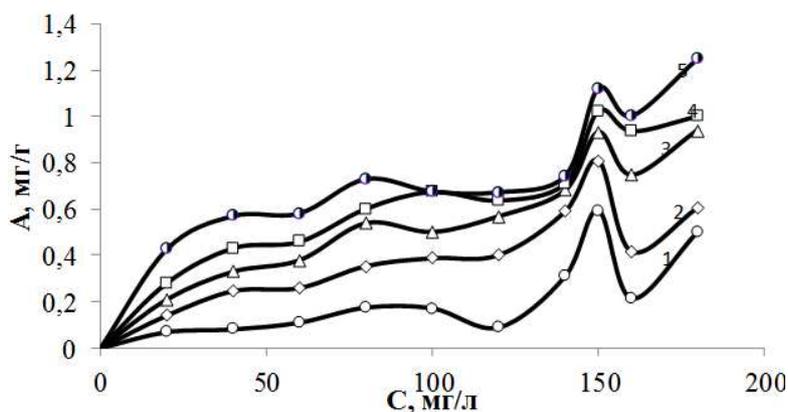


Рис. 3. Изотермы адсорбции сульфанола из водных растворов в зависимости от исходной концентрации растворов и времени адсорбции на бентоните: кривая 1 – 1 час от начала адсорбции; кривая 2 – 2 часа от начала адсорбции; кривая 3 – 3 часа от начала адсорбции; кривая 4 – 4 часа от начала адсорбции; кривая 5 – 20 часов от начала адсорбции.

Как видно из графических зависимостей (рис. 3), на адсорбцию анионоактивных ПАВ на твёрдых сорбентах влияет значение ККМ. При концентрации ниже ККМ изотермы имеют Ленгмюровский характер. Адсорбционный слой близок к мономолекулярной структуре с горизонтальной ориентацией молекулы относительно поверхности фаз. В области ККМ величина адсорбции резко возрастает, что соответствует более сложной структуре адсорбционного слоя. При $C_{\text{ПАВ}} \geq C_{\text{ККМ}}$ начинается ассоциация молекул ПАВ и формирование полимолекулярного адсорбционного слоя [9].

Полученные изотермы адсорбции сульфонола до $C_{\text{ККМ}}$ описываются уравнением Ленгмюра [10]:

$$A = A_{\infty} (K \cdot C) / (1 + K \cdot C) \quad (2)$$

где: A – величина адсорбции, мг/г; A_{∞} – предельная адсорбция; K – константа адсорбционного равновесия; C – концентрация раствора мг/л.

Решение уравнения (2) в линейных координатах $1/A = f(1/C)$ позволило графическим способом определить константы уравнения: A_{∞} – предельную адсорбцию и K – константу адсорбционного равновесия. Также была рассчитана свободная энергию Гиббса ΔG по уравнению изотермы:

$$\Delta G = -RT \ln K \quad (3)$$

где: R – универсальная газовая постоянная, равная 8,314 (Дж/моль·К); T – температура процесса адсорбции (К); K – константа адсорбционного равновесия.

Полученные данные представлены в табл. 1.

Таблица 1
Константы уравнения Ленгмюра и значения свободной энергии Гиббса

Сорбент	Т, К	Время, ч	К	A_{∞} , мг/г	ΔG , кДж/моль
Бентонит	297	3	0,015	0,88	-10,31
Бентонит	297	4	0,022	0,90	-9,38

Полученные экспериментальные данные по исследованию адсорбции АПАВ (сульфонола) на бентоните позволили определить количественные характеристики сорбента и процесса сорбции: время сорбции, сорбционную емкость (СЕ) и степень извлечения (γ). Результаты определения этих величин приведены в таблице 2. По данным табл. 2 построены графические зависимости: сорбционная емкость (СЕ) от концентрации (рис.4); и степень извлечения (γ) от концентрации сульфонола (рис. 5).

Как видно из рис. 4–5 и табл. 2 с увеличением времени сорбции сорбционная емкость увеличивается, а максимальная степень извлечения сульфонола достигает 40–85% для интервала концентрации сульфонола 20–60 мг/л в течение 20 часов. После достижения концентрации, равной ККМ, степень извлечения сульфонола понижается. Однако при увеличении времени контакта растворов сульфонола с бентонитом степень извлечения увеличивается.

Таблица 2

Физико-химические характеристики процессов адсорбции сульфанола на бентонитах

Концентрация сульфанола, мг/л	Время сорбции, час									
	1 час		2 час		3 час		4 час		20 час	
	СЕ, мг/г	γ , %	СЕ, мг/г	γ , %	СЕ, мг/г	γ , %	СЕ, мг/г	γ , %	СЕ, мг/г	γ , %
20	0,07	13,8	0,14	28,1	0,21	42,0	0,28	56,2	0,43	85,3
40	0,08	8,1	0,25	24,6	0,33	33,0	0,43	43,2	0,57	56,9
60	0,11	7,3	0,26	17,3	0,38	25,2	0,46	30,6	0,58	38,7
80	0,17	8,7	0,35	17,7	0,54	26,9	0,60	30,1	0,73	36,4
100	0,17	6,8	0,39	15,5	0,50	20,0	0,67	27,0	0,67	27,0
120	0,09	3,0	0,40	13,4	0,57	18,9	0,64	21,2	0,67	22,4
140	0,31	8,8	0,59	16,8	0,68	19,4	0,71	20,3	0,74	21,2
150	0,59	15,8	0,81	21,6	0,93	24,8	1,02	27,3	1,12	29,8
160	0,21	5,3	0,42	10,4	0,75	18,7	0,94	23,4	1,00	25,0
180	0,50	11,1	0,61	13,5	0,94	20,9	1,00	22,2	1,25	27,7

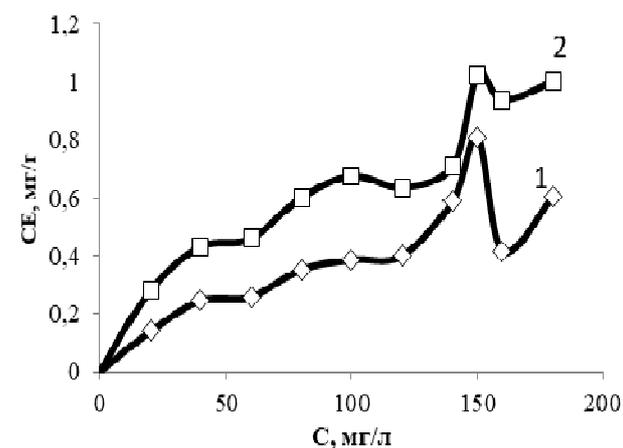


Рис. 4. Зависимость сорбционной емкости от концентрации растворов сульфанола: кривая 1 – после 2 часов от начала адсорбции; кривая 2 – после 4 часов от начала адсорбции.

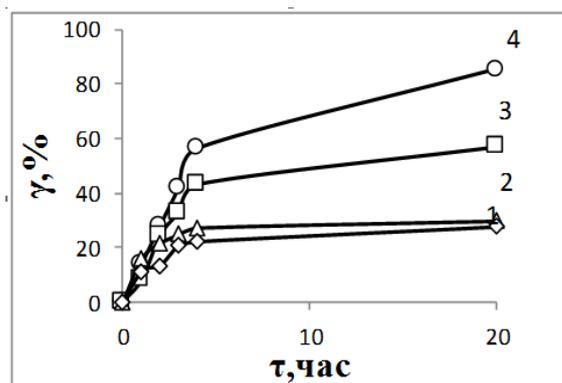


Рис. 5. Зависимость степени извлечения сульфанола из раствора от времени: кривая 1 – $C=180$ мг/л; кривая 2 – $C=150$ мг/л; кривая 3 – $C=40$ мг/л; кривая 4 – $C=20$ мг/л.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

1. Полученные результаты показали, что степень извлечения сульфанола из растворов зависит от массы сорбента, концентрации исходного раствора АПАВ и времени сорбции.
2. Определены физико-химические параметры процессов сорбции сульфанола на бентоните: ККМ сульфанола (150 мг/л), энергия Гиббса, константы адсорбционного равновесия, величины сорбционной емкости (СЕ) и степени извлечения (γ).
3. Установлено, что при оптимальных значениях параметров сорбции степень очистки воды от сульфанола на бентоните КМ достигает 85%.

Список литературы

1. Пааль, Л.Л. Справочник по очистке природных и сточных вод / Л.Л. Пааль. – М.: Высшая школа, 1994. – 332 с.
2. Лебедева, Г.Е. Определение поверхностно-активных веществ в судовых условиях / Г.Е. Лебедева, И.Б. Лескова. – Л.: Химия, 1987. – 85 с.
3. Николадзе, Г.И. Технология очистки природных вод: учеб. для вузов. / Г.И. Николадзе. – М.: Высшая школа, 1987. – 476 с.
4. Тарасевич, Ю.И. Адсорбция на глинистых минералах / И.Ю. Тарасевич. – К.: Наукова думка, 1975. – 352 с.
5. Когановский, А.М. Физико-химические основы извлечения поверхностно-активных веществ из водных растворов и сточных вод / А.М. Когановский, Н.А. Клименко. – К.: Наукова думка, 1978. – 175 с.
6. Поверхностно-активные вещества и композиции: справочник / под ред. М.Ю. Плетнева. – М.: Клавель, 2002. – 768 с.
7. Сумм, Б.Д. Основы коллоидной химии. / Б.Д. Сумм. – уч. для вуз. – М.: Академия, 2007. – 240 с.
8. Нечипоренко, А.П. Физико-химические (инструментальные) методы анализа. Электрохимические методы. Потенциометрия и кондуктометрия: Учеб. – метод. пособие / Под ред. В.В. Кириллова. – СПб.: НИУ ИТМО; ИХиБТ, 2013. – 34 с.

9. Холмберг, К. Поверхностно-активные вещества и полимеры в водных растворах / К. Холмберг, Б. Йёнссон, Б. Кронберг; Пер. с англ. – М.: БИНОМ. Лаборатория знаний, 2007. – 528 с.
10. Стромберг, А.Г. Физическая химия / А.Г. Стромберг, Д.П. Семченко; под ред. А.Г. Стромберга – М.: Высшая школа, 2001. – 527 с.

ADSORPTION OF SULFONOL ON BENTONITES OF THE CRIMEAN FIELD

Krymova V. V., Filippovskiy S. S., Netroba E. E.

*V. I. Vernadsky Crimean Federal University, Simferopol, Russia
E-mail: 777milena@mail.ru*

Adsorption of sulfonol (ASAS) on the bentonite of the Crimean field (Bakhchisarai) was studied. Bentonite is part of the montmorillonite group, whose chemical composition corresponds to the formula: $(\text{Na,Ca})_{0,33}(\text{Al,Mg})_2\text{SiO}_4(\text{OH})_2 \cdot n\text{H}_2\text{O}$. As an ASAS, sulfonol ($\text{C}_n\text{H}_{2n+1}-\text{C}_6\text{H}_4\text{NaO}_3\text{S}$, where $n=14-18$). Was used physico-chemical methods for determination of CMC sulfonol were used in the work: stigmometric, viscometric and conductometric. The value of the CMC sulfonol, determined by these methods, was 150 mg/l.

Adsorption of sulfonol from aqueous solutions was carried out at a temperature of 24°C for 20 hours. The concentration of sulfonol in the solutions was 20 to 200 mg/l. Based on the results of the study of the adsorption from the concentration of sulfonol, adsorption isotherms were obtained.

It has been established that adsorption isotherms up to C_{CMM} sulfonol have Langmuir character, which means that the adsorption layer is close to the monomolecular structure. The mathematical treatment of adsorption isotherms by the Langmuir equation was carried out, and the adsorption equilibrium constants (K) and the limiting adsorption A_∞ were found. Also, the free Gibbs energy (ΔG).

The physico-chemical parameters of the adsorption process (adsorption equilibrium constants, sorption capacity, and the recovery) on bentonite are determined. The results of the study show that the degree of extraction of sulfonol from solutions depends on the sorbent mass, the concentration of the initial solution and the time of sorption. It was found that at optimal values of sorption parameters the degree of water purification from sulfonol on bentonite reaches 85%.

Keywords: bentonite (Crimean field), ASAS-anionic surfactant (sulfonol), critical micelle concentration (CMC), and adsorption.

References

1. Paal L.L., *Handbook on the purification of natural and waste water*, 332 p. (Higher School, Moscow, 1994). (in Russ.)
2. Lebedeva G.E., Leskov I.B., *Determination of surfactants in ship conditions*, 85 p. (Chemistry, 1987). (in Russ.)
3. Nikoladze G.I., *Technology of natural water purification*, 476 p. (Higher School, Moscow, 1987). (in Russ.)
4. Tarasevich Y.I., *Adsorption on clay minerals*, 352 p. (Scientific thought, Kiev, 1975). (in Ukr.)

5. Koganovskiy A.M., Klimenko. N.A., *Physico-chemical basis for the extraction of surfactants from aqueous solutions and wastewater*, 175 p. (Scientific thought, Kiev, 1978). (in Ukr.)
6. Pletneva M.Y., *Surface-active substances and compositions: reference book*, 768 p. (Klavel, Moscow, 2002). (in Russ.)
7. Summ B.D., *Fundamentals of colloid chemistry*, 240 p. (Academy, Moscow, 2007). (in Russ.)
8. Nechiporenko A.P., *Physico-chemical (instrumental) methods of analysis. Electrochemical methods. Potentiometric and conductometric*, 34 p. (ITMO, SPetersburg., 2013). (in Russ.)
9. Holmberg K., Jönsson B., Kronberg B., Lindman B., *Surface-active substances and polymers in aqueous solutions*, 528 p. (BINOM. Laboratory of Knowledge, Moscow, 2007). (in Russ.)
10. Stromberg A.G., Semchenko D.P., *Physical chemistry*, 527 p. (High School, Moscow, 2001). (in Russ.).

УДК 544.7

ВЛИЯНИЕ ХИТОЗАНА НА ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА АЛЬГИНАТА НАТРИЯ

Панов Д. А.

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

Методами вискозиметрии, рН-метрии и УФ-спектроскопии исследовано влияние низкомолекулярного водорастворимого хитозана на физико-химические свойства низковязкого альгината натрия. Частичная замена альгината натрия хитозаном не вызывает существенных изменений рН и оптической плотности раствора альгината. Однако наблюдается значительное снижение вязкости раствора альгината, что объясняется образованием водорастворимого (нестехиометричного) полиэлектролитного комплекса. При смешивании разбавленных растворов полисахаридов при соотношении компонентов 1:1 образуется нерастворимый (стехиометричный) комплекс, наблюдается резкое снижение относительной вязкости, рН и увеличение оптической плотности альгината.

Ключевые слова: альгинат натрия, хитозан, вискозиметрия, рН-метрия и УФ-спектроскопия, полиэлектролитный комплекс.

