УЧЕНЫЕ ЗАПИСКИ

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

Научный журнал

Том 5 (71), № 1

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

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

ISSN 2413-1725

Свидетельство о регистрации СМИ – ПИ № ФС77-61791 от 18 мая 2015 года.
Выдано Федеральной службой по надзору 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 № 1 от 22 января 2019 г.
Журнал включен в Перечень рецензируемых научных изданий, в которых должны быть опубликованы основные научные результаты диссертаций на соискание ученой степени кандидата наук, на соискание ученой степени доктора наук, отрасль науки 03.02.00 – общая биология, 03.03.00 – физиология, 02.00.00 – химические науки, дата включения – 12.07.2017, а также в систему «Российский индекс научного цитирования» (РИНЦ)

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

Главный редактор – Чуян Елена Николаевна, д. б. н., проф.
Ответственный секретать – Туманянц К. Н., к. б. н., доц.
Технический редактор – Ярмолюк 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 25.01.2019. Формат 70х100 1/16.
Заказ № НП/126. Тираж 50. Индекс, цена.
Дата выхода в свет «__» _____ 2019 г.
Отпечатано в управлении редакционно-издательской деятельности
ФГАОУ ВО «КФУ имени В. И. Вернадского»
Адрес редакции, издательства и типографии:
295051, г. Симферополь, бул. Ленина, 5/7
http://sn-biolchem.cfuv.ru

БИОЛОГИЧЕСКИЕ НАУКИ

Ученые записки Крымского федерального университета имени В. И. Вернадского
Биология. Химия. Том 5 (71). 2019. № 1. С. 3–12.

УДК 796.077.012.1:572

АНТРОПОМЕТРИЧЕСКИЕ И ФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ КАЧЕСТВА СПОРТСМЕНОВ, ЗАНИМАЮЩИХСЯ БОКСОМ И БАСКЕТБОЛОМ

Архангельская Е. В., Герасимчук В. Н., Чёрный С. В., Туманянц К. Н.

Таврическая академия (структурное подразделение) ФГАОУ ВО «Крымский федеральный университет имени В. И. Вернадского», Симферополь, Республика Крым, Россия
E-mail: modul81@mail.ru

Исследование показало, что морфофункциональные показатели спортсменов, занимающихся баскетболом и боксом соответствуют выбранному виду спорта и способствуют возможности добиться высоких спортивных результатов. Тренировки со специфическими физическими нагрузками приводят к модификации морфологических особенностей и улучшению функциональных показателей спортсменов. Сравнительным анализом установлено, что боксеры и баскетболисты по своим антропометрическим характеристикам и функциональным показателям значимо различались.
Ключевые слова: антропометрия, функциональные тесты, физическое развитие, соматотип спортсмена.

ВВЕДЕНИЕ

Стремление к повышению спортивных достижений на современном этапе развития спорта актуализирует изучение функциональных особенностей спортсменов в их связи с антропометрическими характеристиками. Известно, что эти характеристики оказывают влияние на проявление комплекса двигательных способностей, адаптацию организма спортсмена к различным условиям среды, особенности физической работоспособности, восстановления и иных параметров, обеспечивающих высокий уровень спортивных достижений.

В современном спорте наблюдается тенденция к развитию новых, прикладных подходов анализа тактико-технических действий [1]. Изучение антропометрических особенностей спортсменов позволяет не только изучать вклад конституциональных особенностей в успешность спортивной деятельности, но и предлагает новые, нестандартные тактические решения в ходе спортивной игры или схватки [2]. При этом следует отметить, что для каждого вида спорта характерен определенный комплекс морфофункциональных признаков, особенно ярко проявляющихся на уровне спортсменов экстра-класса [3].

В процессе регулярных и интенсивных занятий спортом в организме спортсмена происходят изменения, которые, в конечном счете, ведут к формированию определенного соматотипа, характерного для данной

специализации. В процессе длительной специфической спортивной деятельности определяются взаимосвязи соматотипа и особенностей адаптации функциональных систем организма спортсменов разных видов спорта. Изучение морфометрических характеристик спортсменов позволяет более полно охарактеризовать и оценить режим их деятельности, динамику восстановительных процессов и степень физической работоспособности, особенно в видах спорта с градацией по весовым категориям [4, 5].

Следует отметить, что антропометрические особенности, характерные для одного вида спорта, в другом его виде также могут иметь весьма существенное значение. В этом случае особое значение приобретают особенности именно тактико-технической подготовки «нестандартного» спортсмена, что позволяет ему добиваться высокого уровня спортивных достижений. В качестве примера можно привести спортивную карьеру Николая Сергеевича Валуева, бывшего чемпионом страны по баскетболу среди юношей, выполнившего квалификацию мастера спорта по легкой атлетике и ставшим, в итоге, чемпионом мира по боксу в супертяжелом весе. В методиках тренировки боксеров и баскетболистов важно определить взаимосвязи соматотипа и адаптации функциональных систем организма у спортсменов разных специализаций. Поэтому, целью данной работы являлась сравнительная характеристика морфофункциональных качеств боксеров и баскетболистов.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Исследовательская часть работы была выполнена на базе факультета физической культуры и спорта Таврической Академии г. Симферополя в период сентября–октября 2018 г. В обследовании принимали участие 10 боксеров средней весовой категории и 10 баскетболистов в возрасте 18–21 лет. Все спортсмены имели уровень спортивной квалификации «кандидат в мастера спорта».

У обследуемых проводили анализ таких антропометрических характеристик, как вес, длина тела, обхват бицепса (m. bicepsbrachii), обхват шеи, обхват грудной клетки, рассчитывали весо-ростовые индексы Кетле (по следующей формуле: (вес/2,205) / (рост/39,37)^2) и Пинье (рассчитываемый по следующей формуле: длина тела (см) – масса тела (кг) + окружность грудной клетки (см)).

Уровень функционального состояния сердечно-сосудистой системы оценивали по показателям частоты сердечных сокращений, артериального давления, жизненной емкости легких, пробы Штанге (время произвольной задержки дыхания на максимальном вдохе), а также частоты дыхания до и после нагрузочного тестирования. В качестве нагрузочного теста предлагалось выполнить 20 максимально амплитудных приседаний в течение 30 с.

Полученные данные обрабатывались с помощью стандартных методов вариационной статистики. В качестве мер центральных тенденций, иллюстрирующих выраженность анализируемых признаков, применяли значение среднего и стандартной ошибки среднего. Перед выбором методов статистического анализа была произведена их проверка на нормальность распределения с помощью критерия Колмогорова-Смирнова. Учитывая, что часть данных имела

распределение отличное от нормального, для дальнейшего анализа использовались непараметрические методы статистического анализа [7].

Значения среднего и стандартной ошибки среднего были выбраны как наиболее показательные в иллюстративном плане, являющиеся наиболее понятными для восприятия представленного материала.

Для анализа межгрупповых различий использовали непараметрический критерий Манна-Уитни. Для выявления взаимосвязей между исследуемыми признаками в каждой из групп применяли критерий ранговой корреляции Спирмена. Статистический анализ производился с помощью пакета STATISTICA 8.0 [8].

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Нами были выявлены различия в показателях антропометрических характеристик спортсменов исследуемых групп. На рисунке 1 показаны основные морфологические показатели, определяющие уровень физического развития спортсменов.

В среднем для боксеров рост составлял 178,7±2,7 см, а для баскетболистов 187,5±1,8 см. Такое существенное различие в росте объясняется тем, что на начальном этапе занятий проводился отбор спортсменов. Считается, что для баскетболистов приоритетными являются ростовые показатели и продольные пропорции тела, а для боксеров более значимы обхватные и широтные показатели [4]. Нами определено, что средние показатели обхвата бицепса у боксеров составили 35,4±1,2 см, а у баскетболистов 32,7 ±0,3 см. Это можно объяснить тем, что боксеры, в отличие от баскетболистов, делают большой упор на развитие специфических силовых и технических способностей, которые определяются морфологическими особенностями строения верхних конечностей. Последние, в частности, достаточно объективно определяются именно показателями обхватных значений бицепса.

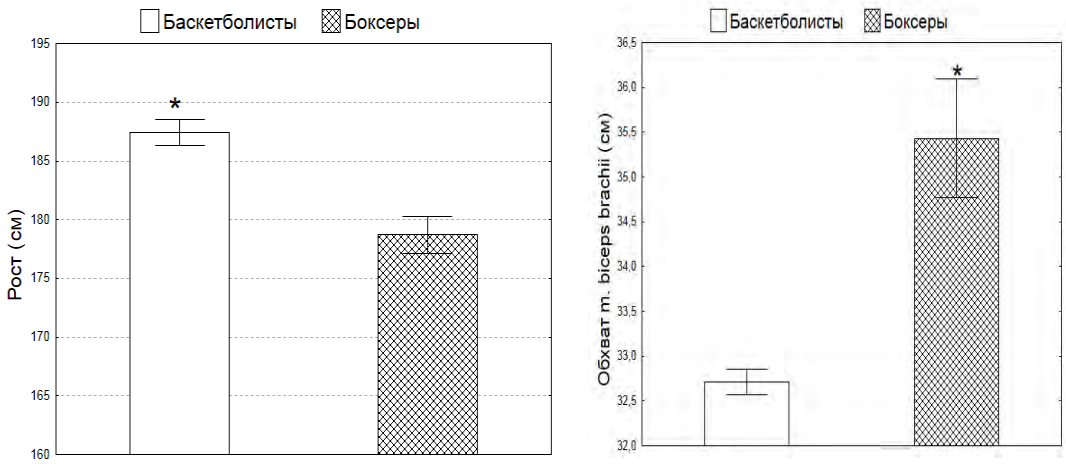


Рис. 1. Показатели антропометрических характеристик баскетолистов и боксеров

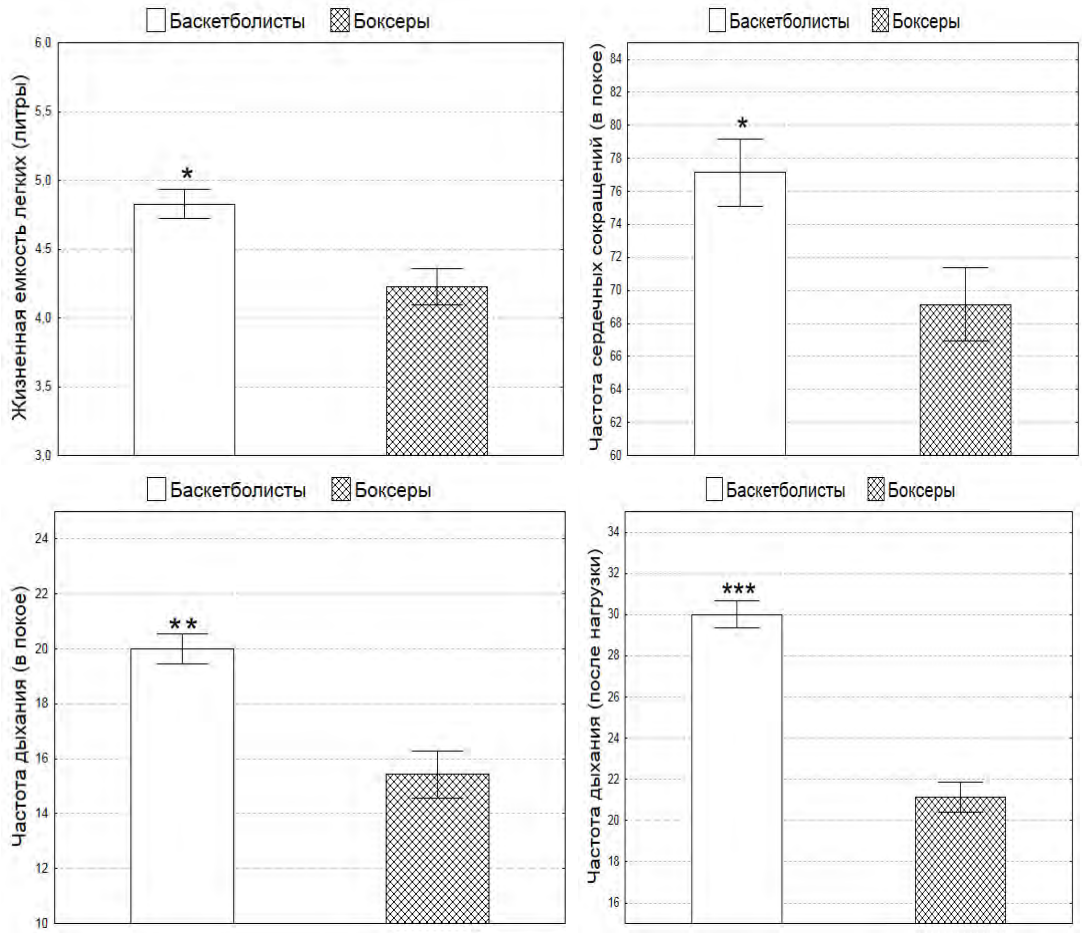


Рис. 2. Показатели функционального состояния сердечно-сосудистой и дыхательной систем баскетболистов и боксеров

В процессе длительной специфической спортивной деятельности определяются взаимосвязи соматотипа и особенностей адаптации функциональных систем организма спортсменов разных специализаций.

Анализ показателей функциональных систем организма исследуемых групп спортсменов выявил наличие статистически значимых различий. Так, жизненная емкость легких (рисунок 2) у боксеров в среднем составила 4,2±0,2 л, показатели баскетболистов значительно выше – 4,8±0,18 л. Данный факт объясняется тем, что, исходя из специфики вида спорта, деятельность баскетболистов предполагает более длительное выполнение специфической физической нагрузки. Наши исследования показали, что у боксеров и баскетболистов, имеются значимые различия в частоте дыхания до нагрузки: у баскетболистов – 20±0,2, у боксеров – 15±0,3, и после нагрузки у баскетболистов – 30±0,4, а у боксеров – 21±0,3.

У боксеров большая вариативность согласования движений и дыханий является

одним из критериев тренированности. Также, спортсменам необходимо адаптировать свое дыхание к «сбивающим» ударам противника. Относительно большая величина задержек дыхания (до 30,1 %) у спортсменов старших разрядов говорит о необходимости адаптации боксеров к недостатку кислорода во время соревновательного боя. Очевидно, адаптация к недостатку кислорода может служить одним из показателей высшего мастерства спортсмена. Частота совершения дыхательных движений во время игры в баскетбол достигает 50–60 циклов за одну минуту, а минутный объем дыхания варьирует в пределах 120–150 литров [11, 12].

Эти различия связанны с разным видом работ выполняемых в боксе и баскетболе: баскетболу присуща аэробно-анаэробная выносливость, которой присущи выполнения нагрузки более длительный временной промежуток, в боксе приоритет скоростной выносливости (интенсивная нагрузка, выполненная в короткий промежуток времени).

По нашим данным у баскетболистов определена ЧСС – 77±0,2 уд./мин в покое, у боксеров – 68±0,4 уд./мин. в покое.

В состоянии покоя у боксеров наблюдается выраженная брадикардия. Непосредственно во время боя сердцебиение учащается до 180–200 уд/мин, систолическое артериальное давление увеличивается до 200 мм.рт. ст. В период отдыха между раундами ЧСС восстанавливается не полностью [6].

Взаимосвязь между величиной объема сердца и физической работоспособностью у спортсменов носит линейный характер. Чем больше объем спортивного сердца, тем выше физическая работоспособность спортсмена, измеряемая по тесту PWC170. Из всех игровых видов спорта у баскетболистов этот показатель самый высокий [6].

У баскетболистов в состоянии покоя скорость кровотока в сосудах верхних и нижних конечностей ослабляется. Такая экономичность кровотока достигается систематической интенсивной тренировкой. После большой физической нагрузки высший уровень объемной скорости кровотока отмечен у юношей, а мастерам удается выполнять идентичную нагрузку при более рациональном включении отдельных мышц, что снижает у последних долг по крови [12, 13].

Во время занятий баскетболом проявляются многие разновидности энергетического обеспечения работающих мышц. Чем полнее тренировка будет отвечать индивидуальным особенностям (телосложению, физическому и психическому развитию) спортсменов, тем быстрее они будут прогрессировать и достигать больших высот в спорте [14].

В наших исследованиях были выявлены взаимосвязи антропометрических характеристик и показателей функциональных систем у спортсменов исследуемых групп. Так, в группе боксеров (рисунок 3) отмечены достоверные корреляции между глобальными и парциальными морфологическими характеристиками.

Как видно из представленных данных, весо-ростовые параметры тесно связаны с обхватом грудной клетки, обхватом плеча и силой кисти. Выявлена высокая положительная корреляция между обхватом грудной клетки (в покое) и

функциональным показателем ЧСС (после нагрузки). Также определилась связь между параметром веса и восстановлением ЧСС после нагрузки.

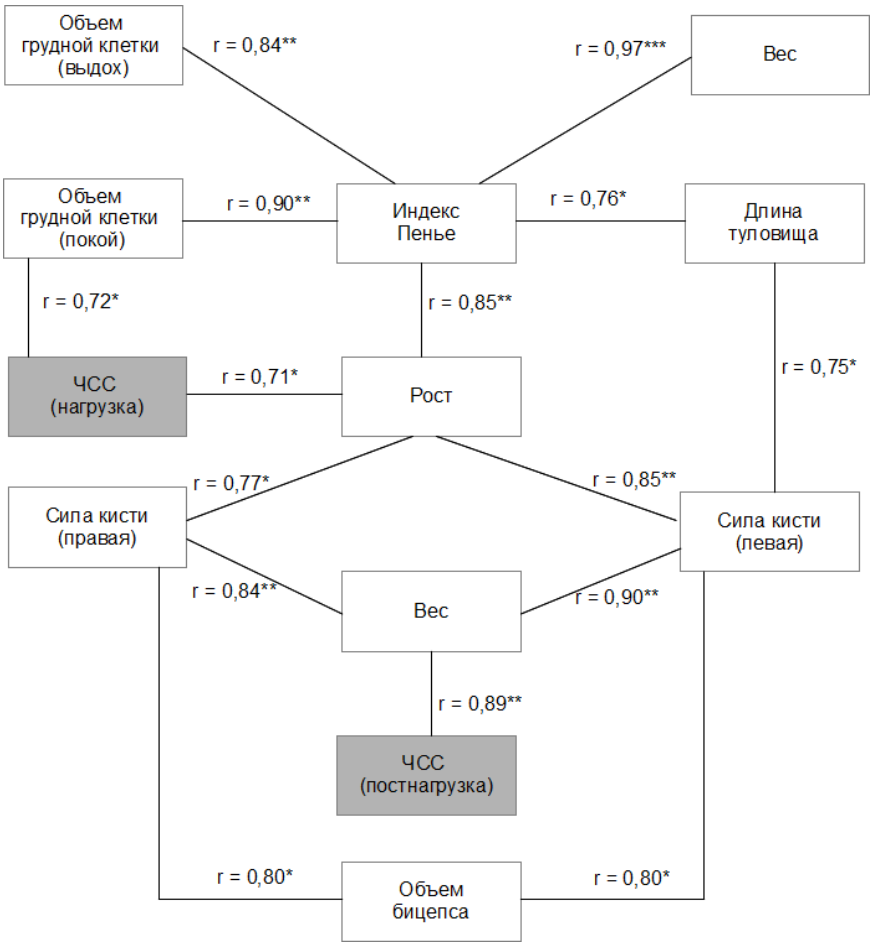


Рис. 3. Корреляции антропометрических характеристик и показателей функционального состояния сердечно-сосудистой и дыхательной систем в группе боксеров

В свою очередь, в группе баскетболистов (рисунок 4) проявились другие достоверные корреляции. Так отмечена высокая отрицательная корреляция между длиной туловища и экскурсией грудной клетки.

Считается, что данные феномены возникает потому, что для тела с большими размерами будет характерен более выраженный амортизирующий эффект со стороны связочного аппарата. В свою очередь, для тела, имеющего меньшие абсолютные размеры, данный феномен если и будет характерен, то в намного меньшей степени [14].

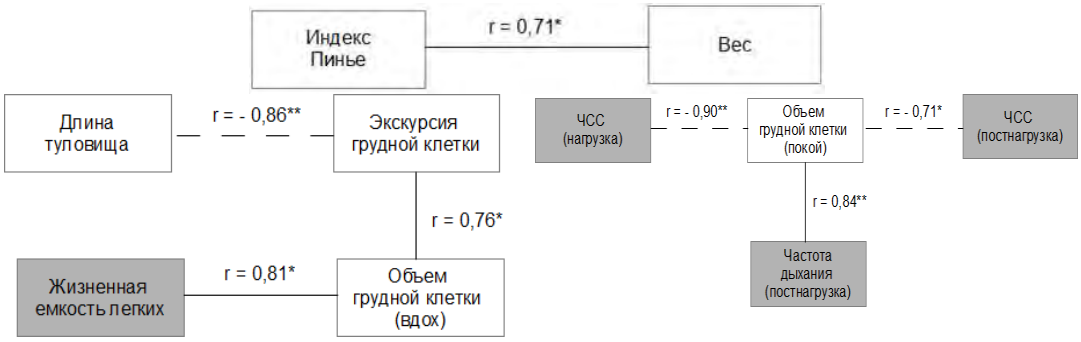


Рис. 4. Корреляции антропометрических характеристик и показателей функционального состояния сердечно-сосудистой и дыхательной систем в группе баскетболистов.

Указанные особенности связаны с тем, что при выполнении ряда движений (например, при ходьбе) энергетические затраты на перемещение массы тела обратно пропорциональны длине шага (иными словами, скорость метаболизма будет обратно пропорциональна времени контакта стопы с поверхностью). Таким образом, способность к фиксации центра массы, так как при его стационарном положении, так и при подготовке к реализации специфического движения в основном определяется тонусом со стороны соответствующих мышечно-сухожильных блоков [15].

Кроме того, успешность выполнения броска мяча в баскетболе обусловлена как техническими особенностями его проведения, так и степенью сокращения специфических групп мышц [6, 15]. Данные особенности также обусловлены биомеханическими особенностями организации движения и имеют прямую зависимость от антропометрических характеристик.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

По данным научной литературы и наших исследований уровень спортивных достижений диктует необходимость изучения и оценки среди множества показателей индивидуальных особенностей организма спортсменов – антропометрические показатели. Они оказывают влияние на проявление силы, скорости, выносливости, гибкости, работоспособность, восстановление и спортивные достижения. Сравнительный анализ наших данных показал, что боксеры и баскетболисты по своим антропометрическим характеристикам отличались. Особенно значимо это выраженно в показателях роста и обхвата бицепса. В среднем у боксеров рост составлял 178,7±2,7 см, а у баскетболистов 187,5±1,8 см. Такое существенное различие в росте объясняется тем, что на начальном отборочном этапе спортсменов у баскетболистов приоритетным является рост спортсмена, а для боксеров средних весовых категорий ростовые показатели являются не столь значимыми. Средние показатели обхвата бицепса показали у боксеров величину 35,4±1,2 см, а у баскетболистов 2,7±0,3 см. У спортсменов в

группе боксеров отмечены достоверные корреляции между глобальными и парциальными морфологическими характеристиками.

Сравнительный анализ функциональных показателей определил такие результаты: ЖЕЛ у боксеров в среднем составила 4,2±0,2 л, а показатели баскетболистов значительно выше – 4,8±0,18 л. Данный факт объясняется тем, что соревновательная деятельность баскетболистов предполагает более длительное выполнение физических упражнений. Наши исследования показали, что у боксеров и баскетболистов, имеются значимые различия в частоте дыхания до нагрузки: у баскетболистов – 20±0,2, у боксеров – 15±0,3 и после нагрузки у баскетболистов – 30±0,4, а у боксеров – 21±0,3.

По нашим данным у баскетболистов ЧСС в покое составила 77±0,2 уд./мин, у боксеров – 68±0,4 уд./мин. В состоянии покоя у боксеров наблюдалась выраженная брадикардия.

Изучение антропометрических особенностей спортсменов позволяет не только изучать вклад конституциональных особенностей в успешность спортивной деятельности, но и предлагать нестандартные тактические решения в ходе спортивной игры или схватки.

Таким образом, в методиках тренировки боксеров и баскетболистов, как у спортсменов разных специализаций, следует уделить внимание вопросу взаимосвязи соматотипа и адаптации функциональных систем организма.

Список литературы

1. Баранов В. Н. Развитие диссертационных исследований по проблемам тематики спорта высших достижений и подготовки спортивного резерва / В.Н. Баранов, Б.Н. Шустин // Вестник спортивной науки. – 2013. – №5. – С. 7–15.
2. Осколков В.А. Актуальные направления совершенствования технико-тактической подготовки в боксе / В.А. Осколков // Теория и практика физической культуры. – 2010. – №8. – С. 36–41.
3. Жданов Ю.Н. Новые подходы к повышению защитных свойств боксеров / Ю.Н. Жданов // Спорт для всех. – 1998. – №1 – С. 72–80.
4. Лапутин А.Н. Биомеханика физических упражнений / А.Н. Лапутин, В.Е. Хапко – К.: Рад.шк., 1986. – 135 с.
5. Leonardo S.F. Is drive for muscularity related to body checking behaviors in men athletes? / S. F. Leonardo, M.E.C. Ferreira, P.H.B. Carvalho, R. Miranda // RevistaBrasileira de Ciências do Esporte. – 2017. – Vol. 39. – № 2. – P. 141–147
6. Романенко В.А. Двигательные способности человека / В.А. Романенко – Донецк, 2005.– 290 с.
7. Лакин Г.Ф. Биометрия. Учебник для вузов. 4-е издание/ Г.Ф. Лакин – М.: Высшая школа, 1990. – 352 с.
8. Боровиков В. Statistica. Искусство анализа данных на компьютере/ В. Боровиков – Изд-во Питер, 2003 г. 2-ое изд. – 688 с.
9. Матвеев Л.П. Модельно-целевой подход к построению спортивной тренировки / Л.П. Матвеев – М.: ФиС, 2000. – 280 с.
10. Дорохов Р.Н. Спортивная морфология / Р.Н. Дорохов, В.П. Губа – М., 2002. – 236 с.
11. Суслина И.В. Функциональные характеристики дыхательной мускулатуры спортсменов различной специализации и квалификации / И.В. Суслина // Физическое воспитание и спортивная тренировка. – 2012. – №1 (3). – С. 154–161.
12. Дубровский В.И. Спортивная физиология. Учебник для вузов / В.И. Дубровский – М.: Из-во ВЛАДОС-ПРЕСС, 2012. – 604 с.

13. Kram R. Energetics of running: a new perspective / R. Kram, C.R. Taylor // Nature. – 1990. – Vol. 346. – P. 265–267.
14. Marsh R.L. Partitioning the energetics of walking and running: swinging the limbs is expensive. / R. L. Marsh, D.J. Ellerby, J.A. Carr, H.T. Henry, C.I. Buchanan // Science. – 2014. – Vol. 303. – P. 80–83
15. Марченко Н.В. Биомеханические закономерности подготовительной фазы бросков в прыжке в баскетболе / Н.В. Марченко, В.И. Андреев // Теория и практика физической культуры. – 2008. – № 7. – С. 14–18

ANTHROPOMETRIC AND FUNCTIONAL QUALITY OF ATHLETES OF DIFFERENT TYPES OF SPECIALIZATIONS

Arkhangelskaya E. V., Gerasimchuk V. N., Chernyi S. V., Tumanyants K. N.

V.I. Vernadsky Crimean Federal University, Simferopol, Crimea, Russia
E-mail: modul81@mail.ru

Our studies have shown that morphofunctional indicators of athletes correspond to the chosen sport and contribute to the ability to achieve high sports results. Training with specific physical loads leads to the modification of morphological features and improved functional performance of students involved in basketball and boxing.

In the training methods of boxers and basketball players, it is important to determine the relationship between the somatotype and the adaptation of the functional systems of the body among athletes of different specializations. Therefore, the purpose of this work was to compare the morphofunctional qualities of boxers and basketball players.

The research part of the work was performed on the basis of the Faculty of Physical Culture and Sports of the Tavricheskaya Academy of Simferopol in the period September–October 2018. 10 boxers and 10 basketball players aged 18–21 took part in the survey.

All subjects were analyzed anthropometric characteristics, such as weight, body length, biceps obhat, neck cheat, chest girth, Pigne weight-height index. The level of the functional state of the cardiovascular system was assessed by the indicator – heart rate (HR) before and after exercise, the respiratory system in terms of lung capacity, the Barbell test and the respiratory rate. As a load test, it was proposed to perform 20 deep squats in 30 seconds. The obtained data were processed using standard methods of variation statistics.

Comparative analysis showed that boxers and basketball players differed in their anthropometric characteristics, this is especially significant in terms of biceps growth and girth. On average, growth for boxers was 178.7 ± 2.7 cm, and for basketball players – 187.5 ± 1.8 cm. Average biceps girth values were shown for boxers 35.4 ± 1.2 cm, for basketball players – 32.7 ± 0 3 In the group of boxers, significant correlations between global and partial morphological characteristics were noted.

Differences in functional parameters are determined. Thus, the lung capacity (VC) in boxers averaged 4.2 ± 0.2 l, in basketball players 4.8 ± 0.18 l. Our studies have shown that boxers and basketball players have significant differences in the frequency of breathing before the load: for basketball players – 20 ± 0.2 for boxers – 15 ± 0.3 and after exercise:

for basketball players – 30 ± 0.4, for boxers – 21 ± 0.3. Indicators of the cardiovascular system are defined in basketball players: HR – 77 ± 0.2 beats per minute at rest, in boxers – 68 ± 0.4 beats per minute at rest. Basketball players showed a high negative correlation between the chest girth (at rest) and the functional index of the heart rate (after exercise).

***Keywords*:** anthropometry, functional tests, physical development, athlete's morphotype.

References

1. Baranov V.N., Shustin B.N. Development of dissertation research on issues of top-level sports and the preparation of a sports reserve, *Bulletin of sports science*, **5**, 7 (2013).
2. Oskolkov V.A. Actual directions of improving technical and tactical training in boxing, *Theory and practice of physical culture*, **8**, 36 (2010).
3. Zhdanov Yu.N. New approaches to improve the protective properties of boxers, *Sport for all*, **1**, 72 (1998).
4. Laputin A.N., Hapko V.E. *Biomechanics of physical exercises* (K .: Rad.shk, 1986).
5. Leonardo S.F., Ferreira M.E.C., Carvalho P.H.B., Miranda R. Is there a problem with muscularity?, *Revista Brasileira de Ciências do Esporte*, **39 (20)**, 141 (2017).
6. Romanenko V.A. *Movement of a person*. (Donetsk. DonNU, 2005).
7. Lakin G.F. Biometrics. *Textbook for universities*. 4th edition (M.: Higher School, 1990).
8. Borovikov V. Statistica. *The art of analyzing data on a computer* (Peter publishing house, 2003 2nd ed).
9. Matveev L.P. *Model-target approach to the construction of sports training* (M.: FiS, 2000).
10. Dorokhov R.N., Guba V.P. *Sports morphology* (Moscow: Sportakadem Press, 2002).
11. Suslina I.V. Functional characteristics of the respiratory muscles of athletes of various specializations and qualifications, *Physical education and sports training*, **1(3)**, 154 (2012).
12. Dubrovsky V.I. *Sports physiology. Textbook for universities* (M.: From-VLADOS-PRESS, 2012).
13. Kram R., Taylor C.R. Energetics of running: a new perspective, *Nature*, **346**, 265 (1990).
14. Marsh R.L., Ellerby D.J., Carr J.A., Henry H.T., Buchanan C.I. Partitioning the energetics of walking and running: limbs is expensiv, *Science*, **303**, 80 (2014).
15. Marchenko N.V., Andreev V.I. Biomechanical laws of the preparatory phase of jumps in a basketball jump, *Theory and practice of physical culture*, **7**, 14 (2008).

Ученые записки Крымского федерального университета имени В. И. Вернадского
Биология. Химия. Том 5 (71). 2019. № 1. С. 13–22.

УДК 591.185.2

ИЗМЕНЕНИЕ БОЛЕВОЙ ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТИ У КРЫС В ЗАВИСИМОСТИ ОТ ИНДИВИДУАЛЬНО-ТИПОЛОГИЧЕСКИХ ОСОБЕННОСТЕЙ

Джелдубаева Э. Р., Трибрат Н. С., Кириллова А. В., Чуян Е. Н.

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

Выявлена зависимость болевой чувствительности половозрелых и неполовозрелых крыс с зависимости от пола и индивидуального профиля латерализации локомоторной активности.
Ключевые слова: моторная асимметрия, половозрелые особи, неполовозрелые особи, болевая чувствительность.

ВВЕДЕНИЕ

Проблема индивидуально-типологических особенностей присутствует в любой сфере физиологических и биофизических исследований. В частности, индивидуально-типологические свойства могут проявляться в особенностях межполушарной асимметрии, которая изучается на протяжении многих лет, как у человека, так и у животных и до сих пор остается актуальной. Проведенные исследования на животных, выявили наличие у них различных видов асимметрии: морфологической асимметрии различных структур мозга; химической асимметрии содержания медиаторов; метаболитов и других веществ; асимметрии межполушарных взаимоотношений и электрической активности мозговых структур и т.д. Одним из них является моторная асимметрия, которая включает асимметрию позы, пространственную асимметрию (выбор направления движения или стороны в лабиринте), предпочтение передней конечности при выполнении различных манипуляционных реакций. Функциональная асимметрия мозга, одним из проявлений которой является моторная асимметрия, согласно современным представлениям, усиливает адаптационные возможности организма, позволяет разнообразить пути и эффективность обработки различных видов информации, оптимизировать ответные реакции организма [1]. А динамичность соотношения особей с разным знаком моторной асимметрии в популяциях является, по-видимому, одним из адаптивных свойств функциональной асимметрии мозга. У животных выявлен разный вклад симметричных полушарий головного мозга в формирование и реализацию двигательных навыков, связанных с некоторыми формами мотивационно-адаптационной активности [2, 3]. В регуляции вегетативных функций у крыс различная роль правого и левого полушарий

продемонстрирована на примерах пищевого поведения [4, 5], регуляции внешнего дыхания [6, 7]. Показано, что у животных с различными индивидуально-типологическими особенностями поведения в тесте «открытое поле» (ОП) имеются существенные различия в характере энергетического, белкового и других видов метаболизма [8, 9], активности окислительно-восстановительных ферментов [10], перекисного окисления липидов [9], моноаминергических систем [11] и других физиологических и биохимических показателей.

Установлена индивидуальная чувствительность человека и животных к экстремальным факторам среды, в частности, к эмоциональному, болевому, гипокинетическому и другим видам стресса [12, 13]. В наших предыдущих исследованиях было показано, что как уровень двигательной активности в тесте ОП, так и профиль моторной асимметрии животных могут служить критерием чувствительности к низкоинтенсивному электромагнитному излучению миллиметрового диапазона [14].

Но, несмотря на большое количество работ, направленных на изучение моторной асимметрии у животных, до сих пор остается нерешенным вопрос о том – существует ли у животных исходная моторная асимметрия (как следствие врожденных, генетически детерминированных свойств, или она появляется в результате асимметрии развития в антенатальном онтогенезе), или же моторное предпочтение является результатом действия внешних факторов, формирующихся в процессе индивидуального опыта или направленного обучения. Для дальнейшего раскрытия и понимания механизмов, формирующих нормальную асимметрию мозга, не менее актуальным является изучение профильной моторной асимметрии у крыс обоего пола в онтогенезе.

В связи в вышеизложенным, целью данного исследования явилось выявление изменений болевой чувствительности у крыс в зависимости от индивидуально-типологически свойств объекта, а именно, от пола и возраста и профиля межполушарной моторной асимметрии.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Исследование проведено в соответствии с ГОСТ Р-53434-2009 «Принципы надлежащей лабораторной практики» [15] и правилами Европейской конвенции по защите позвоночных животных, используемых для экспериментальных и иных научных целей.

Иссле).

Экспериментальная часть работы выполнялась в центре коллективного пользования научным оборудованием «Экспериментальная физиология и биофизика» кафедры физиологии человека и животных и биофизики.

Для эксперимента отбирали самок и самцов крыс трех возрастных категорий – неполовозрелые (3–4 месяца) (n = 60) и половозрелые (7 месяцев) (n = 60).

У всех животных определяли профиль моторной асимметрии в тесте Т-образный лабиринт [17]. Так, после помещения в центр Т-образного лабиринта у каждой особи подсчитывали число побежек в правую или левую сторону. После усреднения данных 10-ти повторных опытов вычисляли коэффициент моторной

асимметрии (Кас) – показатель предпочтения направления движения, который представляет собой отношение разности правосторонних (П) и левосторонних (Л) побежек к их сумме, выраженный в процентах:

$$Кас = (П – Л) / (П + Л) \times 100\%$$ [18].

По результатам тестирования все животные были разделены на 3 группы: «правши» (Кас > 20), «левши» (Кас < -20) и «амбидекстры» (-20 < Кас < 20).

Тестирование в Т-образном лабиринте проводили в затемненном звукоизолированном помещении в одно и то же время суток (с 9^{00} до 11^{00} часов) до кормления.

Индивидуальную болевую чувствительность определяли по показателю латентный период болевой реакции (ЛПР тфт) в тесте отдергивания хвоста (ТФТ, tail-flick test) при воздействии на него фокусированного теплового луча [19]. ЛПБР регистрировали с помощью аналгезиметра LE7106 (компании Panlab, Испания). Прибор производит точное измерение болевого порога при воздействии инфракрасного теплового стимула. В этом тесте животному предъявляли по три попытки – через три минуты друг за другом, затем вычисляли среднее арифметическое из трех измерений.

Острую термическую боль моделировали в тесте “горячая пластинка" (ТГП, hot plate test) с помощью прибора BIO-CHP, (компании Bioseb, Франция, США). Животных помещали на нагревательную поверхность и вгот же момент регистрировали латентный период болевой реакции (ЛПР тгп) до появления болевой реакции – облизывания передних, задних лап, подпрыгивания.

Статистическая обработка результатов проводилась с использованием пакета STATISTICA-8.0. После проверки значений переменных на нормальность распределения, оценка достоверности межгрупповых различий проводилась с помощью критерия Фридмана. Различия считались достоверными при $p \leq 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Результаты исследования профиля моторной асимметрии у неполовозрелых крыс показали, что у самцов 68,75 % исследуемых животных представлено с левым локомоторным профилем – «левшами», 37,50 % и 25,00 % соответственно крысами с правосторонних локомоций «правшами» и с локомоторной симметрией – «амбидекстрами». Таким образом, у неполовозрелых самцов превалировали «левши», то есть особи с правополушарным доминированием.

При этом самый высокий ЛБПР был зарегистрирован в ТФТ у неполовозрелых «правшей» самцов и составил 7,23±0,41мс и был выше на 47,44 ($p \leq 0,05$) и 32,22 ($p \leq 0,05$) в сравнении с данными этого показателя, зарегистрированными у «амбидекстров» и у «левшей». В ТГП у неполовозрелых правшей отмечалась лишь тенденция к наиболее высоким значениям ЛПБР. Таким образом, неполовозрелые самцы «правши» оказались наиболее устойчивыми к болевым стимулам. Аналогичная динамика сохранялась у самцов и во взрослом состоянии (у половозрелых особей).

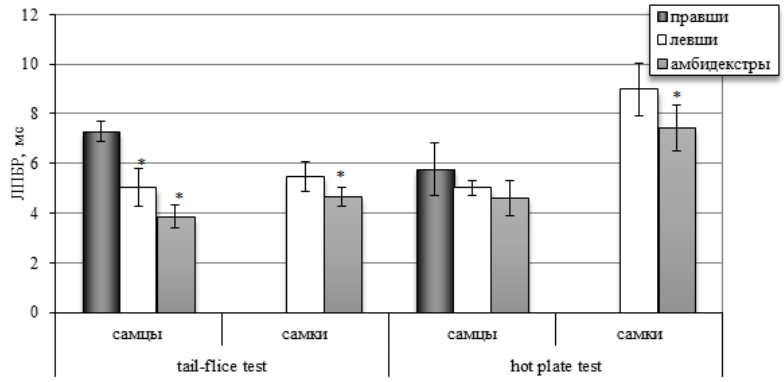


Рис. 1. Изменение латентного периода болевой реакции (ЛПБР, мс) у неполовозрелых крыс в различных болевых тестах в зависимости от пола и профиля моторной асимметрии.
Примечание: достоверность различий * – $p \leq 0,05$ по критерию Фридмана.

У половозрелых крыс самцов отмечалась переориентация профиля моторной асимметрии. Так, отмечалось увеличения вклада «правшей», что, вероятно, связано с возрастным созреванием нервных структур. В частности, количество крыс с правым локомоторным профилем оказалось наибольшим (54,40 % животных), группу с левым профилем составили 36,41 %, а с билатеральным («амбидекстров») – 9,19 % от общей численности выборки.

Наиболее высокие показания ЛПБР у половозрелых крыс самцов регистрировались в ТФТ и ТГП у «правшей» и составляли соответственно 5,09±0,51 мс и 5,17±0,97 мс и были в среднем на 17 % ($p \leq 0,05$) и 23 % ($p \leq 0,05$) выше в сравнении с данными аналогичного показателя, зарегистрированными у «левшей» и «амбидекстров» соответственно (рис. 2).

Стоит отметить, что у половозрелых самцов «правшей» (левополушарных) данные показателя ЛПБР были в среднем на 20,34 % ($p \leq 0,05$) ниже в сравнении со значениями у неполовозрелых самцов. Таким образом, половозрелые самцы «правши» оказались более чувствительными к болевым реакциям в сравнении с неполовозрелыми. Вероятно, у неполовозрелых особей более высокий болевой порог обусловлен недостаточным созреванием нервных структур, воспринимающих болевой температурный воздействующий фактор.

У исследуемых неполовозрелых самок отсутствовали «правши», 61,11 % составляли «левши» и 38,89 % «амбидекстры». По восприятию болевой чувствительности у самок были зарегистрированы противоположные данные в сравнении с самцами. Так, в ТФТ и ТГП более высокие показатели ЛПБР были зарегистрированы у неполовозрелых «левшей» самок (5,47±0,60 мс и 8,98±1,08 мс соответственно), что ниже на 14,70 % и 17,28 % в сравнении с данными аналогичного показателя, зарегистрированными у «амбидекстров» соответственно. То есть, у неполовозрелых самок «левшей» (правополушарных) отмечался наиболее высокий термический болевой порог.

По мере взросления у самок часть выборки обрела левополушарность в отношении моторной асимметрии, то есть некоторые самки стали проявлять правостороннюю локомоторную активность. Так, в структуре межполушарной моторной асимметрии среди половозрелых самок отмечались крысы с преобладанием правосторонних локомоций – 33,84%, крысы с преобладанием левосторонних движений – 53,13%, особи, проявившая локомоторную симметрию – 13,03 %. Таким образом, большинство среди половозрелых самок оказались «левшами» (правополушарными).

Болевой порог у половозрелых самок «левшей» по прежнему оставался наиболее высоким в сравнении с «амбидекстрами», а также в сравнении с «правшами», что подтверждается высоким значением ЛПБР, зарегистрированным в ТФП и ТГП (6,01±0,76 мс и 9,08±0,73 мс соответственно). При этом, статистической значимости приобрели значения ЛПБР, зарегистрированные в ТГП. Так, у половозрелых самок «левшей» ЛПБР в ТГТ был выше на 25,58 % ($p<0,05$) и на 20% ($p<0,05$) в сравнении с данными этого показателя, зарегистрированными у «амбидекстров» и «правшей» (рис. 2). В ТФТ отмечается лишь тенденция к росту болевой устойчивости у правополушарных крыс в сравнении с левополушарными и локомоторно симметричными особями. Таким образом, наиболее устойчивые к болевым температурным стимулам являются правополушарные самки, то есть «левши» как раннем возрасте (неполовозрелые особи), так и при достижении половой зрелости.

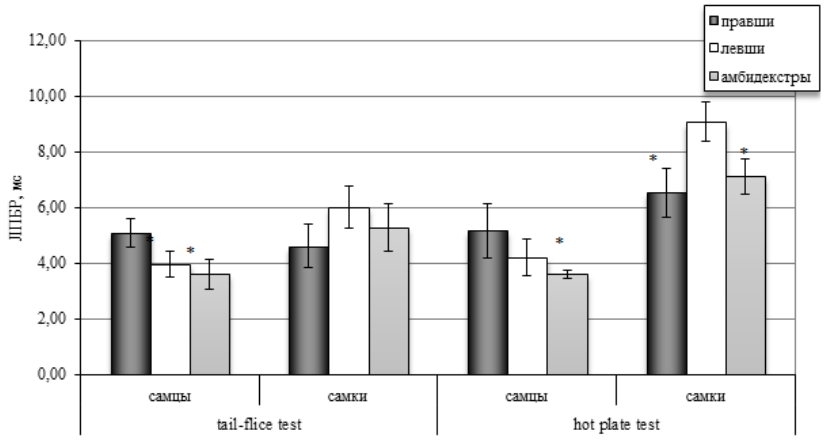


Рис. 2. Изменение латентного периода болевой реакции (ЛПБР, мс) у половозрелых крыс в различных болевых тестах в зависимости от пола и профиля моторной асимметрии.

Примечание: достоверность различий * – $p<0,05$ по критерию Фридмана.

Таким образом, количество у половозрелых животных с преобладанием правосторонних перемещений и, вероятно, с левополушарным доминированием было несколько больше в группе самцов. Что касается крыс с леволатерализованным типом локомоции (правополушарных), то их число, наоборот, в группе самок было больше, чем у самцов. Эти данные подтверждаются

результатами существующих исследований в области моторной асимметрии животных [18, 20, 21].

Хорошо известно, что в реализации целостной поведенческой программы участвуют все нейромедиаторные системы. В отдельных проявлениях поведения (двигательное, исследовательское поведение, эмоционально мотивационные компоненты поведения) особая роль принадлежит дофамину и норадреналину. При этом, показана межполушарная асимметрия в функционировании катехоламинергических систем полушарий мозга для обеспечения целостного видотипичного поведения грызунов [22]. Выявлена связь между селективным изменением метаболизма дофамина в правой медиальной префронтальной коре и способностью животных адаптироваться к стрессу [23, 24].

Для регуляции болевой чувствительности и анальгезии первостепенное значение имеет опиоидергическая система. Для нее также выявлено асимметричное функционирование. Важно отметить, что болевой стресс модифицирует поведение грызунов, а, в свою очередь, изменяет уровень болевой чувствительности животных. Выявлена также и тонкая взаимосвязь между функционированием катехоламинергической нейромедиаторной системы, с одной стороны, и эндогенными опиоидами, с другой. Все это позволило сделать заключение о важности опиоидной системы левого и правого полушарий не только для регуляции болевой чувствительности и анальгезии, но и видотипичного поведения [22, 24]. Кроме того, известно, что опиатные рецепторы распределены асимметрично на уровне спинного мозга [25]. При этом остается неясной роль опиатной системы в формировании межполушарных различий в контроле целостного видотипичного поведения, болевой чувствительности и аналгезии. Следует отметить зависимость характера видотипичного поведения и болевой чувствительности от изменения уровня половых гормонов.

Изменение функциональной активности данных нейрохимических систем в онтогенезе описано в ряде работ. Становление нейромедиаторных систем у грызунов происходит в разные сроки раннего развития. Например, формирование норадренергической и серотонинергической систем начинается с середины эмбрионального развития и завершается в основном к полуторамесячному возрасту [27]; формирование дофаминергической системы происходит в течение последнего триместра [22]. Известно, что в условиях стресса снижается уровень нейрохимической и поведенческой (моторной) асимметрии [24]. Также показано снижение латерализации функций в процессе старения, что определяется изменением в работе энергетической, нейрохимических и других функциональных систем мозга.

Таким образом, в результате проведенного исследования выявлена зависимость болевой чувствительности половозрелых и неполовозреллых крыс с зависимости от пола и индивидуального профиля латерализации локомоторной активности.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

1. Выявлена зависимость болевой чувствительности половозрелых и неполовозрелых крыс с зависимости от пола и индивидуального профиля латерализации локомоторной активности.
2. У неполовозрелых самцов превалировали особи с левосторонней локомоторной реакцией. У половозрелых крыс самцов отмечалась переориентация профиля моторной асимметрии. Так, отмечалось увеличения вклада «правшей», что связано с возрастным созреванием нервных структур. При этом половозрелые самцы «правши» оказались более чувствительными к болевым реакциям в сравнении с неполовозрелыми.
3. У исследуемых неполовозрелых самок отсутствовали «правши», 61,11% от общей выборки составляли «левши» и 38,89 % – «амбидекстры». Большинство среди половозрелых самок также оказались «левшами». При этом наиболее устойчивые к болевым температурным стимулам являются правополушарные самки, то есть «левши» как раннем возрасте (неполовозрелые особи), так и при достижении половой зрелости.

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

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

Список литературы

1. Баранов В.Н. Развитие диссертационных исследований по проблемам тематики спорта высших достижений и подготовки спортивного резерва / В.Н. Баранов, Б.Н. Шустин // Вестник спортивной науки. – 2013. – №5. – С. 7–15.
2. Функциональная межполушарная асимметрия. Хрестоматия / Под ред. Н.Н. Боголепова, В.Ф. Фокина. – М: Научный мир, 2004. – 728 с.
3. Сташкевич И. С. К вопросу о формировании латерализованного двигательного навыка у крыс / И. С. Сташкевич, М. А. Куликов // Журн. высшей нервной деятельности им. И. П. Павлова. – 2000. – Т. 50, № 3. – С. 457–495.
4. Удалова Г. П. Роль функциональной межполушарной асимметрии в формировании предпочтения направления движения у крыс / Г. П. Удалова, В. В. Михеев // Журн. высшей нервной деятельности им. И. П. Павлова. – 1982. – Т. 34, № 4. – С. 633–640.
5. Рябинская Е. А. Асимметрия направления движения как тактика пищевого поведения крыс / Е. А. Рябинская, Т. О. Валуйская // Журн. высшей нерв.деят. им. И. П. Павлова. – 1983. – Т. 33, № 4. – С. 654–661.
6. Сташкевич И. С. Независимая латерализация предпочтения конечности и различных аспектов выполнения двигательной задачи / И. С. Сташкевич, М. А. Куликов // XXI съезд физиологического об-ва им. И. П. Павлова: тез.докл. –Калуга: Типография ООО «БЭСТ–принт», 2010. – С. 577–578.
7. Ведясова О. А. Системный компартментно-кластерный анализ механизмов устойчивости дыхательной ритмики млекопитающих / О. А. Ведясова, В. М. Еськов, О. Е. Филатова. – Самара: ООО «Офорт», 2005. – 215 с.
8. Громов А.И. Динамика ноцицептивной чувствительности у свободноподвижных крыс в поведенческом акте агрессии / А.И. Громов // Журн. высш. нервн. деят. – 1990. – Т. 40, № 1. – С. 176–178.

9. Онуфриев М.В. Активность NO-синтазы и радикалообразование в отделах мозга крыс: зависимость от возраста / М.В. Онуфриев, М.Ю. Степаничев, Н.А. Лазарева, Г.Л. Григорян, Н.В. Гуляева // Бюллетень экспер. биологии и медицины. – 1995. – С. 280
10. Гуляева Н.В. Биохимические корреляты индивидуально-типологических особенностей поведения крыс / Н.В. Гуляева, М.Ю. Степаничев // ЖВНД. – 1997– Т 47, № 2. – С. 329–382.
11. Краковский М.Э. Активность узловых окислительно-восстановительных ферментов у кроликов с разными типологическими особенностями / М.Э. Краковский // ЖВНД. – 1987. – Т. 37, № 3. – С. 457.
12. Кругликов Р.И. Изменение содержания моноаминов в мозге влияет на реакцию эмоционального резонанса / Р.И. Кругликов, В.М. Гецова, Н.В. Орлова // ЖВНД. – 1995. – Т. 45, № 3. – С. 551–557.
13. Сантана Вега Л. Роль индивидуальных особенностей двигательной активности в развитии гипокинетического стресса у крыс.: Автореф. дис. … канд. биол. наук: 03.00.13 / СГУ. – Симферополь, 1991. – 21 с.
14. Сушко Б.С. Оосбливості больової реаукції та чутливості тварин різних генетични груп / Б.С. Сушко, А.В. Будак // Фізіол. журн. – 2004. – Т. 50, № 2. – С. 75–79.
15. Чуян Е.Н. Физиологические механизмы биологических эффектов низкоинтенсивного ЭМИ КВЧ / Е.Н. Чуян, М.А. Темурьянц, О.Б. Московчук и др. – Симферополь: ЧП «Эльиньо», 2003. – 448 с.
16. ГОСТ Р–53434–2009 Принципы надлежащей лабораторной практики. – http://internet–law.ru/gosts/gost/48600/
17. ГОСТ 33215–2014. Руководство по содержанию и уходу за лабораторными животными. Правила оборудования помещений и организации процедур. – URL: www.internetlaw.ru/gosts/gost/61242/.
18. Клименко Л.Л. Системная организация функциональной межполушарной асимметрии. Зеркало асимметрии / Л.Л. Клименко, А.И. Деев, О.В. Протасова и др. // Биофизика. – 1999. – Т. 44, № 5. – С. 916–920.
19. Удалова Г.П. Об участии полушарий в формировании пространственно-моторной асимметрии при зрительном распознавании у крыс / Г.П. Удалова, В.В. Михеев // ЖВНД. – 1988. – Т.38, вып. 3. – С. 467–474.
20. Kawakita K. A quantitative study on the tail flick test in the rat / K. Kawakita, M. Funakoshi // Physiol. – 1987. – V. 426. – P. 169–172.
21. Бианки В. Л. Асимметрия мозга животных / В. Л. Бианки. – Л.: Наука, 1985. – 295 с.
22. Ведясова О. А. Зависимость компенсаторно-приспособительных реакций системы кровообращения при интеллектуальной деятельности студентов от латерализации функций мозговых полушарий / О. А. Ведясова, Х. А. Гриднева // Сибирский консилиум. Медико-фармацевтический журн. – 2007. – № 7 (67). – С. 168.
23. Михеева В.В. Фармакологическая асимметрия мозга. / В.В. Михеева, П.Д. Шабанова. – Спб.: ЭЛБИ – СПб, 2007. – 384 с.
24. Berridge C.W. Engagement in a non-escape (displacement) behavior elicits a selective and lateralized suppression of frontal cortical dopaminergic utilization in stress / C.W. Berridge, E. Mitton, W. Clark, R.H. Roth //Synapse. – 1999. –V.32, N3. – P. 187–197.
25. Ефимова И. В. Межполушарная асимметрия функций и вегетативная регуляция при интеллектуальной деятельности / И. В. Ефимова, Е. Д. Хомская // Физиология человека. – 1990. – Т. 16, № 5. – С. 147–149.
26. Sullivan R.M. Mesocortical dopamine and HPA axis regulation: role of laterality and early environment / R.M. Sullivan, M.M. Dufresne //Brain Res. – 2006. – V.1076, №1. – P.49–59.
27. Шекунова Е.В. Роль опиоидной системы в формировании паттерна межполушарной асимметрии головного мозга у мышей / Е.В. Шекунова, В.В. Михеев, П.Д. Шабанов // Психофармакология и биологическая наркология. – 2005. – Т. 5, выпуск 3. – С. 1005–1016.
28. Раевский К.С. Дофаминергическая передача в стриатуме крыс in vivo в условиях фармакологической модуляции / К.С. Раевский, Р.Р. Гайнетдинов, Е.А. Будыгин, П. Маннисто, М. Уайтман // Рос. физиол. ж. – 2000. – Т.86, № 9. – С. 1152–1159.