ВВЕДЕНИЕ

В настоящее время отмечается возрастающий интерес к природным полимерам растительного и животного происхождения, в частности, к полисахаридам (альгинат, пектин, хитозан, каррагинан и другие). Широкое использование этих полимеров связано с их биологическими свойствами – биосовместимостью, способностью к биodeградации, низкой токсичностью, доступностью и дешевизной сырья. Наиболее перспективными биополимерами являются альгинат натрия и хитозан. Альгинаты – природные водорастворимые полисахариды, построенные из остатков β -D-маннурановой и α -L-гулурановой кислот, находящихся в пиранозной форме и соединенных 1→4-гликозидными связями. Соли альгиновой кислоты обладают стабилизирующими и желирующими свойствами, способностью выведения из организма ионов тяжелых металлов [1, 2]. Хитозан – дезацетилированное производное хитина, являющееся вторым распространенным природным полимером после целлюлозы. Хитозан – поликатионный линейный полимер, проявляющий антибактериальные, противоопухолевые, ранозаживляющие свойства [3]. Альгинат натрия и хитозан находят применение практически во всех областях: фармакологии, медицине, биотехнологии, пищевой промышленности и сельском хозяйстве [1–3]. В последние годы ведутся интенсивные исследования по изучению нового класса биополимеров – полиэлектролитных комплексов (ПЭК), разноименно заряженных

полисахаридов. ПЭК биополимеров зачастую обладают другими физико-химическими свойствами и биологической активностью, что значительно расширяет спектр областей применения исходных полимеров. В различных областях промышленности, медицины, фармакологии широко применяются биоразлагаемые ПЭК в качестве носителей биологически активных соединений, пролонгаторов, загустителей, эмульгаторов и наполнителей [4, 5]. Согласно литературным данным образование альгинат–хитозанового комплекса осуществляется за счет электростатических взаимодействий между карбоксильными группами альгината и аминогруппами хитозана, а также за счет водородных связей, возникающих между отдельными макромолекулами и дисперсионных взаимодействий [6–8]. Смесь альгината и хитозана с добавлением солей двухосновных кислот используют для формоустойчивых гидрогелиевых матриц, предназначенных для адресного пролонгированного высвобождения лекарственных препаратов в пораженных полостях [9, 10]. Водорастворимые альгинат-хитозановые комплексы находят применение в рыбной промышленности для стабилизации крабовых палочек и получения высокотехнологичного льда для охлаждения гидробионтов [11].

В литературе последних лет наблюдается рост числа публикаций, в которых альгинат натрия и хитозан выступают в качестве стабилизирующей биополимерной оболочки, покрывающей наночастицы золота, серебра и селена [12–15]. Однако в литературе отсутствуют данные об использовании альгинат–хитозановых ПЭК с целью повышения агрегативной устойчивости наночастиц металлов и неметаллов.

Данная работа является продолжением исследований по поиску природных полимеров для стабилизации агрегативной устойчивости наночастиц серебра и селена. Целью настоящей работы явилось изучение влияния низкомолекулярного водорастворимого хитозана на физико-химические свойства низковязкого альгината натрия. Получение водорастворимого (нестехиометричного) полиэлектролитного альгинат-хитозанового комплекса.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В качестве объектов исследования использовали низкомолекулярный водорастворимый хитозан со степенью дезацетилирования около 75% («Биопрогресс», Россия), низковязкий альгинат натрия («BioPolymer», Норвегия).

Растворы соляной кислоты готовили из фиксанала, NaOH (0,05 N) готовили из концентрированных растворов и стандартизировали по щавелевой кислоте. Молекулярные массы и вязкость разбавленных растворов полимеров и их смесей определяли с использованием вискозиметра Оствальда ($d=0,56$ и $0,73$ мм) при температуре 23 °С. Измерения проводили не менее трех раз. Характеристические вязкости исходных полисахаридов определяли экстраполяционным методом из концентрационных зависимостей приведенной вязкости. Средневязкостные молекулярные массы рассчитывали по уравнению Марка-Куна-Хауванка:

$$[\eta] = K \cdot M^{\alpha}, \quad (1)$$

где $[\eta]$ – характеристическая вязкость дл/г, K и α – эмпирические константы; M – средневязкостная молекулярная масса.

Молекулярные массы хитозана определяли в растворе, содержащем в 1 литре 0,33 М уксусной кислоты и 0,3 М хлорида натрия, а альгината натрия – в 0,1 М хлориде натрия [6, 16, 17].

Определение содержания функциональных групп в полимерах проводили согласно методикам [3, 6, 16, 17] потенциометрическим методом на иономере АНИОН 4100 со стеклянным комбинированным электродом ($\Delta=0,05$ рН, $t=23$ °С). Содержание свободных карбоксильных групп (Кс, %) в альгинате натрия рассчитывали по формуле:

$$Kc = \frac{C_{NaOH} \cdot V_{NaOH} \cdot 45}{m_{алг} \cdot 1000} \cdot \frac{V_{колбы}}{V_{ал}} \cdot 100\% \quad (2)$$

где $m_{алг}$ – навеска полисахарида, г; 45 – коэффициент эквивалентности щелочи карбоксильным группам; V_{NaOH} – объем щелочи, пошедший на титрование, мл.

Измерение оптических плотностей растворов индивидуальных полисахаридов и альгинат-хитозановых ПЭК проводили при температуре 23 °С на спектрофотометре Shimadzu UV-1280 (Япония) в диапазоне длин волн от 200 до 700 нм; в режиме сканирования спектра, шаг сканирования составил 1 нм, со стандартными настройками; в кварцевых кюветках с длиной оптического пути 1 см.

Спектры поглощения были сняты в области 4000–500 $см^{-1}$ на ИК-Фурье-спектрометре фирмы PerkinElmer Spectrum Two (США). Возможности прибора позволяют проводить сканирование в широком диапазоне ИК-спектра 4000–400 $см^{-1}$ (2,5–25 мкм) с малым шагом сканирования. Сила прижимного действия 84 единицы при этом делается 5 сканов. Скорость сканирования 1,4–25,5 мм/с. Альгинат натрия был взят в виде порошка. ИК-спектроскопическим методом определяли соотношение β -D-маннурановой (М) и α -L-гулурановой (G) кислот в альгинате натрия. Наличие в полимерной цепи маннурановой кислоты определяется в ИК-спектре по полосе поглощения валентных колебаний пиранозного кольца 809 $см^{-1}$, а наличие гулурановой кислоты – при 776 $см^{-1}$. Соотношение полос 809 $см^{-1}$ и 776 $см^{-1}$ определяет соотношение количества маннурановых остатков к гулурановым (М/G) [18].

Реакционные смеси готовили смешиванием эквимольных водных растворов альгината натрия и хитозана в объёмных соотношениях от 1:9 до 9:1. Изменение физико-химических свойств альгината в присутствии хитозана изучали вискозиметрическим, рН-метрическим и УФ-спектроскопическим методами

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Биологическая активность природных полимеров (хитозана и альгината) зависит от молекулярной массы. Известно, что низкомолекулярные водорастворимые формы хитозана являются перспективными соединениями вследствие их высокой антимикробной активности, биосовместимости с тканями организма и низкой токсичности. На основании характеристических вязкостей исходных полимеров по уравнению (1) были рассчитаны средневязкостные молекулярные массы. Для хитозана она составила 10 кДа, а для альгината – 150 кДа.

На реологические свойства альгината существенное влияние оказывает содержание D-маннуровой и L-гулуриновой кислот. Альгинатный гель не образуется, если содержание гулуриновой кислоты меньше 20–25%. Альгинаты с низким соотношением кислот (M/G) дают более твердый гель, а с высоким – более эластичный. Причем соотношение кислот колеблется в интервале от 0,5 до 3,0 ИК-спектроскопическим методом определили соотношение кислот (M/G), равное 1,04. Таким образом, для данного альгината характерно образование эластичного геля. Потенциометрическим методом по формуле (2) определили содержание свободных карбоксильных групп в альгинате, равное 12,6% (в пересчете на сухое вещество) и аминогрупп в хитозане – 6,0%.

Согласно полученным данным были приготовлены эквимольные разбавленные растворы полисахаридов (в пересчете на функциональные группы), концентрация альгината 0,031 г/дл, а хитозана – 0,050 г/дл. На Рис. 1 представлены кривые изменения вязкости индивидуальных полимеров и их смесей.

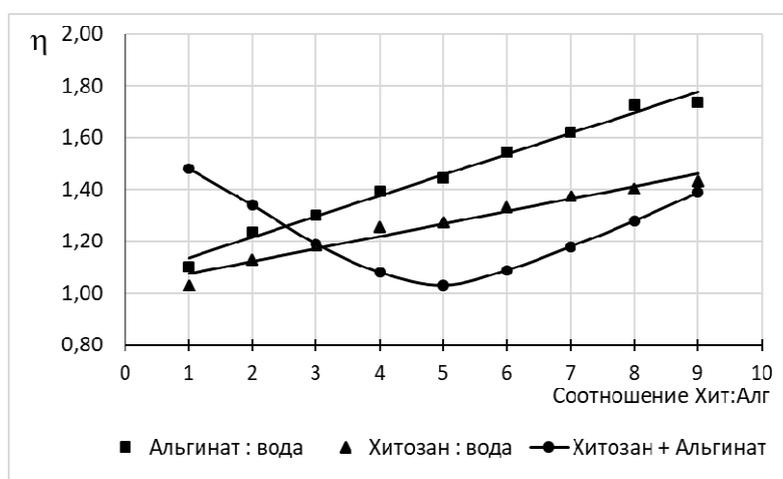


Рис. 1. Зависимость относительной вязкости раствора альгината, хитозана и их смесей от массового соотношения.

С увеличением содержания индивидуальных веществ альгината и хитозана в растворе относительная вязкость возрастает. При рассмотрении изменения вязкости альгината в присутствии хитозана видно, что при добавлении небольших количеств хитозана наблюдается снижение вязкости смеси по сравнению с чистым альгинатом при одинаковой концентрации. Согласно литературным данным это снижение можно объяснить электростатическим взаимодействием полисахаридов, то есть отрицательно заряженные карбоксильные группы альгината блокируются положительно заряженными аминогруппами хитозана, что приводит к снижению гидродинамических свойств раствора альгината. В этом случае альгинат–хитозановая система представляет собой раствор, в котором образуются агрегаты со структурой ядро–оболочка. Ядро образовано ПЭК, а оболочка гидрофильными функциональными группами альгината [6, 18]. Наибольшее снижение

относительной вязкости смеси полимеров наблюдается при соотношении альгината к хитозану, равном 1:1. В данном случае образуется нерастворимый стехиометричный полиэлектролитный комплекс. При дальнейшем прибавлении хитозана относительная вязкость возрастает. Это можно объяснить появлением избыточных количеств аминогрупп в растворе. В избытке хитозана (при соотношении хитозан:альгинат, равном 9:1) ПЭК растворяется. Таким образом, при добавлении хитозана к раствору альгината происходит образованием ПЭК как стехиометричных водонерастворимых, так и нестехиометричных водорастворимых комплексов.

На рисунке 2 представлены кривые изменения рН растворов альгината, хитозана и их смесей.

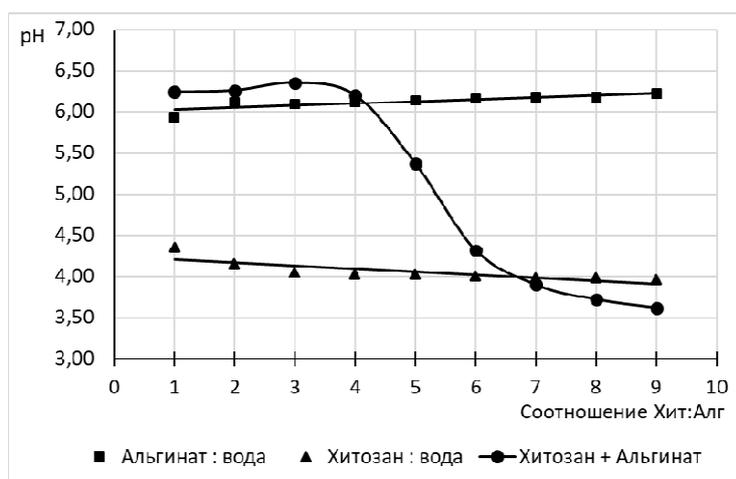


Рис. 2. Изменения рН растворов альгината, хитозана и их смесей при различных соотношениях.

С увеличением концентрации альгината натрия в растворе рН постепенно увеличивается (от 5,94 до 6,18), для хитозана наблюдается, наоборот, снижение рН (от 4,35 до 3,95). При добавлении небольших количеств раствора хитозана к альгинату наблюдается незначительное повышение рН. Это объясняется тем, что в реакции участвуют карбоксильные группы гулурановой и маннуроновой кислот. В области образования стехиометричного ПЭК происходит резкое снижение рН от 6,35 до 5,40). При дальнейшем добавлении избытка хитозана наблюдается дальнейшее снижение рН до 3,62.

Образование водорастворимых и водонерастворимых альгинат–хитозановых комплексов подтверждается УФ-спектроскопическим методом. Следует отметить, что в области длин волн от 200 до 700 нм для индивидуальных полимеров не наблюдается поглощения. На рисунке 3 представлен график изменения оптической плотности смесей альгината с хитозаном в зависимости от соотношения полимеров при длине волны 315 нм.

При добавлении раствора хитозана к альгинату натрия в соотношении хитозан:альгинат, равном 1:9 наблюдается незначительное повышение оптической плотности, равное 0,04, что свидетельствует о формировании растворимых комплексов переменного состава.

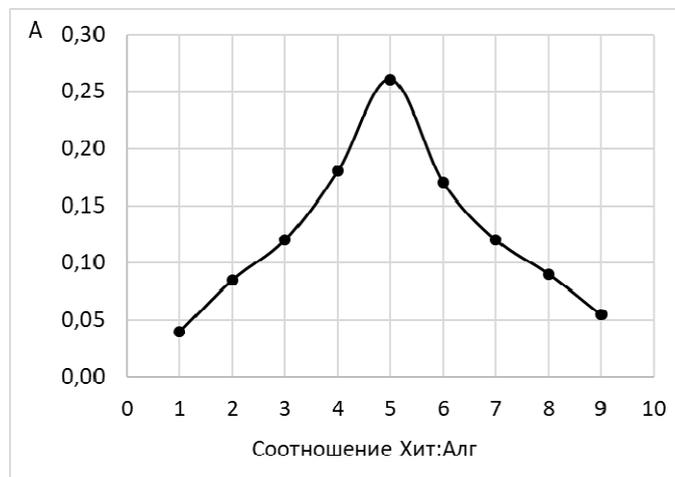


Рис. 3. Зависимость оптической плотности смесей растворов альгината и хитозана при различных соотношениях.