PAIN SENSITIVITY CHANGE DEPENDING ON INDIVIDUAL TYPOLOGICAL PECULIARITIES IN RATS

Dzheldubaeva E. R., Tribrat N. S., Kiryllova A. V., Chuyan E. N.

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

It was dependence the pain sensitivity in mature and immature rats from the gender, individual profile lateralization and locomotor activity in this article. The immature males left locomotor profile rats («left-handers») were most in population. But, the level of pain sensitivity in «tail flick test» (TFT) and the «hot plate test» (HPT) was the lowest in immature «right-handed» males compared with «ambidextra» and «left-handers» rats. Similar dynamics was observed in mature males state.

The motor asymmetry profile was inversion in mature male rats. Thus, there has been an increase in the «right-handed» contribution. Probably it was due to the age maturation of the nervous structures. The lowest level of pain sensitivity data was registered in «right-handers». At the same time, mature male were «right-handed» (left hemispheric) males. The indicator data of latent period pain (LPP) was lower on 20.34% ($p \leq 0.05$) in comparison with the immature males. Thus, the mature males «right-handed» were more sensitive to pain reactions in comparison with the immature ones. Probably, immature rats were taller pain threshold is due to insufficient of the nervous structures maturation, perceived the pain temperature.

Immature female's rats were «left-handed» most. There were no «right-handers». The immature females «left-handed» had maximum thermal pain threshold in opposite males.

As females mature, part of the sample gained left hemisphericity in motor asymmetry, that is, some females began to show right-sided locomotor activity. Thus, the majority of mature females were left-handed. Right hemispent females, that is, «left-handed» as an early age (immature) and upon puberty, are the most resistant to pain temperature influence.

***Keywords*:** motor asymmetry, mature/immature, pain sensitivity.

References

1. Bogolepova N.N., Fokina V.F. *Funktsional'naya mezhpolusharnaya asimmetriya. Khrestomatiya*, 728 (Nauchnyy mir, Moscow, 2004).
2. Stashkevich I. S., Kulikov M. A. K voprosu o formirovanii lateralizovannogo dvigatel'nogo navyka u krys, *Zhurn. vysshey nervnoy deyatel'nosti im. I. P. Pavlova*, **50** (3), 457 (2000).
3. Udalova G.P., Mikheyev V.V. Rol' funktsional'noy mezhpolusharnoy asimmetrii v formirovanii predpochteniya napravleniya dvizheniya u krys, *Zhurn. vysshey nervnoy deyatel'nosti im. I. P. Pavlova*, **34** (4), 633 (1982).
4. Ryabinskaya Ye.A., Valuyskaya T.O. Asimmetriya napravleniya dvizheniya kak taktika pishchevogo povedeniya krys, *Zhurn. vysshey nerv.deyat. im. I. P. Pavlova,* **33**(4), 654 (1983).
5. Stashkevich I.S., Kulikov M.A. Nezavisimaya lateralizatsiya predpochteniya konechnosti i razlichnykh aspektov vypolneniya dvigatel'noy zadachi, *XXI s"yezd fiziologicheskogo ob-va im. I. P. Pavlova: tez.dokl.*, 577 (BEST–print, Kaluga, 2010).

6. Vedyasova O.A., Yes'kov V.M., Filatova O. Ye. *Sistemnyy kompartmentno-klasternyy analiz mekhanizmov ustoychivosti dykhatel'noy ritmiki mlekopitayushchikh*, 215 (Ofort, Samara, 2005).
7. Gromov A.I. Dinamika notsitseptivnoy chuvstvitel'nosti u svobodnopodvizhnykh krys v povedencheskom akte agressii, *Zhurn. vyssh. nervn. deyat*., **40** (1), 176 (1990).
8. Onufriyev M.V., Stepanichev M.Yu., Lazareva N.A., Grigoryan G.L., Gulyayeva N.V. Aktivnost' NO-sintazy i radikaloobrazovaniye v otdelakh mozga krys: zavisimost' ot vozrasta, *Byulleten' eksper. biologii i meditsiny*, **3**, 280 (1995).
9. Gulyayeva N.V., Stepanichev M.Yu. Biokhimicheskiye korrelyaty individual'no-tipologicheskikh osobennostey povedeniya krys, *ZHVND*, **47** (2), 392 (1997).
10. Krakovskiy M.E. Aktivnost' uzlovykh okislitel'no-vosstanovitel'nykh fermentov u krolikov s raznymi tipologicheskimi osobennostyami, *ZHVND*, **37** (3), 457 (1987).
11. Kruglikov R.I., Getsova V.M., Orlova N.V. Izmeneniye soderzhaniya monoaminov v mozge vliyayet na reaktsiyu emotsional'nogo rezonansa, *ZHVND*, **45** (3), 551 (1995).
12. Santana Vega L. Rol' individual'nykh osobennostey dvigatel'noy aktivnosti v razvitii gipokineticheskogo stressa u krys.: Avtoref. dis. … kand. biol. nauk: 03.00.13, 21 (SGU, Simferopol', 1991).
13. Sushko B.S., Budak A.V. Oosblivostí bol'ovoĭ reauktsíĭ ta chutlivostí tvarin ríznikh genetichni grup, *Fízíol. zhurn*., **50** (2), 75 (2004).
14. Chuyan E.N., Temur'yants N.A., Moskovchuk O.B. et al. *Fiziologicheskiye mekhanizmy biologicheskikh effektov nizkointensivnogo EMI KVCh*, 448 (CHP «El'in'o», Simferopol, 2003).
15. GOST R–53434–2009, *Printsipy nadlezhashchey laboratornoy praktiki*. – http://internet–law.ru/gosts/gost/48600/.
16. GOST 33215–2014, *Rukovodstvo po soderzhaniyu i ukhodu za laboratornymi zhivotnymi. Pravila oborudovaniya pomeshcheniy i organizatsii protsedur.* – URL: www.internetlaw.ru/gosts/gost/61242/.
17. Klimenko L.L., Deyev A.I., Protasova O.V. et al. Sistemnaya organizatsiya funktsional'noy mezhpolusharnoy asimmetrii. Zerkalo asimmetrii, Biofizika, 44 (5), 916 (1999).
18. Udalova G.P., Mikheyev V.V. Ob uchastii polushariy v formirovanii prostranstvenno-motornoy asimmetrii pri zritel'nom raspoznavanii u krys, *ZHVND*, **38** (3), 467 (1988).
19. Kawakita K., Funakoshi M. A quantitative study on the tail flick test in the rat, *Physiol*., **426**, 169 (1987).
20. Bianki V. L. *Asimmetriya mozga zhivotnykh,* 295 (Nauka, Leningrad, 1985).
21. Vedyasova O.A., Gridneva Kh. A. Zavisimost' kompensatorno-prisposobitel'nykh reaktsiy sistemy krovoobrashcheniya pri intellektual'noy deyatel'nosti studentov ot lateralizatsii funktsiy mozgovykh polushariy, *Sibirskiy konsilium. Mediko-farmatsevticheskiy zhurn*, **7** (67), 168 (2007).
22. Mikheyeva V.V., Shabanova P.D. *Farmakologicheskaya asimmetriya mozga*, 384 (ELBI- SPb, 2007).
23. Berridge C.W., Mitton E., Clark W., Roth R.H. Engagement in a non-escape (displacement) behavior elicits a selective and lateralized suppression of frontal cortical dopaminergic utilization in stress, *Synapse,* **32** (3), 187 (1999).
24. Yefimova I.V., Khomskaya Ye.D. Mezhpolusharnaya asimmetriya funktsiy i vegetativnaya regulyatsiya pri intellektual'noy deyatel'nosti, *Fiziologiya cheloveka*, **16** (5), 147 (1990).
25. Sullivan R.M., Dufresne M.M. Mesocortical dopamine and HPA axis regulation: role of laterality and early environment, *Brain Res.*, **1076** (1), 49 (2006).
26. Shekunova Ye.V., Mikheyev V.V., Shabanov P.D. Rol' opioidnoy sistemy v formirovanii patterna mezhpolusharnoy asimmetrii golovnogo mozga u myshey, *Psikhofarmakologiya i biologicheskaya narkologiya*, **5** (3), 1005 (2005).
27. Rayevskiy K.S., Gaynetdinov P.P., Budygin Ye.A., Mannisto P., Uaytman M. Dofaminergicheskaya peredacha v striatume krys in vivo v usloviyakh farmakologicheskoy modulyatsii, *Ros. fiziol. zh.*, **86** (9), 1152 (2000).

Ученые записки Крымского федерального университета имени В. И. Вернадского
Биология. Химия. Том 5 (71). 2019. № 1. С. 23–29.

УДК 619:615.357:636.22/.28

ДИНАМИКА КОРТИЗОЛА В КРОВИ ТЕЛОЧЕК РАЗНЫХ ПОРОД ПОСЛЕ НАГРУЗКИ НА КОРУ НАДПОЧЕЧНИКОВ АДРЕНОКОРТИКОТРОПНЫМ ГОРМОНОМ

Еременко В. И.[1], Ротмистровская Е. Г.[2]

[1]Курская государственная сельскохозяйственная академия имени И.И. Иванова, Курск, Россия
[2]Курский государственный медицинский университет, Курск, Россия
E-mail: rotmistrovskaya.lena@mail.ru

Учитывая, что одно из центральных мест в эндокринной системе организма занимают надпочечники , нами была поставлена задача изучить функциональные резервы коры надпочечников после нагрузки адренокортикотропным гормоном у крупного рогатого скота трех пород и помесей разного направления продуктивности. Объектом исследования были телочки голштинизированной черно - пестрой породы, симментальской, абердин-ангусской и помеси симментальской х абердин - ангусской пород. Как показали исследования у голштинизированной черно- пестрой породы $К_{акн}$ в 6 месяцев составил 1,36. У симментальской породы этот коэффициент составил 1,38. У абердин - ангусской породы 1,43. У помесей он составил 1,49.Из всего вышеизложенного установлено, что более высокими функциональными резервами коры надпочечников обладают животные абердин - ангусской породы и помесные животные. У голштинизированной черно - пестрой и симментальской пород этот показатель был ниже.
Ключевые слова: породы, телочки, адренокортикотропный гормон, кортизол, коэффициент активности коры надпочечников ($К_{акн}$)

ВВЕДЕНИЕ

Для успешного ведения селекционной работы необходимы более глубокие знания в области интерьерных показателей, особенно об эндокринной системе.

Гормон коры надпочечников, кортизол оказывает влияние на метаболизм углеводов, жиров и белков, увеличивает содержание глюкозы в крови, оказывает влияние на реабсорбцию натрия и фосфора. Для поддержания функционального состояния коры надпочечников постоянно необходим АКТГ. Молниеносный эффект адренокортикотропного гормона отражается в усиленной секреции кортизола [1–3]. Надпочечники реагируют как на постоянный уровень АКТГ, так и на усиление его секреции, поэтому даже небольшое увеличение секреции АКТГ будет влиять на функциональную активность надпочечников [7]. Динамика кортизола в крови изменяются в зависимости возраста, стадии онтогенеза, времени года и физиологического состояния организма [5, 8]. Для более полной картины функционального состояния коры надпочечников используют классический метод функциональных нагрузок, так как базальный уровень гормона не всегда объективно отражает метаболическую картину организма на момент взятия крови. Благодаря этому методы мы можем объективно оценить физиологическое состояние

эндокринной железы [4, 6]. Таким образом, проблема изучения гормонального статуса крупного рогатого скота разной породной принадлежности и продуктивных качеств является актуальной, и результаты ее решения, будут востребованы зоотехнической и ветеринарной наукой и практикой. В связи с этим была поставлена задача изучить функциональные резервы надпочечников после нагрузки адренокортикотропным гормоном у крупного рогатого скота трех пород разного направления продуктивности: голштинизированной черно-пестрой, симментальской, абердин-ангусской и помесей симментальской и абердин-ангусской, что послужит основой для разработки тестов для раннего прогнозирования их будущей продуктивности.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Объектом исследований служили клинически здоровые телочки голштинизированной черно-пестрой породы, симментальской, абердин-ангусской и помесные телочки (симментальская х абердин-ангусская). Условия кормления и содержания животных были одинаковыми.

В период роста животных кровь для исследования кортизола отбирали из хвостовой вены в период новорожденности, в 3, 6, 12 и 15 месячном возрасте Концентрацию кортизола в крови определяли иммуноферментным методом. Для определения функциональных резервов коры надпочечников подопытным телочкам вводили адренокортикотропный гормон (АКТГ) в дозе 0,5 ед/кг живой массы внутримышечно. Через 1 час проводили повторную инъекцию в той же дозе. Отбор крови из хвостовой вены проводили перед введением АКТГ, через 1 и 2 часа после введения АКТГ. Индекс функциональной активности коры надпочечников рассчитывали по формуле:

$$И_{акн} = К_2/К_1$$

где $И_{акн}$ = индекс активности коры надпочечников;
$К_1$ – концентрация кортизола через 1 час после первой нагрузки АКТГ;
$К_2$ – концентрация кортизола через 1 час после второй нагрузки АКТГ.

Результаты исследований которые были получены при проведении экспериментов подвержены статистической обработке на ПК с использованием программы Microsoft Excel.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Результаты исследования уровня кортизола в крови подопытных телочек приведены на рисунке 1.

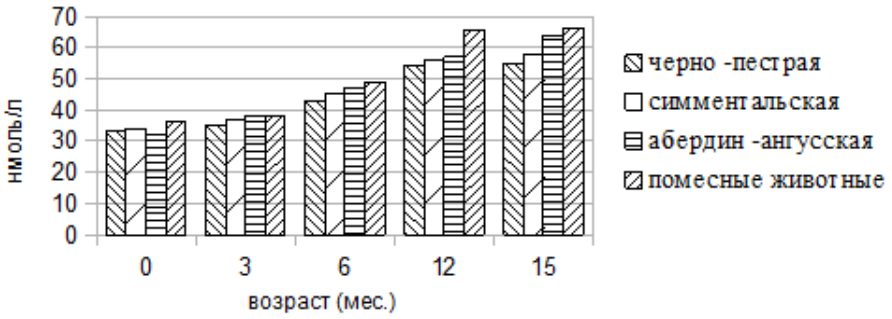


Рис. 1. Динамика кортизола в крови телочек разных пород.

Как видно из приведенных результатов концентрация кортизола в крови телочек в течение постнатального развития была подвержена значительным изменениям. При рождении уровень гормона в крови у телочек черно-пестрой породы составлял 33±2,5 нмоль/л, у симментальской 33,7±2,5 нмоль/л, у абердин-ангусской 31,8±2,1 нмоль/л, у помесных животных 36,0±1,5 нмоль/л. К третьему месяцу у всех подопытных телочек концентрация кортизола незначительно увеличилась. В этот период у телочек черно-пестрой породы концентрация кортизола в крови составляла 35,0±2,0 нмоль/л, у симментальской 36,7±2,0 нмоль/л, у абердин-ангусской 31,8±2,1 нмоль/л, у помесных животных 38,1±1,6 нмоль/л.

К шестому месяцу у всех групп подопытных телочек концентрация кортизола по отношению к данным при рождении увеличилась. В этот период у черно-пестрой породы увеличение произошло на 30,3 %, у симментальской на 32.3 %, у абердин-ангусской на 46,8 % у помесных животных на 36,1 %. Различия по отношению к данным при рождении были статистически недостоверными (P>0,05).

К 12-ти месячному возрасту концентрация гормона продолжала увеличиваться. У телочек черно-пестрой породы она составила 54,3±3,5 нмоль/л, у симментальской 56,1±3,7 нмоль/л, у абердин-ангусской – 56,9±3,4 нмоль/л, у помесей 65,4±3,4 нмоль/л. К 15-ти месячному возрасту черно-пестрая порода имела значения кортизола 55,6±3,3 нмоль/л, у симментальской 57,9±3,0 нмоль/л, у абердин-ангусской – 64,2±3,1 нмоль/л, у помесей 66,4±3,4 нмоль/л.

В целом, начиная от рождения до достижения 15- ти месячного возраста, концентрация кортизола увеличилась: у черно-пестрой породы увеличение произошло на 66,6 %, у симментальской на 70,5 %, у абердин-ангусской на 100 % у помесных животных на 83,3 %. В 12 и 15-ти месячном возрасте у помесей по отношению к черно-пестрой породе различия отмечены как статистически достоверные (P<0,05). Сравнивая полученные результаты концентрации кортизола в крови телочек, принадлежащих к разным породам, следует отметить, что незначительно более высокие значения уровня кортизола были у помесных телочек (симментальская х ангусская).

Для оценки более полной оценки функционального состояния коры надпочечников подопытным телочкам в возрасте 6-ти месяцев провели

функциональные нагрузки адренокортикотропным гормоном. По величине ответной реакции коры надпочечников после проведения первой и второй нагрузок судили о резервах коры надпочечников. У телочек, у которых максимальный пик кортизола наблюдали после второй нагрузки, свидетельствует о более высоких функциональных резервах коры надпочечников и соответственно о лучших адаптационных возможностях организма таких животных.

Анализируя полученные результаты проведенных исследований, следует отметить, что перед введением АКТГ концентрация кортизола в крови подопытных телочек была примерно на одинаковом уровне и находилась в границах 42,9–48,7 нмоль/л (таблица 1). После введения АКТГ через 1 час концентрация кортизола в крови резко возросла почти в 3 раза независимо от породной принадлежности телочек. После повторного введения АКТГ через 1 час концентрация кортизола в четырех группах телочек увеличилась: у черно-пестрой породы в 5,1 раз, у симментальской в 5,3, у абердин-ангусской в 5,6 раз, у помесных – в 5,7 раз по отношению к данным полученным после первого введения АКТГ. В дальнейшем через 2 часа после второй нагрузки уровень гормона постепенно снижался. Индекс активности коры надпочечников был выше у помесей и составил 1,49, а в группах он был ниже: у черно-пестрой породы – 1,36, у симментальской – 1,38, у абердин-ангусской –1,43.

Полученные данные функциональной нагрузки приведены в таблице 1.

Таблица 1.

Динамика кортизола в крови подопытных телочек в 6-ти месячном возрасте после введения АКТГ (нмоль/л).

Порода	Концентрация кортизола				
	Базальный уровень гормона	Через 1 час после первой нагрузки АКТГ	Через 1 час после второй нагрузки АКТГ	Через 2 часа после второй нагрузки АКТГ	$И_{акн}$
Черно-пестрая	42,9 ±1,5	170,3±4,1	232,3±9,0	153,5±2,2	1.36
Симментальская	45,0±2,0	174,2±8,3	240,9±8,0	159,0±6,7	1,38
Абердин-ангусская	47,8±2,3	180,8±5,4	258,1±9,3	162,9±4,0	1.43
Помесные животные	48,7±2,0	182,3±6,6	271,9±7,3	170,3±7,1	1.49

Проведенные функциональные нагрузки на кору надпочечников адренокортикотропным гормоном телочкам, принадлежащим к разным породам в 6-ти месячном возрасте показали, что потенциальные резервы функциональной

активности коры надпочечников у этих телочек имеют различные показатели. Более высокие функциональные резервы коры надпочечников имеют телочки, принадлежащие к мясному типу продуктивности. Это свидетельствует о более высоких адаптационных возможностях телочек абердин-ангусской породы и помесей.

Отмеченные различия в ответных реакциях коры надпочечников на их стимуляцию адренокортикотропным гормоном свидетельствуют о породной особенности функциональных резервов коры надпочечников у животных разных пород.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Введение адренокортитропного гормона в дозе 0,5 ед/кг вызывает гиперфункцию надпочечников. При этом максимальный уровень кортизола в крови телочек в 6-ти месячном возрасте наблюдался через 1 час после его второго введения. Абсолютные величины уровня кортизола в крови телочек зависели от их породной принадлежности. Более высокими ответными реакциями на введение АКТГ обладали животные, принадлежащие к абердин-ангусской породе и помеси симментальской и абердин-ангусской пород. Относительно менее низкими ответными реакциями обладали телочки черно-пестрой голштинизированной и симментальской породы. По нашему мнению, выявленные различия связаны с генетическими особенностями изучаемых пород животных

Список литературы

1. Дворецкая Т.Н. Гормональный статус у коров и выделение гормонов с молоком на разных стадиях лактации: дис. … канд. биол. наук / Т. Н. Дворецкая. – Боровск, 2001. – 154 с.
2. Макарова Я.С. Характеристика антиоксидантной системы и содержание стресс-гормонов крови крупного рогатого скота в связи с возрастом и физиологическим состоянием : дис. … канд. биол. наук / Я.С. Макарова. – Троицк, 2010. – 162 с.
3. Мурадова Л.В. Уровень кортизола как показатель стрессового состояния животных / Л. В. Мурадова, М. В. Сиротина // Труды Международного Форума по проблемам науки, техники и образования. – М.: Академия наук о земле, 2008. – Т. 2. – С. 78–80.
4. Радченков В.П. Гормоны, рост и продуктивность животных / В. П. Радченков, В. А. Матвеев, Е. В. Бутров и др. // Актуальные проблемы биологии в животноводстве. – Боровск. – 2000. – С. 332–334.
5. Радченков В.П. Эндокринная регуляция роста и продуктивности животных / В.П. Радченков, В. А. Матвеев, Е.В. Бутров, Е.И. Буркова. – М.: Агропромиздат, 1991. – 160 с.
6. Радченков В.П. Определение гормонов в крови крупного рогатого скота, свиней и их гормональный статус / В.П. Радченков, В.С. Аверин, Е.В. Бутров и др. // Методические указания. – Боровск, 1985. – 75 с.
7. Степанова И.П. Интегральный подход к оценке функционирования физиологических систем детоксикации крупного рогатого скота в постнатальном онтогенезе : дис. … д-ра биол. наук / И. П. Степанова. – Новосибирск, 2004. – 399 с.
8. Deguchi E. Changes of plasma cortisol concentration, total and differential leukocyte counts and phagocytic function of monocytes and neutrophils in peripheral blood after grouping unfamiliar piglets / Deguchi E., Akuzawa M. // Anim. Sc. Technol. – 1997. – Vol. 68, No 8. – P. 767–773.

DYNAMICS OF CORTISOL IN THE BLOOD OF HEIFERS OF DIFFERENT BREEDS AFTER THE LOAD ON THE ADRENAL CORTEX ADRENOCORTICOTROPIC HORMONE

Eremenko V. I.[1], Rotmistrovskya E. G.[2]

[1]Kursk state agricultural Academy named after I. I. Ivanov, Kursk, Russia
[2]Kursk state medical University, Kursk, Russia
E-mail: rotmistrovskaya.lena@mail.ru

For successful management of breeding work, deeper knowledge in the field of interior indices is necessary, especially about the endocrine system.The hormone of the adrenal cortex, cortisol affects the metabolism of carbohydrates, fats and proteins, increases the glucose content in the blood, affects the reabsorption of sodium and phosphorus. ACTH is constantly needed to maintain the functional state of the adrenal cortex.

Considering that one of the central places in the endocrine system of the body is occupied by the adrenal glands, we set the task to study the functional reserves of the adrenal cortex after loading with adrenocorticotropic hormone in cattle of three breeds and crossbreeds of different directions of productivity.

The object of the study was the heifers of Holstein black and motley, Simmental, Aberdeen - Angus and a mixture of Simmental and Aberdeen-Angus rocks. Studies have shown that at 6 months of golshtinizirovannoy black-and-white breed Kakn.The conditions for feeding and keeping animals were the same.During the growth of animals, blood for the study of cortisol was taken from the caudal vein in the neonatal period, at 3,6,12 and 15 months of age. The concentration of cortisol in the blood was determined by ELISA. To determine the functional reserves of the adrenal cortex, adrenocorticotropic hormone (ACTH) was administered to experimental calves at a dose of 0.5 u / kg body weight intramuscularly. After 1 hour, repeated injection was performed at the same dose. The selection of blood from the tail vein was performed before the administration of ACTH, 1 and 2 hours after the administration of ACTH. The index of the functional activity of the adrenal cortex was calculated by the formula:

Iacn = K2 / K1

where Iacn = index of activity of the adrenal cortex;

K1 - cortisol concentration 1 hour after the first load of ACTH;

K2 - cortisol concentration 1 hour after the second load of ACTH.

The research results that were obtained during the experiments are subject to statistical processing on a PC using Microsoft Excel. In the Simmental breed, this coefficient was 1.38. In Aberdeen - Angus breed 1.43. In hybrids, it was 1.49. From the foregoing, it has been established that animals of Aberdeen - Angus breed and crossbred animals have higher functional reserves of the adrenal cortex. In the Holsteinized Black Pied and Simmental breeds, this indicator was lower. The introduction of adrenocortitropny hormone in a dose of 0.5 units / kg causes hyperfunction of the adrenal glands. At the same time, the maximum level of cortisol in the blood of the heifers at the age of 6 months was observed 1 hour after its second injection. The absolute values of

cortisol levels in the blood of heifers depended on their pedigree affiliation. Animals belonging to the Aberdeen - Angus breed and a mixture of Simmental and Aberdeen - Angus breeds had higher responses to the introduction of ACTH. Heifer of the black-and-white Holstein and Simmental breed had relatively lower responses. In our opinion, the identified differences are associated with the genetic characteristics of the studied animal breeds.

Keywords: breed, heifers, adrenocorticotropic hormone, cortisol, the ratio of the activity of the adrenal cortex (Cakn).

References

1. Dvoretskaya T. N. *Hormonal status in cows and the release of hormones from different stages of lactation*: dis. ... Cand. biol. Sciences, 154 p (Borovsk, 2001).
2. Makarov Ya. S. *Characteristics of the antioxidant system and the content of stress hormones in the blood.* ... Cand. biol. Sciences, 162 p. (Troitsk, 2010).
3. Muradova L.V., Sirotina M.V. Cortisol level as an indicator of animal stress state / L.V. Muradova, // *Proceedings of the International Forum on Science, Technology and Education*, **2,** 78 (Moscow: Academy of Earth Sciences, 2008).
4. Radchenkov V. P., Matveev V. A., Butrov E. V. and others. Hormones, growth and productivity of animals, *Actual problems of biology in animal husbandry*, 332 (Borovsk, 2000).
5. Radchenkov V.P., Matveev V.A., Butrov E.V., Burkova E.I. *Endocrine regulation of growth and animal productivity*, 160 p (Moscow: Agropromizdat, 1991).
6. Radchenkov V.P., Averin V.S., Butrov E.V., etc. Determination of hormones in the blood of cattle, pigs and their hormonal status, *Methodical instructions*, 75 p (Borovsk, 1985).
7. Stepanova I. P. *An integrated approach to assessing the functioning of physiological systems of detoxification of cattle in postnatal ontogenesis*: dis. ... Dr. Biol. Sciences, 399 p (Novosibirsk, 2004).
8. Deguchi E., Akuzava M. Changes in plasma cortisol concentration, total and differential leukocyte counts and phagocytic function of monocytes and neutrophils in peripheral blood after grouping unfamiliar piglets, *Anim. UN Security Council Technol*, **68, 8**, 767 (1997).

Ученые записки Крымского федерального университета имени В. И. Вернадского
Биология. Химия. Том 5 (71). 2019. № 1. С. 30–39.

УДК 634.713 : 576.53

АДАПТАЦИЯ РАСТЕНИЙ-РЕГЕНЕРАНТОВ ЕЖЕВИКИ К УСЛОВИЯМ EX 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

Для постепенной адаптации к воздушно-газовому режиму отобранные микроклоны в течение 5 или 10 сут. выдерживали с приоткрытым покрытием (ватно-марлевые пробки или ватные диски). При высадке микроклонов в субстрат после 5 сут. культивирования с приоткрытой пробкой уровень приживаемости составил 38,3 %, а после 10 сут. – 54,2 %. Приживаемость растений, высаженных после 5 сут. культивирования с приоткрытым ватным диском, составила 72,0 %, после 10 сут. – 82,0 %. Приживаемость растений, высаженных из культивационных сосудов, покрытых ватными дисками, в условиях *ex vitro* варьировала от 62,5 до 92,0 % в зависимости от субстрата, тогда как приживаемость регенерантов из культивационных сосудов, покрытых ватно-марлевой пробкой, была значительно ниже (37,5–54,2 %). Наиболее высокий уровень приживаемости микроклонов ежевики сорта 'Triple Crown' отмечен при использовании трехкомпонентного субстрата (торф, перлит, почва) в соотношении 2 : 1 : 1.
Ключевые слова: адаптация ex vitro, микроклональное размножение, ежевика, субстрат

ВВЕДЕНИЕ

Адаптация к условиям *ex vitro* является заключительным этапом процесса микроклонального размножения, существенно влияющим на экономическую эффективность данного процесса. Успешность адаптации растений к нестерильным условиям зависит от многих факторов: вида растения, его биологических требований и физиологического состояния; состава, плотности и влажности субстрата; относительной влажности воздуха, интенсивности освещения и др. За период культивирования в условиях *in vitro* растения приобретают некоторые особенности, связанные с условиями выращивания. Высокая, почти 100 %-ная влажность воздуха в культивационных сосудах способствует снижению контроля самими растениями-регенерантами процесса транспирации [1, 2], т. к. у растений нарушена деятельность устьичного аппарата, формирующиеся листовые пластинки лишены кутикулярного воска, защищающего от потери влаги. Доступность питательных веществ и гетеротрофный способ питания способствует низкой фотосинтетической активности растений [3] и формированию корневой системы с незначительным количеством корневых волосков с невысокой всасывающей способностью, что вызывает гибель регенерантов на этапе адаптации [2, 4, 5].

Учитывая изложенное выше, необходима оптимизация условий перевода растений в нестерильные условия, разработка щадящих, ступенчатых процедур адаптации микроклонов к воздушно-газовому режиму, подбор оптимальных субстратов для перевода растений-регенерантов в условия *ex vitro*. Для того, чтобы обеспечить высокий уровень приживаемости и интенсивный рост микроклонов в нестерильных условиях, субстрат должен характеризоваться хорошей водо- и воздухопроницаемостью, поскольку избыток влаги приводит к появлению корневых гнилей, подопреванию стеблей и гибели растений [6]. В то же время он должен иметь высокую водоудерживающую и поглотительную способность, которые, наряду с оптимальными физическими свойствами, создают благоприятные условия для приживаемости растений. Исследованиями многих авторов [1, 7–9] показана эффективность использования для адаптации ягодных растений к условиям *ex vitro* субстратов, основным компонентом которых является торф. В качестве дополнительных компонентов, для обеспечения высокой воздухопроницаемости в состав субстратов включают крупнозернистый песчаник, вермикулит или перлит [8–11]. Несмотря на имеющиеся общие рекомендации, авторы указывают, что для каждого генотипа состав субстратов и соотношение в нем компонентов необходимо подбирать эмпирическим путем.

Цель работы – оптимизировать процесс перевода растений-регенерантов ежевики сорта 'Triple Crown', полученных *in vitro*, в условия *ex vitro.*

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В качестве объекта исследования был использован сорт ежевики 'Triple Crown', характеризующийся комплексом хозяйственно-ценных признаков.

При введении в культуру *in vitro* эксплантов, субкультивировании и приготовлении питательных сред использовали методики, общепринятые в работах по культуре тканей [14–15]. Культивирование *in vitro* осуществляли на модификациях агаризованной питательной среды Мурасиге и Скуга (МС) с добавлением регуляторов роста, вид и концентрация которых зависела от этапа микроклонального размножения [16, 17]. На этапе введения в качестве эксплантов использовали пазушные почки ежевики. Через 30 суток культивирования сформировавшиеся микропобеги разделяли на сегменты длиной 6–10 мм и высаживали на свежую питательную среду. Для укоренения использовали питательную среду с половинным количеством макро- и микросолей (½ МС), с добавлением β-индолил-3-масляной кислоты (ИМК) в концентрации 0,2 мг/л [16]. При осуществлении манипуляций по пересадке микропобегов на питательную среду для укоренения, в условиях ламинар-бокса, ватно-марлевые пробки заменяли на ватные диски в соответствии со схемой эксперимента, фиксируя их с помощью термоусадочной пленки [18]. Культивирование осуществляли в пробирках диаметром 15 мм с объемом питательной среды 10 мл, при освещенности 2,0–3,0 клк с 16-ти часовым фотопериодом, температуре 25±2 °С и относительной влажности воздуха 70 %. Снятие морфобиологических показателей проводили каждые 10 суток. Определение линейных размеров растений-регенерантов и длины

корней осуществляли при помощи линейки. Подсчет количества корней осуществлялся визуально.

Для адаптации к условиям *ex vitro* отбирали хорошо развитые микроклоны, высотой не менее 50 мм и имеющие не менее 3 шт. корней. В течение 5 или 10 сут. их выдерживали в пробирках с приоткрытым покрытием для постепенной адаптации к воздушно-газовому режиму [12, 13]. Поверхность питательной среды увлажняли автоклавированной дистиллированной водой, после чего излишек воды выливали. Затем подготовленные растения с остатком питательной среды на корнях высаживали в емкости объемом 200 мл со стерильными субстратами различного состава. Стерилизация субстрата проводилась в сухожаровом шкафу (150 °С) в течение 2 часов. Емкости с высаженными растениями помещали под покрытие из полиэтилена для обеспечения оптимального микроклимата. Условия культивирования: температура 24±1 °С, влажность в течение первых 10 сут. – 85±5 %, затем снижали до 70 %, освещенность 3 клк с соблюдением 16-часового фотопериода. Высокую влажность воздуха поддерживали мелкокапельным опрыскиванием.

Эксперименты проводили в трехкратной повторности, объем выборки 20 микроклонов.

Для статистической обработки экспериментальных данных использовали пакет прикладных программ Excel 2010 для Windows XP. В таблицах представлены средние значения и их стандартные ошибки. Достоверность различий оценивали по t-критерию Стьюдента при уровне значимости P = 0,05.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

На начальном этапе адаптации растений к нестерильным условиям зачастую наблюдается снижение интенсивности роста регенерантов, опадение листьев и даже гибель растений. Причинами являются физиологические нарушения, имеющие место у растений, полученных в асептической культуре, в первую очередь – интенсивная транспирация. Исследованиями [1] установлено, что интенсивность транспирации у растений малины, культивируемых *in vitro*, в 3 раза выше, чем у растений, приспособленных к естественной влажности воздуха. Однако в процессе адаптации растений-регенерантов к условиям *ex vitro* интенсивность транспирации постепенно снижается.

С целью предварительной адаптации растений, культивируемых *in vitro*, к воздушно-газовому режиму и сниженной влажности воздуха в работе использовали метод покрытия культивационных сосудов ватными (косметическими) дисками, предложенный С. А. Корнацким [18] и показавший высокую эффективность при культивировании *in vitro* косточковых культур.

Для этого при высадке микропобегов на среду для укоренения, в стерильных условиях, ватно-марлевые пробки заменяли на ватные диски. Поскольку толщина и плотность ватных дисков значительно ниже, чем ватно-марлевых пробок, газообмен внутреннего объема культивационного сосуда с окружающей средой значительно менее ограничен [18], следовательно, уже на этапе укоренения регенеранты могут

постепенно приспосабливаться к меньшей влажности воздуха и более интенсивному газообмену. В результате эксперимента получены следующие данные (табл. 1).

Установлено, что процесс ризогенеза протекал достаточно интенсивно в обоих вариантах эксперимента – уже на десятые сутки культивирования формирование корней было отмечено у 70,0–71,7 % микропобегов. В течение последующего культивирования процент укоренения повысился до 80,0–83,3 %. За 30 суток культивирования растения формировали 4,2–4,8 шт. корней, при этом средняя длина корней составляла 36,2–41,5 мм. Прирост побегов за этот период составил 19,4–21,4 мм.

Таблица 1

Влияние способа покрытия культивационных сосудов на интенсивность роста микроклонов ежевики сорта 'Triple Crown' *in vitro* (культивирование на питательной среде ½ МС с добавлением 0,2 мг/л ИМК)

Параметры роста	Длительность культивирования, сут.		
	10	20	30
Ватно-марлевая пробка			
Укореняемость, %	71,7±3,3	76,7±1,7	80,0±2,5
Количество корней, шт.	1,6±0,3	2,8±0,6	4,2±0,1
Длина корней, мм	7,8±0,6	21,4±1,7	36,2±2,8
Прирост побегов, мм	6,4±0,8	11,8±1,0	19,4±2,0
Ватный диск			
Укореняемость, %	70,0±1,6	78,3±3,3	83,3±5,0
Количество корней, шт.	1,3±0,2	3,5±0,4	4,8±0,3*
Длина корней, мм	8,4±0,9	24,8±1,3*	41,5±2,2*
Прирост побегов, мм	7,2±0,4	13,1±0,6	21,4±1,3

Примечание. Разница между вариантами достоверна при *P=0,05

Анализ указанных данных позволяет сделать вывод, что в целом, биометрические показатели при сравнении двух вариантов покрытия культивационных сосудов различались незначительно, однако количество сформированных корней в варианте с использованием в качестве покрытия ватных дисков к концу периода культивирования было достоверно выше и составляло 4,8±0,3 шт. В этом варианте также был выше показатель длины корней, составлявший на 20-е сутки культивирования 24,8±1,3 мм, на 30-е сутки – 41,5±2,2 мм. Известно [1, 8] что более развитая корневая система обеспечивает лучшую приживаемость и рост растений после высадки в нестерильные условия. Таким образом, анализ полученных данных позволяет выделить этот вариант культивирования микроклонов ежевики сорта 'Triple Crown' как оптимальный на данном этапе микроклонального размножения.

Для постепенной адаптации растений к воздушно-газовому режиму и естественной влажности воздуха отобранные микроклоны в течение 5 или 10 суток культивировали с приоткрытым покрытием, периодически увлажняя поверхность

питательной среды стерильной водой, после чего пересаживали их в подготовленный субстрат для адаптации к почвенным условиям. В результате эксперимента получены следующие данные (табл. 2).

Анализ полученных данных показал, что увеличение длительности культивирования в сосудах с приоткрытым покрытием способствовало более высокому количеству выживших растений. Так, при высадке микроклонов в субстрат после 5 суток культивирования с приоткрытой ватно-марлевой пробкой, уровень приживаемости составил 38,3 %, а после 10 суток этот показатель был в 1,4 раза выше (54,2 %). Разница между приживаемостью растений, высаженных после 5 и 10 суток культивирования с приоткрытым ватным диском была несущественна и составила 71,7 % и 82,0 % соответственно.

Таблица 2

Влияние покрытия культивационного сосуда и длительности предварительной подготовки на приживаемость микроклонов ежевики сорта 'Triple Crown' в условиях *ex vitro*, %

Вариант покрытия культивационного сосуда (фактор А)	Длительность предварительной подготовки, сут. (фактор В)		Средние по фактору А ($НСР_{05}$=3,8 (6,1 %)
	5	10	
Ватно-марлевая пробка	38,3	54,2	46,3
Ватный диск	71,7	82,0	76,9
Средние по фактору В ($НСР_{05}$=14,7 (9,0 %)	55,0	68,1	$НСР_{05}$=20,8 (12,8 %) для частных средних

Сравнение показателей влияния вариантов покрытия культивационных сосудов на приживаемость микроклонов в условиях *ex vitro* позволило выделить вариант использования ватных дисков. После 10 суток предварительной подготовки приживаемость микроклонов в варианте использования в качестве покрытия ватно-марлевых пробок составила 54,2 %, при использовании ватных дисков – 82,0 % (в 1,5 раза выше). Следует отметить, что даже при высадке растений в субстрат через 5 суток после нарушения целостности покрытия культивационных сосудов, в варианте с покрытием сосудов ватными дисками приживаемость составила 71,7 %, что является достаточно высоким показателем для приживаемости ягодных растений [1]. В среднем, приживаемость микроклонов после культивирования в сосудах с покрытием ватными дисками был существенно выше и составлял 76,9 %, чем при использовании ватно-марлевых пробок (46,3 %). Очевидно, использование ватных дисков для покрытия культивационных сосудов способствует созданию оптимального микроклимата, способствующего более эффективной последующей адаптации микроклонов к условиям *ex vitro*.

Большое значение при переводе растений-регенерантов в условия *ex vitro* придается вопросам подбора и оптимизации состава субстрата. К субстратам предъявляются следующие требования: высокая водо- и воздухопроницаемость, легкий гранулометрический состав и невысокая плотность. Для адаптации пробирочных растений ежевики сорта 'Triple Crown' в качестве субстратов использовали следующие смеси: торф с песком в соотношении 2 : 1 и торф с перлитом в таком же соотношении; торф с песком и почвой в соотношении 2 : 1 : 1 и торф с перлитом и почвой в таком же соотношении. В результате получены следующие данные (табл. 3).

Таблица 3

Влияние состава субстрата и вариантов покрытия культивационных сосудов на приживаемость микроклонов ежевики сорта 'Triple Crown' в условиях *ex vitro*

Компоненты субстрата	Соотношение компонентов	Приживаемость растений, %, из сосудов с покрытием	
		ватно-марлевая пробка	ватный диск
Торф + песок	2 : 1	37,5	62,5
Торф + перлит	2 : 1	47,8	76,0
Торф + песок + почва	2 : 1 : 1	45,8	80,8
Торф + перлит + почва	2 : 1 : 1	54,2	92,0
$НСР_{05}$		5,9	6,1

Установлено, что приживаемость микроклонов ежевики сорта 'Triple Crown' на исследуемых субстратах варьировала в пределах 37,5–92,0 % в зависимости от состава субстрата и варианта покрытия культивационных сосудов на этапе укоренения. Анализ полученных данных показал, что лучше всего проходила адаптация микроклонов, высаженных из культивационных сосудов, покрытых ватными дисками. Приживаемость растений в условиях *ex vitro* варьировала от 62,5 до 92,0 % в зависимости от субстрата, тогда как приживаемость регенерантов из культивационных сосудов, покрытых ватно-марлевой пробкой, была значительно ниже и составляла 37,5–54,2 %. Наиболее высокий уровень приживаемости микроклонов ежевики сорта 'Triple Crown' был отмечен при использовании трехкомпонентного субстрата (торф, перлит, почва) в соотношении 2 : 1 : 1. Полученные нами данные согласуются с исследованиями ряда авторов [8, 9, 11], указывающих на эффективность использования для адаптации ягодных растений субстратов, содержащих перлит.

Таким образом, в результате исследований оптимизирован процесс адаптации растений-регенерантов ежевики сорта 'Triple Crown' к условиям *ex vitro.*

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

1. Использование на этапе укоренения *in vitro* в качестве покрытия культивационных сосудов ватных дисков способствовало формированию у микроклонов ежевики сорта 'Triple Crown' более развитой корневой системы – количество корней составило 4,8±0,3 шт., длина – 41,5±2,2 мм.
2. Длительность предварительной адаптации к воздушно-газовому режиму оказывает влияние на приживаемость микроклонов *ex vitro.* Культивирование в сосудах с приоткрытым покрытием в течение 10 суток способствовало увеличению уровня приживаемости растений на субстратах в 1,1–1,4 раза.
3. Уровень приживаемости микроклонов ежевики сорта 'Triple Crown' в условиях *ex vitro* после 10 суток предварительной подготовки составил 54,2 % при использовании в качестве покрытия культивационных сосудов ватно-марлевых пробок и 82,0 % – при использовании ватных дисков.
4. Использование трехкомпонентного субстрата (торф, перлит, почва) в соотношении 2 : 1 : 1 способствовало существенному повышению уровня приживаемости микроклонов на этапе адаптации к условиям *ex vitro.*

Список литературы

1. Сковородников Д. Н. Адаптация полученных *in vitro* растений малины к нестерильным условиям / Д. Н. Сковородников, И. А. Райков, Д. Н. Челяев // Вестник Орел ГАУ. – 2012. – № 2 (35). – С. 70–72.
2. Муратова С. А. Размножение садовых культур *in vitro*: методические рекомендации / С. А. Муратова, Д. Г. Шорников, М. Б. Янковская – Мичуринск-наукоград, 2008. – 68 с.
3. Шорников Д. Г. Оптимизация условий культивирования *in vitro* ягодных и декоративных культур / Д. Г. Шорников, С. А. Брюхина, С. А. Муратова, М. Б. Янковская, Р. В. Папихин // Вестник ТГУ. – 2010. – Т. 15, вып. 2. – С. 640–645.
4. Яблонская М. И. Биотизация растений *in vitro* / М. И. Яблонская, М. С. Гинс, М. А. Молчанова // Вестник РУДН. Агрономия и животноводство. – 2016. – № 1. – С. 15–20.
5. Yildiz A. The effect of mycorrhiza in nutrient uptake and biomass of cherry rootstocks during acclimatization / A. Yildiz, A. Cagdas, A. Aslihan, Y. Yesim, S. Sedat, O. Ibrahim // Romanian Biotechnological Letters. – 2010. – Vol. 15, № 3. – P. 5246–5252.
6. Аладина О. Н. Адаптация микрорастений малины (Rubus L.) и сирени (Syringa L.) к нестерильным условиям / О. Н. Аладина, С. В. Акимова, И. С. Ковалева, С. О. Дубровская, Е. Р. Батрак, С. А. Аладин // Известия ТСХА. – 2009. – Вып. 3. – С. 98–109.
7. Дедюхина О. Н. Адаптация растений-регенерантов *Eremogone saxatilis* (L.) Ikonn. к почвенным условиям / О. Н. Дедюхина, А. С. Константинова, О. Г. Баранова // Вестник Удмуртского университета. – 2011. – Вып. 3. – С. 31–35.
8. Деменко В. И. Адаптация растений, полученных *in vitro* к нестерильным условиям / В. И. Деменко, В. А. Лебедев // Известия ТСХА. – 2011. – Вып. 1. – С. 60–70.
9. Рундя А. П. Особенности адаптации ремонтантной малины в условиях ex vitro / А. П. Рундя // Почвоведение и агрохимия. – 2015. – № 1(54). – С. 223–230.
10. Галдина Т. Е. Совершенствование технологии доращивания растений, полученных в культуре ткани *in vitro* / Т. Е. Галдина // Успехи современной науки и образования. – 2017. – Т. 7, № 2. – С. 174–177.
11. Stoevska T. Micropropagation of Raspberris (Rubus idaeus) / T. Stoevska, A. Trifonova, D. Karadocheva // Biotechnology & Biotechnological Equipment, 1995. – Vol. 9, Issue 2–3. – P. 27–30.
12. Медведева Н. И. Особенности микроклонального размножения интродуцентов и клонов винограда / Н. И. Медведева, Н. В. Поливара, Л. П. Трошин // Научный журнал КубГАУ [Электронный ресурс]. – 2008. – № 40 (6). – Режим доступа: http://ej.kubagro.ru/2008/06/pdf/18.pdf.

13. Иванова-Ханина Л. В. Влияние состава субстрата на приживаемость микрорастений *Vitis vinifera* L. *in vivo* /Л. В. Иванова-Ханина // Экосистемы. – 2018. – № 13 (43). – С. 84–88.
14. 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.
15. Бутенко Р. Г. Культура изолированных тканей и физиология морфогенеза растений / Р. Г. Бутенко. – М.: Наука, 1964. – 272 с.
16. Иванова-Ханина Л. В. Влияние гормонального состава питательной среды на интенсивность роста ежевики *in vitro* /Л. В. Иванова-Ханина // Ученые записки Крымского федерального университета имени В. И. Вернадского. Биология. Химия. – 2018. – Т. 4 (70), № 4. – С. 51–59.
17. Иванова-Ханина Л. В. Оптимизация условий введения малины и ежевики в культуру *in vitro* /Л. В. Иванова-Ханина // Научный журнал КубГАУ [Электронный ресурс]. – 2014. – № 101 (07). – – Режим доступа: http://ej.kubagro.ru/2014/07/pdf/25.pdf.
18. Корнацкий С. А. Технологические подходы к использованию метода *in vitro* для массового производства растений косточковых культур / Корнацкий С. А. // Международный научно-исследовательский журнал. – 2016. – № 10 (52). Ч. 4. – С. 150–152.

ADAPTATION OF BLACKBERRY PLANTS-REGENERATORS TO *EX VITRO* CONDITIONS

Ivanova-Khanina L. V.

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

Adaptation to *ex vitro* conditions is the final stage of the microclonal reproduction process, which significantly affects the economic efficiency of this process. The success of plant adaptation to non-sterile conditions depends on many factors: the type of plant, its biological requirements and the physiological state; composition, density and moisture of the substrate; relative humidity, light intensity, etc.

The goal of the work is to optimize the process of transferring the blackberry plants-regenerators variety 'Triple Crown', obtained *in vitro*, into *ex vitro* conditions.

The blackberry variety 'Triple Crown' was used as object for study, and has a set of economically valuable traits. Well-developed microclones were selected for adaptation to *ex vitro* conditions; they were cultivated during 5 or 10 days with jar cover (cotton-gauze plugs or cotton pads) half-opened for the gradual adaptation to the air-gas condition. It was established that the rhizogenesis process went quite intensively in both variants of experiment; and on the tenth day of cultivation the roots formation was noted for 70,0–71,7 % of microshoots. During further cultivation, the percentage of rooting increased up to 80,0–83,3 %. It was established that microclones cultivating in cultivation vessels covered with cotton pads stimulated a formation of a more eveloped root system; the average length of the roots was 41,5±2,2 mm. The value of this indicator during cultivation in vessels covered with cotton-gauze plugs was 36,2±2,8 mm.

Analysis of the obtained data showed that increasing the length cultivation in vessels with half-opened jar coating lead to a higher number of surviving plants. Planting microclones into the substrate after 5 days of cultivation with the cotton-gauze jar plug

gives survival rate about 38,3 %, and after 10 days it goes to 54,2 % (which 1,4 times higher). The survival rate of plants planted after cultivating with a slightly open cotton disc during 5 days was 72,0 %, after 10 days – 82,0 %.

The following substances were used as substrates: peat with sand (2 : 1), peat with perlite (2 : 1), peat with sand and soil (2 : 1 : 1) and peat with perlite and soil (2 : 1 : 1). The analysis of the obtained data showed that the adaptation of microclones planted from cultivation vessels covered with cotton pads was the best. Plant acclimation rate to *ex vitro* conditions varied from 62,5 to 92,0 % depending from substrate, whereas the acclimation rate for regenerants from cultivation vessels covered with a cotton-gauze plug was significantly lower and was 37,5–54,2 %. The highest level of microclones survival of blackberry varieties 'Triple Crown' was observed for using a three-component substrate (peat, perlite, and soil) in a ratio of 2 : 1 : 1.

The adaptation process for plants-regenerators of blackberry variety 'Triple Crown' to the *ex vitro* conditions has been optimized because of research.