Дальнейшее прибавление хитозана приводит к росту оптической плотности ($A=0,26$) реакционной смеси, что указывает на укрупнение частиц ПЭК и формирование осадка (при соотношении хитозан:альгинат, равном 1:1). При избытке хитозана наблюдается снижение оптической плотности и растворение осадка.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

1. Показано, что образование водорастворимого (нестехиометричного) полиэлектролитного комплекса в избытке альгината при соотношении хитозан:альгинат 1:9 приводит к незначительному повышению рН, оптической плотности раствора альгината и снижению относительной вязкости.
2. Образование нерастворимого (стехиометрического) ПЭК хитозан–альгинат происходит при сливании равных объемов эквимольных растворов полисахаридов наблюдается резкое снижение относительной вязкости, рН альгината, однако возрастает оптическая плотность.
3. Полученный водорастворимый альгинат–хитозановый комплекс в избытке альгината может быть использован для стабилизации агрегативной устойчивости наночастиц металлов и неметаллов в слабокислых и нейтральных растворах

Список литературы

1. Хотимченко Ю.С. Физико-химические свойства, физиологическая активность и применение альгинатов-полисахаридов бурых водорослей / Ю.С. Хотимченко, В.В. Ковалев, О.В. Савченко [и др.] // Биология моря. – 2001. – Т. 27, № 3 – С. 151–162.
2. Fabia J. Supermolecular Structure of Alginate Fibres for Medical Applications Studied by Means of WAXS and SAXS Methods / J. Fabia, Cz. Iusarczyk, A. Gawowski // *Fibres & Textiles in Eastern Europe*. – 2005. – Vol. 13, № 5 (53). – P. 114–117.
3. Скрыбин К.Г. Хитозан / (Под редакцией К.Г. Скрыбина, С.Н. Михайлова, В.П. Варламова). – М.: Центр "Биоинженерия" РАН, 2013. – 593 с.
4. Кабанов В.А. Полиэлектrolитные комплексы в растворе и в конденсированной фазе / В.А. Кабанов // *Успехи химии*. – 2005. – Т. 74, № 1 – С. 5–23.
5. Kramarenko E.Y. Stoichiometric polyelectrolyte complexes of ionic block copolymers and oppositely charged polyions / E.Y. Kramarenko, A.R. Khokhlov, P. Reineker // *J. Chem. Phys.* – 2006. – Vol. 125. – P. 1–8.
6. 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.
7. Бровко О.С. Фильтрующие материалы на основе минеральных волокон с биополимерным слоем / О.С. Бровко, И.А. Паламарчук, Н.В. Сысоева [и др.] // *Лесной журнал*. – 2017. – № 1 – С. 186–194.
8. Peng P. Nanoscale eluting coatings based on alginate/chitosan hydrogels / P. Peng, N.H. Voelcker, S. Kumar, H.J. Griesser // *Biointerphases*. – 2007. – Vol. 2, № 2. – P. 95–104.
9. Манаенков О.В. Получение полислоистых капсул на основе хитозана и солей альгиновой кислоты для инкапсулирования фосфолипидных мицелл / О.В. Манаенков, А.И. Сидоров, В.П. Молчанов // *Вестник МИХТ*. – 2010. – Т. 5, № 2 – С. 76–81.
10. Киржанова Е.А. Микро- и наночастицы из альгината и хитозана для трансмукодадной доставки белка / Е.А. Киржанова, М.А. Печенкин, Н.Б. Демина [и др.] // *Вестник Моск. ун-та, сер. 2. Химия*. – 2016. – Т. 57, № 2 – С. 103–111.
11. 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 ТИПРО*. – 2016. – Т. 186 – С. 231–237.
12. Юркова И.Н. Исследование оптических свойств нанобиокомпозитов на основе серебра и полисахаридов морских водорослей / И.Н. Юркова, Д.А. Панов, В.И. Рябушко // *Ученые записки Таврического национального университета им. В.И. Вернадского. Серия: Биология, Химия*. – 2009. – Т. 22(61), № 1. – С. 203–207.
13. Панов Д.А. Получение и свойства нанобиокомпозита 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.
14. Юркова И.Н. Наноконпозиция серебра в матрице альгината натрия / И.Н. Юркова, Д.А. Панов // *Тенденции и инновации фундаментальных и прикладных наук (Под редакцией И.Б. Красиной)*. – Ставрополь: Центр научного знания "Логос", 2016. – Т. 3. – С. 98–117.
15. Широкова Л.Н. Макромолекулярные системы на основе полиэлектролитов – производных хитина и наночастиц металлов: автореф. дис. ... канд. хим. наук / Широкова Л.Н. – Москва, 2012. – 24 с.
16. Афанасьев С.П. Модификация титриметрического метода анализа пектиновых веществ / С.П. Афанасьев, Э.П. Панова, Г.Н. Кацева [и др.] // *Журнал Химия природных соединений*. – 1984. – № 4 – С. 428–431.
17. Усов А.И. Альгиновые кислоты и альгинаты. Методы анализа, определение состава и установление строения / А.И. Усов // *Успехи химии*. – 1999. – Т. 68, № 11. – С. 1051–1061.
18. Воронько Н.Т. Реологические свойства гелей желатины с альгинатом натрия / Н.Т. Воронько, С.Р. Деркач, В.Н. Измайлова // *Журнал прикладной химии*. – 2002. – Т. 75, Вып. 5 – С. 808–812.

EFFECT OF CHITOSAN ON THE PHYSICAL AND CHEMICAL PROPERTIES OF SODIUM ALGINATE

Panov D. A.

*V. I. Vernadsky Crimean Federal University, Simferopol, Crimea, Russian Federation
E-mail: despanov@gmail.com*

Currently, there is a growing interest in natural polymers of plant and animal origin, in particular, to polysaccharides. The most promising biopolymers are sodium alginate and chitosan, as well as their mixtures – a new class of biopolymers – polyelectrolyte complexes (PEC), oppositely charged polysaccharides. PEC biopolymers often have other physicochemical properties and biological activity, which greatly expands the range of applications of the starting polymers.

Despite the abundance of literature on the use of PEC in various sectors of the national economy and medicine, there are no data in the literature on the use of alginate-chitosan PEC in order to increase the aggregative stability of metal and nonmetallic nanoparticles. This work is a continuation of research on the search for natural polymers to stabilize the aggregative stability of silver and selenium nanoparticles. The purpose of this work was to study the effect of low molecular weight water-soluble chitosan on the physicochemical properties of low viscosity sodium alginate. Obtaining a water-soluble (non-stoichiometric) polyelectrolyte alginate-chitosan complex.

Low-molecular weight water-soluble chitosan with a degree of deacetylation of about 75% (Bioprogress, Russia), low-viscosity sodium alginate (BioPolymer, Norway) were used as objects of study. UV-spectroscopy was performed on a Shimadzu UV-1280 spectrophotometer (Japan). Absorption spectra were recorded on a PerkinElmer Spectrum Two FT-IR instrument (USA).

Based on the conducted research, we can conclude that when small amounts of a dilute solution of low molecular weight water-soluble chitosan are added to a dilute solution of low-viscosity sodium alginate in the ratio of Chit:Alg 1:9, we can speak of the formation of a water-soluble (non-stoichiometric) polyelectrolyte complex in an alginate excess. When merging equal volumes of equimolar solutions of polysaccharides, an insoluble (stoichiometric) PEC is formed.

In the future, the resulting water-soluble alginate-chitosan complex in excess of alginate can be used to stabilize the aggregative stability of metal and non-metal nanoparticles in weakly acidic and neutral solutions.

Keywords: sodium alginate, chitosan, viscometry, pH-metry and UV-spectroscopy, polyelectrolyte complex.

References

1. Khotimchenko Yu.S., Kovalev V.V., Savchenko O.V. Physico-chemical properties, physiological activity and application of alginates – polysaccharides of brown algae, *Biology of the sea*, **27** (3), 151 (2001). (*in Russ.*)
2. Fabia J., Iusarczyk Cz., A. Gawowski Supermolecular Structure of Alginate Fibres for Medical Applications Studied by Means of WAXS and SAXS Methods, *Fibres & Textiles in Eastern Europe*, **13** (5), 114 (2005).

3. Scriabin K.G., S.N. Mikhailov, V.P. Varlamov Chitosan 593 p. (Center "Bioengineering" RAS, Moscow, 2013). (in Russ.)
4. Kabanov V.A. Polyelectrolyte complexes in solution and in the condensed phase, *Successes of Chemistry*, **74** (1), 5 (2005). (in Russ.)
5. Kramarenko E.Y., Khokhlov A.R., Reineker P. Stoichiometric polyelectrolyte complexes of ionic block copolymers and oppositely charged polyions, *J. Chem. Phys.*, **125**, 1 (2006).
6. 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.)
7. Brovko O.S., Palamarchuk I.A., Sysoyeva N.V. Filter materials based on mineral fibers with a biopolymer layer, *Forest Journal*, **1**, 186 (2017). (in Russ.)
8. Peng P., Voelcker N.H., Kumar S., Griesser H.J. Nanoscale eluting coatings based on alginate/chitosan hydrogels, *Biointerphases*, **2** (2), 95 (2007).
9. Manaenkov O.V., Sidorov A.I., Molchanov V.P. Preparation of multi-layer chitosan-based capsules and alginate acid salts for encapsulating phospholipid micelles, *MIHT Bulletin*, **5** (2), 76 (2010). (in Russ.)
10. Kirzhanova E.A., Pechenkin M.A., Demina N.B., Balabushevich N.G. Micro- and nanoparticles from alginate and chitosan for transmucosal protein delivery, *Herald Mosk. un-that, ser. 2. Chemistry*, **57** (2), 103 (2016). (in Russ.)
11. Maksimova S.N., Surovtseva S.Yu., Fedoseeva E.V. Prospects for cooling of hydrobionts with ice using chitosan and its polyelectrolyte complexes, *Izvestia TINRO*, **186**, 231 (2016). (in Russ.)
12. Yurkova I.N., Panov D.A., Ryabushko V.I. Investigation of optical properties of nanobiocomposites based on silver and polysaccharides of seaweed, *Scientific notes of the V.I. Vernadsky Taurida National University. Series: Biology, Chemistry*, **22** (1), 203 (2009). (in Russ.)
13. Panov D. A. Selenium and sodium alginate nanocomposites producing and properties, *Scientific notes of the V.I. Vernadsky Taurida National University. Series: Biology, Chemistry*, **3** (1), 91 (2017). (in Russ.)
14. Yurkova I.N., Panov D.A. Nanocomposition of silver in a matrix of sodium alginate, *Trends and innovations of fundamental and applied sciences*, **3**, 98 (2016). (in Russ.)
15. Shirokova L.N. Macromolecular systems based on polyelectrolytes - derivatives of chitin and metal nanoparticles: author. dis. ... cand. chemical sciences 24 p. (Moscow, 2012). (in Russ.)
16. Afanasyev S.P., Panova E.P., Katseva G.N. Modification of the titrimetric method of analysis of pectin substances, *Journal of Chemistry of Natural Compounds*, **4**, 428 (1984). (in Russ.)
17. Usov A.I. Alginic acids and alginates. Methods of analysis, composition and determination of the structure, *Successes of Chemistry*, **68** (11), 1051 (1999). (in Russ.)
18. Voronko N.T., Derkach S.R., Izmailova V.N. The logical properties of gelatin gels with sodium alginate, *Journal of Applied Chemistry*, **75** (5) 808 (2002). (in Russ.)

УДК 546.185 + 547.787.1

СИНТЕЗ И ПРОГНОЗИРУЕМАЯ БИОЛОГИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ ПРОИЗВОДНЫХ 2-АМИНОБЕНЗИМИДАЗОЛА

Цикалов В. В., Цикалова В. Н., Баевский М. Ю., Нажмединова Д. И.

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

Синтезированы 1-(1*H*-бензимидазол-2-ил)-2-этиланилин, 1-(1-этил-бензимидазол-2-ил)-2-этиланилин и 1-(1-изопропил-бензимидазол-2-ил)-2-метоксианилин. Получение производных 2-аминобензимидазола осуществлялось при взаимодействии соответствующих бензимидазол-2-сульфокислот с этиланилином или 2-метоксианилином при нагревании. Для расчета потенциальной биологической активности была использована программа PASSOnline.

Ключевые слова: бензимидазол, анилин, синтез, биологическая активность, PASS.

ВВЕДЕНИЕ

Несколько последних десятилетий в органическом синтезе большой интерес проявляется к синтезу различных производных бензимидазола. Это связано с тем, что спектр активности соединений, содержащих в своей структуре бензимидазольный фрагмент, настолько широк, что насчитывает более 25 видов только фармакологической активности на ряду с фунгицидной, инсектицидной, рострегулирующей, фитотоксической и другими видами биологической активности.

Многие производные бензимидазола давно и эффективно используются в качестве лекарственных средств в ветеринарии и медицине, а также в агрономии и сельском хозяйстве в качестве фунгицидных, инсектицидных, нематоцидных и других препаратов. Изучение свойств веществ данного класса стимулирует всё более глубокие исследования биологических свойств, а также синтез новых производных бензимидазола.

Исходя из всего выше сказанного становится очевидным, что синтез новых производных бензимидазола как веществ с большим потенциалом биологической активности является на сегодняшний день актуальной задачей. Весь спектр биологической активности производных 2-аминобензимидазола ещё не изучен несмотря на то, что исследования в этой области ведутся не один десяток лет. Антгельминтная активность препарата альбкупрола [CuAlb₂]Cl₂, изучалась при клиническом наблюдении за подопытными животными. Результаты исследования дали положительный результат – альбкупрол высокоэффективен при лечении диктиокаулёза и мониезиоза овец, малотоксичен и не имеет побочных эффектов в отличие от других противогельминтных препаратов [1]. Такие 2-аминопроизводные

бензимидазола как беномил и карбендазим проявляют высокую биологическую активность и применяются в сельском хозяйстве в качестве фунгицидов, пестицидов и инсектицидов [2]. Неоспоримым лидером среди 2-аминопроизводных бензимидазола, обладающих противовирусной (антицитомегаловирусной) активностью, является препарат марибавир. А конденсированные трициклические варианты производных 2-аминобензимидазола проявляют высокую активность против таких вирусов, как респираторно-синтициальный, герпес и ВИЧ [3]. Целью нашей работы был синтез ряда новых 2-аминоарилпроизводных бензимидазола.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Спектры ^1H -ЯМР получены на приборе Varian VXR-400, (Институт живых систем Северо-Кавказского федерального университета, г. Ставрополь). Внутренний стандарт – тетраметилсилан, химические сдвиги в δ -шкале.

Прогноз потенциальной биологической активности полученных соединений по их структурным формулам был осуществлен с использованием веб-ресурса PASSOnline [4], который на сегодняшний день обеспечивает предсказание более 4 тысяч видов биологической активности, включая около 500 фармакологических эффектов, более 3 тысяч видов механизмов действия, 116 взаимодействий с ферментами метаболизма, со средней точностью выше 95% [5]. Данный прогноз широко используется для расчета потенциальной биологической активности, например в работах [6, 7].

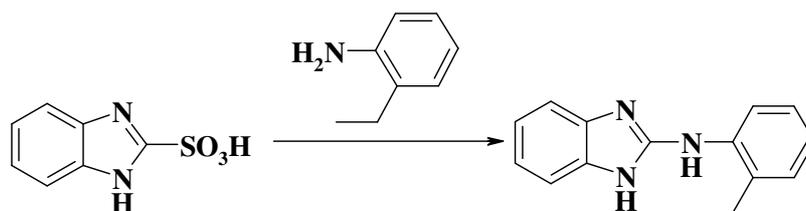


Рис. 1. Схема синтеза 1-(1*H*-бензимидазол-2-ил)-2-этиланилина.

1) Синтез 1-(1*H*-бензимидазол-2-ил)-2-этиланилина. В течение часа в термоустойчивой пробирке при 155°C (на песчаной бане) нагревали смесь из 1,98 г (0,01 моль) бензимидазол-2-сульфокислоты и 4,9 мл (0,04 моль) 2-этиланилина. Далее к охлаждённому до 100°C плаву при интенсивном перемешивании приливали 5 мл воды. Образовавшийся осадок оставляли на один час в маточном растворе, после чего фильтровали и промывали на фильтре 50 мл холодной и 20 мл горячей воды. Отфильтрованный осадок 1-(1*H*-бензимидазол-2-ил)-2-этиланилина перекристаллизовывали из водного спирта и сушили. Выход 1,89 г (80%). $T_{\text{пл}} = 170\text{--}172^\circ\text{C}$.

^1H -ЯМР (DMSO- d_6): 1,19 м.д. (3H, т, $-\text{CH}_2-\text{CH}_3$); 2,67 м.д. (2H, д.д., $-\text{CH}_2-\text{CH}_3$); 6,97–8,19 м.д. (8H, м, Ar); 8,33 м.д. (1H, с, $-\text{NH}-$); 10,79 м.д. (1H, с, $-\text{NH}-$ (гетероцикл)).

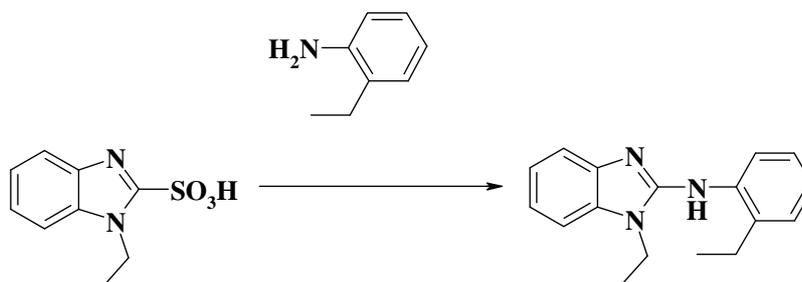


Рис. 2. Схема синтеза 1-(1-этил-бензимидазол-2-ил)-2-этиланилина.

2) Синтез 1-(1-этил-бензимидазол-2-ил)-2-этиланилина. В течение часа в термоустойчивой пробирке при 155°C (на песчаной бане) нагревали смесь из 2,26 г (0,01 моль) 1-этилбензимидазол-2-сульфокислоты и 4,9 мл (0,04 моль) 2-этиланилина. Далее к охлаждённому до 100°C плаву, при интенсивном перемешивании приливали 5 мл воды. Образовавшийся осадок оставляли на один час в маточном растворе, после чего фильтровали и промывали на фильтре 50 мл холодной и 20 мл горячей воды. Отфильтрованный осадок 1-(1-этил-бензимидазол-2-ил)-2-этиланилина перекристаллизовывали из водного спирта и сушили. Выход 2,15 г (81%). $T_{пл} = 126-128^{\circ}\text{C}$.

^1H -ЯМР (DMSO- d_6): 1,21 м.д. (3H, т, $-\text{CH}_2-\text{CH}_3$); 2,67 м.д. (2H, д.д, $-\text{CH}_2-\text{CH}_3$); 7,01–7,52 м.д. (8H, м, Ar); м, 8,35 м.д. (1H, $-\text{NH}-$); 1,33 м.д. (3H, т, $=\text{N}-\text{CH}_2-\text{CH}_3$); 4,16 м.д. (2H, д.д, $=\text{N}-\text{CH}_2-\text{CH}_3$).

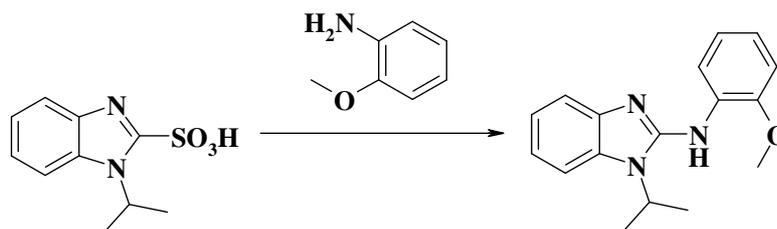


Рис. 3. Схема синтеза 1-(1-изопропил-бензимидазол-2-ил)-2-метоксианилина.

3) Синтез 1-(1-изопропил-бензимидазол-2-ил)-2-метоксианилина. В течение часа в термоустойчивой пробирке при 155°C (на песчаной бане) нагревали смесь из 2,4 г (0,01 моль) 1-изопропилбензимидазол-2-сульфокислоты и 4,5 мл (0,04 моль) 2-метоксианилина. Далее к охлаждённому до 100°C плаву, при интенсивном перемешивании приливали 5 мл воды. Образовавшийся осадок оставляли на один час в маточном растворе, после чего фильтровали и промывали на фильтре 50 мл холодной и 20 мл горячей воды. Отфильтрованный осадок 1-(1-изопропил-бензимидазол-2-ил)-2-метоксианилина перекристаллизовывали из водного спирта и сушили. Выход 2,22 г (79%). $T_{пл} = 140-142^{\circ}\text{C}$.

^1H -ЯМР (DMSO- d_6): 1,57 м.д. (6H, д, $-\text{CH}-(\text{CH}_3)_2$); 3,89 м.д. (3H, с, $-\text{O}-\text{CH}_3$); 4,81 м.д. (1H, м, $-\text{CH}-(\text{CH}_3)_2$); 7,03-7,73 м.д. (8H, м, Ar); 8,09 м.д. (1H, с, $-\text{NH}-$).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Для получения производных 2-аминоарилбензимидазола использовали методику [8]. Для этого соответствующие бензимидазол-2-сульфокислоты нагревали с избытком 2-этил- или 2-метоксианилина при температуре 155°C в течение часа. Структуру полученных производных 2-аминоарилбензимидазола подтверждали с помощью метода ¹H-ЯМР-спектроскопии.

В ¹H-ЯМР спектре 1-(1*H*-бензимидазол-2-ил)-2-этиланилина наблюдаются характеристические сигналы протона аминогруппы с химическим сдвигом 8,33 м.д., протона гетероциклической группы –NH с химическим сдвигом 10,79 м.д., триплет трех протонов метильной группы с химическим сдвигом 1,19 м.д. и дублет дублетов двух протонов метиленовой группы с химическим сдвигом 2,67 м.д. этильного радикала, мультиплет восьми ароматических протонов с химическим сдвигом 6,97–8,19 м.д.

В ¹H-ЯМР спектре 1-(1*H*-бензимидазол-2-ил)-2-этиланилина наблюдаются характеристические сигналы протона аминогруппы с химическим сдвигом 8,35 м.д., триплет трех протонов метильной группы с химическим сдвигом 1,21 м.д. и дублет дублетов двух протонов метиленовой группы с химическим сдвигом 2,67 м.д. этильного радикала остатка анилина, мультиплет восьми ароматических протонов с химическим сдвигом 7,01–7,52 м.д., триплет трех протонов метильной группы с химическим сдвигом 1,33 м.д. и дублет дублетов двух протонов метиленовой группы с химическим сдвигом 4,16 м.д. этильного радикала остатка бензимидазола.

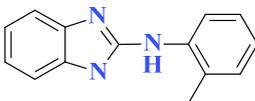
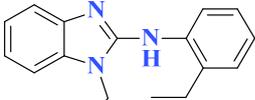
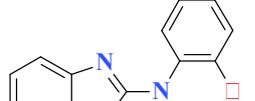
В ¹H-ЯМР спектре 1-(1-изопропил-бензимидазол-2-ил)-2-метоксианилина наблюдаются характеристические сигналы протона аминогруппы с химическим сдвигом 8,09 м.д., синглет трех протонов метоксильной группы с химическим сдвигом 3,89 м.д., мультиплет восьми ароматических протонов с химическим сдвигом 7,03–7,73 м.д., триплет шести протонов метильных групп с химическим сдвигом 1,57 м.д. и мультиплет протона метиновой группы с химическим сдвигом 4,81 м.д. изопропильного радикала остатка бензимидазола.

Расчетное значение программы PASSOnline для 1-(1*H*-бензимидазол-2-ил)-2-этиланилина выявило следующие возможные виды активности – «антигельминтная (нематоды)» с вероятностью 70%, «противоэжземная» с вероятностью 65%, «лечение заболеваний почек» с вероятностью 59%, «лечение почечной недостаточности» с вероятностью 47%, «лечение отторжения трансплантата» с вероятностью 46%, «лечение ринита» с вероятностью 55%, «лечение мукозита» с вероятностью 55%, «стимуляция функции почек» с вероятностью 71%, «ингибирование протеинкиназ» с вероятностью 56%, «ингибирование гастриина» с вероятностью 50%.

Для 1-(1-этил-бензимидазол-2-ил)-2-этиланилина расчетное значение программы PASSOnline выявило следующие возможные виды активности – «антигельминтная (нематоды)» с вероятностью 53%, «лечение отторжения трансплантата» с вероятностью 51%, «лечение ринита» с вероятностью 54%, «лечение кахексии» с вероятностью 55%, «лечение анорексии» с вероятностью 51%, «ингибирование протеинкиназ» с вероятностью 66%, «ингибирование тирозинкиназ» с вероятностью 61%, «ингибирование гастриина» с вероятностью 53%.

Для 1-(1-изопропил-бензимидазол-2-ил)-2-метоксианилина расчетное значение программы PASSOnline выявило следующие возможные виды активности – «антигистаминная» с вероятностью 45%, «антиасматическая» с вероятностью 39%, «противоэземная» с вероятностью 55%, «лечение нейрогенной боли» с вероятностью 52%, «лечение ринита» с вероятностью 45%, «лечение кахексии» с вероятностью 56%, «лечение анорексии» с вероятностью 50%, «лечение предраковых состояний» с вероятностью 45%, «стимуляция функции почек» с вероятностью 62%, «ингибирование протеинкиназ» с вероятностью 55%, «ингибирование тирозинкиназ» с вероятностью 55%.

Таблица 1
Оценка биологической активности, рассчитанная по программе PASS Online

Вещество	Pa	Pi	Активность
	0,711	0,008	Kidney function stimulant
	0,703	0,004	Antihelmintic (Nematodes)
	0,594	0,004	Renal disease treatment
	0,647	0,066	Antieczematic
	0,559	0,014	Protein kinase inhibitor
	0,546	0,011	Rhinitis treatment
	0,545	0,060	Mucositis treatment
	0,465	0,004	Renal failure treatment
	0,457	0,010	Transplant rejection treatment
	0,497	0,069	Gastrin inhibitor
	0,664	0,009	Protein kinase inhibitor
	0,610	0,006	Tyrosine kinase inhibitor
	0,552	0,003	Cachexia treatment
	0,618	0,078	Antieczematic
	0,542	0,012	Rhinitis treatment
	0,577	0,052	Kidney function stimulant
	0,534	0,012	Antihelmintic (Nematodes)
	0,510	0,005	Antianorexic
	0,512	0,007	Transplant rejection treatment
	0,527	0,053	Gastrin inhibitor
	0,620	0,032	Kidney function stimulant
	0,562	0,003	Cachexia treatment
	0,550	0,009	Tyrosine kinase inhibitor
	0,547	0,015	Protein kinase inhibitor
	0,517	0,007	Antineurogenic pain
	0,499	0,005	Antianorexic
	0,587	0,095	Membrane permeability inhibitor
	0,551	0,110	Antieczematic
	0,451	0,032	Rhinitis treatment
	0,452	0,039	Antiallergic
	0,448	0,074	Preneoplastic conditions treatment
	0,390	0,051	Antiasthmatic

Для 1-(1*H*-бензимидазол-2-ил)-2-этиланилина и 1-(1-этил-бензимидазол-2-ил)-2-этиланилина, структура которых отличается только наличием этильного радикала в 1 положении бензимидазольного фрагмента, прогнозируется антигельминтное действие, ингибирование протеинкиназ и гастрина. Прогнозируемая активность 1-(1-этил-бензимидазол-2-ил)-2-этиланилина и 1-(1-изопропил-бензимидазол-2-ил)-2-метоксианилина, различие структур которых в основном связано с заменой атома углерода на атом кислорода во втором положении анилинового фрагмента, очень близка и характеризуется потенциальной возможностью лечения ринита, кахексии и анорексии, а также ингибированию протеинкиназ и тирозинкиназ. Для 1-(1-изопропил-бензимидазол-2-ил)-2-метоксианилина прогнозируется антиасматическое действие и лечение нейрогенной боли. Для всех полученных соединений прогнозируется высокая вероятность проявления таких свойств, как стимуляция агрегации тромбоцитов и использование в лечении ринита и мукозита, а также предраковых состояний.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

1. Синтезированы и подтверждены структуры 1-(1*H*-бензимидазол-2-ил)-2-этиланилина, 1-(1-этил-бензимидазол-2-ил)-2-этиланилина и 1-(1-изопропил-бензимидазол-2-ил)-2-метоксианилина.
2. Проведен прогнозируемый скрининг биологической активности синтезированных соединений с использованием интернет-сервиса PASSOnline и установлены виды потенциальной биологической активности.

Список литературы

1. Имомов, Р. Б. Координационные соединения железа(II) и меди(II) с дибазолом и альбендазолом: дис. ... канд. хим. наук 02.00.04 / Имомов Равшанхон Бердиевич. – Душанбе, 2009. – 137 с.
2. Белов, Д. А. Химические методы и средства защиты растений в лесном хозяйстве и озеленении: Учебное пособие для студентов / Д. А. Белов. – Москва: МГУЛ, 2003. – 128 с.
3. Галогенсодержащие 2-метилпиримидо[1,2-а]бензимидазол-4(10*H*)-оны / Е. Н. Уломский, О. С. Ельцов, С. С. Борисов [и др.] // Химия гетероциклических соединений. – 2014. – № 7. – С. 1090–1099.
4. Pharma expert predictive services «PASS online» [Electronic resource]: FSBI «Research Institute of biomedical chemistry named after V.N. Orekhovich» The Russian Academy of medical Sciences. – Mode of access: URL: <http://pharmaexpert.ru/PASSOnline> (дата обращения: 14.05.2018).
5. Предсказание спектров биологической активности органических соединений с помощью веб-ресурса PASSOnline / Д. А. Филимонов, А. А. Лагунин, Т. А. Глориозова [и др.] // Химия гетероциклических соединений – 2014. – № 3. – С. 483–499.
6. Чудов, И.В. Модификация химической структуры производных смоляных кислот и PASS C&T прогноз спектров их фармакологической активности / И. В. Чудов, А.С. Зиганшин, О. Б. Казакова // Вестник аграрной науки – 2017. – № 1 (64). – С. 66–76.
7. Айзина, Ю. А., Расчетная методом PASS и экспериментальная оценка биологической активности сульфонамидополихлорэтилированных аренов и гетаренов / Ю. А. Айзина, А. Я. Никитин, Г. Г. Левковская // Вестник иркутского государственного технического университета – 2014. – № 12 (95). – С. 188–191.
8. Пожарский, А. Ф. Практические работы по химии гетероциклов / А. Ф. Пожарский, В. А. Анисимова, Е. Б. Цупак. – Ростов на Дону: РГУ, 1988. – С. 124.