Keywords**:** *ex vitro adaptation, microclonal reproduction, blackberry, substrate*

References

1. Skovorodnikov D. N., Raikov I. A., Chelyaev D. N. Adaptation of the raspberry plants obtained *in vitro* to non-sterile conditions, *Herald Orel SAU*, **2 (35),** 70 (2012).
2. Muratova S. A., Shornikov D. G., Yankovskaya M. B. Reproduction of garden crops *in vitro*: guidelines, 68 (Michurinsk-naukograd, 2008).
3. Shornikov D. G., Bryukhina S. A., Muratova S. A., Yankovskaya M. B., Papikhin R. V. Optimization of berry and ornamental crops to cultivation conditions *in vitro*, *TSU Bulletin*, **15, 2,** 640 (2010).
4. Yablonskaya M. I., Hins M. S., Molchanova M. A. Plant biotisation *in vitro*, *Vestnik RUDN. Agriculture and Livestock*, **1,** 15 (2016).
5. Yildiz A., Cagdas A., Aslihan A., Yesim Y., Sedat S., Ibrahim O. The effect of mycorrhiza in nutrient uptake and biomass of cherry rootstocks during acclimatization, *Romanian Biotechnological Letters*, **15, 3**, 5246 (2010).
6. Aladina O. N., Akimova S. V., Kovaleva I. S., Dubrovskaya S. O., Batrak E. R., Aladin S. A. Adaptation of raspberry microplants (Rubus L.) and lilac (Syringa L.) to non-sterile conditions, *News of the TAA*, **3,** 98 (2009).
7. Dedyukhina O. N., Konstantinova A. S., Baranova O. G. Adaptation of regenerated plants Ermegone saxatilis (L.) Ikonn. to soil conditions, *Bulletin of Udmurt University*, **3,** 31 (2011).
8. Demenko V. I., Lebedev V. A. Adaptation of plants obtained *in vitro* to non-sterile conditions, *News of the TAA*, **1,** 60 (2011).
9. Rundya A. P. Specifics of remontant raspberry adaptation to in *ex vitro* conditions, *Soil Science and Agrochemistry*, **1 (54),** 223 (2015).
10. Galdina T. E. Improving the growing technology of plants obtained *in vitro* tissue culture, *Progress in modern science and education*, **7, 2,** 174 (2017).
11. Stoevska T., Trifonova A., Karadocheva D. Micropropagation of Raspberris (Rubus idaeus), *Biotechnology & Biotechnological Equipment,* **9, 2–3,** 27 (1995).
12. Medvedeva N. I., Polivara N. V., Troshin L. P. Specifics of microclonal propagation of introduced species and clones of grapes [Electronic resource], *Scientific Journal of KubSAU*, **40 (6)** (2008). – Access Mode: URL: http://ej.kubagro.ru/2008/06/pdf/18.pdf.
13. Ivanova-Khanina L. V. Influence the composition of substrate on survival rate of microplants of *Vitis vinifera* L. *in vivo*, *Ecosystemy*, **13 (43)**, 84 (2018).
14. 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).
15. Butenko R. G. The culture of isolated tissues and plant morphogenesis physiology, 272 (Moscow: Science, 1964).

16. Ivanova-Khanina L. V. Influence of the hormonal composition of nutrient medium on intensity of blackberry growth *in vitro*, *Scientific Notes of V. I. Vernadsky Crimean Federal University. Biology. Chemistry*, **4 (70), 4**, 51 (2018).
17. Ivanova-Khanina L. V. Optimizing conditions for introduction of raspberry and blackberry into cultivation *in vitro* [Electronic resource], *Scientific Journal of KubSAU*, **101 (07)** (2014). – Access Mode: URL: http://ej.kubagro.ru/2014/07/pdf/25.pdf.
18. Kornatsky S. A. Technological approaches to the *in vitro* method usage for mass production of stone fruit plants, *International Research Journal*, **10 (52), 4**, 150 (2016).

Ученые записки Крымского федерального университета имени В. И. Вернадского
Биология. Химия. Том 5 (71). 2019. № 1. С. 40–49.

УДК 612.821

ВЗАИМОСВЯЗЬ МЕЖДУ ПАРАМЕТРАМИ РЕАКТИВНОСТИ МЮ-РИТМА ЭЭГ И УРОВНЕМ ИНТЕЛЛЕКТА У ДЕТЕЙ 4-14 ЛЕТ

Кайда А. И., Махин С. А., Эйсмонт Е. В., Павленко В. Б.

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

Целью настоящего исследования являлся анализ взаимосвязи между параметрами реактивности мю-ритма ЭЭГ в индивидуально рассчитанном частотном диапазоне и уровнем интеллекта у детей 4–14 лет (N=74). При реализации самостоятельных движений с помощью компьютерной мыши выявлено влияние фактора «Локус», а также значимые различия в реактивности мю-ритма при взаимодействии факторов «Возраст» и «Локус». В ситуации наблюдения за движениями другого человека значимое влияние на величину десинхронизации мю-ритма оказывал фактор «Локус» и его взаимодействие с факторами «Возраст» и «Интеллект». Ситуация подражания движениям другого человека показала значимое влияние на реактивность мю-ритма исключительно фактора «Интеллект».
Ключевые слова: ЭЭГ, сенсомоторный ритм, мю-ритм, интеллект, зеркальная система мозга, дети.

ВВЕДЕНИЕ

На протяжении последних десятилетий биоэлектрическая активность мозга используется в качестве индикатора динамики разнообразных психических явлений. В результате многочисленных исследований было установлено, что процессы запоминания и извлечения памятного следа, активации внимания и принятия решений отражаются в изменении частотно-амплитудных параметров альфа-ритма ЭЭГ [1, 2]. При исследованиях уровня интеллекта (IQ) также было показано наличие положительной корреляции с мощностью альфа-ритма ЭЭГ, зарегистрированного у детей в состоянии относительного покоя [3]. Положительная связь с интеллектом была также найдена для таких показателей ЭЭГ, как когерентность в диапазоне альфа-ритма [4]. Также было показано, что для людей с более высоким уровнем общего интеллекта при обработке информации характерна большая активация левого полушария по сравнению с людьми с низкими его значениями. Данный феномен в записи ЭЭГ отражается большей депрессией альфа-ритма в левом полушарии [5].

Многочисленные исследования показали, что снижение амплитуды разновидности альфа-активности – мю-ритма (8–13 Гц), регистрируемого над сенсомоторной корой, отражает моторное моделирование, возникающее в ответ на подготовку и выполнение движений. Существует доказательства того, что мю-ритм регистрируется не только над центральными областями мозга. Так, в недавних

работах сообщается о десинхронизации мю-активности над теменными и лобными областями в ответ на выполнение действий [6, 7].

В последнее десятилетие мю-ритм привлек внимание и специалистов в области когнитивной нейробиологии, отчасти благодаря его связи с системой зеркальных нейронов человека [8]. Данная система у человека опосредует обучение посредством подражания [9]. В работе Gardony et al. было показано, что реактивность мю-ритма ЭЭГ может служить инструментом для оценки моторного моделирования в когнитивных задачах [10].

В одном из исследований с участием взрослых волонтеров было показано, что десинхронизация низкочастотного альфа-ритма была максимальной в группе людей с высоким уровнем интеллекта и минимальной – с низким. Значимая десинхронизация высокочастотного альфа-ритма имела место лишь в выборке с высокими показателями интеллекта и менее всего была выражена в выборке со средним уровнем интеллекта [11]. Однако вопрос об отражении уровня интеллекта в активности сенсомоторного ритма ЭЭГ детей остается неизученным. В связи с вышеизложенным, целью настоящей работы является анализ взаимосвязи между параметрами реактивности мю-ритма ЭЭГ и уровнем общего интеллекта у детей 4–14 лет.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В исследовании приняли участие 74 ребенка в возрасте 4–14 лет (42 мальчика и 32 девочки). 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 по системе 10–20. В дальнейшем анализе использовались фронтальные (F3, F4, Fz), центральные (C3, C4, Cz) и теменные (P3, P4, Pz) локусы. В качестве референтного электрода 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. Обработка сигналов производилась с помощью быстрого преобразования Фурье с последующим сглаживанием по методу Баттерворта. В качестве эпох анализа использовались временные интервалы по 3 секунды с перекрытием 50%.

Задачей исследования была регистрация паттернов ЭЭГ в рамках трех экспериментальных блоков: (1) выполнение самостоятельных движений мышью по кругу, (2) наблюдение за аналогичными движениями, выполняемыми экспериментатором и (3) имитация движений экспериментатора. Оценивался индекс реактивности мощности мю-ритма, диапазон которого определялся индивидуально для каждого испытуемого.

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 C3 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 х 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.

Для дальнейшего статистического анализа и сравнения показателей выборку детей разделили на 2 группы в соответствии с возрастом. В первую группу вошли 53 ребенка в возрасте от 4 до 9 лет. Во вторую группу вошел 21 ребенок в возрасте от 10 до 14 лет. Десятилетний возраст рассматривался нами как период, непосредственно предшествующий вхождению ребенка в ранний пубертат [12], который может выступать источником существенных изменений в ряде психофизиологических показателей, включая и функциональную реактивность ЭЭГ в задачах, содержащих элементы социального восприятия и взаимодействия.

Для оценки уровня интеллектуального развития детей 4–5 лет использовали тест Векслера (WPPSI). Для оценки уровня интеллектуального развития детей 6 лет использовали тест Векслера (WISC) [13]. Оба теста состоят из 5 вербальных и 5 невербальных субтестов, которые измеряют разные способности, а в сумме дают коэффициент умственного развития ребенка (показатель IQ). На основании результатов тестирования были сформированы 2 группы по интеллекту: IQ $\leq$110 (нормальный и нормальный ниже среднего) – 43 ребенка и IQ $\geq$110 (выше среднего) – 31 ребенок. Данный принцип разделения использовался с целью выделения выборки индивидов с тенденцией к более высоким оценкам общего интеллекта для последующего сравнения их с группой среднего и ниже среднего уровня интеллекта в рамках нормальных значений.

Индекс реактивности рассчитывался с помощью логарифмирования (с помощью десятичного логарифма) отношения экспериментального условия к соответствующему ему исходному. Значения ниже нуля рассматриваются как десинхронизация (супрессия) мю-ритма, выше нуля – как синхронизация мю-ритма.

Значимость различий в индексах реактивности при сопоставлении экспериментальных условий оценивалась с помощью дисперсионного анализа с повторными измерениями (repeated measures ANOVA). Оценивалось влияние таких интерсубъектных факторов, как возрастная группа («Возраст») и уровень интеллекта («Интеллект»), а также интрасубъектного фактора, в качестве которого выступал локус отведения ЭЭГ («Локус»): по схеме 2×2×9.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Ситуация выполнения самостоятельных движений с помощью компьютерной мыши характеризовалась отсутствием влияния основных факторов «Интеллект» и «Возраст» на реактивность мощности индивидуального мю-ритма для всех

отведений ЭЭГ в совокупности. Однако выявлено влияние фактора «Локус» ($F(8, 552) = 32{,}934$; $\eta_p^2 = 0{,}323$; $p < 0{,}001$), а также значимые различия в реактивности мю-ритма при взаимодействии факторов «Возраст» и «Локус» ($F(8, 552) = 6{,}515$; $\eta_p^2 = 0{,}086$; $p < 0{,}001$). Ниже представлены возрастные различия в реактивности мощности мю-ритма в каждом из анализируемых отведений ЭЭГ (Рис. 1). Уровень значимости различий отдельно для каждого отведения определялся с помощью метода индивидуальных контрастов (F-статистика).

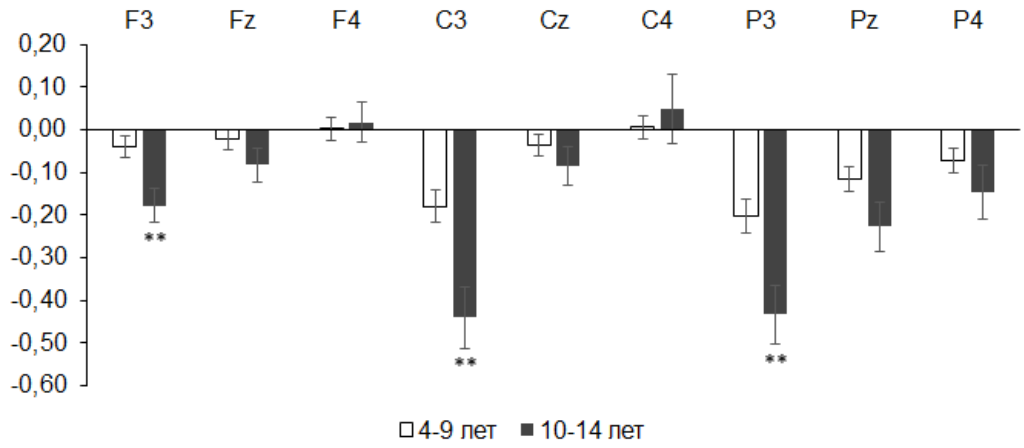


Рис. 1. Величины индексов десинхронизации индивидуального мю-ритма ЭЭГ в отведениях F3, Fz, F4, C3, Cz, C4, P3, Pz, P4 в группах детей в возрасте 4–9 и 10–14 лет. Значимые межгрупповые различия обозначены символами «**» и соответствуют уровню значимости $p < 0{,}01$.

Наиболее выраженные и значимые различия между двумя возрастными группами детей в величине реактивности индивидуального мю-ритма при реализации самостоятельных движений с помощью компьютерной мыши имеют место в левом полушарии и локализованы в отведениях F3, C3 и P3. Старшая выборка детей демонстрирует более высокую депрессию мю-ритма в зонах коры, контралатеральных используемой испытуемыми правой руке. По-видимому, данный феномен можно объяснить более развитой у них системой планирования (фронтальная кора, локус F3), реализации (центральная область коры, локус C3) и сенсомоторной интеграцией (теменная область, локус P3) выполняемых в соответствии с инструкцией экспериментатора движений.

Выраженная десинхронизация не только в центральных, но и в теменных отведениях может быть результатом процесса синтеза визуо-моторной информации, необходимого для лучшей координации движений и опосредованного задней теменной корой [7].

Анализ ситуации наблюдения за движениями другого человека выявил значимое влияние на величину десинхронизации мю-ритма фактора «Локус» ($F(8, 560) = 13{,}014$; $\eta_p^2 = 0{,}157$; $p < 0{,}001$), его взаимодействия с фактором «Возраст» ($F(8, 560) = 3{,}772$; $\eta_p^2 = 0{,}051$; $p < 0{,}001$), а также совместного взаимодействия с

факторами «Возраст» и «Интеллект» ($F(8, 560) = 2{,}227$; $\eta_p^2 = 0{,}031$; $p = 0{,}024$). Особенности влияния фактора «Возраст» на реактивность мю-ритма отдельно для каждого отведения ЭЭГ в сопоставлении для двух выборок с различным уровнем общего интеллекта представлены на рисунке (Рис. 2).

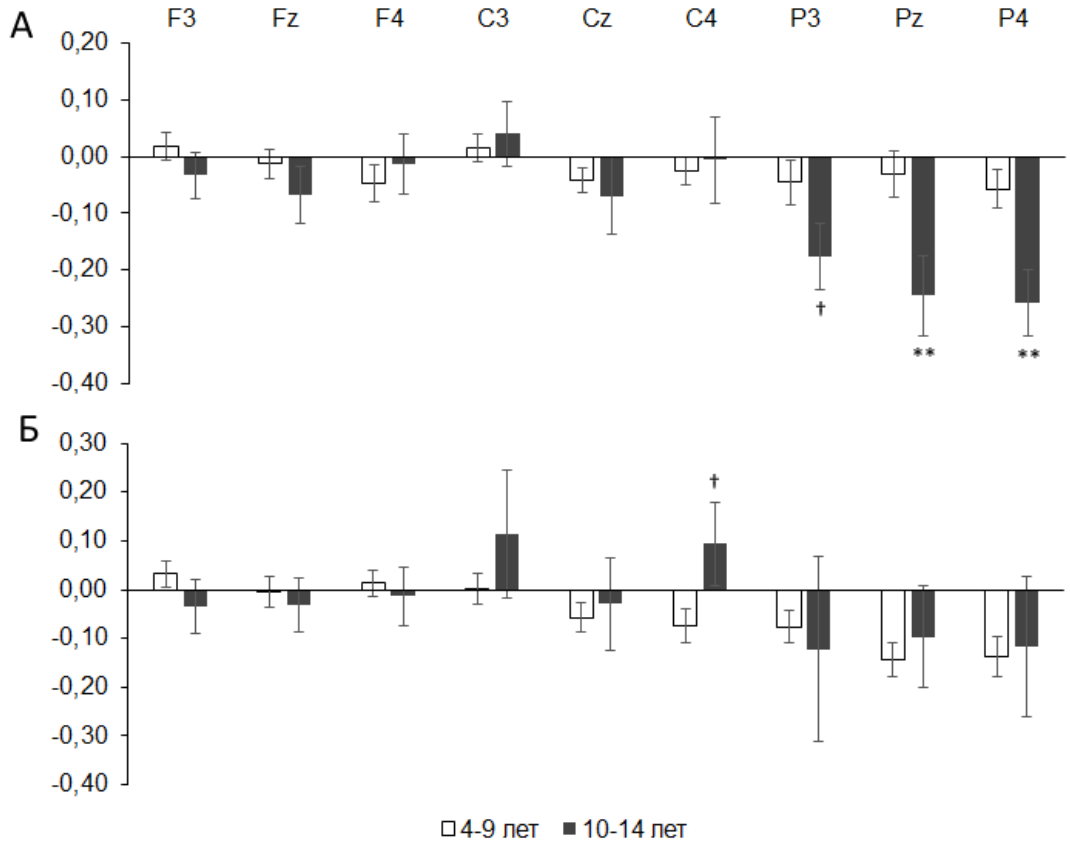


Рис. 2. Величины индексов десинхронизации индивидуального мю-ритма ЭЭГ в отведениях F3, Fz, F4, C3, Cz, C4, P3, Pz, P4 в группах детей в возрасте 4–9 и 10–14 лет отдельно для выборок детей с уровнем общего интеллекта, соответствующим средним и ниже среднего (А) и выше среднего (Б) показателям. Значимые возрастные различия обозначены символами «**» для уровня значимости $p < 0{,}01$ и «†» для $p < 0{,}10$.

Исходя из данных, полученных методом индивидуальных контрастов и представленных на рисунке выше, можно заключить, что относительно высокий уровень общего интеллекта нивелирует возрастные различия в показателях реактивности мю-ритма детей при условии наблюдения ими движений, осуществляемым другим человеком. Для уровня общего интеллекта, соответствующего средним и ниже среднего показателям (в пределах возрастной нормы), наблюдение действий другого человека вызывает значимо более высокую

десинхронизацию мю-ритма в группе детей в возрасте 10–14 лет по сравнению с выборкой детей в возрасте 4–9 лет. У детей старшего возраста мю-ритм десинхронизируется в наибольшей степени в зонах ассоциативной теменной коры. Вероятно, данный феномен отражает активацию большего объема когнитивных ресурсов, обеспечивающих восприятие ребенком старшего возраста сложного пространственно-временного паттерна наблюдаемых действий. Ранее нами уже была выявлена взаимосвязь между десинхронизацией альфа-ритма во фронтальных, центральных, и теменных отведениях в процессе наблюдения за действиями других и уровнем общего интеллекта у взрослых испытуемых [11].

Младшая выборка детей, возможно, характеризовалась тенденцией к пассивному наблюдению за действиями экспериментатора без существенных когнитивных усилий. В недавнем исследовании было показано, что для детей с лучшими сенсомоторными способностями характерно более быстрое и точное выполнение когнитивных задач [2].

Ситуация синхронного подражания движениям другого человека показала значимое влияние на реактивность мю-ритма исключительно фактора «Интеллект» ($F(1, 70) = 5{,}883$; $\eta_p^2 = 0{,}078$; $p = 0{,}018$), которое не дифференцировалось в связи с влиянием других изучаемых факторов. В качестве демонстрации однонаправленности влияния данного фактора на динамику мощности индивидуального мю-ритма в контексте рассматриваемого экспериментального условия ниже приведена соответствующая гистограмма (Рис. 3).

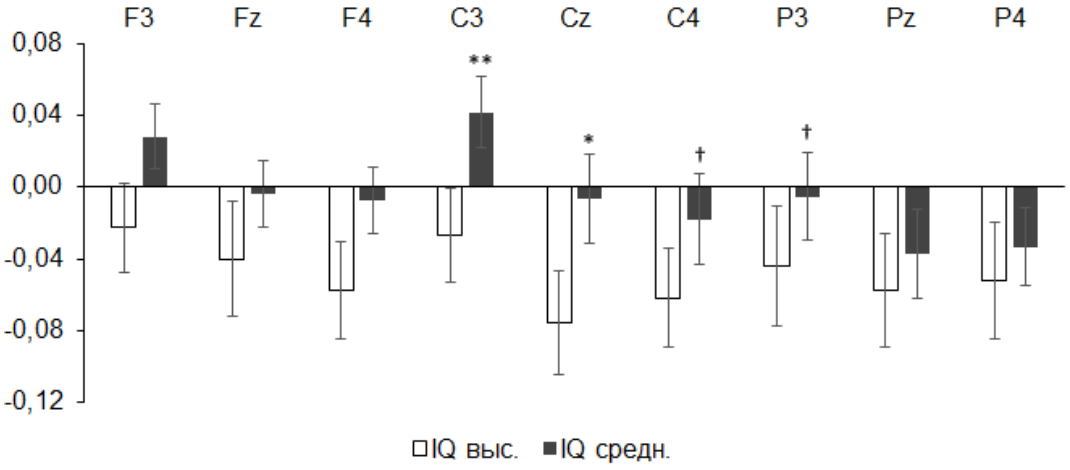


Рис. 3. Величины индексов десинхронизации индивидуального мю-ритма ЭЭГ в отведениях F3, Fz, F4, C3, Cz, C4, P3, Pz, P4 в сопоставлении выборок детей с различным уровнем общего интеллекта. «IQ выс.» – уровень общего интеллекта выше среднего. «IQ средн.» – уровень общего интеллекта средний и ниже среднего. Значимые возрастные различия обозначены символами «**» для уровня значимости $p < 0{,}01$, «*»для $p < 0{,}05$ и «†» для $p < 0{,}10$.

Исходя из характера закономерностей, представленных на рисунке, можно говорить о том, что относительно высокий уровень интеллекта предсказывает в целом бóльшую реактивность мю-ритма в ситуации синхронного подражания движениям другого человека. Полученные данные согласуются с результатами других исследований, проведенных с участием взрослых испытуемых [14]. Так у взрослых волонтеров с высоким уровнем невербального интеллекта, определенного с помощью теста Векслера [15] или диагностируемого с помощью опросника С. А. Беляева «Уровень эмоционального интеллекта» [14], десинхронизация мю-ритма была более выражена, чем у людей с низким уровнем невербального интеллекта

Связь между степенью десинхронизации мю-ритма детей при имитации движений взрослого экспериментатора и уровнем их интеллекта может быть объяснена исходя из представлений о зеркальной системе мозга. Поскольку реактивность данного ритма, как предполагают, отражает изменение активации зеркальных нейронов, расположенных в соматической зоне коры, а зеркальная система является критически важным компонентом понимания действий окружающих [8, 16, 17], мы предполагаем, что дети лучше воспринимающие и понимающие действия взрослых успешнее обучаются и развивают свой интеллект.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

1. В результате проведенного исследования были выявлены особенности реактивности мю-ритма ЭЭГ у детей с разным уровнем общего интеллекта.
2. При выполнении самостоятельных движений с помощью компьютерной мыши наиболее выраженные и значимые различия в величине реактивности индивидуального мю-ритма между двумя возрастными группами детей (4–9 лет и 10–14 лет) были зарегистрированы в левом полушарии в отведениях F3, C3 и P3.
3. В ситуации наблюдения за движениями другого человека более выраженная десинхронизация мю-ритма была выявлена в группе детей в возрасте 10–14 лет в отведениях Pz и P4 по сравнению с выборкой детей в возрасте 4–9 лет.
4. Ситуация подражания движениям другого человека продемонстрировала положительную связь между степенью десинхронизации мю-ритма и уровнем интеллекта в обеих возрастных группах детей.

Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ и Министерства образования, науки и молодежи Республики Крым в рамках научного проекта № 17-415-92001 р_а.

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

Список литературы

1. Klimesch W. EEG alpha and theta oscillations reflect cognitive and memory performance: a review and analysis / W. Klimesch // Brain Res Rev. – 1999. – No 29. – P. 169–95.
2. Mierau A. The interrelation between sensorimotor abilities, cognitive performance and individual EEG alpha peak frequency in young children / A. Mierau, M. Felsch, J. Mierau [et al.] // Clin Neurophysiol. – 2016 – No 127(1). – P. 270–276.
3. Schmid R. G. Correlation between spectral EEG parameters and intelligence test variables in school-age children / R. G. Schmid, W. S. Tirsch, H. Scherb // Clin Neurophysiol. – 2002. – No 113(10). – P. 1647–56.
4. Thatcher R. W. Intelligence and EEG measures of information flow: efficiency and homeostatic neuroplasticity / R. W. Thatcher, E. Palmero-Soler , D. M. North [et al.] // Sci Rep. – 2016. –Vol. 20, No 6. – P. 388–90.
5. Jausovec N. Differences in EEG current density related to intelligence / N. Jausovec, K. Jausovec // Brain Res. Cogn. Brain Res. – 2001. – Vol. 12, No 1. – P. 55–60.
6. Frenkel-Toledo S. Dynamics of the EEG power in the frequency and spatial domains during observation and execution of manual movements / S. Frenkel-Toledo, S. Bentin, A. Perry [et al.] // Brain Res. – 2013. – No 1509. – P. 43–57.
7. Thorpe S. G. Spectral and source structural development of mu and alpha rhythms from infancy through adulthood / S. G. Thorpe, E. N. Cannon, N. A. Fox // Clin Neurophysiol. – 2016. – No 127(1). – P. 254–269.
8. Pineda J. A. The functional significance of mu rhythms: Translating “seeing” and “hearing” into “doing”/ J. A. Pineda // Brain Research Reviews. – 2005. – Vol. 50, No 1. – P. 57–68.
9. Cattaneo L. The mirror neuron system / L. Cattaneo, G. Rizzolatti // Arch Neurol. – 2009. – No 66(5). – P. 557–60.
10. Gardony A. L. Cognitive strategies in the mental rotation task revealed by EEG spectral power / A. L. Gardony, M. D. Eddy, T.T. Brunye [et al.] // Brain Cogn. – 2017. – No 118. – P. 1–18.
11. Аликина М. А. Люди с высоким уровнем общего интеллекта демонстрируют более выраженную десинхронизацию мю-ритма при наблюдении за действиями других / М. А. Аликина, С. А. Махин, В. Б. Павленко // Ученые записки Крымского федерального университета имени В. И. Вернадского Биология. Химия. – 2018. – Том4 (70), №3. – С. 26–34.
12. Kail R.V. Cengage Advantage Books: Human Development: A Life-Span View. / R.V. Kail – Wadsworth Cengage Learning, 2010. – 768 p.
13. Ильина М. Н. Психологическая оценка интеллекта у детей / М. Н. Ильина – П.: Питер, 2006. – 368 с.
14. Махин С. А. Взаимосвязь между индивидуальным уровнем эмоционального интеллекта и реактивностью сенсомоторного ритма при синхронной имитации движений другого человека /С. А. Махин, А. А. Макаричева, Н. В. Луцюк [и др.] // Ученые записки Таврического национального университета им. В. И. Вернадского. Серия «Биология, химия». – 2013. – Т. 26 (65). – С. 121–131.
15. Anwar M.N. possible correlation between performance IQ, visuomotor adaptation ability and mu suppression / M. N. Anwar, M. S. Navid, M. Khan, [et al.] // Brain Res. – 2015. – No .1603. – P. 84–93.
16. Rizzolatti G. Mirrors in the brain: how our minds share actions and emotions / G. Rizzolatti, C. Sinigaglia. – Oxford University Press, 2008. – 242 p.
17. Pineda J. A. Sensorimotor cortex as a critical component of an ’extended’ mirror neuron system: does it solve the development correspondence and control problems in mirroring? / J. A. Pineda // Behavioral and Brain Functions. – 2008. – Vol. 4, No 47. – P. 1–16.

RELATIONSHIP BETWEEN THE EEG MU-RHYTHM REACTIVITY AND INTELLIGENCE IN CHILDREN AGED 4–14

Kaida A. I., Makhin S. A., Eismont E. V., Pavlenko V. B.

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

The aim of the present study was to analyze the relationship between the EEG mu-rhythm reactivity in the individual frequency range and the level of intelligence in children 4–14 years old (N = 74). 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 mu-rhythm reactivity index was measured in view of the range, individually for each determined subject. The significance of differences in reactivity indices was assessed with the help of ANOVA with repeated measures. The within-subjects factor was the EEG locus (nine leads), the between-subjects factors were age group («Age») and level of intelligence («Intelligence»). The condition of performed self-paced movements showed the influence of the «Locus» factor as well as significant differences in the mu-rhythm reactivity in the interaction of the «Age» and «Locus» factors. The most pronounced and significant differences in the mu-rhythm reactivity between the two age groups of children (4–9 years and 10–14 years) were recorded in the left hemisphere (leads F3, C3 and P3). The condition of movement observation, the «Locus» factor and its interaction with the «Age» and «Intelligence» factors had a significant impact on the mu-rhythm desynchronization. Significant mu-rhythm desynchronization was detected in the group of children aged 10–14 in leads Pz and P4 compared with a sample of children aged 4–9. The condition of movements imitation showed a significant effect on the mu-rhythm reactivity exclusively of the «Intelligence» factor. This condition showed a positive relationship between the degree of mu-rhythm desynchronization and the level of intelligence in both age groups.

***Keywords*:** EEG, sensorimotor rhythm, mu-rhythm, intelligence, mirror neuron system, children.

References

1. Klimesch W. EEG alpha and theta oscillations reflect cognitive and memory performance: a review and analysis, *Brain Res Rev*., **29**, 169 (1999).
2. Mierau A., Felsch M., Mierau J., Bullermann P. The interrelation between sensorimotor abilities, cognitive performance and individual EEG alpha peak frequency in young children, *Clin Neurophysiol*., **127**(1), 270 (2016).
3. Schmid R. G., Tirsch W. S., Scherb H. Correlation between spectral EEG parameters and intelligence test variables in school-age children, *Clin Neurophysiol*., **113**(10), 1647 (2002).
4. Thatcher R. W., Palmero-Soler E., North D. M., Biver C. J. Intelligence and EEG measures of information flow: efficiency and homeostatic neuroplasticity, *Sci Rep*., **20**(6.), 388 (2016).
5. Jausovec N., Jausovec K. Differences in EEG current density related to intelligence, *Brain Res. Cogn. Brain Res.,* **12**(1), 55 (2001).
6. Frenkel-Toledo S., Bentin S., Perry A., Liebermann D. G., Soroker N. Dynamics of the EEG power in the frequency and spatial domains during observation and execution of manual movements, *Brain Res*., **1509**, 43 (2013).

7. Thorpe S. G., Cannon E. N., Fox N. A. Spectral and source structural development of mu and alpha rhythms from infancy through adulthood, *Clin Neurophysio*l., **127**(1), 254 (2016).
8. Pineda J. A., The functional significance of mu rhythms: Translating “seeing” and “hearing” into “doing”, *Brain Research Reviews*, **50** (1), 57 (2005).
9. Cattaneo L., Rizzolatti G. The mirror neuron system, *Arch Neurol*., **66**(5), 557 (2009).
10. Gardony A. L., Eddy M. D., Brunye T. T., Taylor H. A. Cognitive strategies in the mental rotation task revealed by EEG spectral power, *Brain Cogn.,* **118,** 1 (2017).
11. Alikina M. A., Makhin S. A., Pavlenko V. B. People with high level of general intelligence show more pronounced mu-rhythm desynchronization when observing actions performed by others, *Scientific Notes of V. I. Vernadsky Crimean Federal University*, **4**(70), 3, 26 (2018).
12. Kail R.V. Cengage Advantage Books: Human Development: A Life-Span View, Wadsworth Cengage Learning, 768 (2010).
13. Ilina M. N. Psychological evaluation of intelligence in children, Peter, 368 (2006).
14. Makhin S. A., Makaricheva A. A., Lutsyuk N. V., Cherny S. V. and Orekhova L. S., Interrelation between individual level of emotional intelligence and EEG sensomotor rhytm reactivity at the time of synchronized imitation of another person’s movement, *Scientific Notes of V. I. Vernadsky Crimean Federal University***, 26(65),** 121 (2013).
15. 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).
16. Rizzolatti G. and Sinigaglia C. *Mirrors in the brain: how our minds share actions and emotions,* 242 p. (Oxford University Press, 2008).
17. Pineda J. A., Sensorimotor cortex as a critical component of an ’extended’ mirror neuron system: does it solve the development correspondence and control problems in mirroring?, *Behavioral and Brain Functions*, **4** (47), 1 (2008).

Ученые записки Крымского федерального университета имени В. И. Вернадского
Биология. Химия. Том 5 (71). 2019. № 1. С. 50–66.

УДК 581.93:502.72(477.75)

БИОМОРФОЛОГИЧЕСКИЕ АДАПТАЦИИ РАСТЕНИЙ СТЕПЕЙ ЦЕНТРАЛЬНОГО И ВОСТОЧНОГО КРЫМА С УЧЕТОМ ВОЗДЕЙСТВИЯ АНТРОПОГЕННЫХ ФАКТОРОВ

Кобечинская В. Г., Андреева О. А.

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

Выполнен сравнительный анализ биоморфологической структуры степных фитоценозов центрального и восточного районов Крыма под влиянием пирогенного фактора и пасквальной нагрузки. Для детального рассмотрения были взяты такие параметры: состав видов флоры по типу основной биоморфы, структура корневой системы и глубина её проникновения в почву, типы надземных побегов и разнообразие групп по циклу сезонной вегетации. Своеобразие биоморфологического состава видов этих территорий отражают как экологический режим их обитания, так и пути приспособления растений. Эти абиотические факторы оказывают влияние на структуру растительности, её приспособленность к условиям обитания и изменчивость ценопопуляций растений, формирующих степные фитоценозы. Виды наглядно иллюстрируют характер и принципы эволюционного процесса в природе, позволяют прогнозировать происходящие в растительном покрове изменения и служить основой для многолетнего мониторинга.
Ключевые слова: восточная и центральная степи, биоморфология видов, антропогенная нагрузка, степные пожары, интенсивный выпас, Крым.

ВВЕДЕНИЕ

Изучение экологии и биологии растений является необходимой основой познания структуры и динамики растительности любого региона. Эколого-биологические признаки определяют реакции растений на факторы внешней среды, на основе которых складываются их взаимоотношения в фитоценозе. Эти адаптации обусловливают распределение растений по территории, их взаимные отношения в сообществе, степень количественного развития и, в конечном итоге, направление смен растительного покрова. По составу компонентов с теми или иными эколого-биологическим признаками растительные сообщества соответствуют конкретным зонально-поясным типам климатических и эдафических условий. Они характеризуют приспособительные черты видов, что позволяет сравнивать разные фитоценозы по эколого-биологическому составу компонентов и выявлять их экологическую специфику. Поэтому эти данные можно использовать для различных целей: классификации растительности, установление генетических связей между близкими, но географически обособленными сообществами, выявление возможностей интродукции видов в те или иные регионы и др.

Данные по флоре и растительности целинных степей равнинного Крыма с учетом их хозяйственного использования достаточно хорошо освещены в научной литературе [1–4 и др.]. Характеристике флоры и структуры растительности Восточного Крыма, её происхождению и топологической дифференциации, рациональному использованию посвящено также достаточно много работ [5–7 и др.]. Детальное разногодичное изучение последствий воздействия огня на степные фитоценозы равнинного Крыма с выявлением адаптационных перестроек их структуры и продукционно-деструкционного процесса выполнено только авторами [4]. Материалы по сравнительному анализу биоморфологических признаков растений, формирующих крымские степи в широтном ряду на полуострове, в литературе отсутствуют. Поэтому целью данной работы было провести такие исследования по выявлению адаптационных характеристик растений этих фитоценозов.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Для сравнительной характеристики были взяты такие объекты: центральные степи – окр. пгт. Гвардейское и восточные – на г. Узун-Сырт (г. Клементьева). В районах исследования были выделены по три пробные площади: контроль (уч. № 1 и № 4), горельники (уч. № 2 и № 5) и пробные площади, подверженные выпасу крупного рогатого скота (уч. № 3 и № 6). Номенклатура таксонов приведена согласно С. К. Черепанову [9] с дополнениями А. В. Ены [10]. Сбор и обработку полевого материала проводили по общепринятым геоботаническим методикам [11, 12]. Это позволило дать характеристику растительного покрова, выявить его флористический состав и структуру, учитывая различные формы антропогенного влияния на степные массивы.

Изучение адаптации флоры этих сообществ к абиотическим факторам исследуемых регионов через показатели их биоморфологической структуры проводили на основе наших личных гербарных сборов. При анализе полевого материала были использованы биоморфологические категории согласно принципам линейной системы жизненных форм В. Н. Голубева [13]. У видов учитывались такие признаки: состав основных биоморф по спектрам типов вегетации, экоморфы, структура наземных побегов и способы их возобновления, строение корневой системы и глубина её проникновения в почву.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Объектом для сравнительного анализа стал целинный степной массив в равнинной части Крыма вблизи пгт. Гвардейского Симферопольского района. Он расположен вблизи военного аэродрома, что обеспечило ему сохранность с довоенного периода. На 3-х учетных площадях выявлено всего – 115 видов.

Участок №1 – контроль. Общее проективное покрытие – 90–95 %. Высота травостоя составляет 50–60 см. Здесь сформирована ассоциация бородачево–типчаково – васильковая (ass. Centaurea orientalis – Festuca rupicola – Bothriochloa ischaemum).

Участок № 2 – горельник, подвергающийся периодическому выжиганию местным населением стерни. Общее проективное покрытие составляет – 75–80 %. Средняя высота травостоя – 45–48 см. Здесь выявлена ассоциация житняково – злаково – шалфейная .(ass. Salvia nemorosa – Festuca sulcata – Agropyron ponticum).

Участок № 3 – степь с интенсивным выпасом. Общее проективное покрытие – 60 %. Высота травостоя – 25–30 см. Здесь выявлена ассоциация люцерново – мятликово – одуванчиковая (ass. Taraxacum officinale – Poa bulbosa – Medicago minima).

Вторая территория исследований – хребет Узун-Сырт (гора Клементьева), расположенный в Восточном Крыму в 5 км к юго-востоку от пгт. Коктебель в виде рельефной дуги длиной 5,5 км и высотой 180 м над у. м. Он является региональным ландшафтным парком общей площадью 840 га, включенным в сеть территорий природно–заповедного фонда полуострова. Гора Клементьева – естественная граница между степным и горным Крымом, поэтому здесь сильно выражен переходный характер флоры. По данным Л. П. Мироновой, В. Г. Шатко [7] флора высших сосудистых растений хребта Узун-Сырт насчитывает 708 видов из 316 родов и 65 семейств. Здесь на трех учетных площадках выявлено суммарно 109 в.

Участок № 4 – контроль заложен на пологом склоне ($3–5^0$), экспозиция юго-восточная. Средняя высота травостоя 30–40 см. На этом участке преобладают многолетние ксерофильные растения, преимущественно злаки. Верхний ярус сложен главным образом ковылём волосовидным, в нижнем ярусе доминирует дубровник обыкновенный. Общее проективное покрытие 70–90 %. Здесь установлена ассоциация асфаделиново – дубровниково – ковыльная (ass. Stipa capillata – Teucrium chamaedrys + [Peonia tenuifolia] + Asphadeline taurica).

Участок № 5 – это петрофитная степь, подверженная периодическим палам. Он заложен на склоне ($12–25^0$), экспозиция северо-восточная. Средняя высота травостоя 25–30 см. Общее проективное покрытие – 50–70 %. На этом участке сформирована ассоциация шалфейно – дубровниково – наголовatковая (ass. Jurinea stoechadifolia – Teucrium chamaedrys + Salvia nutans).

Участок № 6 – это настоящая степь под влиянием интенсивного выпаса. Он расположен на сильно покатом склоне ($15–25^0$), экспозиция юго-восточная. Средняя высота травостоя – 14–15 см. Общее проективное покрытие – 30–50 %. Здесь развита ассоциация типчаково – тимьяновая (ass.Thymus tauricus – Festuca valesiaca).

Детальная характеристика сложения, структуры и продуктивности этих сообществ рассмотрены в предшествующей статье, посвященной этим территориям [14]. Данная работа продолжает наш анализ и излагает вопросы выявления сходства и различий в биоморфологии растений двух степных массивов восточного и центрального районов полуострова.

На территории центральных степей преобладает умеренно-тёплый и умеренно-континентальный климат, в летний период со средними температурами + $21,2^0$ С, в восточном районе эти показатели выше (+$24,5^0$ С). Если длина безморозного периода в центральной части полуострова – 171 день, то в восточном регионе она намного больше – 227 дней. Количество выпавших осадков также значительно отличается в широтном ряду. В центральной степи их средние показатели –

465–480 мм/год, тогда как в восточном районе только 376 мм/год, причем они выпадают преимущественно в осенне-зимний период. Специфика климата юго-восточного Крыма – длительные весенне-летние засухи с минимальным увлажнением в течение вегетационного периода, устойчивыми ветрами, высушивающими почвы. По многолетним метеорологическим наблюдениям в этот период выпадает всего 10–15 % общего годового количества осадков. Зимние периоды в восточном Крыму более контрастны по диапазону температур, но количество осадком примерно на 25–30 % ниже, чем их выпадает в центральном районе. Безусловно, эти климатические показатели оказывают значительное влияние на развитие растительности, меняя биоморфологические показатели видов с учетом их возможностей адаптации к таким контрастным по климату территориям [15].

Подстилающими породами центральных степей равнинного Крыма являются известняки, здесь формируется преимущественно черноземы. В восточных степях почвенный покров черноземов сформирован на каменисто-щебнисто-глинистых карбонатных отложениях известняков, мергелей и глин, которые в отдельных местах на склонах горы выходят на поверхность. Это также оказывает существенное влияние на произрастание растительных сообществ в конкретных районах исследования [16].

Устойчивость сообщества как целостной системы обеспечивается сосуществованием ценопопуляций, обладающих разной степенью динамизма признаков. Поликарпические травы относят к стабильным видам, формирующим устойчивое ядро сообщества, его мало меняющуюся пространственно-фитоценотическую «сеть», а свободные ячейки заполняются лабильными видами. Наличие значительного числа таких видов с разной жизненной формой и типами возобновления определяют возможности варьирования фитоценоза в изменчивых климатических условиях среды, способствуя сохранению его структуры и специфики.

Соотношение основных биоморф, произрастающих на сравниваемых в работе территориях, и их анализ позволил выявить следующее (табл. 1).

Наиболее информативен показатель численности поликарпических трав на контрольных участках, который отражает специфику строения центральных и восточных степей. Ведущую роль на обоих сравнительных контрольных участках занимают поликарпические травы (67,2–73,0 %), причем этот показатель в восточном регионе выше. Следует отметить, что по нашим данным для предгорной луговой степи без антропогенного воздействия число поликарпических трав существенно ниже (56,7 %), чем в центральной степи за счет увеличения доли однолетников.

Влияние пожаров, безусловно, оказывает значительное влияние на фитоценозы, формируя сходную по структуре растительность, что подтверждает численность участия поликарпиков на сравниваемых территориях (63,4–64,2 %) (Asperula stevenii, Centaurea adpressa, Nonnea pulla, Inula aspera и др.). Следует отметить, что для горельников в Опукском заповеднике этот показатель еще выше 71,4 % [6]. Это обусловлено адаптационными механизмами данных жизненных форм, способных за

счет пазушных почек и оттавности быстро наращивать свою биомассу и восстанавливать позиции в ценозах.

Таблица 1

Состав основных биоморф растений на пробных участках Центральной и Восточной степей Крыма

№ участка / Основная биоморфа	Центральные степи			Восточные степи		
	1	2	3	4	5	6
Полукустарники	0	0	0	2/3,2	2/3,8	1/ 1,5
Полукустарнички	1/1,7*	4/5,6	2/4,8	9/14,3	11/20,7	12/19,1
Поликарпические травы	39/67,2	45/63,4	24/57,1	46/73,0	34/64,2	41/65,1
Монокарпики (многолетние или двулетние)	3/5,2	6/8,5	4/9,5	2/3,2	2/3,8	5/7,9
Однолетники (озимые или яровые)	15/25,9	16/22,5	12/28,6	4/6,3	4/7,5	4/6,4
Итого	**58/100**	**71/100**	**42/100**	**63/100**	**53/100**	**63/100**

Примечание: * Здесь и в последующих таблицах в числителе – число видов, в знаменателе – процент от общего числа видов.

Участок № 3 с интенсивным выпасом в центральной степи имеет самое низкое флористическое разнообразие – 42 вида/100м^2. Менее интенсивна пасквальная нагрузка на участке № 6 восточной степи, где эта численность выше – 63 в/100 м^2. Здесь произрастает больше видов и сомкнутость травостоя выше, но произошло полное замещение коренного сообщества на производное от выпаса, обеднённое по структуре и сложению. Хорошо видно, как участок претерпел существенные перестройки по составу и сложению микрогруппировок в зависимости от величины рекреационной нагрузки. Значимость группы поликарпиков на этих участках достаточно близки (57,1–65,1 %), т.к. этот фактор нивелирует особенности сложения сообществ.

Безусловно, однолетники и монокарпики чутко реагируют н изменение биотопических условий в связи с разными формами антропогенного воздействия: Nigella arvensis, Papaver rhoeas, Medicago minima и др. По мере усиления выпаса в сложении растительности возрастает доля однолетников и монокарпиков. Четко прослеживается общая тенденция – значительно меньшее участие однолетников (Alyssum alyssoides, Geranium collinum, Lepidium sativum) – 6,3–7,5 % и монокарпиков (Acinos glandulosus, Anthyllis taurica, Berteroa incana, Verbascum phlomoides) – 2,3–7,9 % в восточных степях по сравнению с центральными территориями (22,5–28,6 % и 5,2–9,5 % соответственно). В первую очередь – это

обусловлено острым дефицитом влаги в летний период, создающий неблагоприятные условия для их развития. Их представители реализуют свой потенциал в весенний период, практически выпадая из травостоя летом: Bromus squarrosus, Kolraushia prolifera, Valerianella rimosa и др.

Самые низкое флористическое разнообразие полукустарников и полукустарничков отмечено на контрольных участках (Alyssum tortuosum, Artemisia austriaca, Jurinea stoechadifolia, Salvia scabiosifolia, Teucrium chamaedrys и др.), причем четко прослеживается рост их видов с усилением антропогенной нагрузки, особенно в восточных степях (19,1–20,7 %) почти в 4 раз по сравнению с центральным регионом. Это обусловлено, в первую очередь, более ксерофильными условиями восточного района и малым почвенным профилем. Для этих жизненных форм характерно раннее одревеснение побегов, предохраняющих их от иссушения и восходящее положение боковых осей, наземное положение зон возобновления и ветвления, позволяющее растениям избегать соприкосновения с перегретой в летний период почвой, одревеснevшие оси отмерших вегетативных побегов и соцветий долго сохраняются на растениях. Ежегодно отмирают лишь отплодоносившие верхушечные соцветия. Эти приспособления обеспечивают удлинение вегетации побегов весенней генерации и выпадение летнего покоя, но в условиях настоящей степи они мало конкурентны из-за своего габитуса, поэтому их участие в сложении центральных степей крайне незначительно (1,7–4,8 %).

Коэффициенты дисперсии – 4,6–6,5 являются самыми высокими на участках, подвергающихся наиболее интенсивных нагрузкам (пожары, воздействие животных), что свидетельствует также о неоднородности сообществ и нарушенности их структуры. Напротив, наименьшие их показатели (3,7 и 4,2), отмечены на контрольных площадях (уч. № 1 и № 4), что также подтверждает более равномерное и однородное сложение этих фитоценозов, элементы мозаики растительности здесь почти не проявляются. Коэффициенты пестроты сложения (25–27 %) более высоки на контрольных территориях и имеют самые низкие величины на участках с сильным антропогенным прессом (15–18 %), поэтому по этим параметрам также можно судить о структуре сложения и уровню негативного воздействия на эти сообщества.

Все изученные растения были объединены в группы, отличающиеся по отношению к условиям увлажнения и представляющие переходы от типичных ксерофитов к типичным мезофитам, которые характеризуют экологические условия местообитаний [17]. Под влиянием антропогенных факторов меняются соответственно и эколого-фитоценотические группировки растений.

На всех участках в центральной степи главенствуют ксеромезофиты (53,5–42,2 %) и др. (Allium paniculatum, Galium aparine, Plantago lanceolata, Salvia pratensis и др.) (табл. 2). Представленность мезоксерофитов в центральной степи почти в два раза меньше (20,7 %) и часть их представителей выпадают из травостоя при пожарах и интенсивном выпасе (16,7–18,3 %) (Galium verum, Salvia sclarea, Leontodon crispus, Fragaria viridis и др.) Эуксерофиты на этой территории усиливают свои позиции по мере увеличения антропогенной нагрузки с 17,2 % на контроле до 23,8 % при росте пасквальной нагрузки (Alyssum tortuosum, Asperula taurica,

Convolvulus cantabrica, Marrubium peregrinum и др.). Самые низкие показатели отмечены у группы мезофитов**:** Taraxacum officinale, Trifolium pratense, Potentilla reptans, Vincetoxicum scandens и др. (5,6–11,9 %).

По участию в сложении травостоя роль экоморф в восточных степях существенно отличается от центральных. Соотношение ксеромезофитов и мезоксерофитов на контрольном участке одинаково (38,1 %).

Таблица 2

Состав растений на пробных участках Центральных и Восточных степей Крыма по отношению к влаге (экоморфы)

№ участка / Биогруппа	Центральные степи			Восточные степи		
	1	2	3	4	5	6
Эуксерофиты	10/17,2	16/22,5	10/23,8	13/20,6	11/20,8	14/22,2
Ксеромезофиты	31/53,5	38/53,5	19/42,2	24/38,1	21/39,6	25/39,7
Мезоксерофиты	12/20,7	13/18,3	7/16,7	24/38,1	19/35,8	23/36,5
Мезофиты	5/8,6	4/5,6	5/11,9	2/3,2	2/3,8	1/1,6
Итого	**58/100**	**71/100**	**42/100**	**63/100**	**53/100**	**63/100**

При усилении действия негативных факторов незначительно ослабевают позиции мезоксерофитов (Centaurea adpressa, Inula oculus-cristi, Leotodon caucasicus, Dianthus pallens и др.) – 35,8–36,5 % и возрастает значимость эуксерофитов (Alyssum obtusifolium, Astragalus ponticus, Jurinea stoechadifolia, Onosma taurica и др.) – 20,6–22,3 %, мезофиты мало играют роль в сложении этого типа растительности для данной территории, особенно существенно снижаясь при выпасе (Bupleurum exaltatum, Briza eltior, Hieracium vagum) – 1,6 %.

По нашим данным в предгорной луговой степи Крыма ведущей группой являются мезоксерофиты (46,8 %), превышая аналогичные показатели в центральной степи более, чем в 2 раза. Соответственно группа эуксерофитов в предгорьях также намного меньше – 9,8 %. Это связано с менее жестким термическим режимом и водообеспеченностью в летний период, т.к. здесь в период активной вегетации выпадают осадки преимущественно в виде ливней, достигая в отдельные годы до 2/3 от общегодового их объема.

Характеристика биоморфологических структур растений должна учитывать специфику надземных и подземных органов растений в их взаимообусловленности, которые обеспечивают жизнедеятельность видов на конкретной территории.

Все многообразие существующих систем классификаций структур подземных органов можно подразделить на два основных варианта: а) собственно корневые системы и глубина их проникновения в почву, б) отражающие особенности

подземных побеговых органов с использованием признаков собственно корневых систем. Для характеристики структуры подземной части растений с учетом глубины проникновения в почву мы использовали классификацию корневых систем В. Н. Голубева [18], объединив группу стержнекистекорневого и кистекорневого рядов (табл. 3). В данной работе мы не рассматриваем подземные побеговые органы.

В центральной и восточной степи главенствует группа вегетативно-неподвижных стержнекорневых растений. На их долю приходится от 62,15 % (уч. № 1) до 81,1 % (уч. № 4) – горельник (Astragalus onobrychis, Coronilla varia, Inula oculus-cristi, Linum austriacum, Sideritis catillaris и др.). Подчиненное положение занимают кистекорневые виды (Anthericum ramosum, Senecio grandidentatus, Carex liparocarpus, Hieracium echioides и др.).

Таблица 3

Состав растений на пробных участках Центральных и Восточных степей по типам и глубине проникновения корневых систем

№ участка / Биогруппа	Центральные степи			Восточные степи		
	1	2	3	4	5	6
Стержнекорневые	36/62,1	46/64,8	27/64,3	39/61,9	43/81,1	33/52,4
Кистекорневые	22/37,9	25/35,2	16/35,7	24/38,1	10/18,9	30/47,6
Итого	**58/100**	**71/100**	**42/100**	**63/100**	**53/100**	**63/100**
Короткокорневые	8/13,8	9/12,7	7/16,7	2/3,2	2/3,8	4/6,3
Среднекорневые	20/34,5	25/35,2	22/52,4	18/28,6	17/32,1	30/47,7
Глубококорневые	30/51,7	37/52,1	13/30,9	43/68,2	34/64,1	29/46,0
Итого	**58/100**	**71/100**	**42/100**	**63/100**	**53/100**	**63/100**

С этой точки зрения анализируемые степи существенно отличаются от луговых степей крымской яйлы и центральной лесостепи России, где ведущими в составе растительности являются растения кистекорневого ряда (68 % и 58 %) [17]. По массе главенствующее положение занимают вегетативно-подвижные группы с длиннокорневищными, короткокорневищными и корнеотпрысковыми типами строения [8]. Это объясняет относительно быстрое восстановление полидоминантных сообществ после пожаров и угнетение растительности разнотравно-злаковых фитоценозов.

По глубине проникновения корневых систем в целом основная масса видов в центральных степях принадлежит к глубококорневым растениям (51,7–52,1 %) (Centaurea sterilis, Jurinea stoechadifolia, Scorzonera crispa, Leontodon crispus и др.), резко снижаясь на выпасаемом участке (30,9 %). Отмеченная тенденция четко прослеживается и в восточных степях, но показатели здесь более высокие (68,2–64,1 %). Очевидно, это обусловлено более острым дефицитом почвенной влаги в восточном Крыму в летний период и это реализация через адаптацию видов к

климатическим условиям данной территории. В убывающем порядке размещаются среднекорневые (Bupleurum exaltatum, Pimpinella lithophila, Inula aspera, Companula sibirica и др.) и короткокорневые (Allium rotundum, Carex hallerana, Geranium collinum, Phlomoides tuberosa и др.) растения. По этим параметрам данные сообщества существенно отличаются от степей иных территорий. Так, по исследованиям И. С. Шалыта, Л. Ф. Животенко [19] на яйле преобладают в основном короткокорневые виды (38 %), в предгорной зоне Крыма среднекорневые – 43,2 % [20].

Представленность растений из разных семейств по сходству структуры надземных побегов отражает конвергенцию морфологических структур и особенно ритма побегообразования в сходных условиях как близких, так и далеких таксонов (Рис. 1).

Ведущей группой по формированию надземных побегов являются полурозеточные виды (Astragalus ponticum, Centaurea adpressa, Scabiosa micranta, Onosma taurica и др.), как на контрольных участках (56,9–42,9 %), так и на горельниках (54,9–45,3 %). Причем самые высокие показатели этой группы отмечены на участке с интенсивным выпасом (59,5–60,3 %), который нивелирует специфику растительного покрова с учетом территориальной приуроченности. Среди видов с полурозеточной структурой их больше с кистекорневой системой. Безрозеточные занимают вторую позицию, причем их численность возрастает в восточной степи почти в 1,5 раза по сравнению с центральным регионом (Asperula kotovii, Paeonia tenuifolia, Polygala anatolica , Teucrium polium и др.). Меньше всего видов с двумя генерациями побегов у безрозеточных поликарпиков, причем у кистекорневых растений их больше.

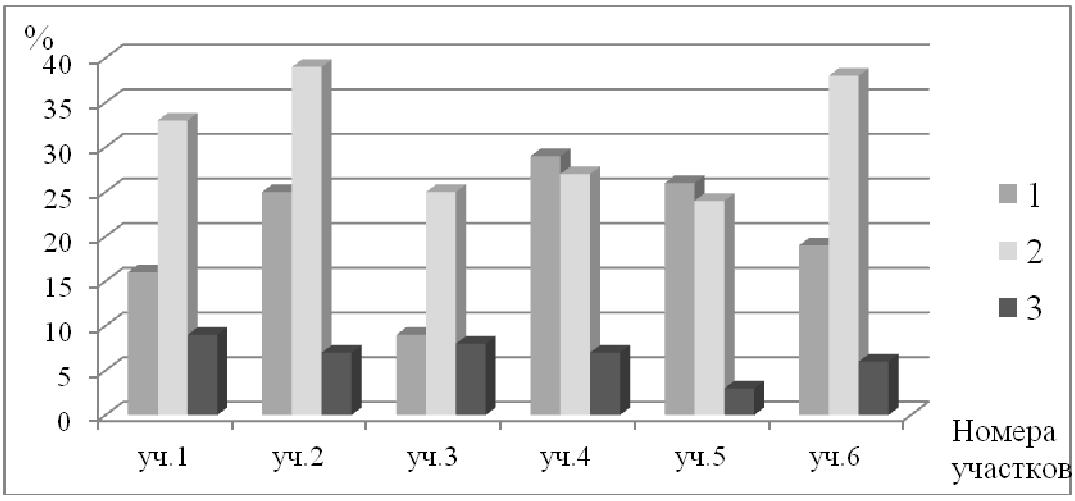


Рис.1. Состав растений на пробных участках Центральных и Восточных степей Крыма по типам структуры побегов: 1 – безрозеточные, 2 – полурозеточные, 3 – розеточные

Следует подчеркнуть значительное отличие изученной растительности полуострова по структуре надземных побегов от настоящих степей Украины и России [21, 22], где выделена ведущая группа – безрозеточные, а полурозеточные виды занимают второе место. У розеточных растений ассимилирующие листья сосредоточены в розетке, генеративные побеги специализированы в виде безлистной стрелки или стебля с редуцированными листьями. Значимость розеточных видов достаточно низка в центральной степи (15,5–19,1 %), еще более снижаясь в восточной (5,6–11,1 %) (Carex liparocarpus, Hedysarum candidum, Leotodon biscutellifolius, Rumia crithmipholia и др.).

Растений с моноциклическими (однолетними) надземными побегами среди поликарпиков немного меньше половины - это все безрозеточные и большинство кистекорневых розеточных. В то время как полурозеточные и стержнекорневые розеточные обладают ди-, три- и полициклическими побегами. Длительность розеточной фазы может быть различна и переход в фазу удлиненного генеративного побега не обязателен, обычно на протяжении вегетационного периода развиваются две генерации побегов и листьев, поэтому осенняя генерация частично зимует. Специализация шла по пути образования полициклических розеточных побегов, сокращения продолжительности цветения и длительности вегетации растительности с юга на север с учетом широтной и высотной зональности [23].

Симподиальное возобновление надземных побегов, их моноцикличность и безрозеточность связана с длительной вегетацией без перерывов, а также растянутым цветением, что характерно для степной растительности (рис. 2). Чаще у кистекорневых растений на одном растении обычно развиваются моно, ди- и полициклические надземные побеги, возобновляющиеся из почек в основном симподиально. У большинства многолетних растений (Asperula taurica, Achilea setacea, Stipa lessingiana, Coronilla varia и др.) эта группа является ведущей в сложении степей Крыма (81,6–85,0 %), хотя следует отметить более высокие показатели этого параметра в восточной степи, особенно при пасквальной нагрузке (88,9 %). Значимость моноподиальных видов достаточно низкая (Genista albida, Helianthemum canum, Fumana procumbens, Plantago lanceolata и др.) – 15,0–18,4%, причем в широтном ряду восточной степи она ниже (11,1–14,9%, чем в центральной.

Процесс вегетации, т.е. функционирование ассимиляционных органов структурно включает совокупность процессов побего- и листообразования и их отмирания, что в свою очередь характеризует продолжительность вегетации, её динамику, интенсивность, сроки начала и конца. Для каждого растительного сообщества характерен свой ход сезонного развития, чередование периодов роста и покоя. За начало вегетации принимается момент надземного развития и отрастания молодых ассимилирующих органов и переход в активное состояние перезимовавших зеленых листьев и побегов. У летнезеленых видов вегетация отожествляется с развитием из почек новых надземных органов. Для вечнозеленых характерна одна генерация листьев в течение года, для летне-зимнезеленых – две [13].

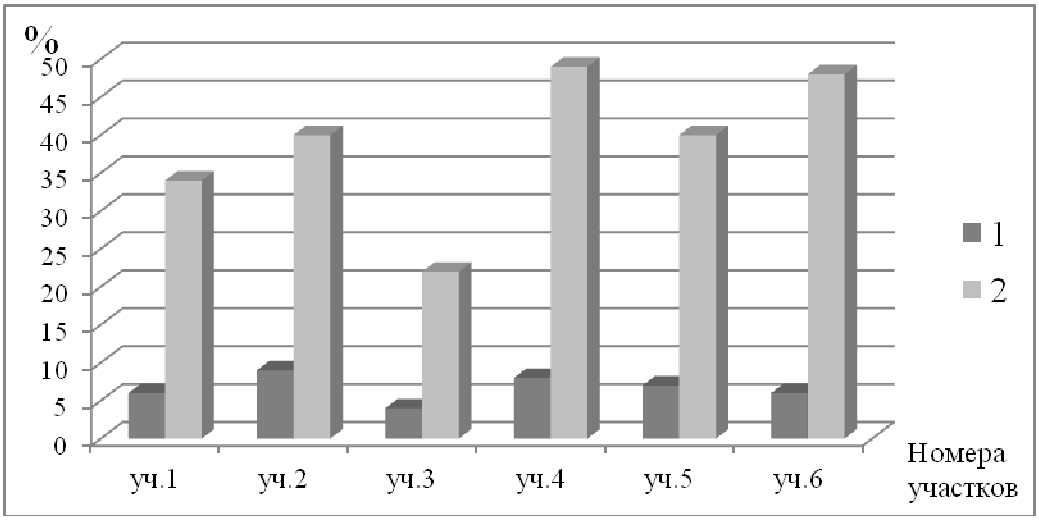


Рис. 2. Состав растений на пробных участках Центральных и Восточных степей Крыма по способам возобновления побегов: 1 – моноподиальные, 2 – симподиальные.

В распределении растений изучаемых степей по длительности вегетации наблюдаются определенные закономерности (табл. 4). По ритмике развития большинство растений двух сравниваемых территорий Крыма относятся к видам весенне-летнего и летне-осеннего циклов, т.е. длительновегетирующие. Из них наиболее существенная роль в составе степей принадлежит травянистым поликарпическим травам. Более половины растений зимует с зелеными органами на поверхности почвы, поэтому во всех изученных ассоциациях преобладающее место занимают летне-зимнезеленых виды, причем их численность довольно сходна в широтном ряду (56,9–60,4%) на контрольных участках (Agrapyron pectinatum, Astragalus ponticum, Convolvulus tauricus, Dianthus pallens, Onosma rigida и др.).

Следует отметить, что довольно значима группа летне-зимнезеленых полурозеточных кистекорневых видов и существенно меньше группа безрозеточных покарпиков с кистекорневой системой. Следовательно, наличие или отсутствие зимой на поверхности почвы зеленых органов лучше коррелирует с количеством генераций побегов в течение сезона и значительно меньше с типами структуры надземных органов (розеточные или безрозеточные) и положением почек в почве.

Воздействие огня не однозначно сказывается на роли этой группы в сложении степной растительности центральной степи (63,4 %) по сравнению с восточной (52,8 %), но на выпасаемых участках эти показатели очень близки (52,4–54,0%).

Существенные различия выявляются в структуре растительности по продолжительности вегетации между сравниваемыми территориями. Если в центральной степи второе место по участию в сложении травостоя за вегетационный цикл занимают эфемеры и эфемероиды, т.е. виды с коротким циклом развития или имеющие перерыв в вегетации в летний или осенний период – 18,3–21,4 % (Alyssum hirsutum, Allium albiflorum, Poa bulbosa, Scabiosa micranta и

др.), то в восточной степи это положение занимают летнезеленые виды с циклом развития 4–5 месяцев (Inula oculus-cristi, Hieracium vagum, Linum austriacum, Scorzonera hispanica и др.) – 22,2–33.3 %. Вегетация чаще всего начинается с середины марта и заканчивается в конце ноября, более позднее её начало коррелирует с ходом устойчивых положительных температур. Эфемеры и эфемероиды здесь относительно незначительная группа (7,9–13,3 %), увеличивающаяся при антропогенном воздействии из-за освобождающихся экологических ниш.

Таблица 4

Состав растений на пробных участках Центральных и Восточных степей Крыма по длительности вегетации

№ участка / Биогруппа	Центральные степи			Восточные степи		
	1	2	3	4	5	6
Собственно-вечнозелёные	5/8,6	1/1,4	3/7,1	6/9,5	3/5,6	1/1,6
Летне-зимнезелёные	33/56,9	45/63,4	22/52,4	38/60,4	28/52,8	34/54,0
Летнезелёные	9/15,5	12/16,9	8/19,0	14/22,2	15/28,3	21/33,3
Эфемеры и эфемероиды	11/19,0	13/18,3	9/21,4	5/7,9	7/13,3	7/11,1
Итого	**58/100**	**71/100**	**42/100**	**63/100**	**53/100**	**63/100**

Особенностью растительности этой территории является низкая численность вечнозеленых видов (Carex humilis, Euphorbia petrophila, Dorycnium herbaceum, Genista albida).

Эти соотношения по длительности вегетации растений отражают особенности гидроклиматического режима полуострова в широтном ряду, особенно восточных степей – продолжительный ксерический вегетационный период с мягкой зимой (длительные отрицательные температуры по многолетним данным бывают 1–2 раза в 3–5 лет) [24]. Преобладание в восточной степи рыхлодерновинных растений и стержнекорневых однолетников и вместе с тем небольшое участие плотнодерновинных, длинно- и короткокорневищных групп растений обусловлено более жесткими условиями существования растительности. Устойчивые ветровые потоки, характерные для горы Клементьева, активно иссушают почву, особенно на пирофитном и выпасаемом сообществах, способствуя активной потери влаги почвой в летний период.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

1. Общее количество видов, используемых для биоморфологического анализа, на пробных площадях центральной степи составило 115 видов, в восточной – 109 в. Исследования велись на 6 участках: контрольных, подвергавшихся палам и интенсивной пасквальной нагрузке, что позволило выявить перестройки как в сложении видов, формирующих эти степи, так отличия в их адаптационных приспособлениях к воздействию антропогенных факторов.
2. Ведущей группой биоморф изученных целинных степных массивов являются поликарпические травы (67,2–73,0%), причем их в восточном регионе больше. При воздействии огня на растительность их численность снижается и показатели близки для центральных и восточных степей (63,4–64,2 %). Четко прослеживается меньшее участие однолетников (6,3–7,5%) и монокарпиков (2,3 –7,9 %) в восточных степях по сравнению с центральными территориями (22,5–28,6 % и 5,2–9,5 % соответственно). Численность полукустарничков выше при усилении антропогенной нагрузки в восточных степях (19,1–20,7 %) почти в 4 раз по сравнению с центральным регионом.
3. Восточные степи существенно отличаются от центральных по соотношению экоморф, формирующих эти сообщества. На всех участках в центральном районе главенствуют ксеромезофиты (53,5–42,2%), представленность мезоксерофитов почти в два раза меньше (20,7 %) и часть их представителей выпадают из травостоя при пожарах и интенсивном выпасе (16,7–18,3 %). Эуксерофиты на этой территории усиливают свои позиции по мере увеличения антропогенной нагрузки с 17,2% на контроле до 23,8 %. В восточном районе соотношение ксеромезофитов и мезоксерофитов на контрольном участке одинаково (38,1 %). При усилении действия негативных факторов незначительно ослабевают позиции мезоксерофитов – 35,8–36,5 % и усиливается значимость эуксерофитов. Мезофиты незначительны в сложении степного типа растительности на территории полуострова.
4. На обоих исследуемых массивах целинных степей с учетом широтного ряда главенствует группа вегетативно-неподвижных стержнекорневых растений от 62,1 % до 81,1 %. Подчиненное положение занимают кистекорневые виды (20,6–22,3%). По глубине проникновения корневых систем основная масса видов в центральной степи принадлежит к глубококорневым растениям (51,7–52,1%), резко снижаясь на выпасаемом участке (30,9 %). Для восточной степи эти показатели более высокие (64,1–68,2 %).
5. Для большинства многолетних растений характерно симподиальное сочленение побегов, поэтому эта группа является ведущей в сложении степей Крыма (81,6–85,0%), хотя следует отметить более высокие показатели этого параметра в восточной степи, особенно при пасквальной нагрузке (88,9 %). Значимость моноподиальных видов достаточно низкая.
6. По длительности вегетации преобладающее место занимают летне-зимнезеленых виды, причем их численность довольно сходна в широтном ряду степных территорий (56,9–60,4%), снижаясь на выпасаемых участках (52,4–54,0%). Если в центральной степи второе место по участию в сложении

травостоя за вегетационный цикл занимают эфемеры и эфемероиды, то в восточной степи это положение занимают летнезеленые виды – 22,2–33,3 %. Особенностью растительности этих территорий является низкая численность вечнозеленых видов.

7. Своеобразие биоморфологического состава видов центральных и восточных степей Крыма отражают как экологический режим их обитания, так и пути приспособления растений. Виды наглядно иллюстрируют характер и принципы эволюционного процесса в природе, позволяют прогнозировать происходящие в растительном покрове изменения и служить основой для многолетнего мониторинга.

Список литературы

1. Дзен-Литовская Н.Н. Почвы и растительность степного Крыма. / Н.Н. Дзен-Литовская – Л.: Наука, 1970. – 156 с.
2. Николаев Е.В. Агробиологические основы повышения продуктивности и рационального использования естественных пастбищ Крыма / Е.В. Николаев, М.М Мельников – Симферополь, 2011. – 158 с.
3. Николаев Е.В. Естественные пастбища Крыма / Е.В. Николаев, А.В. Ена, М.М. Мельников. – Симферополь, 2010. – 140 с.
4. Андреева О.А. Особенности продукционного процесса в степях равнинного Крыма под влиянием различных форм антропогенного воздействия / О.А. Андреева, В.Г. Кобечинская // XXV Международная научно-практическая конференция «Достижения вузовской науки», Новосибирск, 2016. – С.179–183.
5. Новосад В.В. Флора Керченско-Таманского региона: структурно-сравнительный анализ / В. В. Новосад. – К.: Наукова думка, 1992. – 276 с.
6. Кобечинская В.Г. Пространственно-временная изменчивость структуры степных сообществ Опукского природного заповедника / В.Г. Кобечинская, И. П. Отурина, М. В. Котолуп, А. И. Сидякин //Ученые записки Таврического национального университета им. В. И. Вернадского. – 2013. – Т 26 (65), № 3. – С.84–99.
7. Миронова Л.П. Флора и растительность хребта Узун-Сырт в Баракольской котловине в Восточном Крыму / Л. П. Миронова, В. Г. Шатко //Заповедники Крыма. Теория, практика и перспективы заповедного дела в Черноморском регионе. Материалы V Международной научно-практической конференции (Симферополь, 22–23 октября 2009 г). Симферополь, 2009. – С.199–205.
8. Кобечинская В.Г. Изменение биоморфологической структуры фитоценозов степного Крыма под действием пирогенного фактора / В. Г. Кобечинская, О. А. Андреева // Всероссийская конференция молодых учёных "Техносфера XXI века", Севастополь, 2016. – С.40–41.
9. Черепанов С.К. Сосудистые растения СССР / С. К. Черепанов. – Л.: Наука, 1981. – 510 с.
10. Ена А.В. Природная флора Крымского полуострова: монография / А. В. Ена. – Симферополь: Н. Ореанда, 2012. – 232 с.
11. Миркин Б.М. Современная наука о растительности. / Б. М. Миркин, Л.Г. Наумова, А. И. Соломещ. – М.: Логос, 2001. – С.114–144.
12. Работнов Т.А. Фитоценология / Т. А. Работнов. – М.: МГУ, 1992. – 352 с.
13. Голубев В.Н. Биологическая флора Крыма / В. Н. Голубев. – Ялта: НБС-ННЦ, 1996. – 126 с.
14. Кобечинская В.Г. Сравнительная характеристика структуры и продуктивности фитоценозов восточных и центральных степей Крыма с учётом пирогенного фактора / В. Г. Кобечинская, О. А. Андреева // Экосистемы 15 (45). Симферополь, 2018. – С. 4–10.
15. 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.
16. Драган Н. А. Почвы Крыма. / Н. А. Драган – Симферополь: ТНУ, 2005. – 95 с.

17. Ведь И. П. Мезо- и микроклиматическое разнообразие Крыма / И. П. Ведь // Вопросы развития Крыма. – Симферополь: Сонат, 1999. – Вып.11. – С. 10–12.
18. Голубев В. Н. Основы биоморфологии травянистых растений Центральной лесостепи. Ч.1 Биоморфология подземных органов / В. Н. Голубев. // Тр. Центр.-Черноземного гос. заповедника. – Вып. 7. – Воронеж: Воронеж.ГУ, 1962. – С. 56–89.
19. Шалыт И. С. О структуре и биомассе некоторых полукустарничковых ассоциаций крымской яйлы. / И. С. Шалыт, Л. Ф. Животенко // Бюлл. МОИП, отд. биол. – Вып.6. – 1968. – С.19–30.
20. Кобечинская В.Г. Особенности корневых систем растений луговой степи предгорного Крыма / В. Г. Кобечинская // Матер. У1 конф. молодых ученых ботаников Украины. – Киев: Наукова думка, 1979. – С.20–21.
21. Зиман С.Н. Жизненные формы и биология степных растений Донбасса / С. Н. Зиман – Киев: Наукова думка, 1976. – С. 45–126.
22. Васильева Л.П. Ритм годичного развития, побегообразование и жизненные формы растений причерноморских степей. / Л.П. Васильева – Автор. канд дисс. М., 1971. – 21 с.
23. Марков М.В. Популяционная биология розеточных и полурозеточных многолетних растений / М. В. Марков. – Казань: Изд. Казанского гос. унив., 1990. – 187 с.
24. 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, 2017. – Режим доступа: http://cliware.meteo.ru, свободный. – Загл. с экрана. – Яз. рус., англ.

BIOMORPHOLOGICAL ADAPTATIONS OF PLANTS BY THE DEGREES OF THE CENTRAL AND EASTERN CRIMEA TAKING INTO ACCOUNT THE IMPACT OF ANTHROPOGENIC FACTORS

Kobechinskaya V. G., Andreeva O. A.

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

A comparative analysis of the biomorphological structure of the steppe phytocenoses of the central and eastern regions of the Crimea under the influence of the pyrogenic factor and the squash load is carried out. For detailed consideration, the following parameters were taken: composition of species of flora according to the type of the main biomorph, the structure of the root system and the depth of its penetration into the soil, the structure of above-ground shoots and the diversity of groups according to the cycle of seasonal vegetation. The total number of species used for biomorphological analysis on the sample plots of the central steppe was 115 species, in the eastern - 109 c.

The leading group of biomorphs of the studied virgin steppe massifs are polycarpic herbs (67.2–73.0%), and there are more of them in the eastern region. When fire affects vegetation, their numbers decrease and the figures are close for the central and eastern steppes (63.4–64.2%). There is less involvement of annuals (6.3–7.5%) and monocarpics (2.3–7.9%) in the eastern steppes as compared to central territories (22.5–28.6% and 5.2–9,5% respectively). The number of semi-shrubs is higher with an increase in the anthropogenic load in the eastern steppes (19.1–20.7%) almost 4 times as compared with the central region.

In all areas in the central region, xeromesophytes dominate (53.5–42.2%), the representation of mesoxerophytes is almost two times less (20.7%), and some of their representatives fall out of the grass stand during fires and intensive grazing. In the eastern region, the ratio of xeromesophytes and mesoxerophytes is the same (38.1%), but with an increase in the effect of negative factors, the positions of mesoxerophytes weaken and the importance of euxerophytes increases. Mesophytes are insignificant in the composition of the steppe type of vegetation on the territory of the peninsula. In both the studied tracts of virgin steppes, taking into account the latitudinal range, the group of rod-root plants dominates (62.1–81.1%). Subordinate position is occupied by brush root species (20.6–22.3%).

In terms of the depth of penetration of root systems, the majority of species in the central steppe belong to deep-root plants (51.7–52.1%), decreasing sharply in the pasture plot (30.9%). For the eastern steppe, these indicators are higher (64.1–68.2%). For most perennial plants, sympodial articulation of shoots is characteristic, therefore this group is leading in the addition of the Crimean steppes (81.6–85.0%), although it should be noted that this parameter is higher in the eastern steppe, especially with a squash load (88.9 %).

For the duration of the growing season, summer-winter-greened species dominate, and their numbers are quite similar in the latitudinal range of the steppe territories (56.9–60.4%), decreasing in pastured areas (52.4–54.0%). If in the central steppe ephemera and ephemeroids are second in terms of participation in the composition of the grass stand during the vegetation cycle, in the eastern steppe this position is occupied by summer green species – 22.2–33.3%.

The peculiarity of the biomorphological composition of the species of the central and eastern steppe of the Crimea reflects both the ecological regime of their habitat and the way of adaptation of plants. These abiotic factors influence the structure of vegetation, its adaptability in habitat conditions and the variability of coenopopulations of species forming steppe phytocenoses.

***Keywords*:** central and eastern steppe, biomorphology species, anthropogenic load, steppe fires, intensive grazing, the Crimea.

References

1. Dzen-Litovskaya N.N. *Soils and vegetation of the steppe Crimea*. 156 p (Science, 1970).
2. Nikolaev E.V., Melnikov.M.M. *Agrobiological bases of increasing productivity and rational use of natural pastures of Crimea*. 158 (Simferopol, 2011).
3. Nikolaev E.V., Ena A.V., Melnikov M.M. *Natural pastures of Crimea*. 140 p. (Simferopol, 2010).
4. Andreeva O.A. Kobechinskaya V.G. Features of the production process in the steppes of the plain Crimea under the influence of various forms of anthropogenic impact *XXV International Scientific and Practical Conference Achievements of University Science.* 179 p. (Novosibirsk, 2016).
5. Novosad V.V. *Flora of the Kerch-Taman region: structural and comparative analysis.* 276 p. (Naukova Dumka, 1992).
6. Kobechinskaya V.G. Oturina. I.P., Kotolup M.V., Sidyakin A.I. Spatio-temporal variability of the structure of the steppe communities of the Opuksky Nature Reserve *Uchenye zapiski Tavricheskogo Natsionalnogo Universiteta im.V.I. Vernadsky.* **3, 26(65**). (2013).
7. Mironova L.P., Shatko V.G. Flora and vegetation of the ridge Uzun-Syrt in the Barakol depression in the Eastern Crimea *Nature reserves of the Crimea. Theory, practice and prospects of nature conservation in*

the Black Sea region. Proceedings of the V International Scientific and Practical Conference . 199. (Simferopol, 2009).
8. Kobechinskaya V.G., Andreeva O.A. Changes in the biomorphological structure of phytocenoses of the steppe Crimea under the influence of a pyrogenic factor *All-Russian Conference of Young Scientists "Technosphere of the XXI Century".* 40 p (Sevastopol, 2016).
9. Cherepanov S.K. *Vascular plants of the USSR*, 510 p. (Science, 1981).
10. Ena A.V. *Natural flora of the Crimean peninsula.* 232 p. (N. Oreanda, 2012).
11. Mirkin B.M., Naumova L.G, Straw, A.I. *Modern science of vegetation*. 114. (Logos, 2001).
12. Rabotnov T.A. *Phytocenology* 352. (MSU. 1992).
13. Golubev V.N. *The biological flora of Crimea*. 126 p. (NBS-NSC, 1996).
14. Kobechinskaya V.G. Andreeva O.A., Comparative characteristics of the structure and productivity of the phytocenoses of the eastern and central steppes of the Crimea, taking into account the pyrogenic *Ecosystems,* **15 (45),** (2018).
15. Nesterenko V.P. Patterns of climate change formation and their forecast on the territory of Crimea *Scientific statements: Natural sciences.* **18, 36.** (2016).
16. Dragan N.A. *Soils of Crimea,* 95 p. (TNU, 2005).
17. Ved I.P. Meso-and microclimatic diversity of the Crimea. *Development issues of the Crimea*. **11** (Sonat, 1999).
18. Golubev V.N. The basics of the biomorphology of grassy plants of the Central forest-steppe. Part 1 Biomorphology of underground organs. *Tr. Center .- Black Earth State. Reserve*, **7**, 56 p. (Voronezh. State University, 1962).
19. Shalyt I.S., Zhivotenko. L.F. On the structure and biomass of some semi-shrub associations of the Crimean Yayla. *Bull. MOIP, dep. biol*., **6**. (1968).
20. Kobechinskaya V.G. Features of the root systems of plants in the meadow steppe of the foothill Crimea. *Mater. U1 conf. Young scientists, botanists of Ukraine,* 20 p. (Naukova Dumka, 1979).
21. Ziman S.N. *Life forms and biology of steppe plants of Donbass*, 45 p. (Naukova Dumka, 1976).
22. Vasilyeva L.P. *The rhythm of annual development, shoot formation and life forms of plants on the Black Sea steppes.* 21 p. (FNBS, 1971).
23. Markov M.V. *Population biology of rosette and semi-outlet perennial plants.* 187 p. (Ed. Kazan State. Univ., 1990).
24. 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. (2017). – Access mode: http://cliware.meteo.ru, free. – Zagli. from the screen.

Ученые записки Крымского федерального университета имени В. И. Вернадского
Биология. Химия. Том 5 (71). 2019. № 1. С. 67–73.

УДК 577.112:612

ПОКАЗАТЕЛИ ДЕСТРУКТИВНЫХ ПРОЦЕССОВ В ЭРИТРОЦИТАХ ПРИ АЛЛЕРГИИ

Коношенко С.В.[1], Елкина Н.М.[2], Казакова В.В.[2], Загноенко Н.Е.[2], Кухарик О.Н.[1], Мартоян М.М.[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: nataleiolkina@gmail.com

Показано, что при обострении аллергических реакций в эритроцитах усиливается окислительная модификация протеинов и пероксидация липидов. В большей степени интенсификация деструктивных изменений протеинов осуществляется в цитозольной фракции эритроцитов.
В условиях соответствующего патологического состояния организма липидные компоненты как мембран, так и цитозоля эритроцитов в большей степени вовлекаются в деструктивные процессы по сравнению с эритроцитарными протеинами, что может быть существенным фактором, дестабилизирующим структурное и функциональное состояние эритроцитарной мембраны.
Ключевые слова: эритроциты, окислительная модификация протеинов, пероксидация липидов, аллергия.

ВВЕДЕНИЕ

Одной из задач современной биологии и медицины является выяснение биохимических изменений в организме человека при различных заболеваниях, что может быть использовано в практической медицине, а также служить основой для более глубоких фундаментальных исследований [1–3]. В частности, представляется важным изучение тех молекулярных механизмов, которые в условиях патологии направлены на поддержание функционального состояния внутриклеточных систем и всего организма в целом. Важно также понять особенности тех изменений в организме, которые носят деструктивный характер и могут способствовать более глубокому развитию патологии.

Эритроциты представляют определенный интерес в этом аспекте, поскольку вовлекаются в патологический процесс, изменяя свое метаболическое состояние [2, 3]. Данные литературы свидетельствуют о том, что при ряде заболеваний в эритроцитах осуществляются деструктивные процессы, связанные, в частности, с изменением структуры липидов и белков [4, 5]. Неизученными в этом аспекте остаются метаболические особенности эритроцитов при обострении аллергических реакций.

В связи с этим, целью настоящей работы являлось изучение в эритроцитах больных с аллергией окислительной модификации протеинов и перекисного окисления липидов как показателей деструктивных процессов в организме.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Материалом для исследований служили эритроциты практически здоровых людей (контрольная группа; 25 человек, средний возраст 39,0 лет), а также больных с обострением аллергических реакций (крапивница) (11 человек, средний возраст 45,0 лет). Кровь больных брали на базе ГБУЗ РК «Клиническая больница № 7», г. Симферополь; при поступлении в стационар, перед началом лечения, придерживаясь норм и принципов биоэтики. Кровь практически здоровых людей брали на базе ГБУЗ РК «Центр крови», г. Симферополь.

Гемолизат и мембраны эритроцитов получали, используя описанные в литературе методы [6]. В мембранах и гемолизате эритроцитов определяли продукты окислительной модификации протеинов [7], регистрируя альдегидные и кетонные продукты основной и нейтральной природы спектрофотометрически при 356 нм, 370 нм, 430 нм и 530 нм. Содержание общих липидов [8], первичных [9] и вторичных продуктов пероксидации липидов (ПОЛ) [10] определяли, используя спектрофотометрические методы количественного анализа.

Полученные данные обрабатывали статистически с применением t-критерия Стьюдента.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Как показали результаты исследований, в эритроцитах больных с обострением аллергических реакций наблюдается интенсификация окислительной модификации протеинов, что прослеживается как в мембранах, так и в гемолизате (табл. 1, 2). Так, в мембранах эритроцитов отмечено достоверное увеличение содержания кетонных продуктов нейтрального характера, регистрируемых при 370 нм (в 1,44 раза по сравнению с контрольной группой), и показана тенденция к увеличению содержания альдегидных продуктов нейтрального и основного характера, регистрируемых при 356 нм и 430 нм.

Таблица 1

Содержание продуктов окислительной модификации протеинов в мембранах эритроцитов больных с аллергией (M ± m)

Обследованные группы	Продукты нейтрального характера, ед.опт.пл.		Продукты основного характера, ед.опт.пл.	
	Альдегидные 356 нм	Кетонные 370 нм	Альдегидные 430 нм	Кетонные 530 нм
Контрольная группа	0,220 ± 0,020	0,222 ± 0,020	0,206 ± 0,015	0,151 ± 0,012
Больные	0,259 ± 0,032	0,319 ± 0,030*	0,247 ± 0,030	0,133 ± 0,012

Примечание: * – достоверность различия показателя по сравнению с контрольной группой ($p < 0,05$).

Таблица 2

Содержание продуктов окислительной модификации протеинов в гемолизате эритроцитов больных с аллергией (M ± m)

Обследованные группы	Продукты нейтрального характера, ед.опт.пл.		Продукты основного характера, ед.опт.пл.	
	Альдегидные 356 нм	Кетонные 370 нм	Альдегидные 430 нм	Кетонные 530 нм
Контрольная группа	1,373 ± 0,114	1,574 ± 0,180	1,408 ± 0,060	0,347 ± 0,018
Больные	1,80 ± 0,21*	1,805 ± 0,100	1,752 ± 0,151*	0,437 ± 0,030*

Примечание: * – достоверность различия показателя по сравнению с контрольной группой ($p < 0,05$).

В гемолизате эритроцитов наблюдается более выраженное увеличение содержания продуктов окислительной модификации протеинов. Содержание альдегидных продуктов нейтрального и основного характера возрастало в 1,3 и в 1,24 раза, соответственно; содержание кетонных продуктов основного характера увеличивалось в 1,26 раза по сравнению с контрольной группой.

Как известно из литературы, процессы окислительной модификации протеинов осуществляются, главным образом, под действием активных форм кислорода радикальной природы (АФК) [7]. В условиях усиленного генерирования АФК и нарушения прооксидантно-антиоксидантного равновесия процессы окислительной модификации протеинов начинают превышать определенный базовый уровень.

Из полученных данных следует, что мембранные протеины эритроцитов в меньшей степени подвержены действию активных форм кислорода по сравнению с белками, находящимися в цитозоле. Возможно, это обусловлено относительно жесткой фиксацией белков мембраны, а также белков эритроцитарного цитоскелета за счет их взаимодействия с гидрофобными и полярными структурными элементами липидного бислоя мембраны, что и обеспечивает более высокую стабильность молекул этих протеинов.

В условиях повышенного генерирования АФК усиливаются также процессы перекисного окисления липидов [3].

При изучении содержания общих липидов в мембранах и гемолизате эритроцитов практически здоровых людей и больных с обострением аллергических реакций были получены данные, представленные в табл. 3. Показано, что у больных с обострением аллергических реакций по сравнению с контрольной группой, содержание общих липидов было ниже: в 1,5 раза в мембранах и в 1,85 раза в гемолизате эритроцитов. Снижение содержания общих липидов в эритроцитах больных сопровождалось существенным увеличением уровня первичных и вторичных (ТБК-активных) продуктов пероксидации липидов. Так, в мембранах эритроцитов больных содержание первичных продуктов ПОЛ возрастало в 9,6 раза, а в гемолизате – в 8,7 раза по сравнению с контрольной группой (табл. 4).

Содержание ТБК-активных продуктов ПОЛ увеличивалось в 8,3 раза в мембранах и в 12,5 раза в гемолизате эритроцитов больных по сравнению с контрольной группой (табл. 5). Из этих данных видно, что деструктивные процессы, связанные с липидными компонентами эритроцитов, достаточно активно осуществляются как в мембранах, так и в гемолизате эритроцитов больных.

Таблица 3

Содержание общих липидов в мембранах и гемолизате эритроцитов больных с аллергией (M ± m)

Обследованные группы	Общие липиды, мг/мл	Общие липиды, мг/мл
	Мембраны	Гемолизат
Контрольная группа	1,09 ± 0,15	1,57 ± 0,19
Больные	0,72 ± 0,1*	0,85 ± 0,05*

Примечание: * – достоверность различия показателя по сравнению с контрольной группой ($p < 0,05$).

Таблица 4

Содержание первичных продуктов пероксидации липидов в мембранах и гемолизате эритроцитов больных с аллергией (M ± m)

Обследованные группы	Первичные продукты ПОЛ, ед.опт.пл./мг липидов	
	Мембраны	Гемолизат
Контрольная группа	0,30 ± 0,02	0,33 ± 0,02
Больные	2,89 ± 0,36*	2,86 ± 0,10*

Примечание: * – достоверность различия показателя по сравнению с контрольной группой ($p < 0,05$).

Таблица 5

Содержание вторичных (ТБК-активных) продуктов пероксидации липидов в мембранах и гемолизате эритроцитов больных с аллергией (M ± m)

Обследованные группы	ТБК-активные продукты ПОЛ, ед.опт.пл./мг липидов	
	Мембраны	Гемолизат
Контрольная группа	0,19 ± 0,05	0,043 ± 0,003
Больные	1,57 ± 0,28*	0,54 ± 0,06*

Примечание: * – достоверность различия показателя по сравнению с контрольной группой ($p < 0,05$).

В целом, полученные данные свидетельствуют о том, что при обострении аллергических реакций интенсифицируются процессы окислительной модификации протеинов и перекисного окисления липидов в эритроцитах, что имеет деструктивный характер и может быть связано с усиленным генерированием АФК. Из полученных результатов также видно, что по сравнению с белками липидные компоненты эритроцитов являются более уязвимой мишенью для действия активных форм кислорода, и это может быть существенным обстоятельством, при котором усиливается дестабилизация структурного и функционального состояния эритроцитарной мембраны.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Результаты исследований позволяют сделать следующие выводы:

1. При обострении аллергических реакций в эритроцитах усиливается окислительная модификация протеинов, что прослеживается как в мембранах, так и в гемолизате. В большей степени интенсификация этих процессов осуществляется в цитозольной фракции эритроцитов.
2. В условиях соответствующего патологического состояния организма в эритроцитах усиливается перекисное окисление липидов, о чем свидетельствует снижение уровня общих липидов и существенное увеличение содержания первичных и вторичных продуктов ПОЛ в мембранах и гемолизате эритроцитов.
3. Липидные компоненты эритроцитов в большей степени подвержены деструктивным изменениям по сравнению с эритроцитарными протеинами.

Список литературы

1. Азизова О.А. Взаимосвязь маркеров окислительного стресса с клиническим течением хронической ишемии мозга / О.А. Азизова // Журн. неврологии и психиатрии им. С.С. Корсакова. – 2013, № 9. – С. 21–27.
2. Елкина Н.М. Состояние антиоксидантной системы в эритроцитах при отдельных гематологических и сердечно-сосудистых заболеваниях / Н.М. Елкина, С.В. Коношенко // Уч. записки Таврического нац. ун-та им. В.И. Вернадского. Сер.: Биология, химия. – 2015. – Т. 1 (67), № 3. – С. 14–20.
3. Novgorodtseva T.P. Modifications of the fatty acid composition of the erythrocyte membrane in patients with chronic respiratory diseases // T.P. Novgorodtseva, Y.K. Denisenko, N.N. Zhukova et al. // Lipids Health Dis. – 2013, № 12. – P. 117–121.
4. Елкина Н.М. Процессы пероксидации липидов, метгемоглобинообразования и генерирования активных форм кислорода в эритроцитах больных эритремией / Н.М. Елкина // Уч. записки Таврического нац. ун-та им. В.И. Вернадского. Сер.: Биология, химия. – 2013. – Т. 26 (65), № 4. – С. 39–43.
5. Коношенко С.В. Особливості окислювальної модифікації протеїнів в еритроцитах хворих на кардіоміопатію, ішемічну хворобу серця, еритремію та апластичну анемію / С.В. Коношенко, Н.М. Йолкіна // Експериментальна та клінічна фізіологія і біохімія. – 2013, № 2. – С. 40–43.
6. Drabkin D. A simplified technique for large scale crystallization of myoglobin and haemoglobin in the crystalline / D. Drabkin // Arch. Biochem. – 1959. – V. 21. – P. 224–226.
7. Дубинина Е.Е. Окислительная модификация белков сыворотки крови человека, метод ее определения / Е.Е. Дубинина, С.О. Бурмистров, Д.А. Ходов и др. // Вопросы мед. химии. – 1996. – Т. 41, № 1. – С. 24–26.

8. Биохимические методы исследования в клинике / Под ред. А.А. Покровского. – М.: Медицина, 1969. – С. 28–30.
9. Гаврилов В.Б. Измерение диеновых конъюгатов в плазме крови по УФ-поглощению гетановых и изопропанольных экстрактов / В.Б. Гаврилов, А.Р. Гаврилова, Н.Ф. Хмара // Лаб. дело. – 1988, № 2. – С. 60–64.
10. Ohkawa H. Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction // H. Ohkawa, N. Ohishi, K. Yogi // Analit. Biochem. – 1979, № 2. – P. 351–358.

INDEXES OF DESTRUCTIVE PROCESSES IN ERYTHROCYTES UNDER ALLERGY

Konoshenko S.V., Yolkina N.M., Kazakova V.V., Zagnoenko N.E., Kucharik O.N., Martojan M.M.

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

Today we have much dates about that under some diseases erythrocytes are involved in pathological process as demonstrated by biochemical changes occuring in them [1–3]. It is known, that under some diseases the production of oxygen active forms is more active and it is cause for activation of oxidative destruction of lipids and proteins [4, 5]. In this regard, it is interest to examine the processes of oxidative modification of proteins and lipids peroxidation in erythrocytes under allergy.

The materials for the study were the erythrocytes of healthy subjects (control group) and patients with allergy (healthy subjects: 25 persons, middle age 39,0 years; patients with allergy: 11 persons, middle age 45,0 years). The blood of patients with allergy was taken before treatment for an illness.

The erythrocytes were hemolisated by distilled water. The membranes of erythrocytes were separated from hemolysate by centrifugation. In membranes and hemolisate of erythrocytes the contents of proteins oxidative modification products [6], total lipids and lipids peroxidation products [7, 8] were determined. All indexes were studied by spectrophotometric methods of biochemical analyses.

It has been shown, that in hemolisates and membranes of erythrocytes of patients the content of proteins oxidative modification products was rised as compared with control group: at 1,44 times in membranes and at 1,26 time in hemolisates of erythrocytes.

The activation of processes of lipids peroxidation has been shown also. So, level of total lipids in membranes and hemolisates was lowed: at 1,5 times and at 1,85 time, accordingly.

At the same time, the content of primary and secondary products of lipids peroxidation was rised.

The content of primary products of lipids peroxidation was rised at 9,6 times in membranes and at 8,7 times – in hemolisates of erythrocytes. The content of secondary products of lipids peroxidation was rised at 8,3 times in membranes and at 12,5 times – in hemolisates as compared with control group.

These dates evidence about that under allergy the processes of lipids and proteins destruction in erythrocytes are intensified. The oxidative modification of proteins in hemolisates are more intensive as compared with membranes of erythrocytes.

The destructive processes in erythrocytes under allergy may be cause for breaking of structure and function of membrane and different organic components in erythrocytes.

***Keywords*:** erythrocytes, oxidative modification of proteins, lipids peroxidation, allergy.

References

1. Azizova O.A., Korsakov S.S. Connection of oxidative stress markers with clinical properties of chronic ischemic of brain, *J. of nevrology and psychiatry*, **9**, 21 (2013).
2. Yolkina N.M., Konoshenko S.V., Peculiarities of antioxidative system in erythrocytes under some hematological and heart-vascular diseases, *Sc. notes of V.I. Vernadsky Taurida university, Biology and Chemistry*, **1 (67), 3**, 14 (2015).
3. Novgorodtseva T.P., Denisenko Y.K., Zhukova N.N. et al, Modifications of fatty acids composition of the erythrocyte membrane in patients with chronic respiratory diseases, Lipids Health Dis., **12**, 117 (2013).
4. Yolkina N.M., Processes of lipids peroxidation, methemoglobinformation and oxygen active forms generation in erythrocytes of patients with erythraemia, *Sc. notes of V.I. Vernadsky Taurida university, Biology and Chemistry*, **20 (65), 4**, 39 (2013).
5. Konoshenko S.V., Yolkina N.M., Peculiarities of proteins oxidative modification in erythrocytes of patients with cardiomyopathies, ischemic heart diseases, erythraemia and aplastic anemia, *Experimental and clinical physiology and biochemistry*, **2**, 40 (2013).
6. Dubinina E.E., Burmistrov S.O., Hodov D.A. et al, Oxidative modification of proteins in human serum of blood, method of determination, *Vopr. Med. Chem.*, **41**, **1**, 24 (1996).
7. Gavrilov V.B., Gavrilova A.R., Chmara N.F., The measureing of dien conjugates in blood plasma by UF-absorption of heptane and isopropanoles extractions, *Lab. delo*, **2**, 60 (1988).
8. Ohkawa H., Yogi K., Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction, *Analit. Biochem*, **2**, 351 (1979).

Ученые записки Крымского федерального университета имени В. И. Вернадского
Биология. Химия. Том 5 (71). 2019. № 1. С. 74–84.

УДК 582.28 (476)

ОБЛИГАТНО-ПАРАЗИТНЫЕ ГРИБЫ РЕГИОНАЛЬНОГО ПАМЯТНИКА ПРИРОДЫ «БАКЛА», РЕСПУБЛИКА КРЫМ, РОССИЯ

Кравчук Е. А., Просянникова И. Б., Репецкая А. И., Кадочникова В. И.

Таврическая академия (структурное подразделение) ФГАОУ ВО «Крымский федеральный университет имени В. И. Вернадского», Симферополь, Республика Крым, Россия
E-mail: disa005@mail.ru

В результате проведенных микологических исследований на территории регионального памятника природы «Бакла» (Республика Крым, Россия) нами обнаружены 65 видов из 22 родов 12 семейств 6 порядков паразитических грибов, принадлежащих 3 отделам грибов и грибоподобных организмов, что свидетельствует о достаточно разнообразном видовом составе паразитической микобиоты указанного объекта ООПТ. Фитотрофные грибы были обнаружены на 81 виде питающих растений из 29 семейств, 21 порядка, двух классов и одного отдела. Наибольшее количество видов грибов приходится на семейства Rosaceae, Poaceae, Asteraceae и Fabaceae, что составляет 55,4% от общего количества видов грибов-паразитов.
Ключевые слова: фитотрофная паразитическая микобиота, аннотированный список, региональный памятник природы «Бакла», Предгорный Крым.

ВВЕДЕНИЕ

Для предупреждения эпифитотийного распространения паразитических микромицетов необходима инвентаризация их видового состава и выявление наиболее вредоносных. В связи с этим возникла необходимость в проведении микологических исследований, отражающих состояние природных комплексов Крыма, одним из которых является региональный памятник природы «Бакла» (Республика Крым, Россия). Он располагается на склоне Внутренней крымской гряды к юго-востоку от села Скалистое, занимает площадь 5 га и является комплексным памятником природы местного значения с 1964 года (рис. 1 А).

Бакла – гора (471 м н.у.м.), расположенная в Западном Крыму в 2,5 км на северо-востоке от с. Скалистое на южном склоне Внутренней гряды, и одноименный пещерный город раннего средневековья. У подножия нижнего уступа Баклинского нагорья находится Баклинская долина, фланкированная с юго-запада горой Кизил-Чигир (с тюркского – Красный беркут), а с юго-востока – горой Биюк-Сырт (Большая спина).

На обрывах данной куэстовой гряды можно проследить геологическую историю этой местности на протяжении миллионов лет. Южный склон куэстовых формирований обрывистый, противоположный склон, в соответствии с наклоном пластов горных пород, полого наклонен к северу. В нижней части обрывистого склона залегают разной плотности отложения мелового периода – мергели и известняки. На Баклинском склоне можно наблюдать интересную форму «сотового»

выветривания горных пород, ниши, карманы, гроты (рис. 1 Б) [1]. Растительность памятника природы представлена обширными древесно-кустарниковыми зарослями из *Quercus pubescens* Willd., *Carpinus orientalis* Mill., *Paliurus spina-christi* Mill., *Cotinus coggygria* Scop., *Cornus mas* L., видов рода *Crataegus* L. и *Rosa* L., чередующиеся с полянами, занятыми разнотравьем (рис. 2 А). Подобного рода особо охраняемые природные территории интересны также наличием редких видов растений, что позволяет предвидеть и определенную видовую специфику грибов-паразитов на них. На территории памятника природы описано 15 видов орхидных, в том числе такие особо редкие виды, как *Himantoglossum caprinum* (M.Bieb.) Spreng. и *Ophrys taurica* (Aggeenko) Nevski., а также менее редкие виды, например, *Cephalanthera damasonium* (Mill.) Druce (рис. 2 Б) [2].

А Б

Рис. 1. Региональный памятник природы «Бакла» (471 м н.у.м.) (фото автора).

А Б

Рис. 2. Региональный памятник природы «Бакла» (А); Пыльцеголовник крупноцветковый (*Cephalanthera damasonium* (Mill.) Druce) (Б) (фото автора).

В связи с этим целью нашей работы явилось исследование видового состава фитотрофных облигатно-паразитных микромицетов регионального памятника природы «Бакла», расположенного в Предгорном Крыму.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Сбор гербарных образцов паразитических грибов растений производился в течение вегетационных сезонов 2007–2010 гг. и 2017–2018 гг. детально-маршрутным методом в растительных сообществах памятника природы. Микологическое обследование территории со сбором образцов поражённых видов растений осуществлялось регулярно на протяжении вегетационных сезонов всего периода исследований. Собранный гербарий обрабатывался по общепринятой методике. Образцы паразитических грибов на питающих растениях гербаризировали с составлением стандартных этикеток [3]. Идентификацию образцов грибов на питающих растениях проводили стандартным методом с помощью общепринятых определителей и справочной литературы [4–9]. Названия паразитических грибов и сокращения авторов приведены в соответствии с интерактивными базами «Mycobank» (http://www.mycobank.org) и «Index Fungorum» (http://www.indexfungorum.org) [10]; видовые названия питающих растений представлены в соответствии со сводкой «The Plant List» (http://www.theplantlist.org) [11].

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Микологические исследования, проводившиеся в лесных и степных сообществах памятника природы Бакла позволили установить специфику видового состава и трофической структуры паразитической микобиоты растений, что отражено в приведенном ниже аннотированном списке видов грибов и грибоподобных организмов.

Отдел Oomycota, пор. Peronosporales, сем. Peronosporaceae

Peronospora ficariae Tul. на *Ficaria verna* Huds., 01.05.2018, дубово-пушистый лес.

Peronospora knautiae Fuckel на *Knautia arvensis* (L.) Coult., 12.06. 2007, опушка дубово-пушистого леса.

Отдел Ascomycota, пор. Erysiphales, сем. Erysiphaceae

Blumeria graminis (DC.) Speer на *Aegilops cylindrica* Host, 12.06.2007, 26.09. 2017, степной склон; на *Brachypodium pinnatum* (L.) P. Beauv., 12.06.2007, обочина дороги; на *Elymus repens* (L.) Gould, 12.06.2007, степной склон; на *Poa bulbosa* L., 1.05.2018, степной склон.

Erysiphe adunca (Wallr.) Fr. на *Salix purpurea* L., 26.09.2010, берег реки Альма.

Erysiphe aquilegiae DC. на *Ranunculus polyanthemos* L., 12.06.2007, дубово-пушистый лес.

Erysiphe alphitoides (Griffon & Maubl.) U. Braun & S. Takam. на *Quercus pubescens* Willd., 12.06.2007, 26.09.2010, 18.09.2018, дубово-пушистый лес.

Erysiphe astragali DC. на *Astragalus hamosus* L., 12.06.2007, степной склон.

Erysiphe convolvuli DC. на *Convolvulus arvensis* L., 26.09.2010., обочина дороги, повсеместно.