SYNTHESIS AND FORECASTING BIOLOGICAL ACTIVITY OF 2-AMINOBENZIMIDAZOLE DERIVATIVES

Tsikalov V. V., Tsikalova V. N., Baevsky M. Y., Nazhmedinova D. I.

*V. I. Vernadsky Crimean Federal University, Simferopol, Crimea, Russian Federation
E-mail: ts_v_v@mail.ru*

2-Aminobenzimidazoles derivatives are synthesized and identified. Benzimidazole derivatives have been effectively used for a long time as veterinary medicines, in medicine and agriculture as well. Some 2-aminobenzimidazoles derivatives manifest high biological activity. For example, albucuprol is highly effective at sheep diktiokaulyoz and moniyezioz treatment, it is low-toxical and demonstrates no side effects, unlike other antivermicular medicines. Benomil and karbendazim are used in agriculture as fungicides, pesticides and insecticides.

The obtaining of 2-aminobenzimidazoles derivatives was realized at interaction of benzimidazol-2-sulfonic acids with ethylaniline or 2-metoksianiline when heating. The structure of the derived compositions is confirmed NMR spectroscopy method.

The predictable screening of the biological activity of the synthesized compositions with the use of the PASSOnline Internet service is carried out. For 1-(1H-benzimidazole-2-yl)-2-ethylaniline and 1-(1-ethylbenzimidazole-2-yl)-2-ethylaniline anthelmintic action, inhibition of proteinkinases and gastrine is prognosticated.

The predicted activity 1-(1-ethylbenzimidazole-2-yl)-2-ethylaniline and 1-(1-isopropylbenzimidazole-2-yl)-2-metoksianiline is the similar and it is characterized by a potential possibility of treatment of rhinitis, a kakheksiya and anorexia and also to inhibition of proteinkinases and tyrosinekinases.

For 1-(1-isopropylbenzimidazole-2-yl)-2-metoksianiline the antiasthmatic action and treatment of neurogenetic pain is foreseen. For all received substances the high probability of manifestation of such properties as stimulation of platelets aggregation and the use in therapy of rhinitis and mucositis as well as precancer states are forecasted.

Keywords: benzimidazole, aniline, synthesis, biological activity, PASS.

References

1. Imomov R. B. (2009) Coordination compounds of iron(II) and copper(II) with dibazole and albendazole (PhD Thesis), Dushanbe: Research Department "Problems of Coordination Chemistry and Ecology" Research Institute of Natural Sciences of the Tajik National University (*in Russ.*)
2. Belov D. A. (2003). Chemical methods and means of plant protection in forestry and gardening, Moscow: MGUL. (*in Russ.*)
3. Ulomsky, E.N., Eltsov, OS, Borisov, S.S., Savateev, K.V., Voinkov, E.K., Fedotov, V.V., Rusinov, V.L. Halogencontaining 2-methylpyrimido [1,2-a] benzimidazol-4(10H)-ones, Chemistry of heterocyclic compounds, 7, 1090 (2014). (*in Russ.*)
4. Pharma expert predictive services «PASS online» [Electronic resource]: FSBI «Research Institute of biomedical chemistry named after V.N. Orekhovich» The Russian Academy of medical Sciences. – Mode of access: URL: <http://pharmaexpert.ru/PASSOnline>.
5. Filimonov D. A., Lagunin A. A., Glorizova T. A., Rudyk A. V., Druzhilovsky D. S., Pogodin P. V., Poroikov V. V. Prediction of spectra of biological activity of organic compounds with the help of the PASSOnline web resource, Chemistry of heterocyclic compounds, 3, 483 (2014). (*in Russ.*)

6. Chudov I. V., Ziganshin A. S., Kazakova O. B. Modification of the chemical structure of derivatives of resin acids and PASS C & T forecast of the spectra of their pharmacological activity, *Bulletin of Agrarian Science*, 1 (64), 66 (2017). (*in Russ.*)
7. Ayzina Yu. A., Nikitin A. Ya., Levkovskaya G. G. Calculated using the PASS method and experimental evaluation of the biological activity of sulfonamide poly(ethylene chloride) etherated arenes and getarenes, *Bulletin of Irkutsk State Technical University*, 12 (95), 188 (2014). (*in Russ.*)
8. Pozharsky A. F., Anisimova V. A., Tsupak E. B. (1988). Practical work on the chemistry of heterocycles, Rostov on Don: RSU. (*in Russ.*)

УДК 547.972.35:547.92:547.918:543.42

ВЗАИМОДЕЙСТВИЕ КВЕРЦЕТИНА С ХОЛЕСТЕРИНОМ

Яковишин Л. А.¹, Корж Е. Н.¹, Гришкова В. И.²

¹*ФГАОУ ВО «Севастопольский государственный университет», Севастополь, Республика Крым, Россия*

²*Таврическая академия (структурное подразделение) ФГАОУ ВО «Крымский федеральный университет им. В.И. Вернадского», Симферополь, Республика Крым, Россия
E-mail: chemsevntu@rambler.ru*

Жидкофазным синтезом получены новые молекулярные комплексы: комплекс состава 1:1, включающий кверцетин и холестерин, а также тройной комплекс кверцетина, холестерина и фармацевтической субстанции глицирама (моноаммонийной соли тритерпенового гликозида глицирризиновой кислоты), имеющий состав 1:1:1. Методом ИК-Фурье-спектроскопии показано, что при комплексобразовании между компонентами комплексов образуются водородные связи и возможны гидрофобные взаимодействия.

Ключевые слова: кверцетин, холестерин, глицирам, супрамолекулярный комплекс, ИК-Фурье-спектроскопия.

ВВЕДЕНИЕ

Кверцетин (Quer; рис. 1) – это один из самых известных и изученных флавонолов. Он является агликоном гликозида рутина. Quer содержится в винограде, чае, гречихе, цитрусовых и других растениях [1]. Он обладает широким спектром биологической активности. Quer проявляет Р-витаминную активность, антиоксидантное, противовоспалительное, спазмолитическое, диуретическое и противоопухолевое действие [1–4]. Отмечено влияние Quer на липидный профиль. Было установлено, что при его приеме концентрация общего холестерина (Chol; рис. 1) в кровяной сыворотке и Chol-липопротеинов низкой плотности достоверно снижалась. При этом для Chol-липопротеинов высокой плотности, наоборот, наблюдалось повышение концентрации [5]. Изучение механизма гипохолестеринемической активности Quer и других полифенолов показало, что он является ингибитором 3-гидрокси-3-метилглутарил-кофермент-А-редуктазы (HMG-CoA-редуктазы), участвующей в синтезе Chol [6].

Флавоноиды могут встраиваться в мембраны и влиять на их физические свойства [7–9]. В литературе приводятся противоречивые сведения о локализации флавоноидов в бислое [7]. На степень проникновения в бислой влияют полярность флавоноидной молекулы, связанная с количеством гидроксогрупп, наличием гликозилирования и дополнительных функциональных групп, а также pH среды. При этом сообщалось, что Quer ориентирован ближе к полярным группам, а не к гидрофобному центру бислоя [7]. Quer способен увеличивать вязкость мембран, анизотропию бислоя и транс-мембранный потенциал [7].

ВЗАИМОДЕЙСТВИЕ КВЕРЦЕТИНА С ХОЛЕСТЕРИНОМ

Известно, что Chol является компонентом клеточных мембран, влияя на их текучесть [10]. Для понимания физико-химической основы механизма связывания Quer и прочих полифенольных веществ с биологическими мембранами в настоящей статье рассмотрено взаимодействие Quer с Chol методом ИК-спектроскопии. Кроме того, описаны спектральные изменения, вызванные образованием тройного комплекса, включающего Quer, Chol и фармацевтическую субстанцию глицирам (GC; рис. 1).

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Использовали образец Quer (Реахим, чда), GC (Calbiochem, США; чистота ≥ 95 % по ВЭЖХ) и Chol (Sigma-Aldrich, США; чистота ≥ 99 %) без предварительной подготовки.

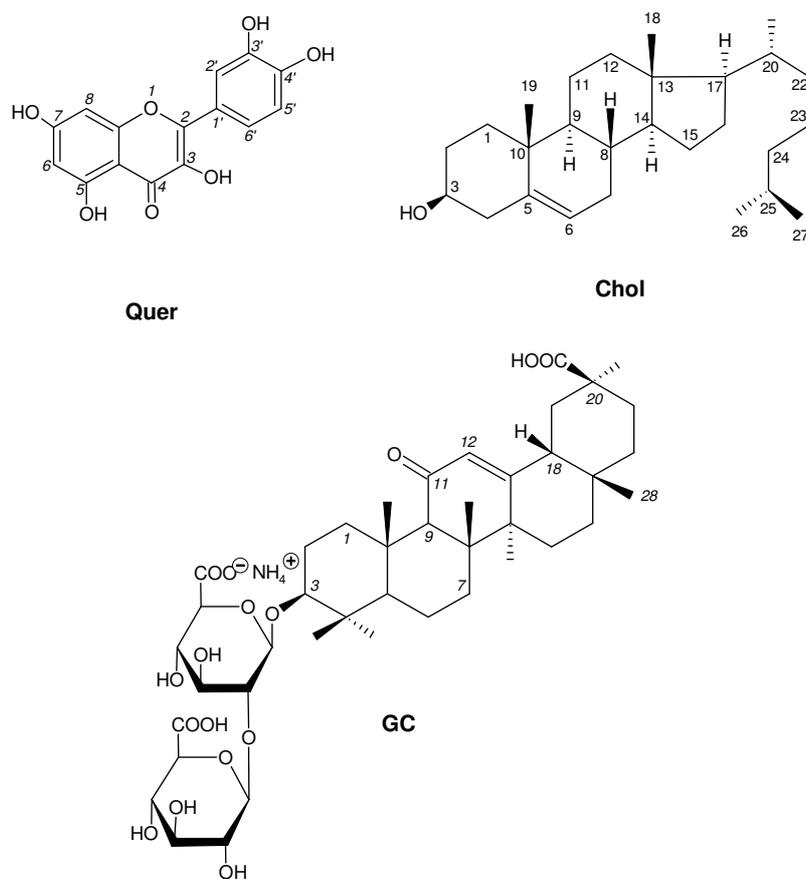


Рис. 1. Структура кверцетина (Quer), холестерина (Chol) и глицирама (GC).

Комплекс Quer с Chol препаративно получали жидкофазным способом. Для этого смешивали по 1 ммоль GC и Quer с 50 мл смеси 96 % водного этанола с хлороформом, взятых в соотношении 1:1 по объему. Смесь выдерживали при 50 °С в течение 1,5 ч при постоянном перемешивании. Органические растворители отгоняли в вакууме. Для получения комплекса Quer с Chol и GC смешивали по 1 ммоль каждого компонента с 50 мл смеси 96 % водного этанола с хлороформом (соотношение 1:1 по объему). Смесь выдерживали при 50 °С в течение 1,5 ч при постоянном перемешивании. Органические растворители отгоняли в вакууме.

ИК-спектры сняты с твердых образцов на ИК-Фурье-спектрометре ФТ-801 (СИМЕКС, Россия) с универсальной оптической приставкой 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 Quer (ν , см⁻¹): 3400 (ОН), 3261 (ОН), 2990 (СН), 2901 (СН), 2843 (СН), 2782 (СН), 2707 (СН), 1660 (C=O), 1607 (C=C_{Ar}), 1562 (C=C_{Ar}), 1518 (C=C_{Ar}), 1461 (C=C_{Ar}), 1448 (C=C_{Ar}), 1407 (C–ОН), 1380 (C–ОН), 1317 (СН_{Ar}), 1258 (C–O–C, C–ОН), 1197 (C–O–C, C–ОН), 1167 (C–O–C, C–ОН), 1130 (C–O–C, C–ОН), 1092 (C–O–C, C–ОН), 1013 (C–O–C, C–ОН), 941 (СН_{Ar}), 864 (СН_{Ar}), 841 (СН_{Ar}), 819 (СН_{Ar}), 794 (СН_{Ar}), 721 (СН_{Ar}), 679 (СН_{Ar}), 670 (ОН), 638 (СН_{Ar}), 602 (СН_{Ar}).

ИК-спектр Chol (ν , см⁻¹): 3401 (ОН), 3379 (ОН), 2929 (СН), 2899 (СН), 2865 (СН), 2847 (СН), 1671 (C=C), 1462 (СН), 1442 (СН), 1376 (СН), 1364 (СН), 1333 (СН), 1268 (СН), 1252 (СН), 1234 (СН), 1218 (СН), 1189 (СН), 1168 (C–ОН), 1131 (C–ОН), 1107 (C–ОН), 1053 (C–ОН), 1021 (C–ОН), 986 (=СН).

ИК-спектр комплекса Quer с Chol (ν , см⁻¹): 3309 (ОН), 2930 (СН), 2899 (СН), 2865 (СН), 1673 (C=C), 1658 (C=O), 1603 (C=C_{Ar}), 1565 (C=C_{Ar}), 1512 (C=C_{Ar}), 1461 (C=C_{Ar}, СН), 1443 (C=C_{Ar}, СН), 1379 (C–ОН, СН), 1364 (СН), 1342 (СН), 1318 (СН_{Ar}), 1256 (C–O–C, C–ОН, СН), 1195 (C–O–C, C–ОН, СН), 1166 (C–O–C, C–ОН), 1130 (C–O–C, C–ОН), 1108 (C–ОН), 1085 (C–O–C, C–ОН), 1049 (C–ОН), 1012 (C–O–C, C–ОН), 986 (=СН), 953 (СН_{Ar}), 864 (СН_{Ar}), 840 (СН_{Ar}), 824 (СН_{Ar}), 796 (СН_{Ar}), 720 (СН_{Ar}), 679 (СН_{Ar}), 664 (ОН), 635 (СН_{Ar}), 600 (СН_{Ar}).

ИК-спектр GC (ν , см⁻¹): 3210 (ОН, NH), 2928 (СН), 2862 (СН), 1719 (C=O), 1701 (C=O), 1640 (C(11)=O, C=C), 1587 (COO⁻), 1451 (СН₂, СН₃), 1423 (NH₄⁺), 1413 (COO⁻), 1389 (СН), 1358 (СН), 1351 (СН), 1308 (СН), 1260 (СН), 1212 (СН), 1164 (C–O–C, C–ОН), 1035 (C–O–C, C–ОН), 980 (=СН).