Erysiphe lycopsidis R.Y. Zheng & G.Q. Chen на *Buglossoides arvensis* (L.) I.M.Johnst (=*Lithospermum arvense* L.), 12.06.2007, степной склон.
Erysiphe pisi DC. на *Medicago orbicularis* (L.) Bartal., 12.06.2007, степной склон, на *Ononis pusilla* L., 26.09.2010., 23.09.2017, степной склон.
Erysiphe polygoni DC. на *Polygonum aviculare* L., 26.09.2010, 23.09.2017, обочина дороги; на *Persicaria lapathifolia* (L.) Delarbre (=*Polygonum lapathifolium* L.), 12.06.2007, 26.09.2010., берег реки Альма.
Erysiphe tortilis (Wallr.) Link на *Cornus sanguinea* L., 26.09.2010, 23.09.2017, 18.09.2018, дубово-пушистый лес.
Erysiphe trifolii Grev. на *Trifolium pratense* L., 12.06.2007, 26.09.2010, 23.09.2017, 18.09.2018, дубово-пушистый лес; на *Melilotus albus* Medik., 12.06.2007, обочина дороги; на *Medicago sp*., 18.09.2018, у дороги.
Erysiphe urticae (Wallr.) S. Blumer на *Urtica dioica* L., 23.09.2017, берег реки Альма.
Golovinomyces biocellatus (Ehrenb.) V.P. Heluta на *Lycopus europaeus* L., 23.09.2017, берег реки Альма.
Golovinomyces cichoracearum (DC.) V.P. Heluta на *Tanacetum vulgare* L., 26.09.2010, у дороги.
Golovinomyces sordidus (L. Junell) V.P. Heluta на *Plantago major* L., 26.09.2010, берег реки Альма.
Golovinomyces verbasci (Jacz.) V.P. Heluta на *Verbascum phlomoides* L., 26.09.2010., степной склон.
Leveillula duriaei (Lév.) U. Braun на *Salvia nemorosa* L., 26.09.2010, степной склон.
Leveillula lactucarum Durrieu & Rostam на *Artemisia taurica* Willd., 26.09.2010, степной склон.
Neoerysiphe galeopsidis (DC.) U. Braun на *Lamium purpureum* L., 17.05.2009, дубово-пушистый лес; на *Ballota nigra* L., 12.06.2007, 26.09.2010, у дороги.
Phyllactinia guttata (Wallr.) Lév. на *Cornus mas* L., 18.09.2018, дубово-пушистый лес; на *Corylus avellana* L., 18.09.2018, дубово-пушистый лес.
Podosphaera aphanis (Wallr.) U. Braun & S. Takam. на *Geum urbanum* L., 18.09.2018, тенистый склон; на *Agrimonia eupatoria* L. , 18.09.2018, у дороги
Podosphaera fusca (Fr.) U. Braun & Shishkoff на *Xanthium strumarium* L., 26.09.2010, у дороги.
Sphaerotheca plantaginis (Castagne) L. Junel на *Plantago media* L., 18.09.2018, у дороги.

Отдел Basidiomycota, пор. Uredinales, сем. Coleosporiaceae

Coleosporium inulae *Rabenh.* на *Inula aspera* Poir., 26.09.2010, 23.09.2017.,18.09.2018, дубово-пушистый лес; на *Inula ensifolia* L., 18.09.2018., дубово-пушистый лес (рис. 3).

Семейство Melampsoraceae

Melampsora populnea (Pers.) P. Karst. на *Mercurialis perennis* L., 17.05.2009., дубово-пушистый лес.
Melampsora salicis-albae Kleb. на *Salix alba* L., 26.09.2010., берег реки Альма.

Семейство Phragmidiaceae

Phragmidium bulbosum (Fr.) Schltdl. на *Rubus caesius* L., 18.09.2018, шибляковый лес.

Phragmidium mucronatum (Pers.) Schltdl. на *Rosa canina* L., 26.09.2010, степной склон.
Phragmidium potentillae (Pers.) P. Karst. на *Potentilla recta* L., 12.06.2007, степной склон.
Phragmidium violaceum (Schultz) Brockm. на *Rubus sp.*, 23.09.2017, рудеральный фитоценоз.
Семейство Pucciniaceae
Endophyllum euphorbiae-sylvaticae **(DC.) G. Winter** на *Euphorbia* sp., 17.05.2009, степной склон; на *Euphorbia esula subsp. tommasiniana* (Bertol.) Kuzmanov (=*Euphorbia virgata* Waldst. & Kit.), 1.05.2018, степной склон; на *Euphorbia glareosa* Pall. ex M.Bieb, 17.05.2009, степной склон.
Gymnosporangium confusum Plowr. на *Crataegus* sp., 12.06.2007; 17.05.2009, обочина дороги, шибляковый лес.
Gymnosporangium sabinae (Dicks.) G. Winter на *Pyrus elaeagnifolia* Pall., 26.09.2010, 23.09.2017, 18.09.2018, степной склон.
Puccinia calcitrapae DC. на *Centaurea* sp., 17.05.2009, степной склон; на *Centaurea orientalis* L., 17.05.2009, дубово-пушистый лес; на *Centaurea diffusa* Lam., 26.09.2010, степной склон; на *Echinops armatus* Stev., 12.06.2007, у дороги.
Puccinia caricina DC. на *Carex sp.,* 26.09.2010, берег реки Альма.
Puccinia cesatii J. Schröt. на *Bothriochloa ischaemum* (L.) Keng, 26.09.2010, 23.09.2017, степной склон.
Puccinia cynodontis Lacroix ex Desm. на *Cynodon dactylon* (L.) Pers., 26.09.2010, обочина дороги.
Puccinia epilobii DC. на *Epilobium hirsutum* L., 12.06.2007; 26.09.2010, берег реки Альма.
Puccinia falcariae Fuckel на *Falcaria vulgaris* Bernh., 12.06.2007, 17.05.2009, 1.05.2018, обочина дороги, повсеместно.
Puccinia graminis Pers. на *Bromus sterilis* L. (=*Anisantha sterilis* (L.) Nevski), 17.05.2009, степной склон; на *Berberis vulgaris* L., 12.06.2007, 17.05.2009, 1.05.2018, 18.09.2018, верхнее плато; на *Elymus repens* (L.) Gould *(Elytrigia repens* (L.) Nevski), 23.09.2017, 18.09.2018, степной склон, на *Hordeum bulbosum* L., 12.06.2007, верхнее плато, степь.
Puccinia malvacearum Bertero ex Mont. на *Alcea rugosa* Alef. (=*Alcea taurica* Iljin), 17.05.2009, 04.06.2017, у дороги; на *Malva erecta* J. Presl & C. Presl, 12.06.2007, 17.05.2009, 04.06.2017., у дороги; на *Althaea hirsuta* L., 12.06.2007, 17.05.2009, степной склон.
Puccinia nigrescens L.A. Kirchn. на *Salvia verticillata* L., 18.09.2018, дубово-пушистый лес (рис. 4).
Puccinia physospermi Pass. на *Physospermum cornubiense* (L.) DC., 17.05.2009, 1.05.2018, дубово-пушистый лес.
Puccinia poae-pratensis Pass., на *Poa pratensis* L., 1.05.2018, дубово-пушистый лес.
Puccinia porri (Sowerby) G. Winter на *Allium convallarioides* Grossh., 17.05.2009., у ручья; на *Allium rotundum* L., 12.06.2007, у дороги; на *Allium sp*., 1.05.2018 опушка дубово-пушистого леса.

Puccinia punctata Link на *Galium verum* L., 12.06.2007, степной склон.
Puccinia sessilis J. Schröt. на *Leopoldia comosa*, 1.05.2018, дубово-пушистый лес.
Puccinia striiformis Westend. на *Aegilops cylindrica* Host, 12.06.2007, степной склон
Puccinia tanaceti DC. на *Artemisia vulgaris* L., 23.09.2017, степной склон.
Puccinia violae (Schumach.) DC. на *Viola sp*., 1.05.2018., дубово-пушистый лес.
Puccinia xanthii Schwein. на *Xanthium strumarium* L., 26.09.2010, берег реки Альма.
Uromyces croci Pass. на *Crocus sp.,* 01.05.2018, дубово-пушистый лес.
Uromyces ficariae (Schumach.) Lév. на *Ficaria verna* Huds, 1.05.2018, дубово-пушистый лес.
Uromyces geranii (DC.) G.H. Otth & Wartm. на *Geranium sanguineum* L., 12.06.2007, 17.05.2009, 04.06.2017, дубово-пушистый лес.
Uromyces muscari (Duby) Niessl на *Scilla bifolia* L., 01.05.2018, дубово-пушистый лес.
Uromyces pisi-sativi J. Schröt. на *Astragalus glycyphyllos* L., 18.09.2018, дубово-пушистый лес.
Uromyces scutellatus (Schrank) Niessl на *Euphorbia stricta* L., 17.05.2009, степной склон.

Сем. Raveneliaceae
Triphragmium filipendulae (Lasch) Pass. на *Filipendula vulgaris* Moench, 17.05.2009, 1.05.2018., поляна в дубово-пушистом лесу.

Сем. Uropyxidaceae
Tranzschelia pruni-spinosae (Pers.) Dietel на *Prunus spinosa* L., 18.09.2018, дубово-пушистый лес.

Пор. Entylomatales, сем. Entylomataceae
Entyloma ficariae A.A. Fisch. Waldh. на *Ficaria verna* Huds, 01.05.2018, дубово-пушистый лес.

Пор. Urocystidales, сем. Floromycetaceae
Antherospora vaillantii (Tul. & C. Tul.) R. Bauer, M. Lutz, Begerow, Piątek & Vánky на *Leopoldia comosa* (L.) Parl., 01.05.2018, дубово-пушистый лес.

Сем. Urocystidaceae
Melanustilospora ari (Cooke) Denchev на *Arum elongatum* Steven, 1.05.2018., дубово-пушистый лес.

Пор. Ustilaginales, сем. Anthracoideaceae
Anthracoidea heterospora (B. Lindeb.) Kukkonen на *Carex halleriana* Asso, 26.09.2010, дубово-пушистый лес.

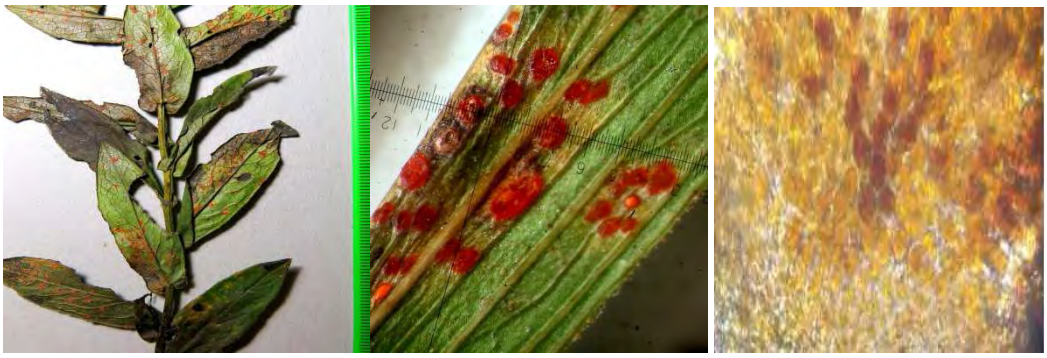
В результате проведенных микологических исследований нами обнаружены 65 видов из 22 родов 12 семейств 6 порядков паразитических грибов, принадлежащих 3 отделам грибов и грибоподобных организмов (табл. 1). Как видно из данных таблицы, доминирующими являются представители отдела Basidiomycota – 40 видов (61,5 %) из 13 родов (59,1 %), меньшее количество составляют виды грибов-паразитов, принадлежащие отделу Ascomycota – 23 вида (что составляет 35,4 % от общего числа видов) из 8 родов (36,4 %); отдел Oomycota – 2 вида (3,1 %) и 1 род (4,6 %), соответственно.

Таблица 1

Количественное распределение фитотрофных облигатно-паразитных микромицетов регионального памятника природы «Бакла» по отделам, родам и видам

№ п/п	Название отдела грибов	Количество родов	% к общему числу родов	Количество видов	% к общему числу видов
1.	Oomycota	1	4,6	2	3,1
2.	Ascomycota	8	36,4	23	35,4
3.	Basidiomycota	13	59,1	40	61,5
	Итого:	22	100,0	65	100,0

Данные о связях паразитических грибов с семействами высших растений представлены в таблице 2. Обнаруженные нами виды грибов зарегистрированы на представителях 29 семейств высших растений, преимущественно класса Двудольные (Magnoliopsida) отдела Покрытосеменные (Magnoliophyta) – 23 семейства; класс Однодольные (Liliopsida) представлен 6 семействами – Poaceae, Cyperaceae, Iridaceae, Amaryllidaceae, Araceae и Asparagaceae.



А Б В

Рис. 3. Ржавчинный гриб *Coleosporium inulae Rabenh.* на листьях *Inula aspera* Poir. (Asteraceae): А – внешний вид пораженных листьев; Б – спорангии (увел. 40х); В – споры (увел. 400х, фото автора).

Наибольшее количество обнаруженных видов грибов приходится на семейства Rosaceae и Poaceae – по 16,9%, по 10,8% на семейства Asteraceae и Asparagaceae, на остальные 25 семейств высших растений (44,6%) приходится от 2% до 8%, соответственно. В целом, паразитические фитотрофные грибы были обнаружены на 81 виде питающих растений из 29 семейств, 21 порядка, двух классов и одного отдела высших растений.

Таблица 2

Распределение фитотрофных микромицетов, обнаруженных на территории регионального памятника природы «Бакла» по семействам питающих растений

Семейство питающих растений	Количество видов грибов	Семейство питающих растений	Количество видов грибов
Amaryllidaceae	2	Geraniaceae	1
Apiaceae	2	Malvaceae	3
Asparagaceae	3	Lamiaceae	4
Araceae	1	Plantaginaceae	2
Asteraceae	7	Poaceae	11
Berberidaceae	1	Polygonaceae	2
Boraginaceae	3	Ranunculaceae	2
Caprifoliaceae	1	Rosaceae	11
Convolvulaceae	1	Rubiaceae	1
Euphorbiaceae	5	Salicaceae	2
Cornaceae	2	Scrophulariaceae	1
Cyperaceae	2	Onagraceae	1
Fabaceae	7	Urticaceae	1
Fagaceae	1	Violaceae	1
Iridaceae	1		

А Б

Рис. 4. Ржавчинный гриб *Puccinia nigrescens* L.A. Kirchn. листьях *Salvia verticillata* L. (Lamiaceae): А – внешний вид пораженного листа; Б – споры (увел. 400х, фото автора).

Следует отметить, что на территории памятника природы «Бакла» нами обнаружены 8 новых видов грибов для Предгорной зоны Крыма. Это такие виды,

как: *Peronospora knautiae*, *Erysiphe adunca*, *E. aquilegiae*, *E. lycopsidis*, *Golovinomyces verbasci, Leveillula lactucarum*, *Puccinia nigrescens* и *Uromyces croci*.

Необходимо указать, что вышеуказанные семейства Rosaceae, Cyperaceae, Asteraceae, Asparagaceae играют большую роль в сложении растительных сообществ памятника природы «Бакла», а также этим семействам сопутствует и значительное видовое разнообразие паразитических микромицетов, консортивно связанных с растениями-хозяевами.

Таким образом, проведенные нами исследования по выявлению видового состава паразитической микобиоты памятника природы «Бакла», имеют теоретическое значение для изучения процессов миграции грибов в пределах природных зон Крымского полуострова.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

1. В результате проведенных микологических исследований на территории регионального памятника природы «Бакла» нами обнаружены 65 видов из 22 родов 12 семейств 6 порядков паразитических грибов, принадлежащих 3 отделам грибов и грибоподобных организмов, что свидетельствует о достаточно разнообразном видовом составе паразитической микобиоты указанного памятника природы.
2. Фитотрофные грибы памятника природы были обнаружены на 81 виде питающих растений из 29 семейств, 21 порядка, двух классов и одного отдела. Наибольшее количество видов грибов приходится на семейства Rosaceae, Poaceae, Asteraceae и Fabaceae, что составляет 55,4% от общего количества видов грибов-паразитов.

Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ и Совета Министров Республики Крым в рамках научного проекта № 17-44-92015.

Список литературы

1. ООПТ России [Электронный ресурс] – Режим доступа к сайту: http://oopt.aari.ru/oopt/Бакла
2. Ена В.Г., Ена Ал. В., Ена Ан. В. Заповедные ландшафты Тавриды. – Симферополь: Бизнес-Информ, 2004. – 424 с.
3. Благовещенская Е.Ю. Фитопатогенные микромицеты: учебный определитель /М.: изд-во ЛЕНАНД, 2015. – 240 с.
4. Ульянищев В. И. Определитель ржавчинных грибов СССР. Л.: Изд-во Наука, 1978. Ч. 2. – 384 с.
5. Купревич В. Ф., Ульянищев В. И. Определитель ржавчинных грибов СССР. Минск: Изд-во Наука и техника, 1975. Ч. 1. – 485 с.
6. Гелюта В. П. Флора грибов Украины. Мучнисторосяные грибы. Киев.: Изд-во Наук. думка, 1989.– 256 с.
7. Станявичене С.А. Пероноспоровые грибы Прибалтики. Вильнюс: Изд-во Мокслас, 1984. – 208 с.
8. Каратыгин И. В., Азбукина З. М. Семейство Устилаговые. Л.: Изд-во Наука, 1989. – 220 с. (Определитель грибов СССР. Порядок Головневые; Вып. 1.).
9. Дудка І. О., Гелюта В. П., Тихоненко Ю. А. та інш.; Гриби природных зон Криму / [під ред. І. О. Дудки. – Киев: Изд. Фітосоціоцентр, 2004. – 452 с. (Інститут ботаніки ім М.Г. Холодного НАНУ).

10. Index Fungorum [электронный ресурс]. 2003. Режим доступа: http://www.indexfungorum.org [веб-сайт, версия 1.00] (дата обращения: 21.11.2018).
11. The Plant list [электронный ресурс]. 2013. Режим доступа: http://www.theplantlist.org / (дата обращения: 19.11.2018).

OBLIGATE PARASITIC FUNGI OF REGIONAL MONUMENT "BAKLA", REPUBLIC CRIMEA, RUSSIA

Kravchuk E. A., Prosyannikova I. B., Repetskaya A. I., Kadochnikova V. I.

V.I. Vernadsky Crimean Federal University, Simferopol, Crimea, Russia
E-mail: disa005@mail.ru

The aim of our work is to study the composition of phytotrophic obligate parasitic micromycetes of the regional monument "Bakla", (471 m above sea level, Republic Crimea, Russia), located near the village of Skalistoe, occupies an area of 5 hectares and is a complex natural monument of local importance since 1964 [1]. The herbarium specimens of parasitic fungi on higher plants were collected during the vegetative seasons of 2007–2010, 2008 using a detailed-routing method in plant communities. The collected material was processed using the common method [3]. The nomenclature of micromycetes follows an international database «Index fungorum» [10]. As a result of mycological research 65 species phytotrophic parasitic fungi belonging to 22 genera of 12 families, 6 orders and 3 divisions fungi and fungi like of organisms were found.

The highest number of genera (13; 59.1% of total number) and species (40; 61.5% of total number) are recorded in the division Basidiomycota. The division Ascomycota are presented by 8 genera (36.4% of total genera number) and 23 species (35.4%). The division Oomycota – 1 genera (4.6%) and 2 species (3.1% of total species number). We observed species of fungi listed on the representatives of the 29 families of higher plants (division Magnoliophyta – 29), mostly class Dicotyledons (Magnoliopsida) – 23 families; class Monocots (Liliopsida) represented by six families – Poaceae, Cyperaceae, Iridaceae, Amaryllidaceae, Araceae и Asparagaceae. Phytotrophic fungi of the regional monument "Bakla"on 81 species of host plants of 29 families, 21 orders, the two classes and one division were found. The largest number of species of fungi falls on the family Rosaceae, Poaceae, Asteraceae and Fabaceae, which is 55.4% of the total number of species of fungi-parasites.

***Keywords*:** phytotrophic parasitic mycobiota, an annotated list the regional monument "Bakla", Predgorny Crimea.

References

1. OOPT of Russia [Electronic resource] - Mode of access to the site: http://oopt.aari.ru/oopt/Bakla (in Russ.).
2. Yena V. G, Yena A. V., Yena A. V. *Protected landscapes of Taurida*, 258 p. (Simferopol: Publishing House Business Inform, 2004). (in Russ.).

3. Blagoveshchenskaya E.Y. *Phytopathogenic micromycetes: educational guide*, 240 p. (Moskow: Publishing house. Lenand, 2015). (in Russ.).
4. Ulyanischev V.I. *Determinant of rust fungi of the USSR*, 384 p. (Leningrad: Publishing House of Science, 1978. Part 2.). (in Russ.).
5. Kuprevich V.F., Ulyanischev V.I. *Determinant of rust fungi of the USSR*, 485 p. (Science and Technology, Minsk, 1975). (in Russ.).
6. Gelyuta V.P. *Flora of Ukraine fungi. Powdery mildews fungi*, 256 p. (Publishing House of Sciences Dumka, Kiev, 1989). (in Russ.).
7. Stanyavichene S.A. *Peronosporales fungi*, 208 p. (Baltic.: Mokslas Publishing House, Vilnius, 1984). (in Russ.).
8. Karatygin I.V., Azbukina Z.M. *Ustilagaceae of family*. 220 p. (Publishing House of Science, 1989). (The determinant of the USSR Order of fungi Smut, Issue 1.). (in Russ.).
9. Dudka I. O., Geluta V.P., Tichonenko Y.A. that insh. ed. I.O. Dudka. *Fungi natural areas Crimea* (Institute of botany named after M.G. Cholododny), 452 p. (Phytosotsiotsentr, Kiev, 2004) (in Ukrainian).
10. Index Fungorum [electronic resource]. 2003 Access: http://www.indexfungorum.org [web site, version 1.00] (reference date: 21.11.2018). (in English).
11. The Plant list [electronic resource]. 2013. Access mode: http://www.theplantlist.org [web site, version 1.00] (reference date: 19.11.2018). (in English).

Ученые записки Крымского федерального университета имени В. И. Вернадского
Биология. Химия. Том 5 (71). 2019. № 1. С. 85–91.

УДК [628.193:665.61+577.115]:582.272(262.5)

СОДЕРЖАНИЕ ЛИПИДОВ И НЕФТЯНЫХ УГЛЕВОДОРОДОВ В БЕРЕГОВЫХ ВЫБРОСАХ ЦИСТОЗИРЫ СЕВАСТОПОЛЬСКОГО ПОБЕРЕЖЬЯ

Миронов О. А., Муравьева И. П.

ФГБУН «Институт морских биологических исследований имени А. О. Ковалевского РАН», Севастополь, Россия
E-mail: mironov87@gmail.com

Проведено изучение содержания липидов и нефтяных углеводородов цистозиры береговых выбросов севастопольского побережья. Отмечено значительно большее содержание нефтяных углеводородов в береговых выбросах закрытой бухты по сравнению с открытым берегом. Подтверждена возможная роль береговых выбросов макрофитов во вторичном загрязнении прибрежных морских акваторий.
Ключевые слова: липиды, нефтяные углеводороды, побережье, береговые выбросы макрофитов.

ВВЕДЕНИЕ

Прибрежная мелководная акватория с одной стороны является важной рекреационной зоной, а с другой – здесь происходит концентрация загрязняющих веществ, в том числе нефтепродуктов, поступающих как со стороны моря, так и с берега. В последнем случае основное количество загрязнений попадает с ливневыми и талыми водами, смывающими загрязнения с прилегающей территории [1].

Проведенные ранее исследования дали новые данные о накоплении, выведении и трансформации углеводородов нефти (НУ) в прибрежных сообществах макрофитов и показали важность морской биоты в микропотоках углеводордов в мелководной зоне моря [2].

В непосредственной близости от контактной зоны «суша-море» происходит концентрация береговых (штормовых) выбросов, состоящих в основном из макрофитов. В севастопольском регионе в первую очередь это выбросы бурой водоросли *Cystoseira barbata* C. Agardh, 1820. Последние могут являться источником вторичного загрязнения морской воды [3, 4]. В прибрежной акватории Севастополя было отмечено снижение уровня нефтяного загрязнения морской воды [5], однако небольшие концентрации соединений липидно-углеводородной природы могут попадать в морскую воду при разложении макрофитов, выброшенных на берег. Нефтяные углеводороды накапливаются в богатых жиром тканях гидробионтов, а в последних в результате нефтяной интоксикации происходит жировое перерождение [6]. Полученные нами первые данные по содержанию липидов и углеводородов в береговых выбросах черноморской цистозиры касались общих липидов и суммы углеводородов [7]. Однако известно, что в этом комплексе играют значительную роль некоторые отдельные химические соединения. Так, в

углеводородном составе гидробионтов присутствуют канцерогенные соединения [8], а в состав липидов входят, например, такие значимые в биологическом отношении вещества, как карбоновые кислоты, и в первую очередь, жирные кислоты, играющие большую роль в физиолого-биохимических процессах организма, которые могут преобразовываться в углеводороды [9]. На данном этапе исследований мы попытались определить количество липидов и нефтяных углеводородов в береговых выбросах цистозиры, которые могут быть источником вторичного загрязнения морской среды.

Этому предшествовали многолетние работы по углеводородному составу макрофитов, произрастающих в прибрежной акватории Севастополя [2]. На этом же берегу собирались выбросы. Более конкретно эти точки указаны на рис. 1.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Отбор проб проводился ежемесячно с января по декабрь 2017 г. на двух станциях (рис. 1).

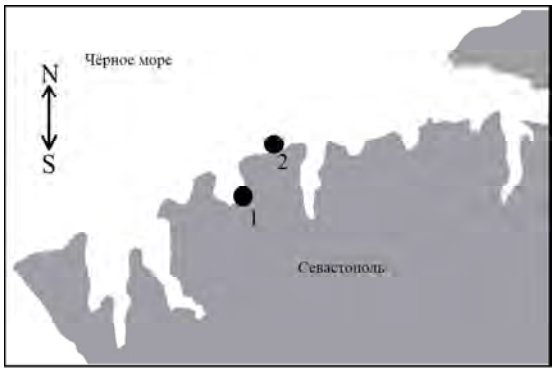


Рис. 1. Схема расположения станций отбора проб.
1 – Бухта Круглая, 2 – Парк Победы.

Станция 1 располагалась в вершине б. Круглой на песчаном берегу, а станция 2 – на открытом галечном пляже парка Победы.

Береговые выбросы представлены макрофитами и находящимся на них микроперифитоном. Береговые выбросы цистозиры, собранные на линии уреза, помещались в полиэтиленовые пакеты и доставлялись в лабораторию. 100 г макрофитов помещали в химический стакан, заливали дистиллированной водой и интенсивно перемешивали стеклянной палочкой в течение 10 минут для смыва микроперифитона. Полученную взвесь фильтровали через мельничный газ № 55. Смыв сутки отстаивали, затем осторожно сливали надосадочную воду, а осадок высушивали в токе тёплого воздуха. Параллельно отмытые талломы водорослей (приблизительно 10 г) высушивали при температуре 105° С, затем растирали в фарфоровой ступке до порошкообразного состояния. Для анализа брали навески по 100 мг сухого веса образцов микроперифитона и макрофитов в трёх повторностях, которые помещали в центрифужные пробирки и проводили трёхкратную экстракцию

смесью хлороформ – этанол (2:1). Собранные экстракты чистили по методу Фолча [10] дистиллированной водой. Липиды определяли по цветной реакции с фосфо-ванилиновым реактивом с последующим денситометрированием [11], нефтяные углеводороды гравиметрическим методом после пропускания пробы через колонку с окисью алюминия [12]. Пробы для определения нефтепродуктов получали путем гексановой экстракции из высушенного хлороформенного экстракта.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

На рис. 2 представлена сезонная динамика и среднегодовые величины содержания общих липидов и НУ (мг/100 мг сухого веса) в цистозире береговых выбросов б. Круглой и парка Победы.

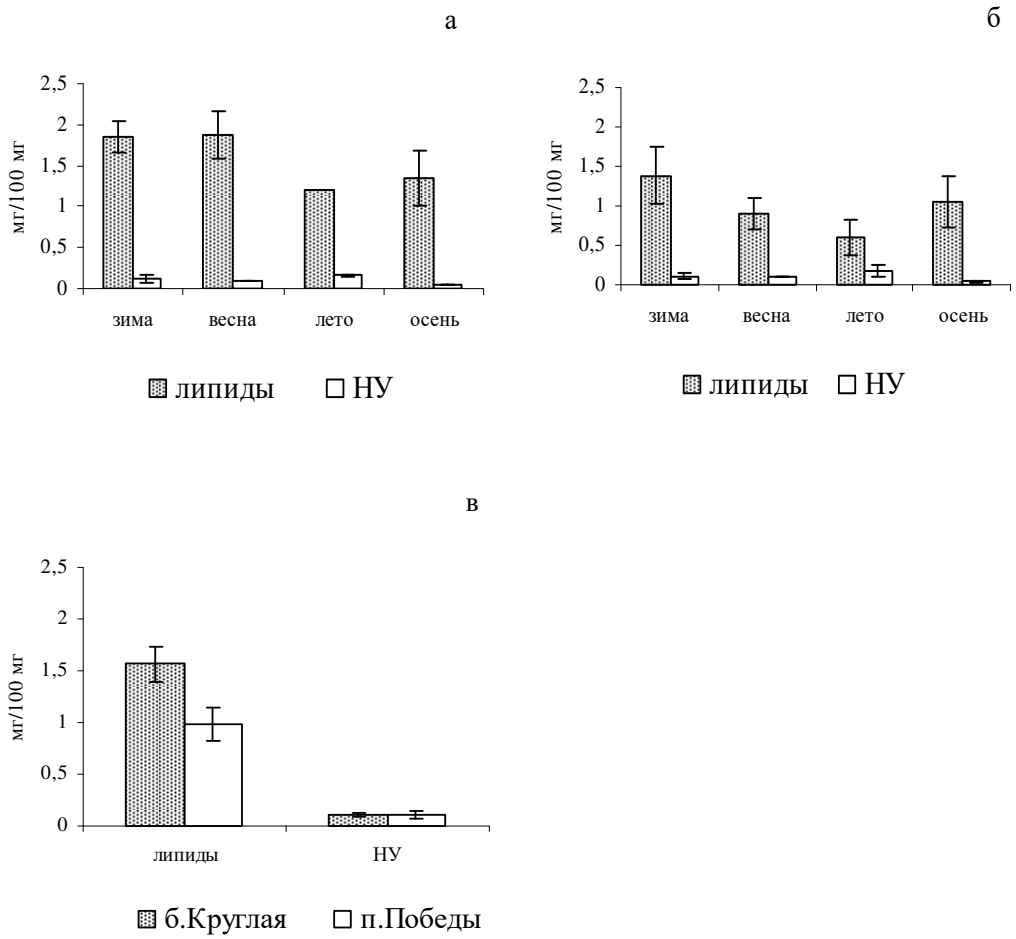


Рис. 2. Динамика и среднегодовые величины содержания липидов и нефтяных углеводородов в цистозире береговых выбросов б. Круглая (а), парка Победы (б), среднегодовые данные (в).

При сравнении среднегодовых данных по двум акваториям отмечено достоверное превышение общих липидов в б. Круглой по сравнению с парком Победы, а уровни НУ в цистозире из двух бухт были практически одинаковы, что также наблюдалось и в 2016 г. [7].

На рис. 3 представлена сезонная динамика и среднегодовые величины содержания общих липидов и НУ (мг/100 мг сухого веса) в микроперифитоне береговых выбросов б. Круглой и парка Победы.

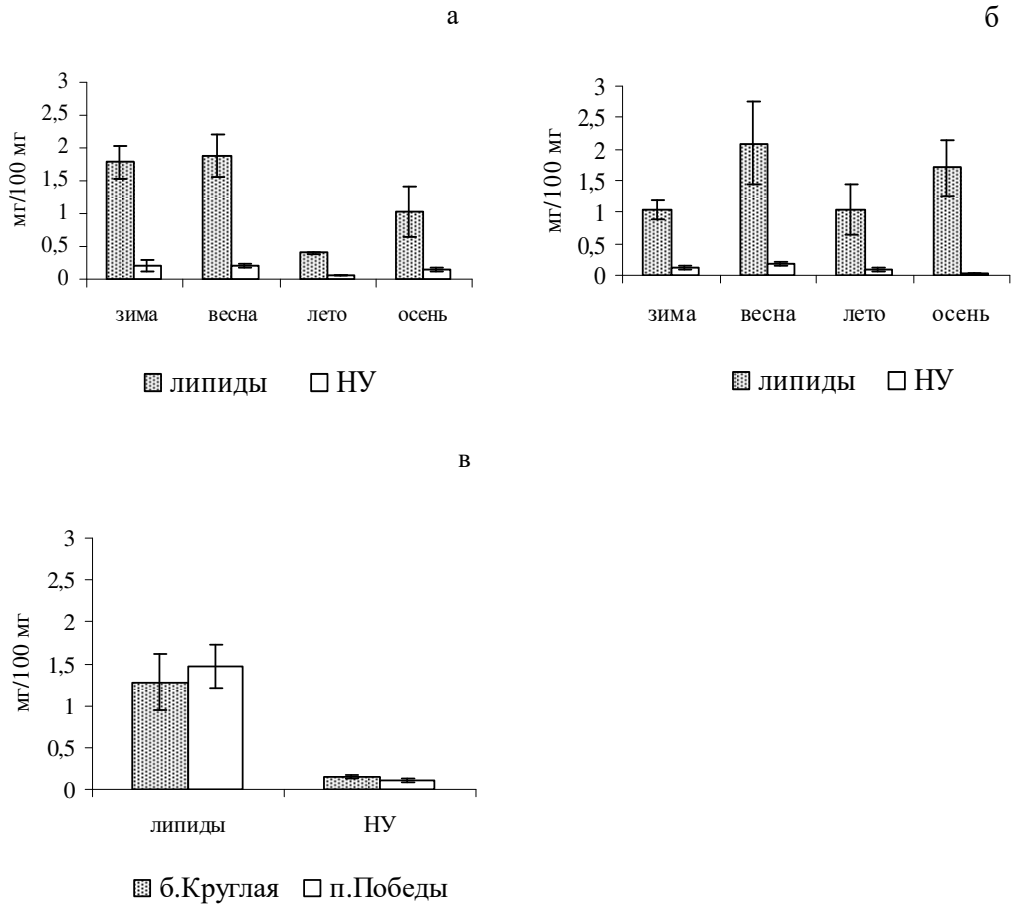


Рис. 3. Динамика и среднегодовые величины содержания липидов и нефтяных углеводородов в микроперифитоне береговых выбросов б. Круглая (а), парка Победы (б), среднегодовые данные (в).

Достоверных различий в среднегодовом содержании липидов в микроперифитоне береговых выбросов из двух бухт не обнаружено, а количество НУ в б. Круглая в 1,5 раза превышало таковое в п. Победы.

Как было отмечено ранее, б. Круглая отличается более высокой степенью загрязнённости, особенно вершинной части, что может быть связано с её закрытостью и более интенсивной антропогенной нагрузкой [7]. Так со 100 г сырого веса цистозиры береговых выбросов в б. Круглая в среднем было получено 0,915 ± 0,08 г сухого веса микроперифитона, а в п. Победы 0,346 ± 0,05 г сухого веса. В пересчёте на 1 кг сырого веса береговых выбросов в б. Круглая в микроперифитоне в среднем содержится 16,6 ± 4,1 мг нефтяных углеводородов, а в п. Победы 4,4 ± 0,8 мг НУ.

Приведенные выше данные дают информацию о содержании общих липидов и нефтяных углеводородов в береговых выбросах цистозиры.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Впервые получены данные по липидно-углеводородному составу цистозиры в береговых выбросах. Отмечено значительно большее содержание нефтяных углеводородов в береговых выбросах в б. Круглая по сравнению с открытым берегом п. Победы. Таким образом, береговые выбросы макрофитов могут быть источником вторичного загрязнения морской среды углеводородами, что вызывает необходимость периодического очищения берега от них.

Работа выполнена в рамках государственных заданий: ФГБУН ИМБИ «Молисмологические и биогеохимические основы гомеостаза морских экосистем» (№ АААА-А18-118020890090-2.)

Список литературы

1. Миронов О. Г. Состав органических компонентов ливневых стоков в районе г. Севастополя. Материалы международной конференции «Оценка расположения на суше источников загрязнения морей, омывающих государства СНГ». / Миронов О. Г. – Севастополь, ЭКОСИ-Гидрофизика, 1992. – С. 81–84
2. Миронов О. А. Нефтяные углеводороды в массовых организмах зарослевых сообществ прибрежной зоны Севастополя (Чёрное море) : автореф. дис. … канд. биол. наук : 03.02.10. / Миронов О. А. – Севастополь, 2014. – 24 с.
3. Блинова Е. И. Штормовые выбросы макрофитов. Условия формирования и влияние на экологическое состояние моря (на примере Анапской бухты, Чёрное море) / Блинова Е. И., Сабурин М. Ю. // Труды ВНИРО. – 2005. – Т. 144. – С. 286–293.
4. Жильцова Л. В. Штормовые выбросы макрофитов в Приморье: источник загрязнения моря или полезное сырье? / Жильцова Л. В. // Вестник Морского государственного университета. Серия: Теория и практика защиты моря. Владивосток: Мор. гос. ун-т, 2011. – Вып. 48/2011. – С. 7–12.
5. Миронов О. Г. Нефтяные углеводороды в морской воде прибрежных акваторий г. Севастополя. / Миронов О. Г., Миронов О. А. // Защита окружающей среды в нефтегазовом комплексе. – 2015. – № 9. – С. 25–29.
6. Миронов О. Г. Взаимодействие морских организмов с нефтяными углеводородами. / Миронов О. Г. – Л. : Гидрометеоиздат, 1985. – 128 с.
7. Миронов О. А. Нефтяные углеводороды и общие липиды в береговых выбросах *Cystoseira barbata* (Stack.) C. Agardh в прибрежной зоне Севастополя (Черное море). / Миронов О. А., Муравьева И. П. // Морской биологический журнал. – 2017. – Т. 2., № 2. – С. 49 – 54.

8. Schekaturina T.L. Carcinogenic Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in Mussels from the Black Sea. / Schekaturina T.L., Khesina A.L., Mironov O.G. Krivosheeva L.G. // Marine Pol. Bul. – 1995 – Vol. 30, №1. – P. 38–40.
9. Sorigué D. An algal photoenzyme converts fatty acids to hydrocarbons / D. Sorigué, B. Légeret, S. Cuiné, S. Blangy, S. Moulin, E. Billon, P. Richaud, S. Brugière, Y. Couté, D. Nurizzo, P. Müller, K. Brettel, D. Pignol, P. Arnoux, Y. Li-Beisson, G. Peltier, F. Beisson // Science. – 2017. – Vol. 357, No 6354. – P. 903–907.
10. Folch J. A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues. / Folch J., Lees M., Stanley G.H. // J. Biol. Chem. – 1957. – Vol. 226, №1. – P. 497–502.
11. Руководство по современным биохимическим методам исследования водных экосистем, перспективных для промысла и марикультуры / Под ред. А. И. Агатовой – Москва, 2004. – С. 123.
12. Леоненко И. И. Методы определения нефтепродуктов в водах и других объектах окружающей среды (обзор) / И.И. Леоненко, В.П. Антонович, А.М. Андрианов, И.В. Безлуцкая, К.К. Цымбалюк // Методы и объекты химического анализа. – 2010. – Т.5, №2. – С. 58–72.

THE CONTENT OF LIDIPS AND HYDROCARBONS IN CYSTOSEIRA COASTAL EMISSIONS OF SEVASTOPOL REGION

Mironov O. A., Muraviova I. P.

A.O. Kovalevsky Institute of Marine Biological Research RAS, Sevastopol, Russia
E-mail: mironov87@gmail.com

The coastal shallow water area on the one hand is an important recreational zone, and on the other – it accumulates pollutants, including oil hydrocarbons coming from both the sea and the shore. In this case, the main amount of pollution comes from storm water and melt water, washing away pollution from the surrounding area.

Previous studies have provided new data on the accumulation, excretion and transformation of oil hydrocarbons in coastal macrophyte communities and have shown the importance of marine biota in micro flows of hydrocarbons in the shallow sea area. Oil hydrocarbons accumulate in the lipid-rich tissues of hydrobionts, where a fat degeneration can occur as a result of oil intoxication.

Coastal (storm) emissions are concentrating mainly in the direct vicinity of the contact zone "land-sea" and are consisting mainly of macrophytes. A brown algae *Cystoseira barbata* C. Agardh, 1820 makes a major contribution into storm emissions of the Sevastopol region. This emissions latter can be a source of secondary pollution of sea water and the shore by oil hydrocarbons.

The amount of lipids and oil hydrocarbons of cystoseira coastal emissions and microperiphyton from the surface of algae is determined. This work was preceded by multiyear research of the hydrocarbon composition of the macrophytes growing in the coastal waters of Sevastopol.

Microperiphyton was flushed from the surface of cystoseira by intense stirring of the algae in glass with distilled water for 10 minutes. The resulting suspension was filtered and dried in a current of warm air. Lipids were determined by the phospho-vanillin color reaction with further densitometry, and oil hydrocarbons were determined gravimetrically. Samples were taken monthly from January to December 2017 in two stations, one of which was located in the sandy shore and the other one in the pebbled beach.

A significantly higher content of oil hydrocarbons in the coastal emissions of the closed bay compared to the open shore was noted on the background of the general decrease in the oil pollution of the region over the last years. The results obtained may be explained by more intense anthropogenic pressure on the Kruglaya Bay, especially its apical part.

There were no significant differences in the average annual content of lipids in the microperiphyton of coastal emissions from the two bays, and the amount of oil hydrocarbons in Kruglaya Bay was 1.5 times higher than that in Park Pobedy. In recalculation for 1 kg of wet weight the microperiphyton of coastal emissions in Kruglaya Bay contains averagely 4 times more oil hydrocarbons than microperiphyton from Park Pobedy.

The possible role of coastal macrophyte emissions in secondary pollution of coastal marine areas is confirmed, that leads to the necessity of the regular cleansing of the shore from them.

***Keywords*:** lipids, hydrocarbons, oil hydrocarbons, coast, coastal macrophyte emissions.

References

1. Mironov O. G., The composition of the organic components of stormwater runoff in the city of Sevastopol. *Proceedings of the international conference «Assessment of the location on land of pollution sources of the seas washing the CIS countries»* (Sevastopol, 1992), p. 81.
2. Mironov O. A., *Petroleum hydrocarbons in the mass organisms of the spinney communities of Sevastopol coastal area (Black Sea),* 24 p. (Sevastopol: ECOSY-Hydrophysics, 2014).
3. Blinova E. I., Saburin M. Yu., Macrophyte storm emissions. Formation conditions and the influence on the ecological state of the sea (on the example of the Anapa bay, Black sea). *VNIRO Proceedings*. **144**, 286 (2005).
4. Zhiltsova L. V., Macrophyte storm emissions of the Primorye: a pollution source for the sea or a valuable resource? *Marine State Univercity Herald. Series: Theory and practice of the sea protection.* Vladivostok: Mar. St. Univ., **48**, 7 (2011).
5. Mironov O. G., Mironov O. A., Petroleum hydrocarbons in the sea water of Sevastopol, *Environmental protection in oil and gas complex*, **9**, 25 (2015).
6. Mironov O. G., *Interaction of marine organisms with petroleum hydrocarbons*, 128 p. (L., Gidrometeoizdat, 1985).
7. Mironov O. A., Muraviova I. P., Petroleum hydrocarbons and total lipids in the coastal emissions of *Cystoseira barbata* (Stack.) C. Agardh of Sevastopol shore (Black Sea), *Marine biological journal*, **2** (2), 49 (2017).
8. Schekaturina T. L., Khesina A. L., Mironov O. G., Krivosheeva L. G., Carcinogenic Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in Mussels from the Black Sea, *Marine Pollution Bulletin*, **30** (1), 38 (1995).
9. Sorigué D., Légeret B., Cuiné S., Blangy S., Moulin S., Billon E., Richaud P., Brugière S., Couté Y., Nurizzo D., Müller P., Brettel K., Pignol D., Arnoux P., Li-Beisson Y., Peltier G., Beisson F., An algal photoenzyme converts fatty acids to hydrocarbons, *Science*, **357** (6354), 903 (2017).
10. Folch J., Lees M., Stanley G .H. A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues. *J. Biol. Chem*., **226** (1), 497 (1957).
11. Agatova A. I. *A guideline for the modern biochemical methods for the study of the aquatic ecosystems perspective for fishing and mariculture*, 123 p. (VNIRO, 2004).
12. Leonenko I. I., Antonovich V. P., Andrianov A. M., Bezlutskaya I. V. Tsimbalyuk K .K. Methods of the petroleum hydrocarbons determination in water and other environmental objects (overview). *Methods and objects of the chemical analysis*, **5** (2), 58 (2010).

Ученые записки Крымского федерального университета имени В. И. Вернадского
Биология. Химия. Том 5 (71). 2019. № 1. С. 92–106.

УДК 639.4 (262.5)

ФОРМИРОВАНИЕ ПОСЕЛЕНИЙ МИДИЙ *MYTILUS GALLOPROVINCIALIS* (LAMARCK, 1819) НА КОЛЛЕКТОРАХ ФЕРМЫ В БУХТЕ ЛАСПИ В ЗАВИСИМОСТИ ОТ ЭКОЛОГИЧЕСКИХ ФАКТОРОВ

Пиркова А. В., Ладыгина Л. В., Щуров С. В.

ФГБУН Институт морских биологических исследований РАН, Севастополь, Республика Крым, Россия
E-mail: maricultura@mail.ru

Мидия *M. galloprovincialis* – один из основных объектов промышленного выращивания в Азово-Черноморском бассейне. Современная технология выращивания мидий базируется на подращивании молоди, собранной в естественных условиях на коллекторах фермы в период массового оседания личинок. Получение посадочного материала требует надёжных сведений об условиях и особенностях размножения этих моллюсков. В течение 02.2010–03.2011 гг. изучали динамику масс-размерных характеристик, состояние зрелости гонад и половую структуру. Представлены микрофотографии гистологических препаратов гонад шести стадий репродуктивного цикла самок и самцов мидий и гонад гермафродитов. Сроки достижения мидиями половозрелости и товарного размера определяются начальными темпами роста, которые выше у мидий весенней генерации, что подтверждает преимущество сбора спата на коллекторах фермы в весенний сезон. Величина общего веса и массы мягких тканей мидий товарного размера (≤50 мм) была максимальна в преднерестовый период и в период массового нереста. Показано, что аллометрические соотношения размерных и весовых характеристик мидий зависят от размерного состава поселений мидий на коллекторах фермы и полового созревания. В периоды весеннего и осенне-зимнего массового нереста отмечено примерно равное соотношение самок и самцов. Доля гермафродитов в разные месяцы составила от 0 до 3.2%. Отмечено достоверное преобладание доли самцов после весеннего массового нереста, что объясняется частичным опаданием самок крупных размеров с коллекторов фермы. Обсуждается вопрос реализации пола у мидий. Формирование поселений мидий на коллекторах фермы в бухте Ласпи, интенсивность линейного роста моллюсков, сроки наступления половой зрелости и продолжительность массового нереста мидий зависят от сезонных изменений экологических факторов.
Ключевые слова: мидия *Mytilus galloprovincialis,* морская ферма, масс-размерные характеристики, репродуктивный цикл, половая структура, Чёрное море.

ВВЕДЕНИЕ

Мидия *M. galloprovincialis* – один из основных объектов промышленного выращивания в Азово-Черноморском бассейне; широко используется в качестве лечебно- профилактического питания, как сырье для приготовления медицинских препаратов, а также в генетических и физиолого-биохимических исследованиях. Современная технология выращивания мидий базируется на подращивании молоди, собранной на коллекторах фермы в период массового оседания личинок. Динамика численности личинок в планктоне определяется процессами нереста мидий илового и скального биотопов, которые в различных районах протекают с некоторым сдвигом во времени в связи с распространением с юга на север и северо-запад

соответствующих нересту температур. Получение посадочного материала требует надежных сведений об условиях и особенностях размножения этих моллюсков. Характеристика репродуктивного цикла мидий в зависимости от экологических условий района необходимы также и в связи с сезонными изменениями их веса.

О размножении мидий Чёрного моря опубликовано значительное количество работ [1–10]. Известно, что массовый нерест повторяется два раза в год: весной и осенью. При благоприятных температурных условиях мидии могут нереститься в зимний период. Установлено, что гаметогенез у мидий *M. galloprovincialis* замедляется при температуре выше 20,5°С, а рост ооцитов прекращался при температуре ниже +3,5°С. В пределах температурной резистентности вида репродуктивная стратегия моллюсков зависит от количества пищи. Обилие пищи способствует развитию гамет, а при её недостатке наблюдается подавление гаметогенеза, хотя полной остановки её не происходит. Установлено, что экологические факторы, изменяющиеся на протяжении полового цикла, воспринимаются как сигналы к нересту только особями со зрелыми гонадами [11]. И только постоянное взаимодействие внутренних и внешних факторов регулирует репродуктивный цикл.

Цель работы: Установить зависимость линейного и весового роста, репродуктивного цикла и динамики формирования поселений мидий на коллекторах фермы от сезонных изменений температуры воды и биомассы кормового фитопланктона в бухте Ласпи.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Работу проводили в течение 02.2010–03.2011 гг. Материалом послужили моллюски, отобранные в виде друзы с коллекторов мидийной фермы, расположенной в бухте Ласпи (ЮБК: 44°24'56"N; 33°42'19"E), с глубины 3-х метров.

Пробы воды на определение видового состава и концентрации фитопланктона отбирали на глубине 3 м. Затем сгущали методом обратной фильтрации через ядерные мембраны с диаметром пор 1 мкм. Обработку проб проводили при помощи микроскопа «Биолам» методом прямого счёта в камере живой и сгущенной капли объёмом 1.0 мл и 0.01мл соответственно. Биомассу фитопланктона рассчитывали согласно [12].

Длину раковины моллюсков определяли при помощи штангенциркуля (с точностью до 0.01 мм); общий вес, массу раковины и мягких тканей – при помощи весов ВЛК-М 500 (до 0.01 г). После вскрытия моллюска и высушивания межстворчатой жидкости фильтровальной бумагой, массу мягких тканей рассчитывали как разницу между массой мягких тканей с раковиной и массой раковины. Всего обработано 503 экз. мидий.

Параметры степенных уравнений и коэффициенты детерминации R^2 определяли по программе «Диаграмма» (Windows-2003); средние значения и доверительные интервалы – по программе «Excel». Зависимость общего веса, массы раковин и массы мягких тканей от длины раковины мидий представлены степенными уравнениями:

$$W = a \cdot L^b, \qquad (1)$$

где a – коэффициент пропорциональности; b – показатель степени; L – длина раковины; мм; $W_{общ}$ – общий сырой вес до вскрытия моллюска, г; $W_{рак}$; $W_{м.тк}$ – соответственно масса раковины и мягких тканей, г.

Половую принадлежность и стадии репродуктивного цикла мидий определяли на мазке гонад при помощи микроскопа «Bresser» (x200), основываясь на анализе гистологических препаратов гонад. Гистологические препараты гонад готовили согласно ранее описанной методике; препараты окрашивали гематоксилином по Делафильду [7]. Фотографии стадий репродуктивного цикла были обработаны в Adobe Photoshop (версия 3), используя контраст, оптимизацию цвета и фильтр.

В соответствии с литературными [11] и собственными данными [7] мы выделяли шесть стадий репродуктивного цикла, которые перекрываются и постепенно переходят в последующую стадию (рис.1; рис. 2).

1 стадия – относительного покоя. Гонады тонкие, прозрачные. По краям ацинусов видны недифференцированные половые клетки и ооциты 1 стадии. Соединительная ткань максимально развита. На мазке гонад у самок – небольшое количество ооцитов периода малого роста, у самцов – сперматогонии (рис. 1A; рис. 2A).

2 стадия – начало гаметогенеза. Гонады слабо заполнены ооцитами 1 и 2 стадий, тесно примыкающими к базальной мембране ацинуса. У самцов сперматогенный слой состоит из сперматогоний и сперматоцитов. На мазке гонад у самок видны ооциты периода малого роста, у самцов – сперматоциты (рис. 1B; рис. 2B).

3 стадия – активного гаметогенеза. Гонады средней наполненности. Цвет типичный для половозрелых гонад. В ацинусах – ооциты 3 стадии грушевидной формы, соединённые тонким мостиком с базальной мембраной ацинуса. В гонадах самцов сперматогенный слой занимает значительный объём ацинусов. На мазке гонад у самок видны ооциты периода большого роста вытянутой формы. В гонаде самцов – сперматоциты и малоподвижные спермии (рис. 1C; рис. 2C).

4 стадия – преднерестовая. Гонады достигают максимального размера, плотные, полностью заполнены половыми продуктами. Окраска гонад у самок белая, оранжевая, розовая; у самцов - белая, желтая, оранжевая. В ацинусах гонад самок в основном ооциты с ядрами 4 стадии, проходящие профазу мейоза, и меньшее количество ооцитов 4 стадии без ядер, проходящие метафазу I мейотического деления. В гонадах самцов сперматозоиды занимают почти весь просвет ацинусов. В сперматогенном слое – сперматоциты. На мазке гонад – подвижные сперматозоиды (рис. 1D; рис. 2D).

5 стадия – нерестовая. Гонады в состоянии нереста с разной степенью освобождения от половых продуктов. Ацинусы самок заполнены в основном ооцитами 4 стадии без ядер. Ооциты 1 и 2 стадий встречаются единично. В ацинусах гонад самцов – сперматозоиды; сперматогенный слой отсутствует. На мазке гонад самок видны круглые яйцеклетки без ядер, у самцов – множество подвижных сперматозоидов (рис. 1E; рис. 2E).