ИК-спектр комплекса Quer–Chol–GC (ν , см⁻¹): 3206 (ОН, NH), 2928 (СН), 2899 (СН), 2859 (СН), 2778 (СН), 1722 (C=O_{GC}), 1692 (C=O_{GC}), 1667 (C=C_{Chol}), 1657 (C=O_{Quer}), 1641 (C(11)=O_{GC}, C=C_{GC}), 1611 (C=C_{Ar}), 1593 (COO⁻), 1566 (C=C_{Ar}), 1511 (C=C_{Ar}), 1461 (C=C_{Ar}), 1450 (C=C_{Ar}, СН₂, СН₃), 1425 (NH₄⁺), 1411 (COO⁻), 1380 (СН, C–ОН), 1358 (СН), 1342 (СН), 1309 (СН), 1261 (C–O–C, C–ОН, СН), 1206 (СН), 1197 (C–O–C, C–ОН), 1163 (C–O–C, C–ОН), 1030 (C–O–C, C–ОН), 977 (=СН), 948 (СН_{Ar}), 880 (СН_{Ar}), 837 (СН_{Ar}), 819 (СН_{Ar}), 796 (СН_{Ar}), 679 (СН_{Ar}), 669 (ОН), 635 (СН_{Ar}), 598 (СН_{Ar}).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Взаимодействие Quer с Chol. Молекулярный комплекс Quer с Chol был синтезирован в среде органических растворителей. Для этого к Quer и Chol, взятых в молярном соотношении 1:1, добавляли смесь водного этанола с хлороформом. После инкубирования смеси растворитель удаляли и анализировали полученный комплекс Quer–Chol методом ИК-Фурье-спектроскопии при использовании приставки НПВО (рис. 2).

При комплексообразовании потенциальными группами для межмолекулярного связывания являются ОН-группы и С=О-группа Quer и ОН-группа Chol. Кроме того, наличие липофильных стерановой системы с углеводородным «хвостом» у Chol и ароматических колец Quer не исключает гидрофобных контактов между ними.

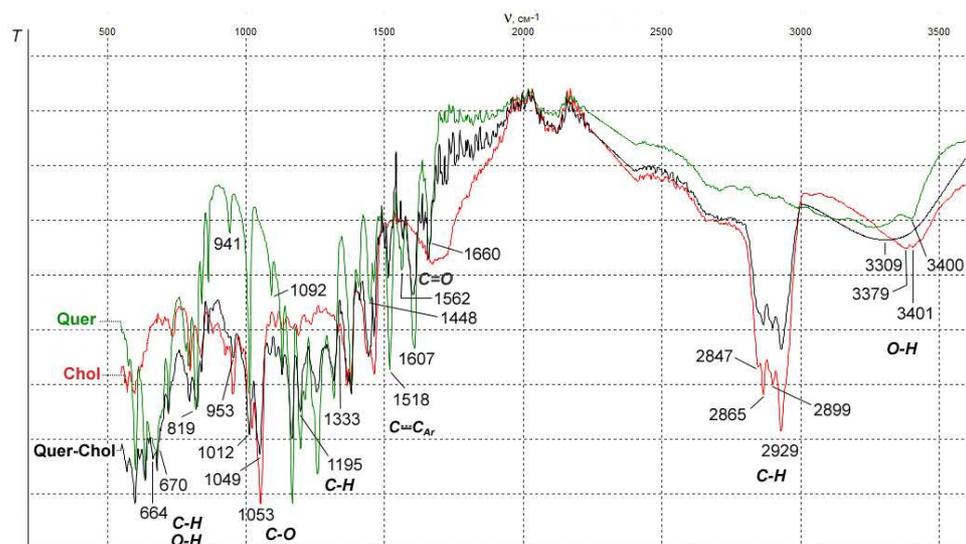


Рис. 2. ИК-спектры Quer, Chol и их молекулярного комплекса (приставка НПВО).

Анализ спектральных данных показал, что комплексообразование Quer с Chol вызывает низкочастотный сдвиг полос поглощения валентных колебаний связей ОН: 3401→3309 cm^{-1} (для Chol) и 3400→3309 cm^{-1} (для Quer), подтверждающий образование водородной связи (рис. 2). Кроме того, в спектре наблюдаются изменения в области полос поглощения валентных колебаний связей с участием атомов кислорода С–О–С и С–ОН (1200–1000 cm^{-1}). Так, например, частота полосы поглощения у Chol при 1021 cm^{-1} в комплексе уменьшается до 1012 cm^{-1} . При этом сдвиг основной полосы Chol при 1053 cm^{-1} при образовании комплекса составил только -4 cm^{-1} . Для Quer отмечено смещение полосы 1092 cm^{-1} на -7 cm^{-1} . Полоса неплоских деформационных колебаний связей О–Н у Quer при 670 cm^{-1} сдвигается на -6 cm^{-1} .

Частота полосы поглощения валентных колебаний $C=O$ у Quer при 1660 см^{-1} в спектре его комплекса с Chol изменилась только на -2 см^{-1} . Очевидно, что группа $C=O$ не принимает существенного участия в межмолекулярном взаимодействии с Chol. Изменения в ИК-спектрах указывают на образование между молекулами Quer и Chol водородной связи при участии их гидроксильных групп $-(H)O\cdots H-O-$.

В ИК-спектрах найдены изменения некоторых частот поглощения деформационных колебаний $C-H$ -связей и валентных колебаний ароматических колец: $1333\rightarrow 1342\text{ см}^{-1}$ (CH_{Chol}), $1189\rightarrow 1195\text{ см}^{-1}$ (CH_{Chol}), $1607\rightarrow 1603\text{ см}^{-1}$ ($C=C_{Ar}$), $1562\rightarrow 1565\text{ см}^{-1}$ ($C=C_{Ar}$), $1518\rightarrow 1512\text{ см}^{-1}$ ($C=C_{Ar}$) и $1448\rightarrow 1443\text{ см}^{-1}$ ($C=C_{Ar}$). В области до 1000 см^{-1} наблюдается смещение ряда полос поглощения деформационных колебаний связей $C-H_{Ar}$. При этом наиболее существенные сдвиги отмечены для полос: $941\rightarrow 953\text{ см}^{-1}$ и $819\rightarrow 824\text{ см}^{-1}$. Возможно, что смещения вышеописанных полос поглощения вызваны гидрофобными взаимодействиями ароматических колец Quer с липофильной молекулой Chol.

Молекулярный комплекс Quer с Chol и GC. Характерной особенностью тритерпеновых гликозидов является их способность к образованию молекулярных комплексов с Chol [11–13]. В результате связывания сапонинов с Chol клеточных мембран происходит увеличение их проницаемости, и наблюдается потеря ряда важных физиологически активных веществ [11, 14, 15]. Один из механизмов гипохолестеринемической активности сапонинов включает их комплексообразование с Chol [14, 16]. Поэтому нами, наряду с комплексом Quer–Chol, был получен еще тройной комплекс, включающий Quer, Chol и GC в молярном соотношении 1:1:1. GC – это моноаммонийная соль глицирризиновой кислоты, главного тритерпенового сапонины солодки (рис. 1), являющаяся лекарственным средством с гепатопротекторным, противовоспалительным, антиаллергическим и отхаркивающим действием [17–19]. Комплекс Quer–Chol–GC был синтезирован аналогично комплексу Quer с Chol в среде смеси водного этанола с хлороформом.

В ИК-спектре комплекса Quer–Chol–GC обнаружена широкая интенсивная полоса с максимумом при 3206 см^{-1} , вызванная поглощением валентных колебаний $OH-$ и $NH-$ связей. Таким образом, при комплексообразовании у Quer наблюдаются сдвиги полос поглощения связей $O-H$ с 3400 и 3261 см^{-1} к 3206 см^{-1} , а у Chol – с 3401 и 3379 см^{-1} к 3206 см^{-1} , указывающие на образование водородной связи. У GC изменение частоты поглощения ν_{OH} с 3210 см^{-1} составило -4 см^{-1} .

Частота полосы поглощения валентных колебаний связи $C=O$ у Quer при 1660 см^{-1} при комплексообразовании с уменьшилась только на 3 см^{-1} . При этом для одной из полос поглощения $C=O$ в $COOH$ -группах GC установлен низкочастотный сдвиг с 1701 см^{-1} до 1692 см^{-1} . Подобное смещение ранее наблюдалось для комплекса Quer с GC [20]. Этот факт указывает на участие $C=O$ -группы Quer в межмолекулярном связывании с компонентами комплекса посредством образования водородной связи.

При комплексообразовании также происходит изменение частот полос поглощения валентных колебаний связей $C-OH$: $1013\rightarrow 1030\text{ см}^{-1}$ (у Quer), $1035\rightarrow 1030\text{ см}^{-1}$ (у GC) и $1053\rightarrow 1030$ (у Chol). При сопоставлении ИК-спектров

индивидуальных компонентов и их комплекса Quer–Chol–GC найдены изменения некоторых частот полос поглощения колебаний СН-связей и ароматических колец. Данные смещения могут быть вызваны гидрофобными взаимодействиями между компонентами комплекса.

Солодка издавна используется для снижения уровня Chol [18]. При пероральном введении суммы сапонинов из солодки может ухудшиться абсорбция Chol из желудочно-кишечного тракта и уменьшиться его содержание в крови [21]. Установлено, что GC образует комплекс с Chol [22]. Возможно, что связывание Chol в комплекс с Quer и GC может вызвать аналогичное влияние на его обмен в организме при совместном пероральном использовании Quer и GC.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

1. Жидкофазным способом в среде органических растворителей получены новые молекулярные комплексы Quer–Chol состава 1:1 и Quer–Chol–GC состава 1:1:1.
2. Методом ИК-Фурье-спектроскопии показано, что между компонентами комплекса Quer с Chol образуются водородные связи типа $-(H)O \cdots H-O-$ и, возможно, имеют место гидрофобные взаимодействия, что может быть физико-химической основой связывания Quer с биологическими мембранами.
3. Межмолекулярные взаимодействия в комплексе Quer–Chol–GC включают водородные связи и гидрофобные контакты между его компонентами.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ (проект № 18-43-920002 p_a).

Список литературы

1. Биологически активные вещества растительного происхождения: в 3 т. / Отв. ред. В.Ф. Семихов. – М.: Наука, 2001. – Т. 1. – 350 с.
2. Машковский М.Д. Лекарственные средства: в 2 т. / М.Д. Машковский. – [13-е изд.]. – Харьков: Торсинг, 1997. – Т. 2. – 592 с.
3. Boots A.W. Health effects of quercetin: from antioxidant to nutraceutical / A.W. Boots, G.R.M.M. Haenen, A. Bast // Eur. J. Pharmacol. – 2008. – Vol. 585, № 2–3. – P. 325–337.
4. Dietary wine phenolics catechin, quercetin, and resveratrol efficiently protect hypercholesterolemic hamsters against aortic fatty streak accumulation / C. Auger, P.L. Teissedre, P. Gérain [et al.] // J. Agric. Food Chem. – 2005. – Vol. 53, № 6. – P. 2015–2021.
5. Effects of daily quercetin-rich supplementation on cardiometabolic risks in male smokers / K.-H. Lee, E. Park, H.-J. Lee [et al.] // Nutr. Res. Pract. – 2011. – Vol. 5, № 1. – P. 28–33.
6. Tabboon P. Hypocholesterolemic mechanism of phenolics-enriched extract from *Moringa oleifera* leaves in HepG2 cell lines / P. Tabboon, B. Sripanidkulchai, K. Sripanidkulchai // Songklanakarin J. Sci. Technol. – 2016. – Vol. 38, № 2. – P. 155–161.
7. Флавоноиды: биохимия, биофизика, медицина / Ю.С. Тараховский, Ю.А. Ким, Б.С. Абдрасилов, Е.Н. Музафаров / Отв. ред. Е.И. Маевский. – Пушкино: Synchronobook, 2013. – 310 с.
8. Van Dijk C. The uncoupling efficiency and affinity of flavonoids for vesicles / C. van Dijk, A.J. Driessen, K. Recourt // Biochem. Pharmacol. – 2000. – Vol. 60, № 11. – P. 1593–1600.
9. Characterization of flavonoid–biomembrane interactions / F. Ollila, K. Halling, P. Vuorela [et al.] // Arch. Biochem. Biophys. – 2002. – Vol. 399, № 1. – P. 103–108.
10. Геннис Р. Биомембраны: Молекулярная структура и функции: пер. с англ. / Р. Геннис. – М.: Мир, 1997. – 624 с.

11. Hostettmann K. Saponins / K. Hostettmann, A. Marston. – Cambridge: Cambridge University Press, 1995. – 548 p.
12. Самоассоциация и комплексообразование тритерпеновых гликозидов и холестерина / Яковишин Л.А., Борисенко Н.И., Руднев М.И. [и др.] // Химия природ. соедин. – 2010. – № 1. – С. 45–48.
13. Яковишин Л.А. Молекулярные комплексы холестерина с олеаноловой кислотой и эсцином / Л.А. Яковишин, В.И. Гришковец // Ученые записки Крымского федерального университета им. В.И. Вернадского. Биология. Химия. – 2018. – Т. 4 (70), № 1. – С. 216–223.
14. Анисимов М.М. О биологической роли тритерпеновых гликозидов / М.М. Анисимов, В.Я. Чирва // Успехи совр. биологии. – 1980. – Т. 6, № 3. – С. 351–364.
15. Попов А.М. Механизмы биологической активности гликозидов женьшеня: сравнение с гликозидами голотурий / А.М. Попов // Вестник ДВО РАН. – 2006. – № 6. – С. 92–104.
16. Sidhu G.S. A mechanism for the hypocholesterolaemic activity of saponins / G.S. Sidhu, D.G. Oakenfull // Brit. J. Nutrit. – 1986. – Vol. 55, № 3. – P. 643–649.
17. 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. Attar-Rahman. – Amsterdam: Elsevier, 2018. – Vol. 55. – Chapter 11. – P. 351–383.
18. Солодка: Биоразнообразие, химия, применение в медицине / Г.А. Толстиков, Л.А. Балтина, В.П. Гранкина [и др.]. – Новосибирск: Гео, 2007. – 311 с.
19. Hayashi H. Economic importance of licorice / H. Hayashi, H. Sudo // Plant Biotechnol. – 2009. – Vol. 26. – P. 101–104.
20. Яковишин Л.А. Молекулярный комплекс кверцетина с глицирамом: получение и ИК-Фурье-спектроскопический анализ / Л.А. Яковишин, Е.Н. Корж, В.И. Гришковец // Ученые записки Крымского федерального университета им. В.И. Вернадского. Биология. Химия. – 2018. – Т. 4 (70), № 3. – С. 247–254.
21. *In vitro* cholesterol binding affinity of total saponin extracted from *Glycyrrhiza glabra* / E. Moghimipour, H. Kooshapour, S. Rezaee [et al.] // Asian J. Pharm. Clin. Res. – 2014. – Vol. 7, № 1. – P. 170–173.
22. Яковишин Л.А. Молекулярное комплексообразование глицирама с холестерином / Л.А. Яковишин, В.И. Гришковец, Е.Н. Корж // Тез. докл. X Всерос. науч. конф. «Химия и технология растительных веществ». – Казань (Россия). – 2017. – С. 323–324.

INTERACTION OF QUERCETIN WITH CHOLESTEROL

Yakovishin L. A.¹, Korzh E. N.¹, Grishkovets V. I.²

¹*Sevastopol State University, Sevastopol, Crimea, Russia*

²*V. I. Vernadsky Crimean Federal University, Simferopol, Crimea, Russian Federation*

E-mail: chemseventu@rambler.ru

Quercetin (Quer) is one of the most famous flavonols. Quer was founded in grapes, buckwheat, tea, citrus, and other plants. Quer exhibits P-vitamin activity and also antioxidant, anti-inflammatory, antispasmodic, antisclerotic, diuretic, and antitumor effects.

Flavonoids can be embedded in the membrane and affect their physical properties. The literature contains conflicting information about the localization of flavonoids in the bilayer. It is known that cholesterol (Chol) is a component of cell membranes affecting their fluidity. To understand of the mechanism of Quer and other polyphenolic substances binding with biological membranes was reviewed by its interaction with Chol.

The synthesis of new molecular complexes of Quer with Chol, and of Quer with Chol and drug glycyram (monoammonium glycyrrhizinate, GC) was carried out in the liquid

phase (in a mixture of 96 % aqueous ethanol and chloroform at a ratio of 1:1, v/v). GC is an anti-inflammatory and antiallergic drug. The components were taken in 1:1 and 1:1:1 molar ratio, respectively. The obtained mixtures were incubated at 50 °C for 1.5 h with continuous stirring. The organic solvents were then removed by vacuuming.

The molecular complexation was studied by ATR FTIR spectroscopy with diamond crystal plate. The IR spectrum of the Quer–Chol complex exhibited a low-frequency shift of the absorption bands of OH bonds stretching vibrations. This confirms the formation of hydrogen bonds. The frequency of the absorption band of C=O stretching vibrations in Quer molecule was not changed.

By complexation there are some changes in the frequency absorption band of Chol CH bonds and stretching vibrations of Quer aromatic rings. This fact may indicate the presence of hydrophobic contacts.

Keywords: quercetin, cholesterol, glycyram, supramolecular complex, FTIR spectroscopy.

References

1. *Biologically active substances of vegetable origin*, 3 vols., edited by V.F. Semihov, **1**, 350 p. (Nauka, Moscow, 2001). (*in Russ.*)
2. Mashkovskii M.D., *Drugs*, 2 vols., 13 ed., **2**, 592 p. (Torsing, Kharkov, 1997). (*in Russ.*)
3. Boots A.W., Haenen G.R.M.M., Bast A., Health effects of quercetin: from antioxidant to nutraceutical, *Eur. J. Pharmacol.*, **585** (2–3), 325 (2008).
4. Auger C., Teissedre P.L., Gérain P., Lequeux N., Bornet A., Serisier S., Besançon P., Caporiccio B., Cristol J.P., Rouanet J.M., Dietary wine phenolics catechin, quercetin, and resveratrol efficiently protect hypercholesterolemic hamsters against aortic fatty streak accumulation, *J. Agric. Food Chem.*, **53** (6), 2015 (2005).
5. Lee K.-H., Park E., Lee H.-J., Kim M.-O., Cha Y.-J., Kim J.-M., Lee H., Shin M.-J., Effects of daily quercetin-rich supplementation on cardiometabolic risks in male smokers, *Nutr. Res. Pract.*, **5** (1), 28 (2011).
6. Tabboon P., Sripanidkulchai B., Sripanidkulchai K., Hypocholesterolemic mechanism of phenolics-enriched extract from *Moringa oleifera* leaves in HepG2 cell lines, *Songklanakarin J. Sci. Technol.*, **38** (2), 155 (2016).
7. Tarakhovskiy Yu.S., Kim Yu.A., Abdrasilov B.S., Muzafarov E.N., *Flavonoids: biochemistry, biophysics, medicine*, edited by E.I. Mayevsky, 310 p. (Synchrobook, Pushchino, 2013). (*in Russ.*)
8. Van Dijk C., Driessen A.J., Recourt K., The uncoupling efficiency and affinity of flavonoids for vesicles, *Biochem. Pharmacol.*, **60** (11), 1593 (2000).
9. Ollila F., Halling K., Vuorela P., Vuorela H., Slotte J.P., Characterization of flavonoid–biomembrane interactions, *Arch. Biochem. Biophys.*, **399** (1), 103 (2002).
10. Gennis R.B., *Biomembranes. Molecular structure and function*, 624 p. (Mir, Moscow, 1997). (*in Russ.*)
11. Hostettmann K., Marston A., *Saponins*, 548 p. (Cambridge University Press, Cambridge, 1995).
12. Yakovishin L.A., Borisenko N.I., Rudnev M.I., Vetrova E.V., Grishkovets V.I., Self-association and complexation of triterpene glycosides and cholesterol, *Khim. Prirod. Soedin.*, **1**, 45 (2010). (*in Russ.*)
13. Yakovishin L.A., Grishkovets V.I., Molecular complexes of cholesterol with oleanolic acid and aescine, *Scientific Notes of V.I. Vernadsky Crimean Federal University. Biology. Chemistry*, **4** (1) 216 (2018). (*in Russ.*)
14. Anisimov M.M., Chirva V.Ya., Biological role of triterpene glycosides, *Uspekhi sovr. biologii*, **6** (3), 351 (1980). (*in Russ.*)
15. Popov A.M., Mechanisms of biological activity of ginsenosides: comparison with holothurian glycosides, *Vestnik DVO RAN*, **6**, 92 (2006). (*in Russ.*)
16. Sidhu G.S., Oakenfull D.G., A mechanism for the hypocholesterolaemic activity of saponins, *Brit. J. Nutr.*, **55** (3), 643 (1986).

17. 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).
18. Tolstikov G.A., Baltina L.A., Grankina V.P., Kondratenko R.M., Tolstikova T.G., *Licorice: Biodiversity, chemistry, and application in medicine*, 311 p. (Geo, Novosibirsk, 2007). (in Russ.).
19. Hayashi H., Sudo H., Economic importance of licorice, *Plant Biotechnol.*, **26**, 101 (2009).
20. Yakovishin L.A., Korzh E.N., Grishkovets V.I., Molecular complex of quercetin with glycyram: preparation and IR Fourier spectroscopic analysis, *Scientific Notes of V.I. Vernadsky Crimean Federal University. Biology. Chemistry*, **4** (3) 247 (2018). (in Russ.).
21. Moghimipour E., Kooshapour H., Rezaee S., Khalili S., Handali S., *In vitro* cholesterol binding affinity of total saponin extracted from *Glycyrrhiza glabra*, *Asian J. Pharm. Clin. Res.*, **7** (1), 170 (2014).
22. Yakovishin L.A., Grishkovets V.I., Korzh E.N., Molecular complexation of glycyram with cholesterol, *Abstracts of X All-Russian science conference "Chemistry and technology of plant substances"*, (ADS print, Kazan, 2017), p. 323. (in Russ.).

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

- Баевский
Михаил Юрьевич** Таврическая академия (структурное подразделение) ФГАОУ ВО «Крымский федеральный университет им. В.И. Вернадского», кандидат химических наук, доцент кафедры органической и биологической химии
- Бекмамбетов
Тимур Рустемович** Федеральное государственное бюджетное учреждение науки «Ордена трудового красного знамени Никитский ботанический сад – Национальный научный центр Российской академии наук», младший научный сотрудник лаборатории фитореабилитации человека, e-mail: valyalta@rambler.ru
- Белалов
Вадим Вадимович** Медицинская академия им. С. И. Георгиевского (структурное подразделение) ФГАОУ ВО «Крымский федеральный университет им. В.И. Вернадского», ассистент кафедры физиологии нормальной, e-mail: vadim.belalov@mail.ru
- Бирюкова
Елена Александровна** Таврическая академия (структурное подразделение) ФГАОУ ВО «Крымский федеральный университет им. В. И. Вернадского», кандидат биологических наук, доцент кафедры физиологии человека и животных и биофизики, e-mail: biotema@rambler.ru
- Богданова
Светлана
Александровна** ГОУ ВПО «Донецкий национальный университет», заведующая учебной лабораторией, аспирант кафедры физиологии человека и животных, e-mail: bogdsvetlana@mail.ru
- Бочарова
Елена Анатольевна** ФГБУН «Институт морских биологических исследований им. А. О. Ковалевского РАН», кандидат медицинских наук, доцент, научный сотрудник отдела аквакультуры и морской фармакологии, e-mail: eabocharova.inbum@gmail.com
- 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
- Гусев
Николай Федорович** Оренбургский государственный аграрный университет, доктор биологических наук, профессор кафедры Биоэкологии, e-mail: orensau@mail.ru
- 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

- Дягилева
Юлия Олеговна** Таврическая академия (структурное подразделение) ФГАОУ ВО «Крымский федеральный университет им. В. И. Вернадского», кандидат биологических наук, доцент кафедры общей психологии и психофизиологии, e-mail: yulia.dyagileva@gmail.com
- Жалдак
Светлана Николаевна** Таврическая академия (структурное подразделение) ФГАОУ ВО «Крымский федеральный университет имени В. И. Вернадского», кандидат биологических наук, доцент кафедры ботаники, физиологии растений и биотехнологий
- Золотницкий
Александр Петрович** ФГБОУ ВО «Керченский государственный морской технологический университет», доктор биологических наук, профессор, профессор кафедры водных биоресурсов и марикультуры; e-mail: zap6@mail.ru
- Ибрагимова
Эвелина Энверовна** ГБОУВО РК «Крымский инженерно-педагогический университет», кандидат биологических наук, заведующая кафедрой биологии, экологии и безопасности жизнедеятельности
- Иванова-Ханина
Лидия Владимировна** Академия биоресурсов и природопользования (структурное подразделение) ФГАОУ ВО «Крымский федеральный университет имени В. И. Вернадского», кандидат сельскохозяйственных наук, доцент кафедры фитобиологии
- Кайда
Анна Ивановна** Таврическая академия (структурное подразделение) ФГАОУ ВО «Крымский федеральный университет имени В. И. Вернадского», аспирантка кафедры физиологии человека и животных и биофизики, e-mail: kaydaanna@gmail.com
- Каширина
Наталья
Александровна** ФГБУН «НИИСХ КРЫМА», младший научный сотрудник
- Кобечинская
Валентина
Григорьевна** Таврическая академия (структурное подразделение) ФГАОУ ВО «Крымский федеральный университет имени В. И. Вернадского», кандидат биологических наук, доцент кафедры экологии и зоологии
- Коваль
Елена Станиславовна** ФГБУН «Ордена трудового красного знамени Никитский ботанический сад – Национальный научный центр Российской академии наук», инженер-исследователь лаборатории фитореабилитации человека
- Корж
Елена Николаевна** ФГАОУ ВО «Севастопольский государственный университет», кандидат химических наук, доцент, доцент кафедры «Химия»

- Кравцова
Валентина Нестеровна** Государственной образовательной организации высшего профессионального образования «Донецкий национальный медицинский университет им. М. Горького, кандидат медицинский наук, доцент кафедры онкологии и радиологии
- Крымова
Валентина Витальевна** Таврическая академия (структурное подразделение) ФГАОУ ВО «Крымский федеральный университет имени В.И. Вернадского», кандидат химических наук, доцент кафедры Общей и физической химии
- Кузьминова
Наталья
Станиславовна** ИнБИОМ, кандидат биологических наук, старший научный сотрудник отдела ихтиологии, e-mail: kunast@rambler.ru
- Куличенко
Александр
Михайлович** Центр коллективного пользования научным оборудованием «Экспериментальная физиология и биофизика» ФГАОУ ВО «Крымский федеральный университет имени В.И. Вернадского», кандидат биологических наук, старший научный сотрудник, e-mail alexander.kulichenko@gmail.com
- Мазина
Ирина Григорьевна** Никитский ботанический сад – Национальный научный центр РАН, кандидат биологических наук, заведующий лабораторией ландшафтной архитектуры, ведущий научный сотрудник, e-mail: mazina335066@mail.ru
- Миронюк
Ирина Сергеевна** Таврическая академия (структурное подразделение) ФГАОУ ВО «Крымский федеральный университет им. В.И. Вернадского», аспирант кафедры физиологии человека и животных и биофизики, e-mail: irina-mironjuk@mail.ru
- Михайлова
Анна Андреевна** Таврическая академия (структурное подразделение) ФГАОУ ВО «Крымский федеральный университет им. В.И. Вернадского», кандидат биологических наук, ассистент кафедры физиологии человека и животных и биофизики, e-mail: anna.kulenkova@gmail.com
- Мурзин
Юрий Львович** ИнБИОМ, ведущий инженер отдела ихтиологии
- Нажмединова
Диляра Исмаиловна** Таврическая академия (структурное подразделение) ФГАОУ ВО «Крымский федеральный университет им. В.И. Вернадского», студент 2 курса по направлению подготовки 04.04.01 Химия
- Немерешина
Ольга Николаевна** Оренбургский государственный медицинский университет, кандидат биологических наук, доцент кафедры Биохимии, e-mail: olga.nemerech@gmail.com

Непритимова Елена Андреевна	Таврическая академия (структурное подразделение) ФГАОУ ВО «Крымский федеральный университет им. В.И. Вернадского», магистр кафедры физиологии человека и животных и биофизики
Нетреба Евгений Евгеньевич	Таврическая академия (структурное подразделение) ФГАОУ ВО «Крымский федеральный университет им. В.И. Вернадского», кандидат химических наук, доцент кафедры Общей и физической химии
Николенко Вера Владимировна	Таврическая академия (структурное подразделение) ФГАОУ ВО «Крымский федеральный университет им. В.И. Вернадского», кандидат биологических наук, доцент кафедры ботаники и физиологии и биотехнологий.
Омельченко Александр Владимирович	Таврическая академия (структурное подразделение) ФГАОУ ВО «Крымский федеральный университет им. В.И. Вернадского», кандидат биологических наук, доцент кафедры ботаники и физиологии растений и биотехнологий, e-mail: omelchenko_tnu@mail.ru
Орехова Лилия Сергеевна	Таврическая академия (структурное подразделение) ФГАОУ ВО «Крымский федеральный университет им. В.И. Вернадского», ассистент кафедры валеологии и безопасности жизнедеятельности человека, e-mail: lili_psy@mail.ru
Павленко Владимир Борисович	Таврическая академия (структурное подразделение) ФГАОУ ВО «Крымский федеральный университет имени В. И. Вернадского», доктор биологических наук, заведующий кафедрой общей психологии и психофизиологии, e-mail: vpav55@gmail.com
Панов Денис Александрович	Таврическая академия (структурное подразделение) ФГАОУ ВО «КФУ им. В. И. Вернадского», кандидат химических наук, доцент кафедры общей и физической химии факультета биологии и химии, e-mail: despanov@gmail.com
Петришина Наталья Николаевна	Таврическая академия (структурное подразделение) ФГАОУ ВО «Крымский федеральный университет им. В. И. Вернадского», кандидат биологических наук, доцент кафедры ботаники и физиологии и биотехнологий.
Пидгайна Елена Сергеевна	Ботанический сад им. Н. В. Багрова, ФГАОУ ВО «Крымский федеральный университет им. В. И. Вернадского», младший научный сотрудник научного отдела Ботанического сада, e-mail: pidgainaja@mail.ru
Попова Зоя Викторовна	Таврическая академия (структурное подразделение) ФГАОУ ВО «Крымский федеральный университет им. В. И. Вернадского», магистр 2 курса кафедры ботаники и физиологии и биотехнологий