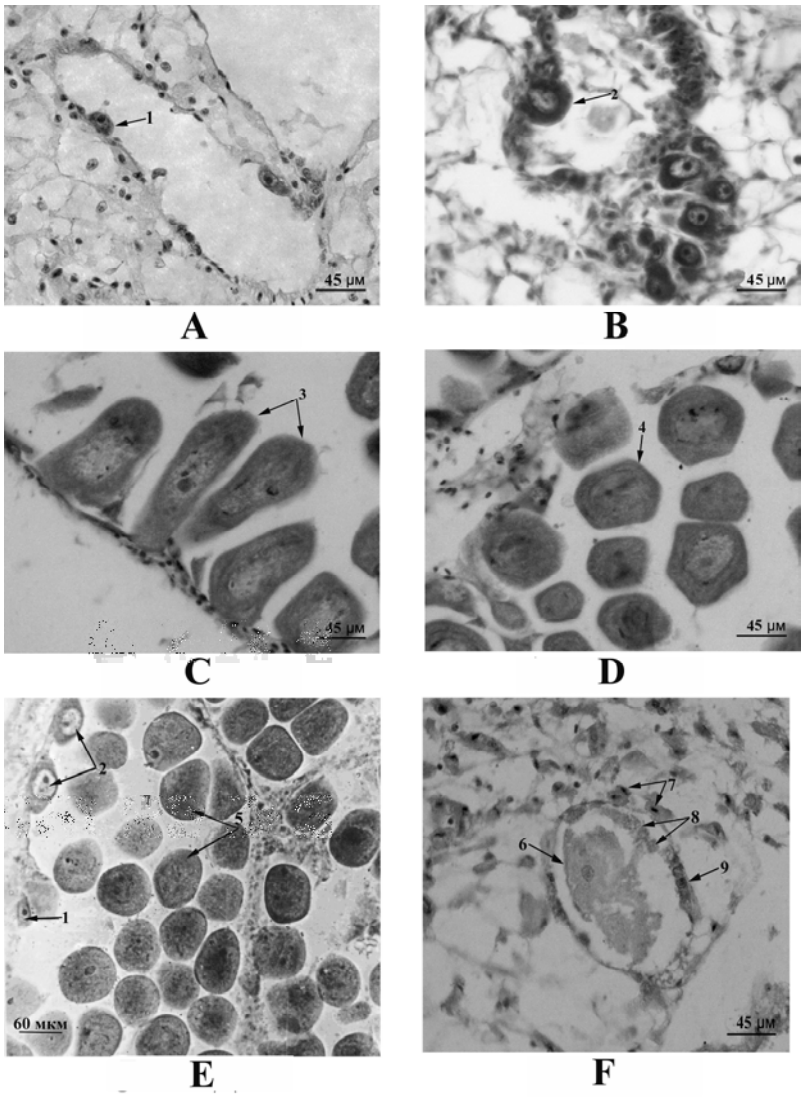


Рис 1. Стадии зрелости гонад самки *Mytilus galloprovincialis*: A – 1-я стадия относительного покоя; B – 2-я стадия начала гаметогенеза; C – 3-я стадия активного гаметогенеза; D – 4-я преднерестовая стадия; E – 5-я нерестовая стадия; F – 6-я стадия посленерестовой перестройки. Обозначения: 1-ооциты 1 стадии; 2 – ооциты 2 стадии; 3 – ооциты 3 стадии; 4 – ооциты 4 стадии с ядрами; 5 – ооциты 4 стадии без ядер; 6 – резорбция ооцита; 7 – питательные клетки; 8 – амебоциты; 9 – оогонии.

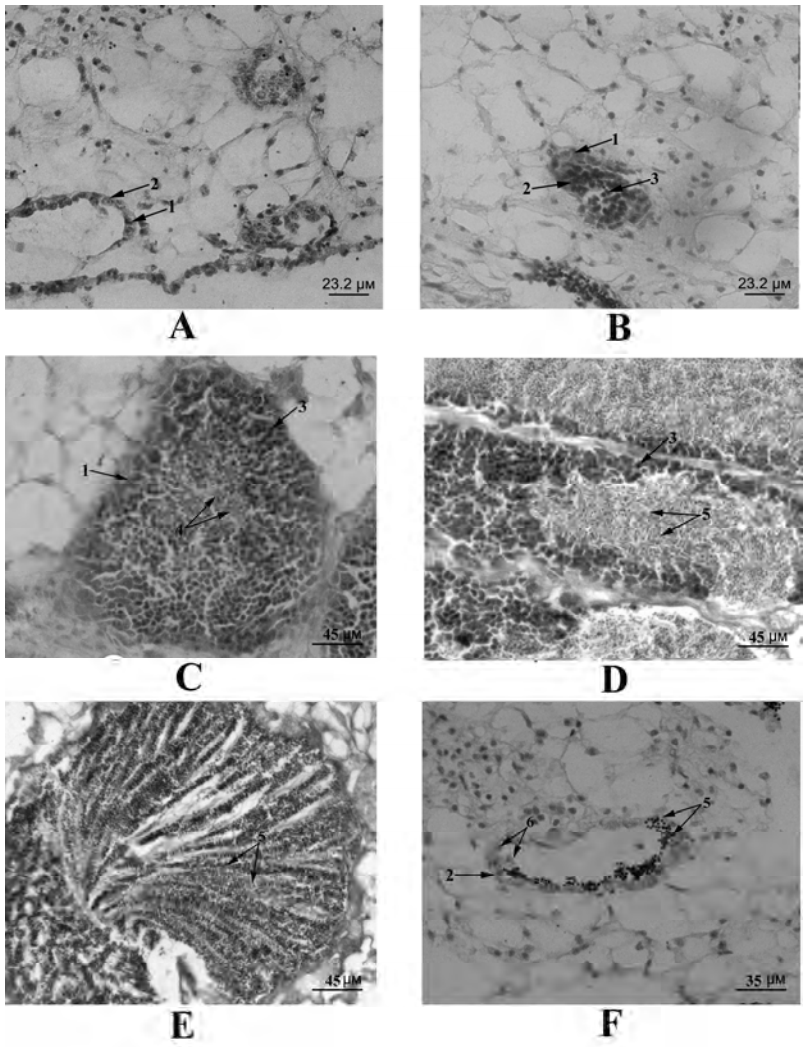


Рис. 2. Стадии зрелости гонад самцов *Mytilus galloprovincialis*: A – 1-я стадия относительного покоя; B – 2-я стадия начала гаметогенеза; C – 3-я стадия активного гаметогенеза; D – 4-я преднерестовая стадия; E – 5-я нерестовая стадия; F – 6-я стадия посленерестовой перестройки. Обозначения: 1 – сперматогенный слой; 2 – сперматогонии; 3 – сперматоциты; 4 – спермии; 5 – сперматозоиды; 6 – амебоциты.

6 стадия – посленерестовой перестройки. Гонады тонкие с островками ацинусов с оставшимися после нереста половыми клетками, где происходит их резорбция. У стенок ацинусов видны оогонии или сперматогонии. В тканях гонады много питательных клеток и амебоцитов. На мазке гонад самок – единичные яйцеклетки и амебоциты; у самцов – единичные подвижные сперматозоиды и амебоциты (рис. 1F; рис. 2F).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Формирование поселения мидий на коллекторах фермы происходило в течение 2.5 лет и представлено тремя генерациями в начале периода исследования и пятью генерациями – в конце (табл.1).

Возраст мидий длиной раковины 16–25 мм, 26–40 мм, 41–55 мм, 56–65 мм и более 66 мм соответствовал возрасту 8 месяцам, более 1 года, 1.5 года и 2.0 лет и 2.5 года. Спат мидий отмечали после осеннего или весеннего периодов массового нереста в феврале, мае-июле 2010 г. и январе-феврале 2011 г. В апреле 2010 г., через 1.5 года выращивания, мидии товарного размера (≤50 мм) составили 60% выборки, а в ноябре – более 80%.

Таблица 1.

Размерная структура коллекторных мидий (б. Ласпи, глубина 2 м), в %

Дата отбора проб	Размерные классы, мм					Выборка, экз.
	16-25	26-40	41-55	56-65	≤66	
19.02.2010	11.6	66.7	21.7	0	0	60
25.03	0	80.0	18.7	1.3	0	75
29.04	0	40.7	55.9	3.4	0	59
13.05	3.6	32.1	58.9	5.4	0	56
08.07	5,7	34.7	53.8	5.8	0	52
13.09	0	15.1	79.2	5.7	0	53
28.10	1.9	25.0	59.6	13.5	0	52
17.11	0	17.4	59.6	19.2	3.8	52
14.12	0	31.4	52.9	13.7	2.0	51
20.01.2011	12.6	21.2	46.5	19.7	0	71
28.02	24.2	16.2	32.2	14.5	12.9	62
18.03	1.7	22.4	34.5	29.3	12.0	58

Сроки достижения моллюсками товарного размера зависят от экологических условий и сезона оседания. Так, мидии, осевшие мае-июне 2009 г, достигли товарного размера (≤50 мм) в ноябре 2010 г., т.е. за 17 месяцев выращивания. Относительно высокая температура воды и высокая биомасса фитопланктона в поздне-весенний сезон (10–15°С; 250–300 мг·м$^{-3}$) и летне-осенний период (20–15°С; 400–200 мг·м$^{-3}$) способствовали более интенсивному росту моллюсков, осевших весной и в начале лета. Мидии осенней генерации 2009 г. достигли товарного размера за 20–22 месяца, что связано с замедлением линейного роста при низкой температуре воды и низких значениях биомассы фитопланктона (8–10°С; 50–125 мг·м$^{-3}$). Аналогичные данные были получены при исследовании роста мидий на коллекторах фермы в бухте Батилиман [9].

Продолжительность выращивания мидий до товарного размера у западных берегов Крыма составила 18–20 месяцев [4]. В Судакской бухте культивируемые мидии достигали длины 50 мм за 12–14 месяцев [3]. Сходные данные получены для моллюсков у Болгарского побережья, где до 50 мм мидии вырастали за 14 месяцев

[2]. Наиболее продолжительные сроки, необходимые для достижения мидиями товарного размера – в Керченском проливе и северо-западной части Чёрного моря, где за два года выращивания мидии вырастали до 40 мм [4].

Известно, что соотношение между длиной раковины и массой мягких тканей моллюсков зависит от факторов среды, репродуктивного состояния, количества и качества корма и изменяется по сезонам [13; 8]. Средние значения общего веса максимальны в весенний и осенний сезоны и зависят от длины раковины мидий. Для целей марикультуры особый интерес представляет оценка динамики массы выращиваемых мидий, как функции репродуктивной активности с учетом их линейного роста для каждого района расположения марихозяйства, так как генеративная продукция определяет качество моллюсков.

Величина массы мягких тканей мидий изменялась в течение года в широких пределах. В таблице 2 представлены параметры соотношения общего веса и длины раковины; в таблице 3 – зависимость массы мягких тканей от длины раковины коллекторных мидий за период исследования. Аллометрические соотношения размерных и весовых характеристик мидий зависят от размерного состава поселений мидий на коллекторах фермы и полового созревания. Высокие коэффициенты детерминации свидетельствуют о тесной связи весовых и линейных характеристик. Наличие минимальных размерных классов в выборках моллюсков за февраль и июнь 2010 г, а также январь-февраль 2011 г. свидетельствуют о пополнения поселения новыми генерациями мидий. Максимальные размеры и средние значения длины моллюсков за апрель-май и июль 2010 г. достоверно не отличались, что, вероятно, связано с торможением темпа роста в период массового нереста и частичным опаданием с коллекторов мидий крупных размеров после окончания нереста.

Таблица 2.

Параметры зависимости общего веса мидий от длины раковины

Дата отбора проб	Min-max размеры мидий, *L*, мм	Средняя длина, *L*, мм	Средний общий вес, *W*,г	*a*	*b*	R^2
19.02.2010	18.0 – 48.5	33.1 ± 0.04	2.94 ± 0.41	0.0002	2.6573	0.9114
25.03	25.5 – 59.9	35.4 ± 1.45	2.96 ± 0.37	0.0001	2.7524	0.8930
29.04	25.2 – 60.1	41.5 ± 2.03	5.35 ± 0.67	0.0002	2.7561	0.9151
13.05	23.3 – 61.6	42.4 ± 2.01	5.66 ± 0.77	0.0002	2.7699	0.9348
08.07	19.2 – 60.1	42.0 ± 2.52	5.99 ± 0.88	0.0003	2.5922	0.9549
13.09	29.3 – 62.7	47.8 ± 1.69	9.02 ± 0.93	0.0002	2.7856	0.8803
28.10	24.4 – 60.3	45.4 ± 2.71	8.13 ± 1.15	0.0002	2.6980	0.9664
17.11	23.0 – 65.5	48.1 ± 2.79	9.87 ± 1.42	0.0001	2.8734	0.9826
14.12	28.9 – 67.3	45.6 ± 2.52	7.80 ± 1.25	0.0003	2.6298	0.9052
20.01.2011	18.0 – 64.5	44.4 ± 2.94	9.08 ± 1.34	0.0001	2.9620	0.9911
28.02	18.9 – 81.9	49.1 ± 5.46	13.03 ± 2.96	0.0001	2.8620	0.9884
18.03	23.9 – 76.0	50.6 ± 3.15	9.28 ± 1.50	0.0002	2.7397	0.9668

Примечание: R^2 – коэффициент детерминации.

Величины общего веса и массы мягких тканей мидий товарного размера (≤50 мм) были максимальны в апреле-мае и сентябре 2010 г., а также январе и марте 2011 г., что связано с увеличением массы гонад в преднерестовый период и в период массового нереста (см. табл. 3). Потери массы моллюсков в период нереста связаны с выметом половых продуктов и энергетическими тратами на процесс размножения. Эти величины можно выразить разностью между массой мягких тканей одноразмерных мидий до массового нереста и после его окончания. Принимается во внимание, что линейный рост мидий в период нереста замедляется. Для мидий товарного размера эти величины составили в среднем 25% от их массы до нереста за весенний нерестовый период и 40% – за осенний, что связано с продолжительным осенне-зимним нерестом 2010–2011 гг.

Неоднородность размерно-возрастной структуры поселений являются главными причинами асинхронности и растянутости гаметогенеза, которые в свою очередь обусловливают асинхронность нереста.

Таблица 3.

Параметры зависимости массы мягких тканей мидий от длины раковины

Дата отбора проб	Min-max размеры мидий, *L*, мм	Средняя длина, *L*, мм	Средняя масса мягких тканей, *W*, г	*a*	*b*	R^2
19.02.2010	18.0 – 48.5	33.1 ± 0.04	0.95 ± 0.12	0.00005	2.7510	0.8801
25.03	25.5 – 59.9	35.4 ± 1.45	1.13 ± 0.13	0.0001	2.5838	0.8876
29.04	25.2 – 60.1	41.5 ± 2.03	1.97 ± 0.22	0.0003	2.3296	0.9471
13.05	23.3 – 61.6	42.4 ± 2.01	2.26 ± 0.29	0.00005	2.8191	0.9268
08.07	19.2 – 60.1	42.0 ± 2.52	1.78 ± 0.28	0.00002	2.9838	0.9477
13.09	29.3 – 62.7	47.8 ± 1.69	2.61 ± 0.24	0.00006	2.7345	0.9125
28.10	24.4 – 60.3	45.4 ± 2.71	2.16 ± 0.30	0.00006	2.7387	0.9401
17.11	23.0 – 65.5	48.1 ± 2.79	2.97 ± 0.42	0.00003	2.9091	0.9495
14.12	28.9 – 67.3	45.6 ± 2.52	1.67 ± 0.26	0.00002	2.8910	0.8747
20.01.2011	18.0 – 64.5	44.4 ± 2.94	2.18 ± 0.31	0.00002	2.9843	0.9691
28.02	18.9 – 81.9	49.1 ± 5.46	3.07 ± 0.66	0.00003	2.8651	0.9893
18.03	23.9 – 76.0	50.6 ± 3.15	3.35 ± 0.52	0.00003	2.9427	0.9694

По доминирующим процессам можно выделить период зимнего (декабрь-январь) и летне-осеннего (июль-сентябрь) гаметогенеза (табл. 4).

Оставаясь в целом невысокой в течение года, доля мидий, проходящих стадии относительного покоя и начала гаметогенеза, увеличивалась после окончания массового нереста (май 2010 г.). Максимальное количество мидий, проходящих стадию активного гаметогенеза, было отмечено в апреле-июле и сентябре-декабре 2010 г. В течение мая-июля количество особей на этой стадии практически оставалось на одном уровне, т.е. имеет место замедление процессов гаметогенеза,

которое обусловлено высокой температурой воды (21–25°С) (рис. 3А). Биомасса фитопланктона в этот период составила около 200 мг·м$^{-3}$ (рис. 3В).

Таблица 4.
Динамика созревания гонад и половая структура мидий (в %)

Дата отбора проб	Стадии зрелости гонад						Соотношение полов ♀:♂:⚥	Выборка, экз.
	1	2	3	4	5	6		
19.02.2010	1.7	0	21.7	6.7	48.3	21.7	48.3 : 50.0 :1.7	60
25.03	2.7	2.7	13.3	8.0	64.0	9.3	44.0 : 54.7 :1.3	75
29.04	0	15.3	54.2	23.7	3.4	3.4	50.8 : 49.2 : 0	59
13.05	7.1	32.1	51.8	7.1	1.8	0	44.6 : 55.4 : 0	56
08.07	26.9	21.2	50.0	0	0	1.9	25.0 : 75.0 : 0	52
13.09	3.8	43.4	47.2	5.7	0	0	34.0 : 66.0 : 0	53
28.10	0	3.8	38.5	17.3	28.8	11.5	38.5 : 61.5 : 0	52
17.11	3.8	7.7	38,5	26.9	9.6	13.5	32.7 : 67.3 : 0	52
14.12	5.9	3.9	41.2	7.8	21.7	19.6	31.3 : 66.7 : 2.0	51
20.01.2011	30.0	0	26,2	30.8	23.1	16.9	46.5 : 50.7 : 2.8	71
28.02	0	4.3	27.7	19.1	21.0	16.1	53.2 : 43.5 : 3.2	62
18.03	0	1.7	1.7	8.6	77.8	10.3	44.4 : 55.6 : 0	58

Примечание: 1–3 стадии – гаметогенеза; 4 стадия – преднерестовая; 5 стадия – нерестовая; 6 стадия – посленерестовой перестройки; ♀ – самка; ♂— самец; ⚥ –гермафродит.

Продолжительное воздействие высокой температуры, при которой скорость фильтрации снижена, как и недостаток пищи, замедляет процессы гаметогенеза мидий [9]. Весенний массовый нерест отмечали в течение февраля-марта с пиком в конце марта – более 70 % нерестящихся мидий (суммарная доля мидий на 5 и 6 стадиях) (см. рис. 3). В этот период биомасса фитопланктона составила более 200 мг·м$^{-3}$. Доминировали по численности кокколитофорида *Emiliania huxleyi* (Lohmann) W.W. Hay & H.P. Mohler, 1967 и скелетонема *Skeletonema costatum* (Greville) Cleve, 1873 – основные кормовые объекты мидий. Во второй половине лета и в сентябре при стабильно высокой температуре воды (выше 25°С) мидии не нерестились. При оптимальной для нереста температуре воды (около 8°С) и низкой биомассе фитопланктона (около 100 мг·м$^{-3}$) наблюдался слабо выраженный осенне-зимний нерест (около 40 % нерестящихся особей). Он продолжался в течение октября-декабря 2010 г. и января-марта 2011 г. с пиком в марте 2011 г при увеличении биомассы кормового фитопланктона (более 200 мг·м$^{-3}$), представленного видами: *S. costatum, Prorocentrum cordatum* (Ostenfeld) J.D.Dodge, 1975*, P. micans* Ehrenberg, 1834*, Gymnodinium wulffii* J. Schiller, 1933, *Gyrodinium pingue* (Schütt) Kofoid & Swezy, 1921, *E. huxleyi, Scrippsiella trochoidae*(Stein) Loeblich III, 1976.

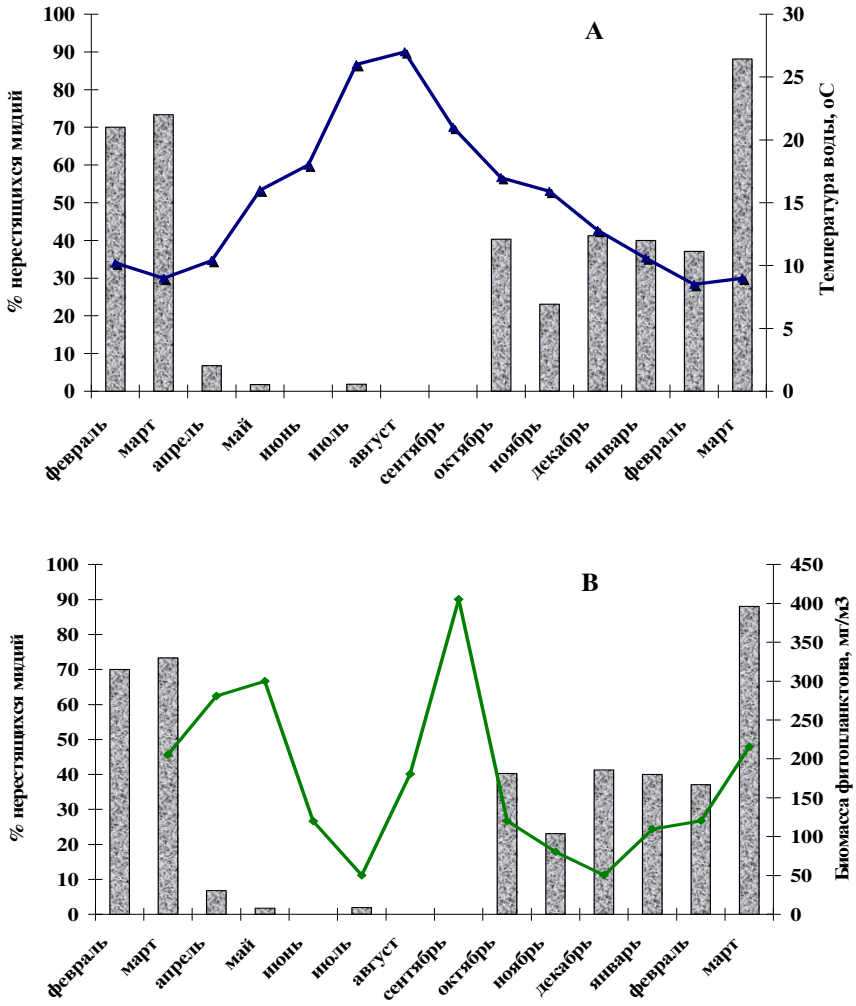


Рис.3. Динамика нереста коллекторных мидий в зависимости от: А – температуры воды; В – биомассы фитопланктона.
Примечание: А, В столбцы – % нерестящихся мидий; А линия – температура воды, °С; В линия – биомасса фитопланктона, мг·м$^{-3}$.

Посленерестовая перестройка протекала одновременно с массовым нерестом и по его окончании параллельно с гаметогенезом. Половая структура коллекторных мидий различалась в разные периоды исследования (см. табл. 4). В период весеннего массового нереста в феврале-мае 2010 г. отмечено примерно равное соотношение полов. В пробах за июль-декабрь 2010 г. – достоверное преобладание доли самцов. Причиной, вероятно, было частичное опадание после нереста самок крупных размеров, что подтверждается как сравнением максимальных размеров

моллюсков за апрель и июль 2010 г., которые достоверно не отличались (см. табл. 1), так и сравнением соотношения самок и самцов мидий товарного размера (≤50 мм). По данным за 29 апреля доля самок составила 70,8 %, а в пробе за июль – 17,4%. Выравнивание доли самок и самцов в поселении мидий на коллекторах произошло только в январе 2011 г., в период реализации пола у моллюсков, осевших весной 2010 г. Следовательно, уместно предположить наличие внутрипопуляционной регуляции реализации пола.

Синхронные гермафродиты были обнаружены в пробах в весенний и осенне-зимний периоды массового нереста мидий. Их доля составила от 1.3% – в марте 2010 г. до 3.2 % – в феврале 2011 г. (см. табл. 4). В гонадах гермафродитов ацинусы со сперматозоидами и ацинусы с ооцитами соприкасаются между собой (рис. 4A, B). Причём, ацинусы с мужскими половыми клетками располагаются как мозаично среди ацинусов с женскими половыми клетками (рис. 4C), так и отдельно – группами (рис. 4B, D).

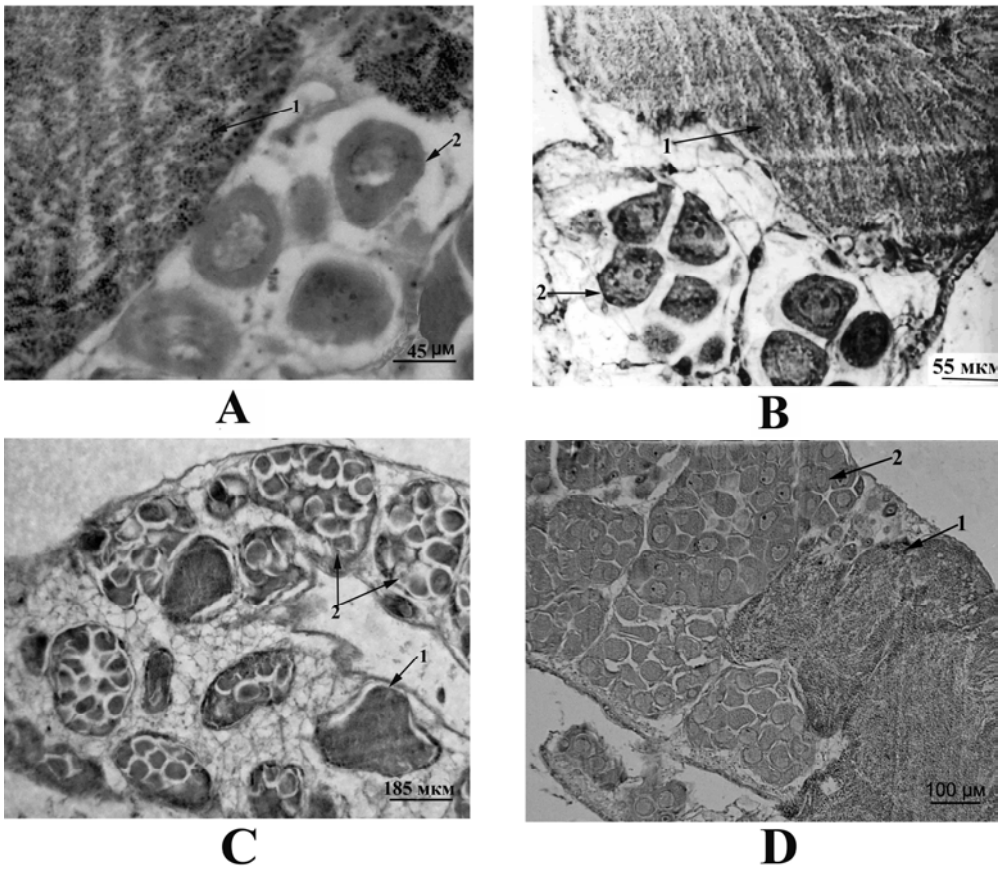


Рис. 4. Гонады гермафродитов *Mytilus galloprovincialis*: 4-я преднерестовая стадия. Обозначения: 1 – ацинусы со сперматозоидами; 2 – ацинусы с ооцитами.

В других районах Чёрного моря встречаемость двуполых мидий в природных поселениях составила от 0.1 до 2% [1, 5, 6, 10].

Известно, что у трёх видов *M. edulis, M. galloprovincialis u M. trossulus* есть две довольно необычные особенности. Во-первых, у них есть система передачи митохондриальной ДНК (мтДНК), унаследованной от обоих родителей, т. е. они содержат два различных типа мтДНК, один из которых передается по материнской линии, а другой - передается по отцовской линии [14], в отличие от наследования материнской мтДНК, которое является правилом среди животных. Во-вторых, соотношение полов у потомства от парных скрещиваний может сильно отличаться от 1:1 [14].

Исследования показали, что у большинства парных скрещиваний существует большое смещение отношения полов в пользу самцов или самок. Степень смещения является характерным свойством самки-производителя, так как скрещивание одной и той же самки с разными самцами приводит к одинаковому соотношению полов, но скрещивание одного и того же самца с разными самками приводит к разным соотношениям полов. Кроме того, эти данные свидетельствуют о том, что этот контроль осуществляется ядерным, а не митохондриальным материнским генотипом [15]. Анализируя результаты разных типов скрещивания *Mytilus* spp., предложена модель определения пола, согласно которой пол определяется тремя различными локусами, включая ядерные и митохондриальные. Причём обнаружено как отцовское, так и материнское воздействие на соотношение полов у потомства [16]. Это утверждение предполагает наличие трех типов самок в популяции мидий: генотипа zz, производящего яйцеклетки, в которых митохондрии спермы не сохраняются, эти особи будут развиваться как самки. Генотипа ZZ, которые производят яйцеклетки, в которых митохондрии спермы сохраняются, и они будут развиваться как самцы. И генотипа Zz, который будет производить особей обеих полов в равном соотношении [15].

Основываясь на этих данных по наследованию пола у мидий, можно предположить, что соотношение полов в одновозрастных поселениях коллекторных мидий может зависеть от синхронности нереста производителей. Синхронность нереста, в свою очередь, определяется температурой воды, при которой происходит половое созревание [9].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Формирование поселений мидий на коллекторах фермы в бухте Ласпи, интенсивность линейного роста моллюсков, сроки наступления и продолжительность массового нереста мидий зависят от сезонных изменений экологических факторов: температуры воды и биомассы фитопланктона. Замедление роста отмечено у мидий возраста более 2 лет, что указывает на нецелесообразность выращивания дольше указанного срока. Аллометрические соотношения размерных и весовых характеристик моллюсков зависят от размерного состава поселений мидий на коллекторах фермы и полового созревания. Сроки достижения моллюсками половозрелости и товарного размера определяются начальными темпами роста, которые выше у мидий весенней генерации, что

подтверждает преимущество сбора спата в весенний сезон. В период весеннего и осенне-зимнего массового нереста отмечено примерно равное соотношение полов. Доля гермафродитов составила в разные месяцы от 0 до 3.2 %. После весеннего массового нереста отмечено достоверное преобладание доли самцов, что объясняется частичным опаданием с коллекторов фермы самок крупных размеров. Выравнивание доли самок и самцов в поселениях коллекторных мидий произошло после реализации пола у моллюсков весенней генерации, что уместно предположить наличие внутрипопуляционной регуляции реализации пола.

Работа выполнена в рамках государственного задания ФГБУН ИМБИ по теме «Исследование механизмов управления продукционными процессами в биотехнологических комплексах с целью разработки научных основ получения биологически активных веществ и технических продуктов морского генезиса» (гос.рег. № АААА-А18-118021350003-6).

Список литературы

1. Киселёва Г. А. Размножение и развитие скальной и иловой мидий в Чёрном море / Киселёва Г. А. // Биология моря. – 1972. – Вып. 26. – С. 88–98.
2. Консулова Ц. Темп на нарастване на култивирани миди (*Mytilus galloprovincialis* L.) в условиях на българското черноморско крайбрежие / Консулова Ц. // Рибно стопанство. 1979. – Т. 26, № 6. – С. 12–14.
3. Заграничный С. В. Динамика размножения, оседания и рост мидий в Судакском заливе у юго-восточного берега Крыма / Заграничный С. В., Куликова В. И., Переладов М. В. // Тез. докл. IV Всесоюз. совещ. по научно-техн. пробл. марикульт. (Владивосток, сент., 1983). – Владивосток, 1983. – С. 159–160.
4. Иванов А. И. Оседание и рост мидий на коллекторах у западных берегов Крыма / Иванов А. И., Решетникова В. И., Крук Л. Г. // Эколого-физиологические аспекты аквакультуры на Чёрном море. – М., 1981. – С. 100–105.
5. Монин В. Л. Половая структура и величина индивидуальной плодовитости черноморской мидии (*Mytilus galloprovincialis*) и устрицы (*Ostrea edulis*) / Монин В. Л., Золотницкий А. П. // Тез. докл. IV Всесоюз. конф. по пром. беспозв. (Севастополь, апр., 1986.). – М., 1986. – Ч. 2. – С. 261–262.
6. Консулова Ц. Размножаване и развитие на култивирани миди (*Mytilus galloprovincialis* Lam.) в Черно море пред българския бряг / Консулова Ц. // Хидробиология. – 1988. – № 33. – С. 75–86.
7. Пиркова А. В. Размножение мидии *Mytilus galloprovincialis* Lam. и элементы биотехнологии её культивирования.: дис. канд. биол. наук : 03.00.18. / Пиркова А. В. – Севастополь, 1994. – 198 с.
8. Финенко Г. А. Экологическая энергетика черноморской мидии / Финенко Г. А., Романова З. А., Аболмасова Г. И. // Биоэнергетика гидробионтов – К.: Наук. думка. 1990. – С. 32–72.
9. Холодов В. И. Выращивание мидий и устриц в Чёрном море. 2-е издание, дополненное. / Холодов В. И., Пиркова А. В., Ладыгина Л. В. – Воронеж: ООО «ИЗДАТ-ПРИНТ», 2017. – 508 с.
10. Bancu A. S. Intersexuality in *Mytilus galloprovincialis* Lam. / Bancu A. S. // Cercetari marine recherches. – 1972. – N 3. – P. 123–128.
11. Касьянов В.Л. Размножение иглокожих и двустворчатых моллюсков. / Касьянов В. Л., Медведева Л. А., Яковлев С. Н. – М.: Наука, 1980. – 204 с.
12. Сеничкина Л.Г. Объемные характеристики овальных и конических форм клеток планктонных водорослей / Сеничкина Л. Г. // Гидробиол. журн. – 1995. – Т.31, № 2. – С. 103–106.
13. Заика В. Е. Балансовая теория роста животных. / Заика В. Е. – К.: Наук. думка, 1985. – 192 с.
14. Zouros E. The exceptional mitochondrial DNA system of the mussel family Mytilidae / Zouros E. // Genes Genet. Syst. – 2000. – N 75. – P. 313–318.

15. Kenchington E., MacDonald B., Cao L., Tsagkarakis D., Zouros E. Genetics of Mother-Dependent Sex Ratio in Blue Mussels (*Mytilus* spp.) and Implications for Doubly Uniparental Inheritance of Mitochondrial DNA // Genetics. 2002. – Vol. 161, N 4. – P. 1579–1588.
16. Yusa Y. Population Genetics of Sex Determination in *Mytilus* Mussels: Reanalyses and a Model / Yusa Y., Breton S., Hoeh W. R. // Journal of Heredity. – 2013. – Vol. 104, is. 3. – P. 380–385.

FORMATION OF SETTLEMENTS OF MUSSEL *MYTILUS GALLOPROVINCIALIS* (LAMARCK, 1819) ON COLLECTORS OF THE LASPI BAY FARM DEPENDING ON ENVIRONMENTAL FACTORS

Pirkova A. V., Ladygina L. V., Shchurov S. V.

Kovalevsky Institute of Marine Biological Research, Russian Academy of Sciences, Sevastopol, Crimea, Russia
E-mail: maricultura@mail.ru

Mussel *M. galloprovincialis* is one of the main objects of industrial cultivation in the Azov–Black Sea basin. The modern technology of mussel cultivation is based on growing of young mollusks collected in natural conditions on farm collectors in the period of mass settling of their larvae. The dynamics of the larvae abundance in plankton is determined by spawning of mussels of silt and rock biotopes. Obtaining the brood stock requires reliable information about the conditions and features of reproduction of these mollusks. Characteristics of the reproductive cycle of mussels depending on the environmental conditions of the habitat area are also important due to the seasonal changes in mussels' weight. The mollusks collected in the form of druses from collectors of the mussel farm located in Laspi Bay (southern coast of Crimea) at a depth of 3 m were used as the research material. Over the period from February 2010 to March 2011, the variations in the mass–size characteristics, gonadal maturity, and gender distribution were studied. The gender and reproductive cycle stages of mussels were determined by microscopic examination of gonadal smears, basing on the analysis of histological preparations of gonads. Micrographs of histological preparations of gonads at the six stages of the reproductive cycle of mussel females and males and gonads of hermaphrodites are presented. The mussel settlement on farm collectors was forming over 2.5 years, and it is represented by five generations of mollusks aged from 8 months to 2.5 years. The times of reaching sexual maturity and commercial size by mussels are determined by the initial growth rate which is higher in mussels of spring generation. This confirms the advantage of collecting spat on farm collectors in the spring season. The most probable duration of mussel growing to the marketable size in Laspi Bay is about 20 months. The total weight and the weight of soft tissues of commercial-size mussels (≤50 mm) were highest in the pre-spawning period and in the period of mass spawning. Allometric ratios of size and weight characteristics of mussels are shown to depend on size composition of the mussel populations on the farm collectors and their sexual maturity. At the end of March 2010, the spring spawning peak was observed at a water temperature of 8.5°C and phytoplankton biomass around 200 $mg \cdot m^{-3}$. At the temperature optimal for spawning (about 8°C) and low biomass of phytoplankton (about 100 $mg \cdot m^{-3}$), modest autumn-winter

spawning (around 40% of mussels) was observed. Over the periods of the spring and autumn-winter spawning, a nearly equal ratio of females and males was noted. The proportion of hermaphrodites in different months ranged from 0 to 3.2%. There was a significant predominance of males after the spring spawning, which is attributed to the partial falling-off of big females from the farm collectors. The proportion of females and males in the collector mussels became balanced in winter after the sexual maturation of mollusks settled in spring. The issue of realization of gender in mussels is discussed. Thus, the mussel settlement formation on farm collectors in Laspi Bay, mollusks' linear growth rate, time to sexual maturation, and duration of the mass spawning of mussels depend on seasonal changes in environmental factors.

***Keywords*:** mussel *Mytilus galloprovincialis*, marine farm, mass-size characteristics, reproductive cycle, gender distribution, Black Sea.

References

1. Kiselyova G. A. Razmnozhenie i razvitie skal'noj i ilovoj midij v Chyornom more, *Biologiya morya*, **26**. (1972)
2. Konsulova C. Temp na narastvane na kul'tivirani midi (*Mytilus galloprovincialis* L.) v usloviyah na b"lgarskoto chernomorsko krajbrezhie, *Ribno stopanstvo*, **26**, 6 (1979)
3. Zagranichnyj S. V., Kulikova V. I., Pereladov M. V. Dinamika razmnozheniya, osedaniya i rost midij v Sudakskom zalive u yugo-vostochnogo berega Kryma, Tez. dokl., Vladivostok (1983)
4. Ivanov A. I., Reshetnikova V. I., Kruk L. G. Osedanie i rost midij na kollektorah u zapadnyh beregov Kryma. In: *Ekologo-fiziologicheskie aspekty akvakul'tury na Chyornom more*, (Москва, 1981)
5. Monin V. L., Zolotnickij A. P. Polovaya struktura i velichina individual'noj plodovitosti chernomorskoj midii (*Mytilus galloprovincialis*) i ustricy (*Ostrea edulis*), Tez. dokl , Sevastopol', (1986)
6. Konsulova C. Razmnozhavane i razvitie na kul'tivirani midi (*Mytilus galloprovincialis* Lam.) v Cherno more pred b"lgarskiya bryag, *Hidrobiologiya,* 33 (1988)
7. Pirkova A. V. Razmnozhenie midii *Mytilus galloprovincialis* Lam. i ehlementy biotekhnologii eyo kul'tivirovaniya [dissertation], 198 p, (Sevastopol', 1994)
8. Finenko G. A., Romanova Z. A., Abolmasova G. I. *Ehkologicheskaya ehnergetika chernomorskoj midii. In.: Bioehnergetika gidrobiontov*. (K: Nauk. dumka, 1990)
9. Holodov V. I., Pirkova A. V., Ladygina L. V. *Vyrashchivanie midij i ustric v Chyornom more.* 2-e izdanie, dopolnennoe. 508 p, (Voronezh, 2017)
10. Bancu A. S. Intersexuality in *Mytilus galloprovincialis* Lam. *// Cercetari marine recherches,* 3 (1972)
11. Kas'yanov V. L., Medvedeva L. A., Yakovlev S. N. *Razmnozhenie iglokozhih i dvustvorchatyh mollyuskov*, 204 p (*M.: Nauka*, 1980)
12. Senichkina L.G. Obyemnyie harakteristiki ovalnyih i konicheskih form kletok planktonnyih vodorosley, *Gidrobiol. jurn*. **31**, 2. (1995)
13. Zaika V. E. *Balansovaya teoriya rosta zhivotnyh*,192 p. (*K: Nauk. dumka*, 1985)
14. Zouros E. The exceptional mitochondrial DNA system of the mussel family Mytilidae, *Genes Genet. Syst*., 75. (2000)
15. Kenchington E., MacDonald B., Cao L., Tsagkarakis D., Zouros E. Genetics of Mother-Dependent Sex Ratio in Blue Mussels (*Mytilus* spp.) and Implications for Doubly Uniparental Inheritance of Mitochondrial DNA, *Genetics,* **161**, 4. (2002)
16. Yusa Y., Breton S., Hoeh W. R. Population Genetics of Sex Determination in *Mytilus* Mussels: Reanalyses and a Model, *Journal of Heredity*, **104**, 3 (2013)

Ученые записки Крымского федерального университета имени В. И. Вернадского
Биология. Химия. Том 5 (71). 2019. № 1. С. 107–115.

УДК 612.822

ВОЗДЕЙСТВИЕ ЦВЕТОВЫХ ТАБЛИЦ МАДЯРА: РЕАКЦИИ ЦЕНТРАЛЬНОЙ И АВТОНОМНОЙ НЕРВНОЙ СИСТЕМЫ

Ребик А. А.[1], Мадяр С.-А. И.[2], Куличенко А. М.[3], Павленко В. Б.[3]

[1]Казанский (Приволжский) федеральный университет, Казань, Российская Федерация
[2]Общественная академия «Модус Колорис», Киев, Украина.
[3]Таврическая академия (структурное подразделение) ФГАОУ ВО «Крымский федеральный университет им. В.И. Вернадского», Симферополь, Республика Крым, Россия
E-mail: rebik_anastasiya@mail.ru

У 30 испытуемых в возрасте от 18 до 30 лет оценивались показатели окуломоторики, вариабельности сердечного ритма и ритмов ЭЭГ во время предъявления цветовых таблиц Стефана Мадяра. Анализ трекинга глаз показал, что взор испытуемого постоянно перемещается от одного цветного фрагмента таблицы к другому. Восприятие цветовых таблиц, в отличие от хаотичного набора цветов, вызывает активацию парасимпатического отдела вегетативной нервной системы и возрастание амплитуды альфа-ритма головного мозга человека. Таким образом, выявлены релаксирующие эффекты на уровне вегетативной и центральной нервной системы.
Ключевые слова: ЭЭГ, вариабельность сердечного ритма, трекинг движений глаз, цветовые таблицы.

ВВЕДЕНИЕ

Еще во времена античности врачи заметили, что свет разных цветовых тонов по-разному влияет на состояние человека. Цветной свет стали использовать в цветотерапии (визуальная цветостимуляция). Эффекты цветового восприятия проанализированы в ряде работ [1–4] и сводятся в основном к следующему. Свет воздействует на людей несколькими путями, прежде всего через зрительный нерв, который посылает сигналы в зрительную кору головного мозга, Таким образом обеспечиваются как осознаваемые, так и неосознаваемые эффекты визуального восприятия цветного света. Зрительный нерв также соединяется с недавно обнаруженным ретиногипоталамическим трактом, обеспечивая путь для так называемых невизуальных, неосознаваемых эффектов света. При этом в структурах головного мозга меняется баланс нейромедиаторов и выработка нейрогормонов. Эти эффекты проявляются в изменении активности вегетативной нервной системы (ВНС). Реакции ВНС при воздействии цветного света анализировались при регистрации частоты сердечных сокращений и психологическом тестировании уровня стресса [5]. Было выявлено, что синие и зеленые оттенки вызывают замедление сердцебиения и снижают уровень стрессовой активности. Эти эффекты связывают с активизацией парасимпатического и торможением симпатического отделов ВНС. Красно-желтая часть спектра обладает противоположным воздействием.

Обычно в подобных исследованиях используют изолированное предъявление цвета определенного цветового тона. Однако в реальной ситуации воздействие

света на человека реализуется в сочетании множества цветовых тонов. Перспективной для цветотерапии методикой является предъявление цветовых воздействий в виде специальных цветовых матриц, примером которых являются полихромные цветовые таблицы (ЦТ), разработанные С.-А. Мадяром [6]. ЦТ используют определенную последовательность цветов 12-ти ступенчатого гармоничного цветового спектра. Предполагается, что при визуальном восприятии указанных таблиц взор человека перемещается с одного ее фрагмента (окрашенного в определенный цветовой тон) к другому. При этом человек получает именно то динамическое цветовое воздействие, в котором нуждается в данный момент для коррекции своего психофизиологического состояния.

Ранее в нашей лаборатории выявлены эффекты восприятия ЦТ Мадяра [7]. Однако в указанной работе, которая имела ограниченное методическое обеспечение, анализировали изменения ритмов ЭЭГ лишь в двух отведениях, а состояние ВНС оценивали только по индексу напряжения. Насколько нам известно, одновременная регистрация показателей, которые отражают активность и ЦНС и автономной нервной системы, другими исследователями не проводилась. В связи с этим целью настоящей работы является анализ изменений паттерна многоканальной ЭЭГ, совокупности показателей вариабельности сердечного ритма (ВСР) и оценка траектории движений глаз испытуемых при восприятии испытуемыми ЦТ Мадяра.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В исследовании приняло участие 30 волонтеров (16 мужчин и 14 женщин) в возрасте от 18 до 30 лет. От всех испытуемых было получено добровольное информированное согласие на участие в экспериментах. Для проведения исследования были отобраны 12 ЦТ, из которых испытуемые выбрали таблицы, которые явились для них наиболее привлекательными. В процессе опытов испытуемым предъявляли ЦТ Мадяра и хаотичный набор цветов (экспериментальное и контрольное воздействия соответственно). Время экспозиции в обоих случаях составляло 3 минуты. Предъявление указанных стимулов и запись физиологических показателей проводились в разные дни с интервалом в три-четыре недели. Порядок экспозиции экспериментальных и контрольных воздействий для разных испытуемых чередовали случайным образом. После предъявления зрительных стимулов испытуемых опрашивали об их самочувствии, а также проводили психологическое тестирование для объективной оценки психофизиологического состояния (в данной статье его результаты не рассматриваются).

Регистрация ЭЭГ и электрокардиограммы велась до, во время и после предъявления зрительных стимулов с помощью полиграфической установки «Нейрон-Спектр-5» («Нейрософт», Россия). Общее время записи составляло 9 минут. Регистрация движений глаз в момент предъявления стимулов проведена с помощью ай-трекера RED-250 (SensoMotoric Instruments, Германия). ЭЭГ-потенциалы отводили по стандартной методике монополярно в соответствии с международной системой «10-20». Референтные электроды располагали на мочках ушей. Частоты среза фильтров высоких и низких частот составляли соответственно 1,5 и 35 Гц. Амплитуды ритмов ЭЭГ оценивали в общепринятых частотных

диапазонах [8]. Электрокардиограмму регистрировали в первом стандартном отведении. Анализ вариабельности сердечного ритма осуществлялся с помощью программы «Полиспектр» («Нейрософт», Россия).

Для оценки ВСР были использованы следующие показатели: CV – коэффициент вариации кардиоинтервалов (%); ЧСС – триангулярный индекс (уд./мин.); Mo – мода интервалов R-R (с); HF – мощность высокочастотного компонента спектра сердечного ритма (мс^2); LF – мощность низкочастотного компонента спектра сердечного ритма (мс^2); VLF – мощность очень низкочастотного компонента спектра сердечного ритма (мс^2); ULF – мощность сверхнизкочастотного компонента спектра сердечного ритма (мс^2); LF\HF – баланс симпатических и парасимпатических влияний; ВР – вариационный размах, разница между максимальным и минимальным значениями R-R (с); ИН – индекс напряжения регуляторных систем; ПАПР – показатель адекватности процессов регуляции сердечного ритма; ИВР – индекс вегетативного равновесия; ВПР – вегетативный показатель ритма; Me – медиана распределения кардиоинтервалов (с).

Статистическую обработку данных проводили с помощью программы Statistica (версия 8).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

На рисунке 1 приведены траектории движений глаз испытуемого П.В. при восприятии изображения ЦТ, зарегистрированные в первые 15 с.

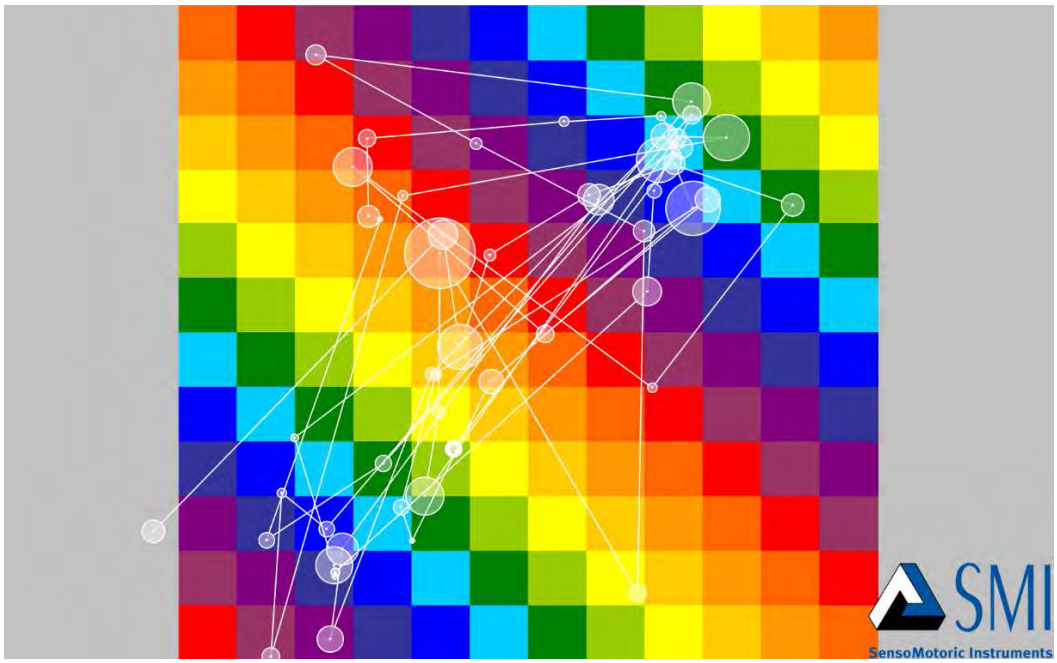


Рис. 1. Траектория движений глаз одного из испытуемых при восприятии цветовой таблицы С.-А. Мадяра. Пояснения в тексте.

Линиями представлены траектории саккадических движений, кружками – моменты фиксации взора. Размер кружка пропорционален длительности фиксации. Из рисунка видно, что взор испытуемого перемещается от одного цветного фрагмента таблицы к другому, от теплых (красных и желтых) тонов, к холодным (зеленым и синим). Таким образом, применение методов анализа окуломоторики волонтеров подтвердило предположение о закономерных перемещениях взора между цветными компонентами таблиц С.-А. Мадяра.

В ответ на предъявление испытуемым контрольного изображения не наблюдались значимые изменения показателей ВСР. В противоположность контрольным данным ряд этих показателей значимо изменялись при экспозиции ЦТ С.-А. Мадяра (таблица).

Таблица

Показатели вариабельности сердечного ритма до и после предъявления ЦТ

Показатель	До предъявления стимула	После предъявления стимула	Достоверность различий P
CV (%)	7,86±0,536	7,87±0,48	0,272
ЧСС (уд./мин)	77,79±1,584	78,75±1,55	0,493
Mo (с)	0,77±0,02	0,76±0,17	0,642
HF ($мс^2$)	1145,83±205,84	1061,43±237,84	0,102
LF ($мс^2$)	2366,80±533,43	1960,33±376,64	0,578
VLF ($мс^2$)	987,10±142,92	1058,27±160,41**	0,001
ULF ($мс^2$)	54,70±26,06	259,83±45,48	0,674
LF\HF	2,73±0,42	2,66±0,39	0,394
ВР (с)	0,35±0,03	0,41±0,04	0,495
ИН	98,44±13,22	83,17±11,20	0,131
ПАПР	49,31±2,851	50,93±2,78	0,126
ИВР	147,70±19,76	123,77±16,21	0,127
ВПР	4,82±0,44	4,01±0,36*	0,015
Me (с)	0,78±0,02	0,77±0,02	0,201

Примечания: полные обозначения показателей приведены в разделе «Методика исследования»; указаны средние значения ± стандартная ошибка среднего; *, ** – различия между значениями показателей до и после предъявления ЦТ на уровне значимости $P<0,05$ и $P<0,01$, соответственно.

Как видно из таблицы после предъявления ЦТ С.-А. Мадяра наблюдается статистически значимый рост значений мощности спектра сердечного ритма в «очень» низкочастотном диапазоне (VLF). Спектральная составляющая сердечного ритма в этом диапазоне, по мнению многих зарубежных авторов, характеризует активность симпатического отдела вегетативной нервной системы. Однако в данном случае речь идет о более сложных влияниях со стороны надсегментарного уровня регуляции, поскольку амплитуда VLF тесно связана с психоэмоциональным

напряжением и функциональным состоянием коры головного мозга. VLF является чувствительным индикатором управления метаболическими процессами и хорошо отражает энергодефицитные состояния. Согласно концепции Баевского, высокая мощность VLF отражает высокую активность центрального контура регуляции, а точнее, его межсистемного уровня Б [9]. Мобилизация энергетических и метаболических резервов при функциональных воздействиях отражается изменениями мощности спектра в VLF-диапазоне [10]. В связи с этим, наблюдаемый рост мощности VLF в ответ на предъявление ЦТ указывает на гиперадаптивную реакцию.

Предъявление ЦТ приводит к снижению ВПР. Данный показатель отражает баланс регуляции работы сердечно-сосудистой системы со стороны симпатического и парасимпатического отделов вегетативной нервной системы. Его снижение свидетельствует о снижении активности симпатического и увеличении активности парасимпатического отделов ВНС.

Таким образом, ЦТ Мадяра, в отличие от контрольного изображения, вызывают увеличение активности центрального контура регуляции сердечного ритма, способствуют гиперадаптивной реакции, а также оказывают активирующее воздействие на парасимпатический отдел ВНС. Исходя из этого можно заключить, что результаты нашего исследования демонстрирует возможность релаксирующего воздействия по отношению к структурам ВНС, приводящее к субъективному снижению уровня эмоциональной тревожности и депрессивности.

Наши данные согласуются с результатами других исследователей [4], которые также выявили рост показателя VLF при предъявлении световых воздействий различных цветовых тонов, что также сопровождалось улучшением показателей настроения.

При анализе ЭЭГ была рассчитана разность в амплитудах ритмов волн при демонстрации ЦТ Мадяра и предъявлении контрольного изображения. Статистическая значимость различий оценивалась W-критерием Вилкоксона для попарно связанных вариант. На рисунке 2 представлены величины разности (Δ) между значениями ритмов ЭЭГ в 21 отведении (обозначены латинскими буквами) при экспозиции ЦТ и контрольного изображения. Из рисунка видно, что в большинстве отведений амплитуда ритмов ЭЭГ была выше при экспозиции ЦТ.

Амплитуда дельта-ритма при предъявлении ЦТ значимо выше, чем при предъявлении контрольного изображения в отведениях Fp1, Fpz, Fp2, F3, C3, Cz, T3, T5, P3, O1, Oz. Возрастание амплитуды данного ритма может свидетельствовать о проявлении релаксации. Подобные эффекты отмечены у испытуемых в состоянии трансцендентальной медитации [8]. В то же время, нельзя исключить, что высокая степень возрастания дельта-ритма в лобных отведениях может быть связана и с более высокой окуломоторной активностью, проявляющейся при зрительном восприятии гармоничного сочетания цветовых тонов при экспозиции ЦТ по сравнению с рассматриванием хаотичного расположения цветовых фрагментов в контрольном изображении.

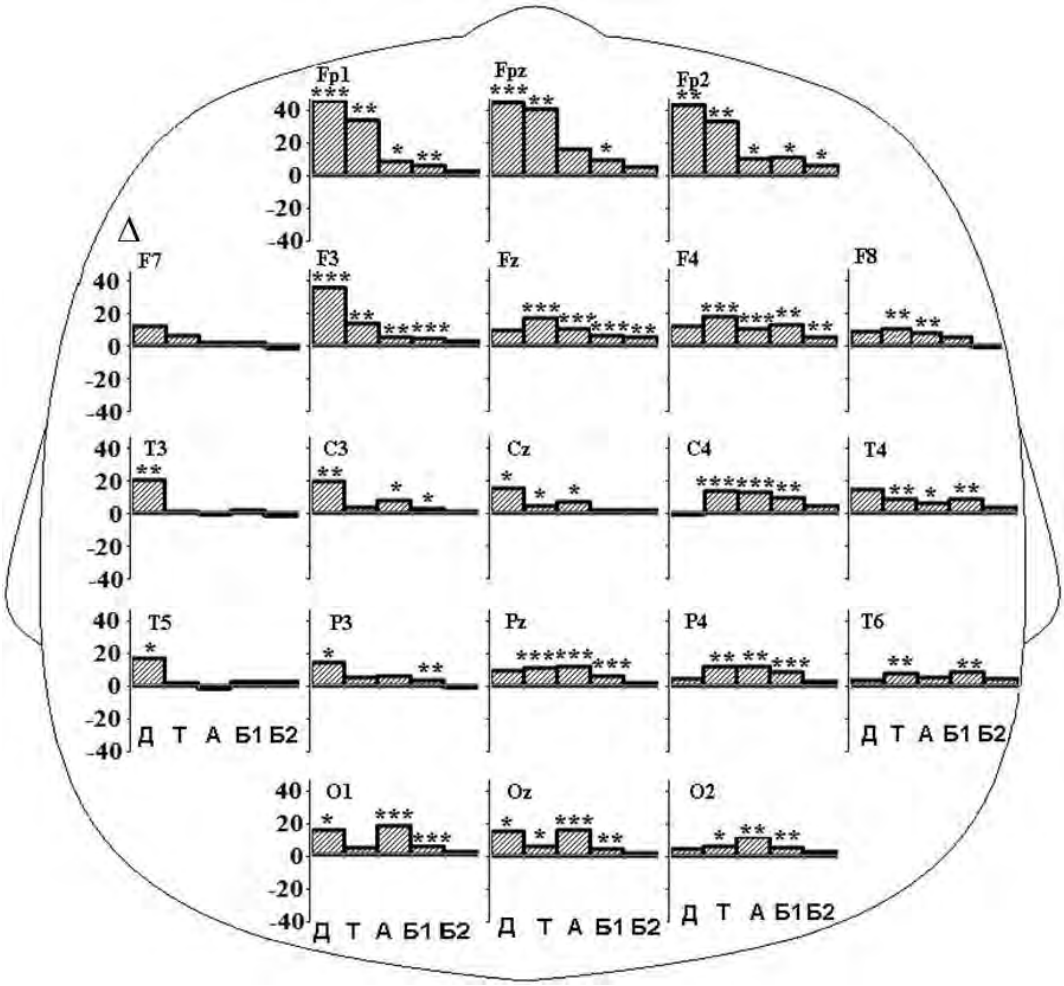


Рис. 2. Различия в амплитудах ритмов волн ЭЭГ, во время предъявления ЦТ Мадяра и контрольного изображения.
По вертикали: Δ – разность амплитуд (мкВ). По горизонтали: Д – дельта-ритм, Т – тета-ритм, А - альфа-ритм, Б1 – бета-ритм высокой частоты, Б2 – бета-ритм низкой частоты. * – P<0,05; **– P<0,01; *** – P<0,001.

Увеличение амплитуды тета-ритма выявлено в большинстве отведений и преобладает в правом полушарии (отведения: Fp1, Fpz, Fp2, F3, Fz, F4, F8, Cz, C4, T4, Pz, P4, T6, Oz, O2). Данный факт мы связываем с эмоциональным вовлечением в процесс восприятия ЦТ, т.к. рост тета-ритма характерен для эмоциогенных ситуаций и процессов запоминания и воспроизведения памятного следа [8]. Также это может означать, что сама ЦТ приобретает эмоциональную значимость для волонтеров, так как они имели возможность самостоятельно выбрать предпочитаемое изображение.

Возрастание амплитуды альфа-ритма происходит в отведениях Fp1, Fp2, F3, Fz, F4, F8, C3, Cz, C4, T4, Pz, P4, O1, Oz, O2. Рост амплитуды альфа-ритма свидетельствует о том, что состояние человека становится более стабильным [8].

Возрастание амплитуды бета-ритма низкой (Fp1, Fpz, Fp2, F3, Fz, F4, C3, C4, T4, P3, Fz, P4, T6, O1, Oz, O2) и высокой частот (Fp2, Fz, F4) свидетельствует об активизации мыслительной деятельности на фоне состояния относительного физического покоя [8]. Из опроса испытуемых следует, что во время просмотра экспериментального изображения они стремились найти закономерность, на основании которой были расположены оттенки. В тоже время, при предъявлении контрольного изображения такие попытки не предпринимались. С этим фактом может быть связано наблюдаемое увеличение амплитуды бета-ритмов.

В то же время, нужно отметить, что рост амплитуд всех анализируемых ритмов при экспозиции ЦТ, по сравнению с контрольными изображениями, проходил на фоне повышения амплитуды альфа-ритма в 15 отведениях из 21. Можно заключить, что при восприятии ЦТ Мадяра нормализуется баланс возбуждения и торможения в ЦНС.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

1. Трекинг взора волонтеров подтвердил предположение о том, что взор испытуемого постоянно перемещается от одного цветного фрагмента ЦТ Мадяра к другому, от теплых (красных и желтых) тонов, к холодным (зеленым и синим). При этом человек получает именно то динамическое цветовое воздействие, в котором нуждается в данный момент для коррекции своего психофизиологического состояния.
2. Анализ показателей ВСР показал, что ЦТ С.-А. Мадяра вызывают увеличение активности центрального контура регуляции сердечного ритма, способствуют гиперадаптивной реакции, а также оказывают активирующее воздействие на парасимпатический отдел ВНС. Такие эффекты, в сочетании с увеличением вегетативного показателя регуляции, демонстрируют возможность расслабляющего воздействия и снижение уровня эмоциональной тревожности.
3. ЦТ Мадяра вызывают эффект релаксации и одновременно эмоциональной вовлеченности, о чем свидетельствует увеличение амплитуды дельта- и тета-ритмов. Увеличение альфа-ритма указывает на то, что испытуемый при демонстрации ЦТ находился в процессе перехода организма в состояние функционального спокойствия. Увеличение амплитуды бета-ритма свидетельствует о течении мыслительного процесса, который не имеет подавляющего воздействия на альфа-ритм. Рост амплитуд всех анализируемых ритмов при экспозиции ЦТ, по сравнению с контрольными изображениями, проходил на фоне повышения амплитуды альфа-ритма в 15 отведениях из 21. Можно заключить, что при восприятии ЦТ Мадяра нормализуется баланс возбуждения и торможения в ЦНС.

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

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

Список литературы

1. Cocilovo A. Colored light therapy: overview of its history, theory, recent developments and clinical applications combined with acupuncture / A. Cocilovo // Am. J. Acupunct. – 1999. – 27(1–2). – P. 71–83.
2. Цветовая светотерапия / Готовский Ю. В., Вышеславцев А. П., Косарева Л. Б. [и др.] / М., 2001. – 432 с.
3. Radeljak S. Chromotherapy in the regulation of neurohormonal balance in human brain-complementary application in modern psychiatric treatment / S. Radeljak, T. Žarković-Palijan, D. Kovačević, M. Kovac // Collegium antropologicum. – 2008. – 32 (2). – P. 185–188.
4. Ross M. J. The Impact of Modulated Color Light on the Autonomic Nervous System / M. J. Ross, P. A. Guthrie // J. Dumont Adv. Mind. Body Med. – 2013. – 27(4). – P. 7–16
5. Базыма Б.А. Психология цвета. Теория и практика / Б. А. Базыма. – М., 2005. – 298 с.
6. Мадяр С. - А. Методичні рекомендації "Поліхромно-адаптаційна біорегуляція психофізіологічного стану людини" / С. - А. Мадяр. и др. – Киев, 2006. – 37 с.
7. Психофизиологические эффекты воздействия цветовых таблиц С.-А. Мадяра / С.-А. Мадяр, В. Н. Бержанский, П. В. Шинкаревский [и др.] // Ученые записки Таврического национального университета им. В.И. Вернадского. – 2004. – Т. 17 (56), № 1. – С. 48–54.
8. Кропотов Ю. Д. Количественная ЭЭГ, когнитивные вызванные потенциалы мозга человека и нейротерапия / Ю. Д. Кропотов. – Донецк, 2010. – 512 с.
9. Баевский Р. М. Анализ вариабельности сердечного ритма при использовании различных электрокардиографических систем: методические рекомендации / Р. М. Баевский, Г. Г. Иванов // Вестник аритмологии – 2001. – № 24. – С. 65–86.
10. Соловьева А. Д. Методы исследования вегетативной нервной системы / А. Д. Соловьева, А. Б. Данилов, Н. Б. Хаспекова // Вегетативные расстройства: Клиника, диагностика, лечение. – М.: МИА, 2003. – С. 44–102.

EFFECTS OF MADYAR'S COLOR TABLES ON CENTRAL AND AUTONOMIC NERVOUS SYSTEM INDICATORS

Rebik A. A.[1], Madyar S.-A. I.[2], Kulichenko A. M.[3], Pavlenko V. B.[3]

[1]Kazan (Volga Region) Federal University, Kazan, , Russia
[2]Public Academy "Modus Koloris", Kiev, Ukraine.
[3]V.I. Vernadsky Crimean Federal University, Simferopol, Crimea, Russia
E-mail: rebik_anastasiya@mail.ru

The aim of the present study was the analysis of changes in patterns of multichannel EEG and heart rate variability indicators, as well as the assessment of eye-tracking trajectory patterns when looking at Madyar's Color Tables (CT). The CT's design is based on a specific sequence of colors in a harmonious color spectrum. The study involved 30

volunteers (16 men and 14 women) aged from 18 to 30 years. The test subjects were asked to contemplate the Madyar's CT and a randomly organized set of colors (experimental and control effects, respectively; each trial duration was as long as three minutes). The stimuli exposition and the recording of physiological indicators were conducted on different days at intervals of three to four weeks. The analysis of eye-tracking patterns showed that the subjects' eyesight tended to regularly move from warm color tones (red and yellow) to cool ones (green and blue). Their physiological state was mostly favorably affected by that. The heart rate variability indicators showed an induced by the CT activation of the parasympathetic division of the autonomic nervous system and a reduced regulation and control level in the higher centers relative to the cardiovascular subcortical center. The CT condition was accompanied by effects of relaxation together with signs of emotional involvement judging by patterns of increased delta and theta rhythm amplitudes. An increase in beta rhythm amplitude seemed to be associated with the subjects' thinking process: according to their self-reports, they tried to seek for specific color tone patterns when exposed to the CT stimuli. Overall, when exposed to the CT stimuli, an increase in subjects' EEG amplitudes of the analyzed rhythms occurred simultaneously with the alpha rhythm synchronization, which was not the case in the control condition. Based on the presented data, it can be concluded that contemplating the Madyar's Color Tables is accompanied by normalization of the excitation and inhibition processes occurring in one's central nervous system.

***Keywords*:** EEG, heart rate variability, eye-tracking, color tables.

References

1. Cocilovo A. Colored light therapy: overview of its history, theory, recent developments and clinical applications combined with acupuncture, *Am. J. Acupunct*. **27,** 1–2 (1999).
2. Gotovskiy Yu. V., Vyisheslavtsev A. P., Kosareva L. B., Perov Yu. F., Shraybman M. M. Tsvetovaya svetoterapiya (2001).
3. Radeljak S., Žarković-Palijan T., Kovačević D., Kovac M. Chromotherapy in the regulation of neurohormonal balance in human brain-complementary application in modern psychiatric treatment, *Collegium antropologicum*, **32,** 2 (2008).
4. Ross M. J. The Impact of Modulated Color Light on the Autonomic Nervous System / M. J. Ross, P. A. Guthrie, *J. Dumont Adv. Mind. Body Med*. **27**, 4 (2013).
5. Bazyima B. A. Psihologiya tsveta. Teoriya i praktika (2005).
6. Madyar S.-A. Metodichni rekomendatsiyi "Polihromno-adaptatsiyna bioregulyatsiya psihofiziologichnogo stanu lyudini" (2006).
7. Madyar S.-A., Bergansky V.N., Shinkarevsky P.V., Kulichenko A.M., Pavlenko V.B., Kovalevskaya H.E., Radionova T.A., D'yachenko H.V. Psychophysiological effects of the impact of color tables C.-A. Madyara, *Scientific Notes of Taurida V. I. Vernadsky National University, Series: Biology, chemistry*, **17 (56)**, 1, 48 (2004).
8. Kropotov Yu. D. Kolichestvennaya EEG, kognitivnyie vyizvannyie potentsialyi mozga cheloveka i neyroterapiya (2010).
9. Baevskiy R. M., Ivanov G. G. Analiz variabelnosti serdechnogo ritma pri ispolzovanii razlichnyih elektrokardiograficheskih sistem: metodicheskie rekomendatsii, *Vestnik aritmologii*, 24 (2001).
10. Soloveva A. D., Danilov A. B., Haspekova N. B. Metodyi issledovaniya vegetativnoy nervnoy sistemyi Vegetativnyie rasstroystva: Klinika, diagnostika, lechenie (2003).

Ученые записки Крымского федерального университета имени В. И. Вернадского
Биология. Химия. Том 5 (71). 2019. № 1. С. 116–125.

УДК 581.134.6:582.572.8(571.14)

ПОИСК ВТОРИЧНЫХ МЕТАБОЛИТОВ В ВЕГЕТАТИВНЫХ ОРГАНАХ *HOSTA DECORATA (HOSTACEAE)*

Седельникова Л. Л., Кукушкина Т. А.

Центральный сибирский ботанический сад СО РАН, Новосибирск, Россия
E-mail: lusedelnikova@yandex.ru

Проанализировано содержание запасных (сахара, крахмал), фенольных соединений (флавонолов, катехинов), аскорбиновой кислоты, пектиновых веществ в листьях и корневищах у растений *Hosta decorata,* в лесостепной зоне Западной Сибири. Выявлены высокие показатели основных групп биологически активных веществ в листьях, за исключением катехинов: аскорбиновой кислоты – до 136,8 мг%, протопектинов – до 10,6%, пектинов – до 6,8%. Сезонная динамика вторичных метаболитов в подземных и надземных органах в период вегетации, цветения и плодоношения за период 2013–15 гг. различна: количество флавонолов в листьях наибольшее в период весеннего отрастания (1,3–1,9%); аскорбиновой кислоты – период цветения выше в 1,5 раза, протопектинов в 4,5 раза; катехинов и сахаров – период плодоношения в 5 раз больше, чем в корневищах. Адаптационная способность *Hosta decorata* в разные годы вегетации проявляется в изменчивости содержания вторичных метаболитов в вегетативных органах в период роста и развития растений.
Ключевые слова: *Hosta decorata,* запасные вещества, фенольные соединения, пектиновые вещества, аскорбиновая кислота, лист, корневище, Западная Сибирь.

ВВЕДЕНИЕ

Исследование различных групп биологически активных веществ у растений расширяет сведения о функциональных возможностях вида при возделывании их в регионе Сибири. Это способствует определению не только их полезных свойств, но и оценки их адаптивного потенциала. Представители рода *Hosta* Tratt. (хоста, функия), семейство Хостовых (*Hostaceae* B. Matnew) известны как декоративные и медоносные растения [1, 2]. В основном это короткокорневищные поликарпики, с длительно вегетирующим, летнецветущим феноритмотипом развития. В природе произрастают в муссонном климате теплоумеренной зоны Восточной Азии. Сведения об использовании хост в народной медицине незначительные. Они применяются при лечении заболеваний верхних дыхательных путей у народов Востока. В Японии и Китае молодые почки и листья употребляют в пищу. Изучение фитохимического состава хост начато в 60–90-х годах прошлого века. Обнаружено, что представители рода содержат флавоноиды (кверцетин, кемпферол), стероидные гликозиды [3–6]. В последнее десятилетие определен количественный и качественный состав сапонинов, флавоноидов, алкалоидов, антоцианов у видов: *Hosta sieboldiana* (Hook.) Engl., *H. plantaginea* (Lam.) Aschers., *H. longipes* Engl., *H. montana* Mackawa, *H. ventricosa* Stearn. [7–13]. Установлено проявление противоопухолевых, антиоксидантных, противогрибковых, противовирусных и

антибактериальных свойств у данных видов, а также использование их в качестве ароматизаторов в табачной промышленности [10–11, 13–15]. Содержание некоторых групп соединений, таких как пектиновых и запасных веществ, фенольных соединений, аскорбиновой кислоты обнаружено у *H. lancifolia* Engl. [16]. У этого вида выделено 16 ненасыщенных жирных кислот с преобладанием пальмитиновой и линолевой, что дало возможность проводить разработку фитопрепаратов на его основе [17]. Тем не менее, содержание биологически активных веществ у многих видов практически не изучено. Сведения о метаболитах основных групп веществ и их динамике накопления в листьях и корневищах у *H. decorata* Bailey тоже отсутствуют, что обусловливает актуальность и послужило основанием для выполнения данной работы.

Цель работы – сравнительное изучение количественного состава биологически активных и запасных веществ в вегетативных органах *Hosta decorata,* произрастающей в условиях лесостепной зоны Новосибирской области.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В качестве объекта исследования использовали растения *Hosta decorata* Bailey – Хоста Декората, интродуцированные из Национального ботанического сада им. Н. Н. Гришко НАН Украины, более 20-ти лет назад. Сбор сырья (листья, корневища с корнями) взрослых растений *H. decorata* проводили в 2013–15 гг. с экспериментального участка лаборатории интродукции декоративных растений Центрального сибирского ботанического сада СО РАН, расположенного в юго-восточном районе Приобского округа лесостепной климатической провинции Новосибирской области вблизи п. Кирово. Пробы для анализа (навески 5–10 г) брали в соответствии с фенофазами развития в течение вегетационного периода (май – весенняя вегетация, июль – цветение, сентябрь – плодоношение) до наступления в условиях г. Новосибирска устойчивых морозов. По гидротермическим условиям 2013–14 гг. были прохладные, избыточно увлажненные, 2015 г. – теплый, умеренно увлажненный. Количественное определение флавонолов проводили спектрофотометрически по методу В. В. Беликова и М. С. Шрайдер [18]. Содержание крахмала определяли методом кислотного гидролиза [19]. Пектиновые вещества (пектины и протопектины) определяли бескарбазольным спектрофотометрическим методом [20, 21]. Для определения количественного содержания сахаров использовали метод А. С. Швецова и Э. Х. Лукьяненко, а аскорбиновой кислоты – титриметрический [21]. Катехины определяли спектрофотометрическим методом [22]. Подробно методики описаны нами в работе [16]. Все биохимические показатели, кроме аскорбиновой кислоты, рассчитаны на массу абсолютно сухого сырья. Определения по каждому биохимическому показателю проводили в трехкратной повторности, среднеарифметические значения (M) представлены в таблице 1. Ошибка ± m соответствовала допустимым значениям достоверности и была крайне мала (0,01–0,04).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Впервые в надземных и подземных органах *H. decorata* обнаружено пять общих групп соединений: сахара, аскорбиновая кислота, пектины, протопектины, катехины, содержание которых, изменялось в различные фенофазы развития и вегетационные периоды (см. табл.1). Количественное содержание флавонолов определено в листьях, а крахмала в корневищах. Эти вещества играют значительную роль в метаболизме растений, влияют на их адаптивную реакцию в период вегетации. Поэтому их накопление в листьях и корневищах происходило неоднозначно. Количество аскорбиновой кислоты в листьях весенне-летней вегетации отличалось в 11–22 раза повышенным содержанием, по сравнению с корневищами в период весеннего отрастания и цветения. Причем содержание аскорбиновой кислоты в листьях увеличивалось в 1,5 раза в период цветения в избыточно-увлажненные 2013–14 годы и уменьшалось в период плодоношения. Теплый умеренно увлажненный период вегетации (2015 г.), наоборот, способствовал накоплению аскорбиновой кислоты к осени и ее количество в листьях составляло 66,0 мг%. В корневищах ее содержание относительно стабильное, но с наибольшим значением в периоды: плодоношения – 8,9 мг% (2013 г.), цветения – 13,6 мг% (2014 г.), вегетации – 11,3 мг% (2015 г.).

Известно, что протопектины регулируют водоудерживающую способность у растений. Этим они оберегают их от солнечных ожогов. Поэтому в теплые засушливые периоды вегетации 2015 г. их количество в органах отличалось высоким содержанием по сравнению с влажным умеренно-прохладным периодом 2013–14 гг. Однако в соответствии с фенофазами развития их количество в листьях в 2–6 раз больше, в фазу отрастания (2013 г. и 2015 г.) по сравнению с фазами цветения и плодоношения. Причем в прохладные и избыточно-увлажненные периоды 2013–14 гг. накопление протопектинов усилено в корневищах, чем в листьях. В период теплой погоды 2015 г. содержание протопектинов в листьях в фазу цветения наибольшее и составляло 10,6%. Это в 4,5 раза выше по отношению к их содержанию в корневищах. В целом во все годы наблюдений в листьях наблюдали наибольшее количество протопектинов (4,9–10,6%) в период цветения *H. decorata*.

Установлено, что количество протопектинов в вегетативных органах *H. decorata* в 2–6 раз выше, чем пектинов. В корневищах наибольшее содержание пектинов отмечено в 2014 г. (4,1–6,8 %) с увеличением в 1,5 раза в сентябре. В листьях, наоборот, к осени содержание пектинов уменьшалось в 2–3 раза по сравнению с весенне-летними месяцами.

Отмечено незначительное содержание катехинов в листьях и корневищах *H. decorata* во все годы наблюдений. В листьях их количество варьировало от 0,1 до 0,8%, а в корневищах от 0,1 до 0,2 %. Сравнительные данные показали, что наибольшее количество катехинов обнаружено в листьях в период плодоношения в 2013 г. (0,3 %), что в 3 раза больше по сравнению с содержанием их в корневищах. Наиболее высокое содержание катехинов в корневищах (0,2%) и листьях (0,8%) установлено в период весеннего отрастания растений *H. decorata* в 2015 г., который отличался теплой и умеренно – увлажненной погодой.

Флавонолы обнаружены в листьях в незначительном количестве. Причем их содержание в 2013 г. повышалось в течение всего периода вегетации растений *H. decorata* от 0,7 до 1,5 %. А в 2014–15 гг. наоборот уменьшалось в 1,9–2,6 раз с наибольшим показанием в фазу отрастания (1,3–1,9 %) (рис.1).

Таблица 1

Содержание биологически активных веществ в листьях (1) и корневищах (2) *Hosta decorata* в условиях Новосибирска

Месяц	Год					
	2013		2014		2015	
Органы	1	2	1	2	1	2
Аскорбиновая кислота, мг%						
V	86,6	7,8	63,4	6,5	42,1	11,3
VII	136,8	6,0	96,2	13,6	37,0	9,4
IX	9,8	8,9	56,6	12,9	66,0	10,9
Пектины, %						
V	1,6	1,2	1,6	4,1	2,5	1,2
VII	0,7	1,8	1,7	3,5	0,4	0,7
IX	0,6	0,7	0,7	6,8	0,7	0,3
Протопектины, %						
V	5,0	5,1	6,1	8,6	7,6	5,1
VII	4,9	5,2	7,4	7,7	10,6	2,9
IX	4,1	4,3	6,2	10,5	5,9	5,0
Катехины, %						
V	0,1	0,1	0,2	0,1	0,8	0,2
VII	0,1	0,1	0,1	0,2	0,1	0,1
IX	0,3	0,1	0,2	0,1	0,1	0,1

Показано, что содержание сахаров в 2013–14 гг. в надземных органах составляло у *H. decorata* в период массового весеннего отрастания в мае 8,9–21,7%. В разные годы культивирования данного вида, их количество в листьях отличалось, с наименьшим показателем (в 2–2,5 раза) в 2013 г. В период массового цветения (июль) содержание сахаров в листьях также варьировало по годам наблюдений**.** Так, в 2013 г. их количество в листьях увеличивалось в 1,5 раза, в 2014 г. уменьшалось в 2,7 раза, а в 2015 г. оставалось практически таким же, как и в мае месяце. К осени в фенофазу плодоношении растений *H. decorata* содержание сахара в листьях увеличивалось в 2014–15 гг. по отношению к данным в период цветения. В теплый и умеренно увлажненный 2015 г. наличие сахаров в листьях наибольшее и в 1,5–2 раза выше по сравнению с 2013–14 гг. Более того их накопление увеличивалось в листьях от отрастания до плодоношения с 7,0% до 24,3% (рис. 2а).

У растений *H. decorata* количественное содержание сахаров в корневищах не отличалось стабильностью в 2014–2015 гг. по сравнению с 2013 г. (8,0–8,6%).

Наибольшее накопление сахаров в корневищах отмечено в мае в период весенней вегетации (11,5–14,2%) в 2014–15 гг. К осени в 2014 г. оно понижалось в корневищах в 1,5 раза, а в 2015 г. в 4,7 раза (рис. 2б).

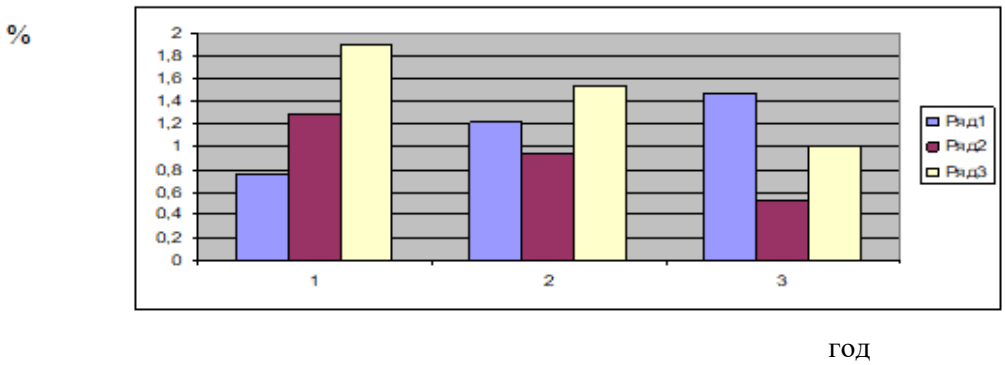


Рис. 1. Флавонолы в листьях H. decorata (ряд 1 -2013 г., ряд 2 – 2014 г., ряд 3 – 2015 г.).

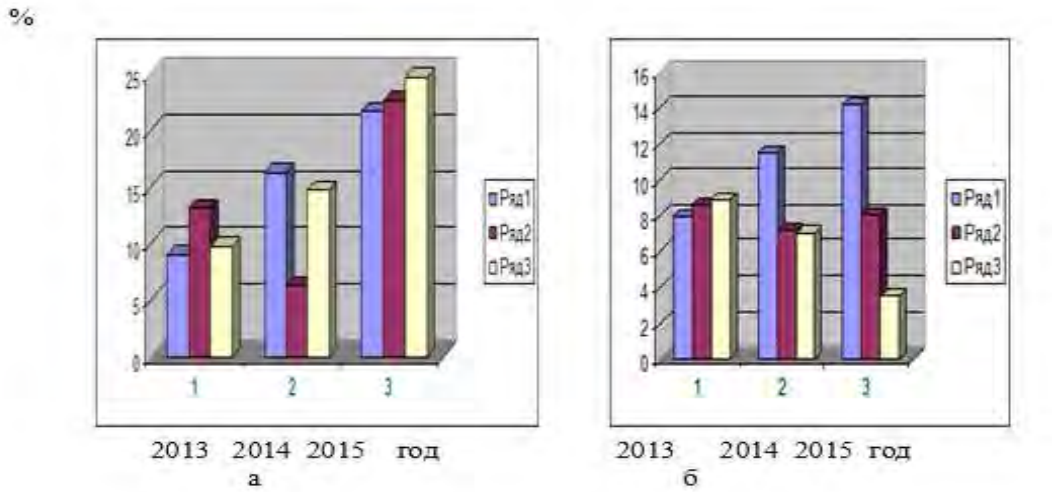


Рис. 2. Изменчивость содержания сахаров в листьях (а) и корневищах (б) *H. decorata* (ряд 1- май, ряд 2- июль, ряд 3- сентябрь).

Накопление крахмала происходит в подземных вегетативных органах. Известно, что увеличение содержания крахмала, как нерастворимого полисахарида способствует ускорению метаболических процессов в запасающих тканях, что обусловливает значительную морозоустойчивость растений в период их зимнего покоя в Сибири. Это особенно важно для выживания интродуцированных видов в суровых малоснежных зимних условиях, которым отличался 2013 г. Установлено,

что содержание крахмала повышалось в корневищах растений *H. decorata* к предзимью с 24,3 до 29,1% (рис. 3).

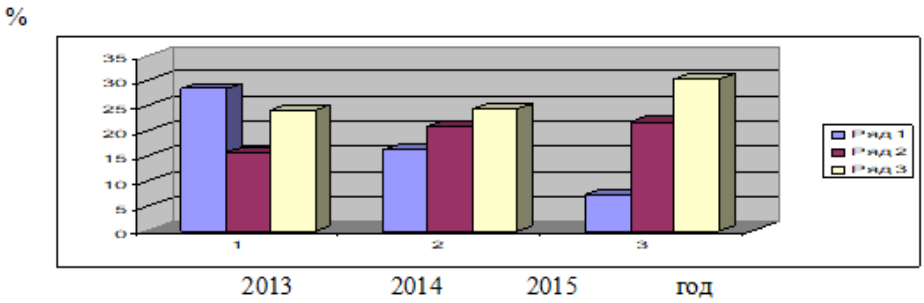


Рис. 3. Гистограмма содержания крахмала в корневищах *H. decorata* (ряд 1 - 2013 г., ряд 2 – 2014 г., ряд 3 – 2015 г.).

Фитохимическое исследование *H. decorata* в течение трех вегетационных периодов (2013–15 гг.) показало, что растения отличались достаточно высоким уровнем по содержанию вторичных метаболитов в листьях и корневищах от весеннего отрастания до плодоношения. При сравнении содержания исследованных групп соединений по органам, выяснилось, что в зависимости от условий вегетационного периода количество аскорбиновой кислоты в листьях *H. decorata* в период цветения растений больше в 3-27 раз, чем подземных. Содержание флавонолов в листьях наибольшее в период весеннего отрастания (1,3–1,9%). Запасные вещества обнаружены в корневищах *H. decorata* при максимальном количестве в фазу отрастания: сахара (11,5–14,2%), крахмал (24,3–29,1%); в листьях – сахара (21,7–24,7%) в период плодоношения. Содержание пектинов и протопектинов в органах по годам наблюдений показало, что их накопление происходило неоднозначно, с увеличением пектинов в листьях в период весеннего отрастания, а в корневищах в период плодоношения. Наличие протопектинов в органах выше в 2–6 раз, чем пектинов. В листьях (0,8%) и корневищах (0,2%) также определено более высокое содержание катехинов в 2015 г., однако в целом их количество по сравнению с другими биологически активными веществами незначительно. Варьирование показателей впервые нами полученных запасных и пектиновых веществ, фенольных соединений, витамина С, играющих активную роль в метаболизме в процессе роста, развития и репродуктивного размножения *H. decorata* связано с гидро- и теплообеспеченностью вегетационных периодов, фенологическими фазами развития и проявляется в адаптивной изменчивости и экологической пластичности данного вида к условиям среды. Это способствует устойчивости, выживаемости и сохранению данного вида в условиях *ex situ.* Наличие вторичных метаболитов в органах *H. decorata* обеспечивает возможность использования ее в фитотерапии и разработке биолого-фитопатологических средств защиты растений.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

1. Высокое содержание вторичных метаболитов в вегетативных органах *H. decorata* определено в период весенней вегетации и цветения.
2. Установлено, что запасные вещества в виде сахаров увеличивались в листьях от весенней вегетации к периоду плодоношения в 3, а крахмала в 1,2 раза.
3. Показано, что специфика накопления пектинов, протопектинов, катехинов, аскорбиновой кислоты, флавонолов связана с сезонным развитием растений *H. decorata.*

Работа выполнена в рамках государственного задания Центрального сибирского ботанического сада СО РАН по проекту № АААА-А17-1170126100053-9 "Выявление путей адаптации растений к контрастным условиям обитания на популяционном и организменном уровнях."

При подготовке публикации использовались материалы биоресурсной научной коллекции ЦСБС СО РАН «Коллекции живых растений в открытом и закрытом грунте», УНУ № USU 440534.

Список литературы

1. Ohwi J. Flora of Japan / J. Ohwi . – Washington : Square Press, 1965. – 1067 p.
2. Химина Н.И. Хосты / Н.И. Химина. – М.: Кладезь – Букс, 2005. – 95 с.
3. Клышев Л.К. Флавоноиды растений / Л.К. Клышев, В.А. Бандюкова, Л.С. Алюкина. – Алма-Ата : Наука, 1978. – 220 с.
4. Nishino N. Steroidal saponins from *Hosta longipes* and their inhibitory activity on tumor promoter-induced phospholipid metabolism of Hela cells / N. Nishino // Phytochemistry. – 1996. – № 42. – P. 1065–1070.
5. Mimaki Y. Steroidal glycosides from the underground pats of *Hosta plantaginea var. japonica* and their cytostatic activity on leukaemia HL-60 cells / Y. Mimaki, A.Kameyama, M. Kuroda [et al.] // Phytochem. – 1997. – № 44. – P. 305–310.
6. Mimaki Y. Streroidal saponins from the rhizomes of *Hosta sieboldii* and their cytostatic activity on HL-60 cells / Y. Mimaki, M. Kuroda, A. Kameyama [et al.] // Phytochem. – 1998. – № 48. – P. 1361–1369.
7. Xie H.X. Studies of Chemical Constituens from *Hosta plantaginea* (Lam.) Aschers, a Mognolia / H. X. Xie, H.G. Zhang, P.F. Xue // Medicine. Chin. Pharm. J. – 2009. – № 44. – P. 733–735.
8. Cui L.J. Study the anti-nonspecific inflammation of *Hosta ventricosa* / L.J. Cui, S.F. Zhao // J. Hebei. Tradit. Chin. Med. Pharmacol. – 2003. – № 18. – P. 28–30.
9. Liu J.Q. Steroidal saponins from flowers of *Hosta plantaginea* and their antitumor activities / J.Q. Liu, C.F. Wang, M.H. Qiu [et al.] // Chin. Tradit. Herb. Drugs. – 2010. – № 41. – P. 521–526.
10. Yada H. New steroidal saponin from *Hosta sieboldiana* / H. Yada, M. Kimura, M. Suzuki, M. Ohnishi-Kameyama [et al.] // Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry. – 2010. – Vol. 74. – Issue 4. – P. 861–864. doi:10.1271/bbb.90807
11. Li R. Chemical consitituents and biological activities of genus *Hosta (Liliaceae)* / R. Li, M.Y. Wang, X.B. Li // J. of Medicinal Plants Research. – 2012. – Vol. 6. – Issue 14. – P. 2704–2713. doi: 10.5897/jmpr11.1123
12. Liu N. Anthocyanins of the genus of *Hosta* and their impacts on tepal colors / N. Liu, G. Sun, Y. Xu [et al.] // Scientia Horticulture. – 2013. – Vol. 150. – P. 172–180.
13. Kim C.S. Flavonoid glicosides from *Hosta longipes*, their inhibitions on NO productions, and nerve growth factor indactive effects / C.S. Kim, O.W. Kwon, S.Y. Kim // J. of the Brazillian Chemical Society. – 2014. doi: 10.5935/0103-5053.20140060
14. Hata K. Stimulating activity of F-gitonin, a steroidal saponin from *Hosta siebolaiana* on human neutrophils-like cells / K. Hata, K. Hori, S. Takahashi // Nat. Med. – 2002. – № 56. – P. 153–156.

15. Wang Y.H. Benzylphenethylamine alkaloids from *Hosta plantaginea* acetylcholinesterase / Y.H. Wang, Z.K. Zhang, F.M. Yang [et al.] // J.Nat. Prod. – 2007. – № 70. – P. 1458–1461.
16. Седельникова Л.Л. Биологически активные вещества вегетативных органов *Hosta lancifolia* Engl. *(Hostaceae*) / Л.Л. Седельникова, Т.А. Кукушкина // Химия растительного сырья. – 2015. – №3. – С. 199–204. doi: 10.14258/jcprm.201503562
17. Процька В.В. Аналіз жирнокислотного складу сировини хости ланцетолистої / В.В. Процька, О. А. Кисличенко, І. О. Журавель // Scientific Journal «ScienceRise: Pharmaceutical Science». – 2016. – №2(2). – P. 24–29.
18. Беликов В.В. Методы анализа флавоноидных соединений / В.В. Беликов, М.С. Шрайбер // Фармация. – 1970. – №1. – С. 66–72.
19. Бородова В. Методические указания по химико-технологическому сортоиспытанию овощных, плодовых и ягодных культур для консервной промышленности / В. Бородова, Э. Горенков, О. Клюева [и др.]. – М. : Россельхозакадемия, – 1993. – 108 с.
20. Кривенцов В.И. Бескарбазольный метод количественного спектрофотометрического определения пектиновых веществ / В.И. Кривенцов // Сборник научных трудов Государственного Никитского ботанического сада. – 1989. – Вып. 109. – С. 128–137.
21. Методы биохимического исследования растений / под ред. А.И. Ермакова. Л.: Наука, – 1987. – 430 с.
22. Кукушкина Т.А. Манжетка обыкновенная (*Alchimilla vulgaris* L.) как источник лекарственных средств / Т.А. Кукушкина, А.А. Зыков, Л.А. Обухова // Актуальные проблемы создания новых лекарственных препаратов природного происхождения : материалы VII Междунар. съезда. СПб. : Фитофарм, – 2003. – С. 64–69.

SEARCH OF SECONDARY METABOLITES IN VEGETATIVE ORGANS *HOSTA DECORATA* (*HOSTACEAE*)

Sedel'nikova L. L., Kukushkina T. A.

Central Siberian Botanical Garden SB RAS, Novosibirsk, Russia
E-mail: lusedelnikova@yandex.ru

The study of various groups of biologically active substances in plants expands information about the functionality of the species in the cultivation of their Siberia region. This helps to determine not only their utility but also their adaptive capacity. Representatives of the genus *Hosta* Tratt. (*Hosta, funkia*), a family of *Hostaceae* (B. Matnew) are mostly known as ornamental and honey plants. The study of the phytochemical composition of the host in the recent period has shown that representatives of this genus contain flavonoids (quercetin, kaempferol), steroid glycosides, flavonoids, alkaloids, anthocyanins. The manifestation of antitumor, antioxidant, antifungal, antiviral and antibacterial properties in species, as well as their use as flavorings in the tobacco industry, was established. This indicates the great opportunities and practical significance of the host. Information on the content of metabolites of the main groups of substances and their dynamics of accumulation in leaves and rhizomes in *H. decorata* Bailey are absent, which determines the relevance and served as the basis for this work.

The aim of the work was to study the quantitative composition of biologically active and spare substances in the vegetative organs of *Hosta decorata* growing in the forest-steppe zone of the Novosibirsk region.

For the first time in conditions of forest-steppe zone of Western Siberia established dynamics of accumulation of spare substances (sugar, starch), ascorbic acid, pectin substances (pectin, protopectin), phenolic compounds (catechins, flavonols) in the vegetative organs of *H. decorata* for 2013-15 in the period of spring vegetation, flowering and fruiting. Pectin was determined escarbazol method; sugar by the method of A. S. Shvetsov and E. H. Lukyanenko; catechins by spectrophotometry; starch by the method of acid hydrolysis; ascorbic acid titrimetric; flavonols – spectrophotometrically by the method of V. V. Belikov and M. S. Shraiber. On the basis of the data obtained:

The content of secondary metabolites in the vegetative organs of *H. decorata* is ambiguous: in the leaves of ascorbic acid (37.01-136.8 mg/%), than in rhizomes; pectin 1.5-2 times more in the rhizomes; the number of catechins 1.5 times reduced by the end of the autumn vegetation; the highest readings of flavonols in the leaves during the spring growth (1.3-1.9%). Spare substances in the form of sugars increased in leaves by the period of fruiting in 3.0 and starch in 1.2 times. The specificity of the accumulation of pectins, protopectins, catechins, ascorbic acid is associated with the seasonal development of *H. decorata* plants.

***Keywords*:** *Hosta decorata,* spare substances, phenolic compounds, pectin substances, ascorbic acid, leaf, rhizome, Western Siberia.

References

1. Ohwi J., *Flora of Japan. Washington,* 1067 p, (Square Press, Washington, 1965).
2. Himina N. I., *Hosts*, 95 p. (Kladez-Books, Moscow, 2005). *(in Russ.).*
3. Klyshev L.K., Bandjukova V.A., Aljukina L.S., *Flavonoidy rastenij,* 220 p. (Nauka, Alma-Ata, 1978). *(in Russ.).*
4. Nishino N., Steroidal saponins from *Hosta longipes* and their inhibitory activity on tumor promoter-induced phospholipid metabolism of Hela cells, *Phytochem.,* **42**, 1065 (1996).
5. Mimaki Y., Kameyama A., Kuroda M., Sashida Y., Hirano T., Oka K., Koike K., Nikaido T., Steroidal glycosides from the underground pats of *Hosta plantaginea var. japonica* and their cytostatic activity on leukaemia HL-60 cells*, Phytochem*., **44**, 305 (1997).
6. Mimaki Y., Kuroda M., Kameyama A., Yokosuka A., Sashida Y., Streroidal saponins from the rhizomes of *Hosta sieboldii* and their cytostatic activity on HL-60 cells, *Phytochem*., **48,** 1361 (1998).
7. Xie H.X., Zhang H.G., Xue P.F., Studies of Chemical Constituens from *Hosta plantaginea (*Lam.*)* Aschers*,* a *Magnolia*, *Medicine. Chin. Pharm. J*., **44**, 733 (2009).
8. Cui L.J., Zhao S.F., Study the anti-nonspecific inflammation of *Hosta ventricosa, J. Hebei. Tradit. Chin. Med. Pharmacol.,* **18**, 28 (2003).
9. Liu j.Q., Wang C.F., Qiu M.H., Hu W.X., Steroidal saponins from flowers of *Hosta plantaginea* and their antitumor activities, *Chin. Tradit. Herb. Drugs*, **41**, 521 (2010).
10. Yada H., Kimura M., Suzuki M., Ohnishi-Kameyama M., Shinmoto H. New steroidal saponin from *Hosta sieboldiana, Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry*, **74** (4), 861 (2010) doi:10.1271/bbb.90807
11. Li R., Wang M.-Y., Li X.B., Chemical consitituents and biological activities of genus *Hosta* (*Liliaceae*). *J. of Medicinal Plants Research,* **6** (14), 2704 (2012). doi: 10.5897/jmpr11.1123
12. Liu N., Sun G., Xu Y., Luo Z., Lin Q., Li X., Zhang J., Wang L., Anthocyanins of the genus of *Hosta* and their impacts on tepal colors, *Scientia Horticulture,* **150**, 172 (2013).

13. Kim C.S., Kwon O.W., Kim S.Y., Flavonoid glicosides from *Hosta longipes,* their inhibitions on NO productions, and nerve growth factor indactive effects, *J. of the Brazillian Chemical Society*, doi: 10.5935/0103-5053.20140060 (2014).
14. Hata K., Hori K., Takahashi S., Stimulating activity of F-gitonin, a steroidal saponin from *Hosta siebolaiana* on human neutrophils-like cells, *Nat. Med*., **56**, 153 (2002).
15. Wang Y.H., Zhang Z.K., Yang F.M., Sun Q.Y., He H.P. Di Y.T., Mu S.Z., Lu Y., Chang Y., Zheng Q.T., Ding M., Dong J.H., S.L., Hao X.J., Benzylphenethylamine alkaloids from *Hosta plantaginea* acetylcholinesterase, *J.Nat. Prod*., **70**, 1458 (2007).
16. Sedel′nikova L. L., Kukushkina T. A., Biologically active substances of vegetative organs *Hosta lancifolia* Engl. (*Hostaceae*), *Khimiya Rastitel'nogo Syr'ya,* **3**, 199 (2015). doi: 10.14258/jcprm.201503562. *(in Russ.).*
17. Procka V. V., Kislichenko O. A., Zhuravel I. O., Analysis of fatty acid composition of raw materials *Hosta lancifolia*, *Scientific Journal Science Rise: Pharmaceutical Science*, **2**(2), 24 (2016).
18. Belikov V.V., Shrajber M.S., Methods of analysis of flavonoid compounds, *Farmacija,* **1**, 66 (1970). *(in Russ.).*
19. Borodova V.Ja., Gorenkov Je.S., Kljueva O.A., Malofeeva L.N., Megerdichev E.Ja., *Metodicheskie ukazanija pohimiko-tehnologicheskomu sortoispytaniju ovoshhnyh, plodovyh i jagodnyh kul'tur dlja konservnoj promysh-lennosti. Guidelines for Chemical Technology Variety Testing of vegetable, fruit and berry cultour for the canning industry,* 108 p. (Russian agricultural academy, Moscow, 1993). *(in Russ.).*
20. Kriventsov V. I., Without carbazole method of quantitative spectrophotometric determination of pectin substances, *Proceedings of the Nikitsky bot. garden*, **109**, 128 (1989). *(in Russ.).*
21. *Methods of biochemical research plant*, edited A.I. Ermakov, 430 p. (Nauka, Leningrad, 1987). *(in Russ.).*
22. Kukushkina T.A., Zykov A.A., Obuhova L. A., Aktual'nye problemy sozdanija novyh lekarstvennyh preparatov prirodnogo proishozhdenija, *Mat. VII Mezhdunarodnogo s'ezda. Actual problems of creating new drugs of natural origin : Proceedings of the VII International Congress.* (Phitofarm, Stankt-Petersburg, 2003). p. 64. *(in Russ.).*

Ученые записки Крымского федерального университета имени В. И. Вернадского
Биология. Химия. Том 5 (71). 2019. № 1. С. 126–138.

УДК 159.938.3

ХАРАКТЕРИСТИКА ПРОСТЫХ ПСИХОМОТОРНЫХ РЕАКЦИЙ ПРИ ЧЕРЕДУЮЩЕЙСЯ РАЗНОМОДАЛЬНОЙ СЕНСОРНОЙ СТИМУЛЯЦИИ (ЭЛЕКТРОМИОГРАФИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ)

Соболев В. И.

Гуманитарно-педагогическая академия (филиал) ФГАОУ ВО «Крымский федеральный университет имени В. И. Вернадского», Ялта, Республика Крым, Россия
E-mail: v.sobolev@mail.ru

Использование метода ЭМГ-анализа позволило провести точное измерение параметра «время обнаружения стимула – stimulus detection time, sDT» в составе простых зрительно- и аудиомоторной реакций. Показано, что у девушек возрастом 18–19 лет sDT для простой зрительно-моторной реакции составило 148±1,36 мс, а для аудиомоторной реакции соответственно 115±1,38 мс. При выполнении усложненной простой сенсомоторной реакции путем использования приема постоянной равновероятностной смены модальности предъявляемого стимула (свет или звук) значение параметра «временя обнаружения стимула» удлинялось на 22±2,2 мс (для зрительно-моторной реакции) и на 23±2,5 мс (для аудиомоторной реакции), или на 15 % и 20 %. Феномен снижения скорости выполнения составных элементов усложненной простой сенсомоторной реакций может быть связан, по результатам вычисления степени флуктуаций в цепном ряду динамики, с ухудшением стабильности их выполнения (на 36 % для зрительно-моторной и 46 % для аудиомоторной реакций) за счет возрастания пула так называемых удлиненных реакций при одновременном уменьшении числа «быстрых». С точки зрения психофизиологической организации сенсомоторных актов снижение скорости выполнения усложненных простых реакций может быть обусловлено эффектом перераспределения ресурсов внимания вследствие необходимости его удержания одновременно на двух разномодальных объектах – источниках сенсорных сигналов.

Ключевые слова: разномодальная сенсорная стимуляция, простые сенсомоторные реакции; стабильность реакций.

ВВЕДЕНИЕ

Изучение особенностей функционального состояния центральной нервной системы с помощью методов психометрии остается широко распространенным в исследованиях психофизиологического характера, что связано с их высокой информативностью и базовыми механизмами нейронной организации сенсомоторного ответа [1–4, 6, 8, 9, 11, 16, 20]. В настоящее время ведутся интенсивные исследования в области построения моделей, описывающих основные принципы функционирования нейронных сетей ЦНС при обработке сенсорной информации и формировании решения [5, 10, 15–18], проводятся работы с картированием мозга и определением латентности вызванных потенциалов [1, 2, 7], разрабатываются теории формирования ощущения, восприятия и сенсорного осознания, построенных на так называемом принципе "кольца" А. М. Иваницкого

[7], "динамического ядра" Дж. Эделмена [14], а также на результатах исследований В. Я. Сергина [10] и др. Однако многие теоретические аспекты проблемы организации психомоторного ответа остаются недостаточно исследованными. К числу таких проблем можно отнести вопросы, связанные с проведением сравнительной оценки степени стабильности выполнения разномодальных простых сенсомоторных реакций, например зрительно- и аудиомоторных [8, 9, 13]. В связи с этим первой задачей настоящей работы явилось проведение сравнительной оценки уровня стабильности выполнения простых зрительно- и аудиомоторной реакций путем использования метода анализа так называемых цепных рядов динамики (цепного темпа роста).

Вторая важная проблема организации психомоторных функций связана с переработкой разномодальной сенсорной информации в условиях равнозначной функциональной готовности (режим активного ожидания) двух и более исследуемых анализаторов и влиянием этого состояния на скорость принятия решения при осуществлении сенсомоторных реакций. В наиболее известных публикациях Е. К. Айдаркина [1, 2] изучены основные закономерности интермодального взаимодействия зрительной и слуховой стимуляции в условиях сенсомоторной интеграции. Однако в приведенных работах использовалась модель одновременной стимуляции анализаторов разной комбинацией одно- и бимодальных стимулов.