Поспелова Наталья Валериевна	ФГБУН ИМБИ, кандидат биологических наук, старший научный сотрудник отдела аквакультуры и морской фармакологии, e-mail: nvpospelova@mail.ru
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
Савушкина Ирина Геннадьевна	Таврическая академия (структурное подразделение) ФГАОУ ВО «Крымский федеральный университет им. В. И. Вернадского», кандидат биологических наук, доцент кафедры садово-паркового хозяйства и ландшафтного проектирования, e-mail: limodorum2001@rambler.ru
Самотой Юлия Владимировна	ИнБЮМ, ведущий инженер отдела ихтиологии
Сейт-Аблаева Султание Сейт-Важиповна	Таврическая академия (структурное подразделение) ФГАОУ ВО «Крымский федеральный университет имени В. И. Вернадского», Ботанический сад им. Н. В. Багрова, младший научный сотрудник Научного отдела, e-mail: sulta_nie@mail.ru
Сейтбуллаева Эльвира Жемаловна	Таврическая академия (структурное подразделение) ФГАОУ ВО «Крымский федеральный университет имени В. И. Вернадского», обучающаяся 2 курса магистратуры кафедры садово-паркового хозяйства и ландшафтного проектирования, e-mail: Lilya-bliz@mail.ru
Смирнова Людмила Леонидовна	ФГБУН «Институт природно-технических систем, кандидат химических наук, старший научный сотрудник Лаборатории океанологии, e-mail: inic48@inbox.ru
Соболев Валерий Иванович	Института педагогики, психологии и инклюзивного образования Гуманитарно-педагогической академии (филиал) ФГАОУ ВО «Крымский федеральный университет им. В. И. Вернадского», доктор биологических наук, профессор, профессор кафедры здоровья и реабилитации, e-mail: v.sobolev@mail.ru
Соловьёва Ольга Викторовна	ФГБУН «Институт морских биологических исследований имени А. О. Ковалевского РАН», кандидат биологических наук, старший научный сотрудник отдела морской санитарной гидробиологии, e-mail: kozl_ya_oly@mail.ru
Субботин Александр Анатольевич	ФГБУН ИМБИ, кандидат географических наук, старший научный сотрудник отдела аквакультуры и морской фармакологии, e-mail: i.y.subbotina@gmail.com

Сытник Наталья Александровна	ФГБОУ ВО «Керченский государственный морской технологический университет», кандидат биологических наук, доцент кафедры водные биоресурсы и марикультура», e-mail: amtek-kerch@mail.ru
Тихонова Елена Андреевна	ФГБУН «Институт морских биологических исследований имени А. О. Ковалевского РАН», кандидат биологических наук, старший научный сотрудник отдела морской санитарной гидробиологии, e-mail: tihonoval@mail.ru
Тонковцева Валентина Валериевна	Федеральное государственное бюджетное учреждение науки «Ордена трудового красного знамени Никитский ботанический сад – Национальный научный центр Российской академии наук», научный сотрудник лаборатории фитореабилитации человека, e-mail: valyalta@ Rambler.ru
Трощенко Олег Александрович	ФГБУН ИМБИ, кандидат географических наук, старший научный сотрудник отдела аквакультуры и морской фармакологии, e-mail: oleg_tr59@mail.ru
Труш Вера Владимировна	ГОУ ВПО «Донецкий национальный университет», кандидат медицинских наук, доцент, заведующая кафедрой физиологии человека и животных, e-mail: ver.trush@yandex.ru
Филипповский Станислав Сергеевич	Таврическая академия (структурное подразделение) ФГАОУ ВО «Крымский федеральный университет имени В.И. Вернадского», магистрант кафедры Общей и физической химии
Фролова Галина Александровна	ГОУ ВПО «Донецкий национальный университет», кандидат биологических наук, доцент кафедры физиологии человека животных, e-mail: gal_alex_frolova@mail.ru
Цикалов Виктор Валентинович	Таврическая академия (структурное подразделение) ФГАОУ ВО «Крымский федеральный университет имени В.И. Вернадского», кандидат химических наук, доцент кафедры органической и биологической химии
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
Чайка Андрей Владимирович	Таврическая академия (структурное подразделение) ФГАОУ ВО «Крымский федеральный университет имени В.И. Вернадского», аспирант кафедры физиологии человека и животных и биофизики, e-mail: andrew.chajka@yandex.ru

- Челядина
Наталья
Станиславовна** ФГБУН «Институт морских биологических исследований им. А. О. Ковалевского РАН», кандидат биологических наук, научный сотрудник Отдела аквакультуры и морской фармакологии, e-mail: chelydina2007@mail.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
- 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
- Ярош
Александр
Михайлович** ФГБУН «Ордена трудового красного знамени Никитский ботанический сад – Национальный научный центр Российской академии наук», доктор медицинских и биологических наук, заведующий отделом технических культур и биологически активных веществ, e-mail: a888my@mail.ru

СОДЕРЖАНИЕ

БИОЛОГИЧЕСКИЕ НАУКИ

Богданова С. А., Фролова Г. А.

ХАРАКТЕР ВЛИЯНИЯ СУЛЬПИРИДА НА ПОКАЗАТЕЛИ ПОВЕДЕНИЯ
ГОНАДЭКТОМИРОВАННЫХ САМЦОВ БЕЛЫХ КРЫС В БАТАРЕЕ ТЕСТОВ
В ЗАВИСИМОСТИ ОТ ИСХОДНОГО УРОВНЯ АКТИВНОСТИ
В ОТКРЫТОМ ПОЛЕ 3

Бочарова Е. А., Кравцова В. Н.

ЛЕКАРСТВЕННЫЕ ПРОТИВООПУХОЛЕВЫЕ ПРЕПАРАТЫ ИЗ МОРСКИХ
ОРГАНИЗМОВ (ОБЗОР)..... 19

**Дягилева Ю. О., Михайлова А. А., Белалов В. В., Орехова Л. С., Куличенко А. М.,
Павленко В. Б.**

КОГНИТИВНОЕ РАЗВИТИЕ ДЕТЕЙ РАННЕГО ВОЗРАСТА: СВЯЗЬ С
ПАРАМЕТРАМИ ФОНОВОЙ ЭЭГ 42

Иванова-Ханина Л. В.

ВЛИЯНИЕ ГОРМОНАЛЬНОГО СОСТАВА ПИТАТЕЛЬНОЙ СРЕДЫ НА
ИНТЕНСИВНОСТЬ РОСТА ЕЖЕВИКИ *IN VITRO*..... 51

Кайда А. И., Эйсмонт Е. В.

СВЯЗЬ РЕАКТИВНОСТИ СЕНСОМОТОРНОГО РИТМА ЭЭГ С
ПСИХОЛОГИЧЕСКИМИ ПОКАЗАТЕЛЯМИ У ДЕТЕЙ 6-9 ЛЕТ 60

Каширина Н. А., Жалдак С. Н.

АНАТОМИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ СТРОЕНИЯ ЛИСТОВОЙ ПЛАСТИНКИ
РАСТЕНИЙ ЦЕНОПОПУЛЯЦИЙ *CORNUS MAS L.* НА КРЫМСКОМ
ПОЛУОСТРОВЕ 71

Кобечинская В. Г.

ПОСТПАСТБИЩНАЯ ДЕМУТАЦИЯ В ОПУСТЫНЕННЫХ СТЕПЯХ РАВНИННОГО
КРЫМА С УЧЕТОМ ИНТЕНСИВНОСТИ ПАСКВАЛЬНОЙ НАГРУЗКИ 79

Кузьминова Н. С., Мурзин Ю. Л., Самотой Ю. В.

ПОПУЛЯЦИОННЫЕ, МОРФОФИЗИОЛОГИЧЕСКИЕ И МОРФОМЕТРИЧЕСКИЕ
ОТЛИЧИЯ ЧЕРНОМОРСКОЙ СТАВРИДЫ ИЗ ПРИБРЕЖНОЙ ЗОНЫ
СЕВАСТОПОЛЯ И БАЛАКЛАВЫ 97

Мазина И. Г.

ОПЫТ КУЛЬТИВИРОВАНИЯ РОДОДЕНДРОНА (*RHODODENDRON*) В
УСЛОВИЯХ УМЕРЕННО-КОНТИНЕНТАЛЬНОГО КЛИМАТА 108

Немерешина О. Н., Гусев Н. Ф.

ЛЕКАРСТВЕННЫЕ РАСТЕНИЯ ОРЕНБУРГСКОЙ ОБЛАСТИ..... 121

Петришина Н. Н., Николенко В. В., Попова З. В.

АНАТОМО-МОРФОЛОГИЧЕСКОЕ СТРОЕНИЕ ВЕГЕТАТИВНЫХ ОРГАНОВ
CIRCAEA LUTETIANA L...... 131

Поспелова Н. В., Трощенко О. А., Субботин А. А. ИЗМЕНЧИВОСТЬ КОРМОВОЙ БАЗЫ ДВУСТВОРЧАТЫХ МОЛЛЮСКОВ В ДВУХЛЕТНЕМ ЦИКЛЕ ВЫРАЩИВАНИЯ НА МИДИЙНО-УСТРИЧНОЙ ФЕРМЕ (ЧЁРНОЕ МОРЕ, ГОЛУБОЙ ЗАЛИВ).....	148
Раваева М. Ю., Чуян Е. Н. АДАПТАЦИЯ ТКАНЕВОЙ МИКРОГЕМОДИНАМИКИ К УСЛОВИЯМ КОМБИНАЦИИ СТРЕССОВЫХ ФАКТОРОВ.....	165
Савушкина И. Г., Сеит-Аблаева С. С., Сейтбуллаева Э. Ж. МЕТОДИКА ОЦЕНКИ ДЕКОРАТИВНОСТИ САДОВЫХ ФОРМ ТУИ ЗАПАДНОЙ (<i>THUJA OCCIDENTALIS</i> L.)	180
Соловьёва О. В., Тихонова Е. А. ДИНАМИКА СОДЕРЖАНИЯ ОРГАНИЧЕСКОГО ВЕЩЕСТВА В ДОННЫХ ОТЛОЖЕНИЯХ ПОРТОВЫХ АКВАТОРИЙ СЕВАСТОПОЛЯ	196
Сытник Н. А., Золотницкий А. П. О ВЗАИМОСВЯЗИ ПРОЦЕССОВ ФИЛЬТРАЦИИ И ДЫХАНИЯ ТИХООКЕАНСКОЙ УСТРИЦЫ (<i>CRASSOSTREA GIGAS</i> , TUNUNBERG), ИНТРОДУЦИРОВАННОЙ В АЗОВО-ЧЕРНОМОРСКИЙ БАССЕЙН	207
Труш В. В., Соболев В. И. МОДУЛЯЦИЯ β_2 -АДРЕНАГОНИСТОМ ФОРМОТЕРОЛОМ НАРУШЕНИЙ СОКРАТИТЕЛЬНОЙ ФУНКЦИИ СКЕЛЕТНОЙ МЫШЦЫ БЕЛЫХ КРЫС, ВЫЗВАННЫХ ДЛИТЕЛЬНОМ ВВЕДЕНИЕМ ДЕКСАМЕТАЗОНА	219
Челядина Н. С., Смирнова Л. Л. СОДЕРЖАНИЕ АСКОРБИНОВОЙ КИСЛОТЫ, КАЛЬЦИЯ, МЕДИ И ЦИНКА В МЕЖСТВОРЧАТОЙ ЖИДКОСТИ МИДИИ <i>MYTILUS GALLOPROVINCIALIS</i> LAM., КУЛЬТИВИРУЕМОЙ НА ЮГО-ЗАПАДНОМ ПОБЕРЕЖЬЕ КРЫМА	237
Черетаев И. В., Чайка А. В., Чуян Е. Н., Раваева М. Ю., Шульгин В. Ф. БИОСКРИНИНГ ЭФФЕКТОВ 1-ГИДРОКСИЭТАН-1,1-ДИФОСФОНОВОЙ КИСЛОТЫ НА ПОВЕДЕНИЕ КРЫС-САМЦОВ В ТЕСТЕ ПОРСОЛТА.....	247
Чуян Е. Н., Бирюкова Е. А., Миронюк И. С., Черетаев И. В., Чайка А. В., Непритимова Е. А. ВЛИЯНИЕ БИОУПРАВЛЕНИЯ ПО ОПОРНОЙ РЕАКЦИИ НА ФУНКЦИОНАЛЬНОЕ СОСТОЯНИЕ ВОЛОНТЕРОВ.....	257
Чуян Е. Н., Джелдубаева Э. Р., Раваева М. Ю., Черетаев И. В. МЕХАНИЗМЫ АДАПТАЦИИ ОРГАНИЗМА К УСЛОВИЯМ СТРЕССА РАЗНОЙ ПРИРОДЫ.....	269
Юркова И. Н., Омельченко А. В., Пидгайная Е. С. СТИМУЛЯЦИЯ УКОРЕНЕНИЯ И РАЗВИТИЯ ЧЕРЕНКОВ ХРИЗАНТЕМЫ МЕЛКОЦВЕТКОВОЙ КОМПОЗИЦИЕЙ НАНОСЕЛЕНА С β -ИНДОЛИЛУКСУСНОЙ КИСЛОТОЙ	283
Ярош А. М., Ибрагимова Э. Э., Тонковцева В. В., Коваль Е. С., Бекмамбетов Т. Р. ВЛИЯНИЕ ЭФИРНОГО МАСЛА ГВОЗДИЧНОГО ДЕРЕВА НА ПСИХОЭМОЦИОНАЛЬНОЕ СОСТОЯНИЕ И УМСТВЕННУЮ РАБОТОСПОСОБНОСТЬ ОБУЧАЮЩИХСЯ	292

ХИМИЧЕСКИЕ НАУКИ

Крымова В. В., Филипповский С. С., Нетреба Е. Е.

АДСОРБЦИЯ СУЛЬФОНОЛА НА БЕНТОНИТАХ КРЫМСКОГО
МЕСТОРОЖДЕНИЯ 302

Панов Д. А.

ВЛИЯНИЕ ХИТОЗАНА НА ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА АЛЬГИНАТА
НАТРИЯ 311

Цикалов В. В., Цикалова В. Н., Баевский М. Ю., Нажмединова Д. И.

СИНТЕЗ И ПРОГНОЗИРУЕМАЯ БИОЛОГИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ
ПРОИЗВОДНЫХ 2-АМИНОБЕНЗИМИДАЗОЛА 320

Яковешин Л. А., Корж Е. Н., Гришковец В. И.

ВЗАИМОДЕЙСТВИЕ КВЕРЦЕТИНА С ХОЛЕСТЕРИНОМ 328

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ 337

СОДЕРЖАНИЕ 344