Вместе с тем, некоторые стороны, отражающие закономерности параллельного функционирования двух разномодальных сенсомоторных нейронных цепей, находящихся в режиме активного ожидания, могут быть исследованы также с помощью других простых моделей, в частности, использованной в настоящей работе. Суть предлагаемой экспериментальной задачи сводится к последовательному измерению времени простых зрительно-моторной и аудиомоторной реакций в ответ на случайным образом чередующиеся световые и звуковые стимулы. Принципиально важной особенностью теста является то обстоятельство, что исследуемые сенсомоторные нейронные комплексы, по условиям эксперимента, «нацелены» исключительно и безальтернативно на запуск и реализацию моторной программы по принципу триггера независимо от модальности стимула, а собственно сенсомоторная реакция выполняется всегда стандартным образом (правой рукой).

В качестве рабочей гипотезы было выдвинуто предположение о том, что в режиме перманентной готовности зрительного и слухового анализаторов к обязательному запуску моторной программы-действия ухудшаются функциональные характеристики каждого из них. Определить степень такого рода эффекта, используя метод ЭМГ-анализа, и явилось целью настоящей работы.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Характеристика контингента испытуемых. Экспериментальная часть работы выполнена с участием 14 студентов-добровольцев (девушек) возрастом 18–19 лет (M = 18,1, SD = 0,37), обучающихся в Крымском федеральном университете имени В. И. Вернадского, в осенне-зимний период 2017–2018 гг.

Процедура исследования и оборудование. В ходе исследований были проведены три серии опытов. В первой серии опытов (серия № 1, «СВЕТ») определяли латентный период простой зрительно-моторной реакции исключительно на световой раздражитель (ПЗМР-1, по 30 замеров у каждого испытуемого), а во второй (серия № 2, «ЗВУК») – исключительно на звуковой стимул (простая аудиомоторная реакция, ПАМР-1, по 30 измерений). В третьей серии опытов измеряли латентные периоды так называемых усложненных простых зрительно-моторной (ПЗМР-2) и аудиомоторной (ПАМР-2) реакций при случайным образом сменяющихся (чередующихся) световых (38) и звуковых (38) стимулах. Всего в ходе третьей серии экспериментов испытуемому предъявляли 76 одиночных раздражителей разной модальности. Интервал времени между предъявлением каждого из 76 отдельных стимулов колебался в диапазоне 2–4 с. Все стимулы чередовались случайным образом.

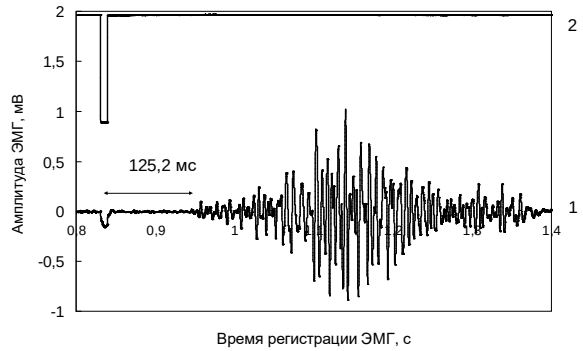


Рис. 1. К вычислению параметра sDT (время обнаружения стимула) методом анализа электромиограммы.

Обозначение: 1 – запись фрагмента электромиограммы; 2 – отметка и продолжительность (20 мс) предъявления сенсорного стимула; измеренное время sDT (на примере простой зрительно-моторной реакции) составило 125,2 мс.

Показателем латентного периода сенсомоторных реакций служил параметр, отражающий так называемое «время обнаружения стимула - stimulus detection time, sDT [20]. Численно значение параметра sDT соответствовало отрезку времени от момента предъявления сенсорного стимула испытуемому до момента появления первых ЭМГ-потенциалов (ЭМГ-ответ) на интерференционной электромиограмме (Рис. 1). Экспериментальная установка включала блок ЭМГ-биоусилителя на базе инструментального усилителя INA118, многоканальный цифровой самописец (S-Recoder-L, Россия) с компьютером и блок предъявления светового и звукового раздражителей. Информация записывалась в виде alf-файлов при выбранной частоте семплирования (дискретизации) по каждому измерительному каналу 20 кГц (50 *мкс*). Высокая частота семплирования ЭМГ-сигнала позволила программными методами с высокой точностью измерять время реакции. Для регистрации интерференционной электромиограммы использовали пластинчатые ЭМГ-электроды. Электроды имели округлую форму диаметром 10 мм, изготовлялись из стандартных пластин электродов электрокардиографа и крепились на коже (4 см друг от друга) над мышцами внешней поверхности предплечья, участвующих в сгибании кисти и ее пальцев.

В ходе опыта правая рука испытуемого с наложенными ЭМГ-электродами свободно свисала вдоль тела, что обеспечивало низкий уровень исходного ЭМГ-тонуса, а реакция на сенсорный стимул осуществлялась путем быстрого сведения большого и указательного пальцев кисти. Такая модификация эксперимента позволила отказаться от обычно используемой кнопки «СТОП» секундомера, что позволило полностью исключить ошибку измерения, связанную с механической конструкцией кнопки, а также собственно моторным компонентом реакции (временем инициации двигательного акта – MIT, movement initiation time [20]). Последнее в большой мере определяется биомеханикой мышечного сокращения и непредсказуемо колеблется в широком диапазоне значений, что вносит дополнительную ошибку в измерение истинного значения времени сенсорного ответа.

В качестве источника светового раздражителя использовался выносной точечный источник света на основе светодиода BL-L502UBC ярко-голубого свечения (Ultra Blue, 470 nm). Источник света располагался на расстоянии 40 см от кончика носа, а световой стимул предъявлялся в оба глаза. Интенсивность светового сигнала выбиралась постоянной и предварительно аппаратными средствами (IF = 20 mA) устанавливалась на приемлемом для глаза уровне 5000 mcd; длительность светового стимула составляла 20 мс. Источником звукового сигнала служили парные головные телефоны; интенсивность звука составляла 80 дБ при частоте 1000 Гц и длительности стимуляции 20 мс.

При статистической обработке данных использовали пакеты прикладных программ Excel и Statistica 7.0. Статистическую значимость различий между двумя средними арифметическими величинами определяли с помощью двухвыборочного t-теста Стьюдента для выборок с различными дисперсиями при заданном уровне значимости $p < 0,05$. При оценке различий между двумя множествами использовали однофакторный дисперсионный анализ, двухвыборочный F-тест для дисперсий, а также дополнительно – непараметрический критерий Краскела-Уоллиса. Для сравнительной характеристики стабильности (устойчивости) выполнения разномодальных сенсомоторных реакций использовали коэффициент вариации Cv, а также статистические параметры рядов динамики. В последнем случае при анализе степени вариабельности психомоторных реакций строили так называемые цепные ряды динамики путем пошагового вычисления отклонения последующей варианты в вариационном ряду от предшествующей (цепной темп прироста). Во всех случаях сравнение анализируемых показателей и статистическая оценка различий проводили на основании проверки нулевой и альтернативной гипотез.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Время выполнения простых психомоторных реакций (1 и 2-я серии опытов, ПЗМР-1 и ПАМР-1). Сравнительный анализ полученных данных показал, что время простой зрительно-моторной реакции (148 ± 1,36 мс) было существенно больше (на +33 ± 2,2 или +22,3 %, $p < 0,01$), чем время простой аудиомоторной реакции (115 ± 1,28 мс, табл.). Различия проявлялись и со стороны значения медианы, которая для ПЗМР-1 составляла 144,2 мс, а для ПАМР-1 соответственно

112,6 мс. Важно, что такая закономерность имела место и для каждого в отдельности испытуемого (100 %). Факт различия между временем выполнения двух исследуемых сенсомоторных реакций подтверждается также однофакторным дисперсионным анализом ($p < 0,01$) и непараметрическим критерием Краскела-Уоллиса ($p < 0,01$).

Представляет интерес анализ характера распределения частот распределения значений времени простых психомоторных реакций в исследуемых вариационных рядах. Как видно из рис. 2, за счет увеличения степени правосторонней асимметрии вершина кривой распределения частот для ПЗМР-1 относительно соответствующей кривой для ПАМР-1 смещена по оси значений времени реакции вправо. При этом наибольшая частота встречаемости значений времени ПАМР-1 и ПЗМР-1 располагалась на разных участках шкалы времени. Так, для аудиомоторной реакции эта частота относилась к диапазону (модальному классу) 100 – 120 мс, а для зрительно-моторной реакции соответственно к диапазону 140 – 150 мс. Значение 1-го квартиля для ПАМР-1 и ПЗМР-1 составляло 96,6 и 130,1 мс, а для 3-го квартиля – 129,1 и 163,8 мс.

Таблица

Сравнительная характеристика латентных периодов (время обнаружения стимула, sDT) зрительно-и аудиомоторной реакций при разных алгоритмах сенсорной стимуляции (простые и усложненные сенсомоторные реакции)

Показатель	Зрительно-моторная реакция			Аудиомоторная реакция		
	Простая зрительно-моторная реакция, ПЗМР-1	Усложненная простая зрительно-моторная реакция, ПЗМР-2	Разница: ПЗМР-2 – ПЗМР-1	Простая аудио-моторная реакция, ПАМР-1	Усложненная простая аудиомоторная реакция, ПАМР-2	Разница: ПАМР-2 – ПАМР-1
Среднее значение и ошибка, мс (исходные данные)	148±1,36 (27,9; 781)	170±1,79 (41,5; 1719)	+22±2,2 +14,9 % P < 0,01	115±1,28 (26,2; 692)	138±2,15 (49,6; 2460)	+23±2,5 +20 % P < 0,01
Среднее значение отклонений и ошибка в цепном ряду динамики, %	14,6±0,60 (12,3; 152)	19,8±0,80 (18,4; 340)	+5,2±1,0 +36 % P < 0,01	15,9±0,61 (12,6; 159)	23,2±0,99 (22,8; 519)	+7,3±1,2 +46 % P < 0,01
Число измерений	420	532	-	420	532	-

Примечание: в круглых скобках: первая цифра – стандартное отклонение (SD), вторая цифра – величина дисперсии (variance).

Вариабельность простых психомоторных реакций. Сравнительный анализ параметров, отражающих вариабельность ПЗМР-1 и ПАМР-1, не выявил между

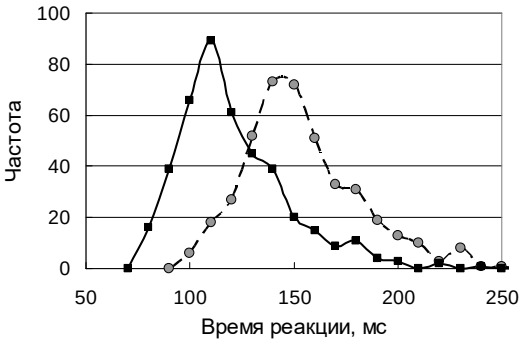


Рис. 2. Характер распределения частот значений параметров времени разномодальных сенсомоторных реакций.

Обозначения: сплошная линия - простая аудиомоторная реакция (ПАМР-1); пунктирная линия - простая зрительно-моторная реакция (ПЗМР-1); за 100 % принималось число измерений в соответствующем вариационном ряду.

ними статистически значимых различий. Так, значения коэффициентов вариации для анализируемых вариационных рядов фактически не различались и были относительно невысокими ($Cv_{факт}$ < 33 %), что, согласно общепринятым критериям, свидетельствует о достаточно высокой степени однородности совокупностей. Статистически значимые различия между величинами дисперсии в вариационных рядах показателей ПЗМР-1 и ПАМР-1 также отсутствовали, о чем свидетельствуют результаты дисперсионного анализа, проведенного с помощью двухвыборочного F-теста для дисперсии (P = 0,175). Следует отметить, что данный метод дисперсионного анализа позволяет путем сравнения $F_{факт.}$ с $F_{крит.}$ оценить лишь уровень статистической значимости различий двух дисперсий на основании сравнения альтернативной и «нулевой» гипотез. Между тем, представляется важным выяснение количественных параметров различий в степени вариабельности исследованных двух разнородных рядов.

Количественная оценка степени вариабельности (стабильности) простых зрительно-моторной и аудиомоторной реакций, проведенная нами на основании анализа показателей цепных динамических рядов, свидетельствуют о том, что средняя величина абсолютных отклонений для ПЗМР-1 и ПАМР-1 статистически значимо не различались (соответственно, 14,6 ± 0,60 мс и 15,9 ± 0,61 мс при разнице +1,3 ± 0,86 мс, p > 0.05). Кроме того, не различались и дисперсии выборок (соответственно, 152 и 159) в анализируемых динамических рядах. Как видно, использование метода вычисления параметров динамических рядов позволило провести анализ не только качественных различий между показателями вариабельности при выполнения разнотипных сенсомоторных реакций (по принципу «различаются – не различаются»), но и количественно описать этот параметр (вариабельность) с помощью параметрических методов вариационной статистики.

Таким образом, анализ данных, полученных при исследовании простых зрительно- и аудиомоторной реакций, свидетельствует, во-первых, о большей скорости ПАМР-1 по сравнению с ПЗМР-1 и, во-вторых, об отсутствии различий в показателях стабильности их выполнения.

Характеристика показателей усложненных простых сенсомоторных реакций (ПЗМР-2 и ПАМР-2). Центральной задачей настоящей работы явилось выяснение закономерностей реализации психомоторной реакции в условиях попеременной

стимуляции двух анализаторов (зрительного и звукового) при постоянной готовности их к инициации моторного ответа (усложненная простая сенсомоторная реакция). При анализе результатов экспериментов были выявлены следующие особенности.

Во-первых, как видно из таблицы, время выполнения усложненной простой аудиомоторной реакции составило 138 ± 2,15 мс, а зрительно-моторной – 170 ± 1,79 мс, что было на 32±2,79 мс больше (23 %, $p < 0,01$). Приведенные результаты свидетельствуют, что при равновероятностной стимуляции разномодальными раздражителями скорость сенсомоторной реакции на звук была выше, чем на свет. Данный вывод подтверждается также непараметрическим критерием Краскела-Уоллиса ($p < 0,01$). Анализ характера распределения частот для ПЗМР-2 и ПАМР-2 показал, что пики кривых зависимостей смещены относительно друг друга. Наибольшая частота встречаемости значений времени ПАМР-2 и ПЗМР-2 располагалась на разных участках шкалы времени: для первой из них эта частота относилась к диапазону 110 – 120 мс, а для второй – соответственно к диапазону 150 – 160 мс. Значение 1-го квартиля для ПАМР-2 и ПЗМР-2 составляло 105,2 и 138,9 мс, а для 3-го квартиля – 155,4 и 195 мс.

Во-вторых, при чередующихся равновероятных предъявлениях светового и звукового стимулов стабильность выполнения ПЗМР-2, по данным расчета коэффициента вариации и двухвыборочного F-теста для дисперсий, была существенно выше, чем ПАМР-2.

Такой же вывод можно сделать и на основании анализа цепных рядов динамики (табл.). Видно, что «Среднее значение абсолютных величин отклонений в цепном ряду динамики» для ПЗМР-2 составило 19,8 ± 0,8, а для ПАМР-2 соответственно 23,2 ± 0,99, что было значительно больше (+17,2 %). Сопоставление дисперсий в указанных вариационных рядах также свидетельствует, что выполнение усложненной простой аудиомоторной реакции осуществлялось с меньшей стабильностью, чем зрительно-моторной ($p < 0,01$).

Сравнительная характеристика параметров простых и усложненных психомоторных реакций. При сравнительном анализе показателей времени зрительно-моторного и аудиомоторного компонентов в усложненной сенсомоторной реакции (ПЗМР-2 и ПАМР-2), с одной стороны, и времени ПЗМР-1 и ПАМР-1, с другой, выяснилось, что в первом случае сенсомоторная реакция значительно удлинялась. Так, по данным таблицы видно, что время выполнения зрительно-моторной реакции в составе усложненной сенсомоторной реакции (170 ± 1,79 мс) было на +22 ± 2,2 мс (+14,9 %) больше, чем при простой зрительно моторной реакции (ПЗМР-1, 148 ± 1,36 мс).

В отношении реакции на звук такое различие еще более увеличивалось и достигало +23 ± 2,5 мс (+20 %). Обращает на себя внимание факт резкого возрастания величины дисперсии для выборок ПЗМР-2 и ПАМР-2 по сравнению с ПЗМР-1 и ПАМР-1 (табл. исходные данные), что подтверждается результатами двухвыборочного F-теста ($p < 0,01$). Для количественного описания различий в стабильности выполнения психомоторных реакций, как указывалось выше, был применен метод анализа цепного темпа роста в динамических рядах, выраженный в

относительных единицах (%). Как видно из таблицы, при выполнении усложненной простой зрительно-моторной реакции среднее отклонение последующей варианты от предшествующей в относительных величинах составило 19,8 ± 0,80 против 14,6 ± 0,60, что было на 36 % больше. Еще более выраженные различия (46 %) имели место при сравнении средних арифметических отклонений аудиомоторных реакций (ПАМР-1 и ПАМР-2). О росте степени вариабельности усложненных простых психомоторных реакций свидетельствуют также результаты сравнения дисперсий в цепных рядах динамики (табл.), которые в случае ПЗМР-2 и ПАМР-2 были статистически достоверно выше ($p < 0,01$), чем для ПЗМР-1 и ПАМР-1.

Обсуждая полученные данные, необходимо остановиться на следующих основных моментах. Во-первых, латентный период простой аудиомоторной реакции было короче, чем простой зрительно-моторной реакции (на 33±1,87 мс, +28,7 %). Такой результат согласуется с литературными данными других авторов [9, 8, 13, 20] и, с нашей точки зрения, уже относится к разряду «твердо установленных фактов». Однако природа этих различий до конца не ясна. Разница между латентными периодами ПЗМР и ПАМР в определенной степени может быть обусловлена более длительным периодом генерации фоторецепторного ответа в периферической части зрительного анализатора, а также с разной скоростью принятия решения в центральных отделах соответствующих сенсорных анализаторов. В то же время, основываясь на результатах анализа степени вариабельности выполнения ПЗМР и ПАМР (она была равной), можно предположительно говорить об отсутствии различий, по крайней мере, в уровне общей функциональной активности центральных структур зрительного и слухового анализаторов в ходе выполнения простых сенсомоторных реакций. По-видимому, ответ на этот вопрос может быть получен при исследовании как общих закономерностей функционирования функциональных систем организма, так и в прямых нейрофизиологических исследованиях при параллельной регистрации активности отдельных нейронов соответствующих структур анализаторов.

Во-вторых, усложнение сенсорной задачи при выполнении простых аудио- и зрительно-моторной реакций путем использования приема постоянной смены модальности предъявляемого стимула приводило к их удлинению (соответственно, на 14,9 % и 20 %, а в абсолютных величинах на 22 – 23 мс) и резкому снижению стабильности их выполнения. В этой связи необходимо еще раз отметить о принципиальных различиях теста, использованного в нашей работе, и тестом с использованием так называемой реакции выбора. В нашем случае, что принципиально важно, в центральных структурах анализаторов не требовалось активировать процесс торможения очередной моторной реакции при предъявлении альтернативного сенсорного стимула, а, наоборот – всегда ее запускать. Характерно, что различия между простой и сложной зрительно-моторной реакцией (реакцией выбора) [9] достигают 100 – 150 мс (50 – 80 %), тогда как в наших исследованиях различия между простой и усложненной сенсомоторными реакциями составили 22 – 23 мс (14,9 – 20 %). Следовательно, время принятия решения – «запустить моторную программу при любом стимуле», в нашем случае, было

существенно меньше, чем время принятия решения – «тормозить запуск моторной реакции» при операции выбора.

Феномен снижения скорости выполнения усложненных простых сенсомоторных реакций, с нашей точки зрения, может быть связан с ухудшением стабильности их выполнения за счет возрастания пула так называемых удлиненных реакций (Рис. 3, на примере простой зрительно-моторной реакции) при одновременном уменьшении числа «быстрых», что и приводило к общему увеличению значения средней арифметической.

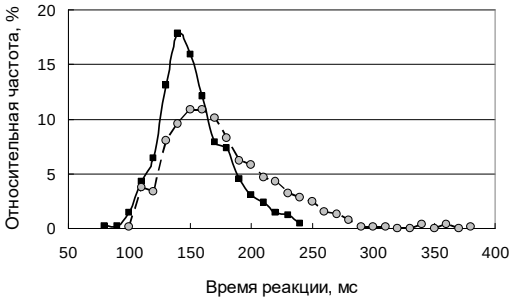


Рис. 3. Характер распределения относительных частот значений времени двух типов зрительно-моторной реакции.

Обозначения: сплошная линия - простая зрительно-моторная реакция (ПЗМР-1); пунктирная линия - усложненная простая зрительно-моторная реакция (ПЗМР-2); за 100 % принималось число измерений в соответствующем вариационном ряду.

Природа вариабельности зрительно-моторной реакции во многом не ясна, но понятно, что она является фундаментальным свойством любой саморегулирующейся системы. В этой связи можно сослаться на работы, связывающие время реакции и ее вариабельность с так называемым нейронным шумом, как непременного условия сохранения в рабочем состоянии нейронной сети, обеспечивающей функциональную готовность к выполнению освоенного ранее моторного акта [18]. Хорошо обоснованными моделями нейронной организации сенсорного ответа являются так называемые модели накопления (accumulator models) [15], а также представления E. N. Sokolov, N. I. Nezlina [19] о роли так называемых командных нейронов. Источником вариабельности в такой нейрональной системе служит процесс ритмического колебания уровня срабатывания нейрона-пейсмекера.

С точки зрения психофизиологической организации сенсомоторных актов снижение скорости выполнения усложненных простых разномодальных реакций может быть обусловлено эффектом перераспределения ресурсов внимания [1, 2] вследствие необходимости удерживать внимание одновременно на двух разномодальных объектах – источниках сенсорных сигналов. Как видно, эффект распределения внимания применим к ситуации одновременного параллельного функционирования двух анализаторов – зрительного и слухового, имеющих общую точку конвергенции в моторной зоне (конечный путь), из которой уже по принципу триггера и активируется стандартная моторная реакция.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

1. Использование метода ЭМГ-анализа позволило провести точное измерение параметра «время обнаружения стимула – stimulus detection time, sDT» в составе простых зрительно- и аудиомоторной реакций; sDT для зрительно-моторной

реакции составило 148 ± 1,36 мс, а для аудиомоторной реакции соответственно 115 ± 1,38 мс.

2. При выполнении усложненной простой сенсомоторной реакции путем использования приема постоянной равновероятностной смены модальности предъявляемого стимула (свет или звук) значение параметра «stimulus detection time» удлинялось на 22 ± 2,2 мс (для зрительно-моторной реакции) и на 23 ± 2,5 мс (для аудиомоторной реакции), или на 15 % и 20 %.
3. Феномен удлинения значения параметра «время обнаружения стимула – sDT» может быть связан, по результатам вычисления степени флуктуаций в цепном ряду динамики, с ухудшением стабильности их выполнения (на 36 % для зрительно-моторной и 46 % для аудиомоторной реакций) за счет возрастания пула так называемых удлиненных реакций при одновременном уменьшении числа «быстрых».
4. С точки зрения психофизиологической организации сенсомоторных ответов снижение скорости выполнения усложненных простых разномодальных реакций может быть обусловлено эффектом перераспределения ресурсов внимания вследствие необходимости его удержания одновременно на двух разномодальных объектах – источниках сенсорных сигналов.

Список литературы

1. Айдаркин Е.К. Исследование особенностей взаимодействия зрительной и слуховой систем / Е. К. Айдаркин // Валеология. – 2006. – № 3. – С. 82–93.
2. Айдаркин Е.К. Соотношение времени реакции и длительности удержания кнопки в условиях сенсорной интеграции / Е.К. Айдаркин, Е.С. Кирпач // Валеология. – 2011. – № 4. – С. 87–96.
3. Анохин П.К. Философские аспекты теории функциональной системы / П. К. Анохин // Отв. ред. Ф. В. Константинов, Б. Ф. Ломов, В. Б. Швырков. – М.: Наука, 1978. – 399 с.
4. Ахмедова О.О. Психофизиологическое состояние студентов первокурсников с разным уровнем двигательной активности / О.О. Ахмедова, Г.О. Овезгельдыева, А. Г. Григорьян // Физиология человека. – 2011. – Т. 37, № 5. – С. 84–90.
5. Батуев А.С. Роль различных кортикальных областей и зрительно-моторной координации / А. С. Батуев, Е.В. Черенкова, Г.А. Куликов // Сенсорные системы. – 1982. – С. 101.
6. Бернштейн Н.А. Физиология движений и активность / Н. А. Бернштейн. – М.: Наука (Серия "Классики науки"), 1990. – 497 с.
7. Иваницкий А.М. Мозговая основа субъективных переживаний: гипотеза информационного синтеза / А. М. Иваницкий // Журнал высшей нервной деятельности. – 1996. – Т. 46, № 2. – С. 241–252.
8. Нехорошкова А.Н. Сенсомоторные реакции в психофизиологических исследованиях (Обзор) / А.Н. Нехорошкова, А.В. Грибанов, И.С. Депутат // Вестник Северного (Арктического) федерального университета. Серия: Медико-биологические науки. – 2015. – № 1. – С. 38–48.
9. Романенко В.А. Психофизиологический базис успешности обучения студенток / В.А. Романенко, Д.А. Кочура // Вестник Донецкого национального университета. Сер. А: Естественные науки. – 2016. – № 4. – С. 116–122.
10. Сергин В.Я. Авто-отождествление паттернов нейронной активности как физиологический механизм осознания / В. Я. Сергин // Журнал высшей нервной деятельности. – 2016. – Т. 66, № 3. – С. 259–278.
11. Соболев В.И. Особенности психомоторных реакций у детей младшего школьного возраста специальных медицинских групп / В.И. Соболев, М.Н. Попов // Гуманитарные науки. – 2017. – № 2 (38). – С. 42–49.

12. Судаков К.В. Теория функциональных систем. Постулаты и принципы построения организма человека в норме и при патологии / К. В. Судаков // Патолог. физиология и эксперимент. терапия. – 2007. – № 4. – С. 2–11.
13. Шутова С.В. Сенсомоторные реакции как характеристика функционального состояния ЦНС / С. В. Шутова, И.В. Муравьева // Вестник ТГУ. – 2013. – Т. 18, Вып. 5. – С. 2831–2840.
14. Edelman G.M. Universe of Consciousness / G.M. Edelman, G.A. Tononi. – N. Y.: Basic Books, 2000. – 274 p.
15. Heathcote A. Linear deterministic accumulator models of simple choice / A. Heathcote, Jonathon Love // Front. Psychol. – 2012. – 23 August. https://doi.org/10.3389/fpsyg.2012.00292
16. Hinder Mark R. Premotor-Motor Interhemispheric Inhibition Is Released during Movement Initiation in Older but Not Young Adults / Mark R. Hinder, Hakuei Fujiyama, Jeffery J. Summers // PLOS ONE. – 2012. – Vol. 7, Issue 12, e52573. – P. 1–10. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0052573
17. Ratcliff Roger. Estimating parameters of the diffusion model: Approaches to dealing with contaminant reaction times and parameter variability / Roger Ratcliff, Francis Tuerlinckx // Psychol. Bull. Rev. – 2002. – Vol. 9(3). – P. 438–481.
18. Rokni Uri. Motor Learning with Unstable Neural Representations / Uri Rokni, Andrew G. Richardson, Emilio Bizzi // Neuron. 2007. –Vol. 54, May 24. – P. 653–666.
19. Sokolov E.N. Conditioned reflex: detector and command neuron / E.N. Sokolov, N.I. Nezlina // I.P. Pavlov Journal of Higher Nervous Activity. – 2007. – Vol. 57, No. 1. – P. 5–22.
20. Woods David L. Factors influencing the latency of simple reaction time / David L. Woods, John M. Wyma, E. William Yund [et al.] // Front. Hum. Neurosci. – 2015. – 26 March. https://doi.org/10.3389/fnhum.2015.00131

FEATURES OF SIMPLE PSYCHO-MOTOR REACTIONS DURING MULTIMODAL STIMULATION (ELECTROMYOGRAPHIC STUDY)

Sobolev V. I.

V.I. Vernadsky Crimean Federal University, Simferopol, Crimea, Russian Federation
E-mail: v.sobolev@mail.ru

The study of the features of the functional state of the central nervous system using psychometric methods remains widespread in studies of a psychophysiological nature, which is due to their high information content and the basic mechanisms of the neural organization of the sensormotor response. As a working hypothesis, it was suggested that in the regime of permanent readiness of the visual and auditory analyzers for the mandatory launch of the motor action program, the functional characteristics of each of them deteriorate. To determine the nature of the influence of alternating sensory stimulation (sound or light) on the value of the latent period of the sensory-motor reaction using the method of EMG analysis was the purpose of this work.

Methods and materials. *Characteristics of the contingent of subjects.* The experimental part of the work was performed with the participation of 14 volunteer students (girls) aged 18–19 years (M = 18.1, SD = 0.37) who study at the V. I. Vernadsky Crimean Federal University.

The procedure research. During the study, three series of experiments were conducted. In the first series of experiments, the latent period of a simple visual-motor reaction to a light stimulus was determined, and in the second - to a sound stimulus. In the third series of experiments, latent periods of visual-motor and audio-motor reactions were

measured with alternating light and sound stimuli. The parameter “stimulus detection time” (sDT) was an indicator of the latent period of sensorimotor reactions. The sDT parameter value numerically corresponded to the time interval from the moment of presentation of the sensory stimulus to the subject until the first EMG potentials (EMG-response) appeared on the interference electromyogram.

Results. The EMG analysis method allowed us to accurately measure the value of the parameter «stimulus detection time, sDT» as part of simple visual and audio motor responses. It was shown that for girls aged 18–19 years, the sDT for a simple visual-motor response was 148 ± 1.36 ms, and for an audio-motor reaction, respectively, 115 ± 1.38 ms. The stimulus detection time (sDT) is found to increase by 22 ± 2.2 ms (for a visual-motor response) and by 23 ± 2.5 ms (for an audio-motor response) or by 15% and 20% when performing a simple sensorimotor reaction with constant uniform change in the modality of the presented stimulus (light or sound). The phenomenon of reducing the speed of simple sensorimotor reactions may be associated with a deterioration in the parameters of their stability (by 36% for the visual motor and 46% for the motor-motor response). From the point of view of psychohysiological organization of sensorimotor acts, the reduction in the speed of simple reactions can be due to the effect of redistribution of attention resources.

***Keywords*:** multimodal sensory stimulation, simple sensorimotor reactions, stimulus detection time, stability of reactions.

References

1. Ajdarkin E.K. Issledovanie osobennostej vzaimodejstviya zritel'noj i sluhovoj sistem, *Valeologiya,* **3**, 82 (2006).
2. Ajdarkin E.K., Kirpach E.S. Sootnoshenie vremeni reakcii i dlitel'nosti uderzhaniya knopki v usloviyah sensornoj integracii, *Valeologiya*, **4**, 87 (2011).
3. Anohin P.K. *Filosofskie aspekty teorii funkcional'noj sistemy* (Moscow: Nauka, 1978).
4. Ahmedova O.O., Ovezgel'dyeva G.O., Grigor'yan A.G. Psihofiziologicheskoe sostoyanie studentov pervokursnikov s raznym urovnem dvigatel'noj aktivnosti, *Human Physiology*, **37 (5)**, 84 (2011).
5. Batuev A.S., CHerenkova E.V., Kulikov G.A. Rol' razlichnyh kortikal'nyh oblastej i zritel'no-motornoj koordinacii, *Sensory systems*, 101 (1982).
6. Bernshtejn N.A. Fiziologiya dvizhenij i aktivnost' (Moscow: Nauka, 1978).
7. Ivanickij A.M. Mozgovaya osnova sub"ektivnyh perezhivanij: gipoteza informacionnogo sinteza, Zhurnal vysshej nervnoj deyatel'nosti, **46 (2)**, 241 (1966).
8. Nekhoroshkova A.N., Gribanov A.V., Deputat I.S. Sensomotornye reakcii v psihofiziologicheskih issledovaniyah (Obzor), *Vestnik Severnogo (Arkticheskogo) federal'nogo universiteta. Seriya: Mediko-biologicheskie nauki,* **1**, 38 (2015).
9. Romanenko V.A., Kochura D.A. Psihofiziologicheskij bazis uspeshnosti obucheniya studentok, Vestnik Doneckogo nacional'nogo universiteta. Ser. A: Estestvennye, **4**, 116 (2016).
10. Sergin V.YA. Avto-otozhdestvlenie patternov nejronnoj aktivnosti kak fiziologicheskij mekhanizm osoznaniya, *Zhurnal vysshej nervnoj deyatel'nosti*, **3**, 259 (2016).
11. Sobolev V.I., Popov M.N. Osobennosti psihomotornyh reakcij u detej mladshego shkol'nogo vozrasta special'nyh medicinskih grupp, *Gumanitarnye nauki,* **2 (38)**, 482 (2017).
12. Sudakov K.V. Teoriya funkcional'nyh sistem. Postulaty i principy postroeniya organizma cheloveka v norme i pri patologii, *Patologicheskaya Fiziologiya i Ehksperimental'naya Terapiya*, **4**, 2 (2007).
13. Shutova S.V., Murav'eva I.V. Sensomotornye reakcii kak harakteristika funkcional'nogo sostoyaniya CNS, *Vestnik TGU*, **13(5)**, 2831 (2013).
14. Edelman G.M., Tononi G.A. *Universe of Consciousness* (N. Y.: Basic Books, 2000).

15. Heathcote A., Love Jonathon. Linear deterministic accumulator models of simple choice, *Front. Psychol.*, 23 August (2012). https://doi.org/10.3389/fpsyg.2012.00292
16. Hinder Mark R., Fujiyama Hakuei, Summers Jeffery J. Premotor-Motor Interhemispheric Inhibition Is Released during Movement Initiation in Older but Not Young Adults, *PLOS ONE*, **7 (12)**, e52573 (2012). https://doi.org/10.1371/journal.pone.0052573
17. Ratcliff Roger, Tuerlinckx F. Estimating parameters of the diffusion model: Approaches to dealing with contaminant reaction times and parameter variability, *Psychon Bull Rev*., **9 (3),** 438 **(**2002).
18. Rokni Uri, Richardson Andrew G. Bizzi E. Motor Learning with Unstable Neural Representations, *Neuron*, **54 (May 24)**, 653 (2007).
19. Sokolov E.N., Nezlina N.I. Conditioned reflex: detector and command neuron, *I.P. Pavlov Journal of Higher Nervous Activity*, **57 (1)**, 5 (2007).
20. Woods David L., Wyma John M., Yund E. William, Herron Timothy J., Reed B. Factors influencing the latency of simple reaction time, *Front. Hum. Neurosci.*, 26 March (2015). https://doi.org/10.3389/fnhum.2015.00131

Ученые записки Крымского федерального университета имени В. И. Вернадского
Биология. Химия. Том 5 (71). 2019. № 1. С. 139–149.

УДК 616-009.62/550.38

ДИНАМИКА БОЛЕВОЙ ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТИ КРЫС-САМЦОВ И КРЫС-САМОК В УСЛОВИЯХ ЧЕТЫРНАДЦАТИДНЕВНОГО УМЕРЕННОГО ЭЛЕКТРОМАГНИТНОГО ЭКРАНИРОВАНИЯ

Хусаинов Д. Р.[1], Темурьянц Н. А.[1], Туманянц К. Н.[1], Коренюк И. И.[1], Хорольская К. Д.[2]

[1]Таврическая академия (структурное подразделение) ФГАОУ ВО «Крымский федеральный университет имени В. И. Вернадского», Симферополь, Республика Крым, Россия
[2]Муниципальное бюджетное общеобразовательное учреждение «Гимназия №11 имени К. А. Тренева», Симферополь, Республика Крым, Россия
E-mail: gangliu@yandex.ru

В результате проведенного исследования было выяснено, что болевая чувствительность, как крыс-самцов, так и крыс-самок в условиях четырнадцатидневного умеренного электромагнитного экранирования (ЭМЭ) демонстрирует в первую неделю фазу гиперальгезии, а на вторую – гипоальгезии; без значимых гендерных различий. Фурье анализ показал, что в условиях ЭМЭ биоритмологические характеристики болевой чувствительности крыс обоих полов заметно перестраивались. Так, к его воздействию наиболее чувствительными оказались короткие периоды с длиной 2 – 3 суток (полностью исчезают), в меньшей степени средние – 3 – 5 суток (перестраиваются) и не подвергся изменению семидневный период.
Ключевые слова: болевая чувствительность, экранирование, крысы, период.

ВВЕДЕНИЕ

Известно, что физические факторы оказывают существенное влияние на функционирование живых систем, среди которых стали классическими исследования биологических эффектов ионизирующих излучений, реализующихся в рамках различных космических программ [1, 2]. Но, на ряду, с ионизирующими излучениями важнейшую роль играет фактор снижения (вплоть до нуля) напряженности геомагнитного поля, в том числе, и в повседневной жизни. В современной научной литературе накоплен большой исследовательский материал о биологических эффектах гипомагнитной среды, так показано, что электромагнитное экранирование (ЭМЭ) вызывает заметные изменения в функционировании живых организмов: смещаются фазы биологических ритмов [3–6], снижается работоспособность [7], подавляется половая мотивация [8], усиливается агрессивность и изменяется болевая чувствительность [4, 5, 9, 10]. Среди прочего, показаны фазные изменения болевой чувствительности у моллюсков [5, 9] и мышей [2, 5], которые состоят из двух сменяющихся периодов: гиперальгезии и гипоальгезии. Следует отметить, что среди грызунов наиболее распространенными лабораторными животными являются мыши

и крысы, но фундаментальный вопрос болевой чувствительности у крыс в условиях ЭМЭ не исследовался. Также важным аспектом является факт гендерных отличий болевой чувствительности, которые значимы и для исследований воздействий ЭМЭ на ноцицепцию. В связи с изложенным целью исследования явилось: выяснить особенности динамики болевой чувствительности крыс обоих полов при четырнадцатидневном умеренном ЭМЭ.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Исследования проводились на 30-ти белых беспородных крысах-самцах массой 200–240 г и 30-ти крысах-самках 180–200 г (возраст животных 8 месяцев), содержащихся в стандартных условиях вивария. Все животные представляли собой однородную выборку со средней двигательной активностью и средним уровнем болевой чувствительности; все самки в начале эксперимента находились в фазе диэструса. Крысы каждого пола были разделены на три группы: контроль (n=10) и две группы ЭМЭ по 10 особей в каждой. Крысы групп ЭМЭ подвергались 14-ти дневному умеренному электромагнитному экранированию. Ежедневно животные этих групп помещались в экранирующую камеру в 15.00 и находились в ней до 10.00 следующего дня, таким образом, животные находились в камере по 19 часов в сутки. Экранирующая камера представляет собой комнату размером 2x3x2 м, изготовленную из железа «Динамо». Внутри комнаты находиться контур из колец Гельмгольца. Коэффициент экранирования BDC составляет для вертикальной составляющей 4,4, для горизонтальной – 20. Внутри камеры для частот выше 170 Гц и в области частот от 2x10-3 до 0,2 Гц уровень спектральной плотности магнитного шума ниже 10 нТл/Гц. Коэффициент экранирования камеры на частотах 50 и 150 Гц порядка трех. На частотах больше 1 МГц имеет место практически полное экранирование. Крысы контрольных групп в этот четырнадцатидневный период не были подвержены воздействию ЭМЭ и содержались в стандартных условиях вивария. При этом, все сопутствующие условия содержания обоих групп: освещенность, температура и т.д. создавались максимально идентичными.

Болевые реакции крыс регистрировались в классических болевых моделях: «Горячая пластина» и «Электростимуляция». В тесте «Горячая пластина» регистрировали латентный период болевой реакции (ЛПБР) животных при температуре пластины 55^0 С, в «Электростимуляция» болевой порог (БП) по напряжению токового сигнала.

Статистическую обработку полученных результатов осуществляли с помощью критерия Манна-Уитни. Для иллюстративности материала все данные представлены в виде коэффициента отличий между контрольной и экспериментальной группами (КО) в процентном отношении. КО рассчитывался по следующей формуле:

$$КО = \frac{Rэ - Rк}{Rк} \cdot 100\%,$$

где Rк и Rэ – среднее значение набранных баллов в контрольной и экспериментальной выборках, соответственно.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Динамика болевой чувствительности крыс-самцов в условиях четырнадцатидневного умеренного электромагнитного экранирования.

В результате анализа динамики болевой чувствительности крыс-самцов в обоих тест моделях было обнаружено, что болевые реакции животных демонстрируют двунаправленный характер: в первую фазу наблюдается усиление болевой чувствительности – гиперальгезия, во вторую фазу – гипоальгезия. Отмеченный феномен полностью совпадает с литературными данными, в которых описывается динамика болевой чувствительности мышей, моллюсков и др. [4, 5, 9]. Рассмотрим детально периодику болевой чувствительности крыс-самцов в каждом тесте по отдельности.

В тесте «Горячая пластина» ЛПБР крыс-самцов демонстрировал достоверное снижение показателя на третий день эксперимента и КО составлял –36,89 % ($p \leq 0,05$) от контрольных значений (рис. 1). Следовательно, можно считать, что с третьего дня умеренного ЭМЭ начинается фаза гиперальгезии, в течение которой показатели ЛПБР экспериментальной группы крыс-самцов становятся достоверно меньшими по сравнению с этим показателем у контрольных животных. В дальнейшем, вплоть до шестых суток эксперимента, наблюдалось постепенное обострение болевой чувствительности крыс-самцов, которое выражалось в уменьшении ЛПБР у экспериментальных животных и, как следствие, увеличении отрицательности КО, который составлял на четвертые сутки –38,46 % ($p \leq 0,05$), на пятые –46,96 % ($p \leq 0,01$) и на шестой день показатель становился максимально отрицательным: –60,32 % ($p \leq 0,001$). На седьмой день КО оставался отрицательным и составлял –53,42 %, $p \leq 0,001$, но уже на восьмой день значения этого показателя у экспериментальной группы не отличались от контрольной.

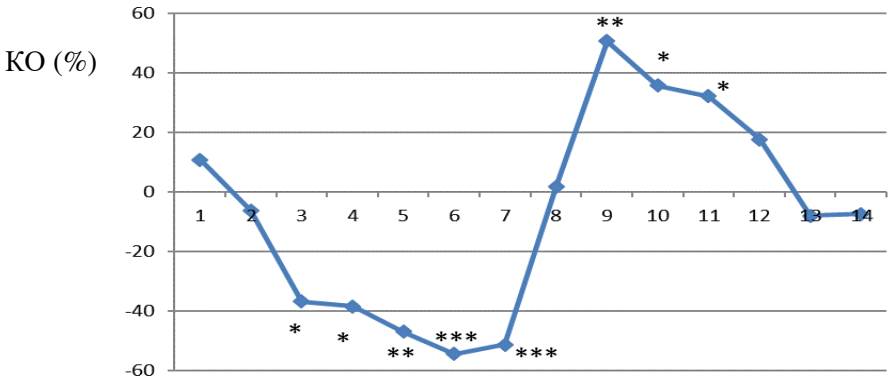


Рис. 1. Динамика болевой чувствительности крыс-самцов, рассчитанная по латентному периоду болевой реакции.

Примечание: * – достоверные различия экспериментальной группы от контрольных значений при $p<0,05$; ** – $p<0,01$, *** – $p<0,001$.

В тесте «Электростимуляция» болевая чувствительность крыс экспериментальной группы в четырнадцатидневный период проявила идентичную периодичность: с третьих по седьмые (включительно) сутки наблюдалось выраженное снижение БП крыс, а на 9–11-е сутки, наоборот, его увеличение (рис. 2).

Значения контрольной группы выражены нулевой линией. По оси абсцисс отмечены значения отличий экспериментальных показателей от контрольных в процентном выражении (например: +20 – выше контроля на 20%; -20 – меньше на 20 %)

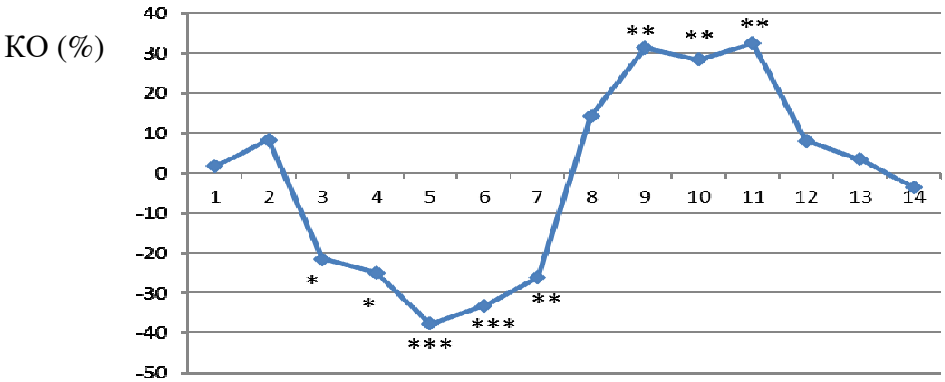


Рис. 2. Динамика болевой чувствительности крыс-самцов, рассчитанная по болевому порогу.
Примечание: обозначения те же, что и на рис. 1.

Так, на 3 – 7-е сутки КО, рассчитанный по БП, находился в отрицательном диапазоне и составлял –21,56 % ($p \leq 0,05$), –25 % ($p \leq 0,05$), –37,7 % ($p \leq 0,001$), –33,3 % ($p \leq 0,001$) и –26,2 % ($p \leq 0,01$), соответственно (рис. 2). Также, как и в случае с ЛПБР, уже на восьмой день эксперимента происходил резкий «перелом»: фаза гиперальгезии заканчивалась, и болевая чувствительность крыс перестраивалась в фазу гипоальгезии. С 9-тых по 11-е сутки КО, рассчитанный по БП, составлял 31,3 % ($p \leq 0,01$), 28,4% ($p \leq 0,01$) и 32,4 % ($p \leq 0,01$), соответственно.

Следовательно, в обоих болевых тестах в условиях умеренного ЭМЭ болевая чувствительность крыс-самцов демонстрирует яркую двухфазную реакцию, первоначально формируется фаза гиперальгезии, а затем гипоальгезии.

Динамика болевой чувствительности крыс-самок в условиях четырнадцатидневного умеренного электромагнитного экранирования.

Выяснено, что болевая реакция крыс-самок, так же, как и крыс-самцов, под влиянием умеренного ЭМЭ имеет двухфазный характер: первоначально развивается гиперальгезия, за которой следует фаза гипоальгезии (рис. 3, 4). Так, в тесте «горячая пластина» (рис. 3) с третьего по седьмой день экранирования у крыс-самок наблюдалось существенное сокращение латентного периода болевой реакции на –

80 % (фаза гиперальгезии) при уровне значимости 0,001. К восьмому дню показатель болевой чувствительности приближался к контрольным значениям и на 10 и 11 дни экранирования КО составлял 11 % и 15 % ($p \leq 0,05$), соответственно.

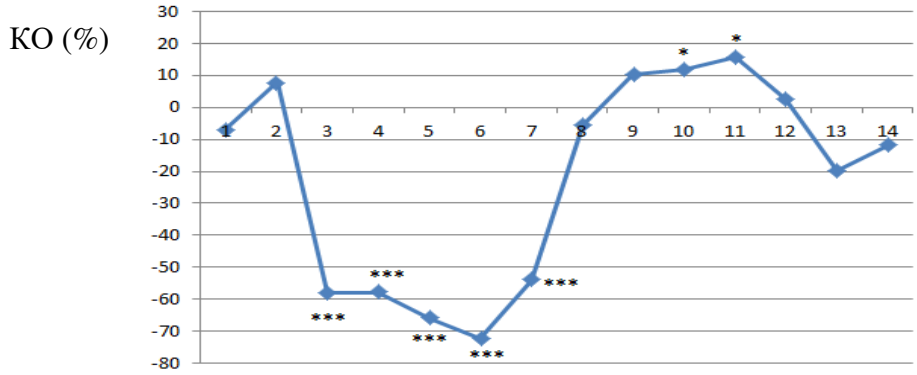


Рис. 3. Динамика болевой чувствительности крыс-самок, рассчитанная по латентному периоду болевой реакции.
Примечание: обозначения те же, что и на рис. 1.

В тесте «электростимуляция» у крыс-самок фаза гиперальгезии была более краткосрочной и менее выраженной: достоверное падение БП отмечалось на 5-е (КО = –46 %, p=0,01), 6-е (КО = –39 %, p=0,01) и 7-е (КО = –45 %, p=0,01) сутки экранирования (рис. 4). Достоверное увеличение показателей БП (фаза гипоальгезии) крыс-самок зарегистрировано на 9 – 11 сутки экранирования. КО в эти дни находился в пределах 50 % – 57 %, при p=0,01.

Таким образом, в результате настоящего исследования было выяснено, что в условиях четырнадцатидневного умеренного снижения электромагнитного фона существенно изменяется временная организация болевой чувствительности крыс обоих полов. В результате болевая чувствительность экспериментальных животных демонстрирует две ярко выраженные фазы: первоначально – гиперальгезия, затем – гипоальгезия. Опираясь на предыдущие исследования и литературные данные, в которых показано возможное участие в ноцицептивных и других эффектах гипомагнитной среды опиоидной системы и мелатанина [4, 5, 9, 10] логично полагать, что и в случае с крысами механизм действия идентичен. Однако, гипомагнитная среда способна изменять активность нервной системы, как на уровне биолектрогенеза [2, 11], так и на гормональном уровне [12, 13]. В связи с этим, механизм влияния гипомагнитной среды на болевую чувствительность может иметь сложный многоуровневый характер, который еще предстоит выяснить.

Рис. 4. Динамика болевой чувствительности крыс-самок, рассчитанная по болевому порогу.
Примечание: обозначения те же, что и на рис. 1.

Итак, гипомагнитная среда оказывает влияние на уровень болевой чувствительности крыс, и, на ряду с этим, затрагивает ее ритмологическую составляющую. Для ее более детальной оценки был проведен анализ Фурье.

Биоритмологические изменения болевой чувствительности крыс-самцов и крыс-самок в условиях четырнадцатидневного умеренного электромагнитного экранирования.

В результате Фурье анализа были выявлены длины ритмов колебаний уровня болевой чувствительности, которые можно разделить на три условные группы: недельные – 7 суток, средние – 3 – 5 суток и короткие 2 – 3 суток (табл. 1,2). Как и следовало ожидать, в парадигме 14-ти дневного эксперимента, у всех групп животных проявился семидневный цикл, который сохранялся во всех случаях в независимости от экспериментальных условий. У контрольных групп крыс-самцов наличествовал средний период длительностью 4,7 суток, а также слабо выраженный период(ы) длительностью порядка 2 – 2,8 суток (табл. 1). В условиях ЭМЭ короткие периоды (2 – 2,8 суток) полностью исчезали, а средний ритм сокращался более чем на сутки и составлял 3,5 суток. Следовательно, можно констатировать наличие явного фазового сдвига в области средних ритмов в сторону их сокращения в условиях ЭМЭ с разницей порядка 1,2 суток. При этом, факт исчезновения ритмов с коротким периодом свидетельствует о ярком десинхронозе в этом диапазоне. Создается впечатление, что короткие ритмы «сливаются» со средними и трансформируются в ритм длительностью около 3,5 суток.

Значения длин периодов у контрольных групп крыс-самок по сути не отличался от таковых у крыс-самцов, однако в диапазоне средних ритмов есть отличие: у самцов длина среднего ритма равняется 4,7 суток, а у самок период среднего диапазона составляет 3,8 – 4 суток (табл. 2). В условиях ЭМЭ у крыс самок, так же, как и у самцов, полностью исчезали короткие периоды длительностью 2 – 2,8 суток. Средние ритмы в условиях ЭМЭ тоже сокращались, но если у самцов это

сокращение было более чем на сутки, то у самок оно составляла около 0,5 суток. Следовательно, у самок проявлялся заметный десинхроноз в диапазоне коротких периодов, но выраженность фазового сдвига в среднем диапазоне длин периода была менее заметной, по сравнению с самцами. Но, кроме этого, у самок сглаживалась непосредственная выраженность периодов средней длительности, что указывает на большую чувствительность этого диапазона к воздействию ЭМЭ, в отличие от таковой у самцов.

Таким образом, к действию ЭМЭ наиболее чувствительны короткие периоды с длиной 2 – 3 суток (полностью исчезают), в меньшей степени средние – 3 – 5 суток (перестраиваются) и не подвергся изменению семидневный период. Также показано, что временная организация болевой чувствительности крыс-самцов и самок в условиях четырнадцатидневного ЭМЭ не имеет ярких отличий, но у последних средний диапазон ритмов несколько чувствительнее к воздействию гипомагнитного фактора.

Таблица 1

Результаты анализа Фурье для крыс-самцов

Группа	Длина периода (сутки)		
ГП самцы К	7	4,7	2 – 2,8 (слабо выражены)
ГП самцы ЭМЭ	7	3,5	отсутствуют
ЭЛ самцы К	7	4,7	2 – 2,8 (слабо выражены)
ЭЛ самцы ЭМЭ	7	3,5	отсутствуют

Таблица 2

Результаты анализа Фурье для крыс-самок

Группа	Длина периода (сутки)		
ГП самки К	7	3,8	2 – 2,8 (слабо выражены)
ГП самки ЭМЭ	7	3,5 (слабо выражены)	отсутствуют
ЭЛ самки К	7	4	2 – 2,8 (слабо выражены)
ЭЛ самки ЭМЭ	7	3,5 (слабо выражены)	отсутствуют

В результате настоящего исследования было выяснено, что в условиях четырнадцатидневного умеренного снижения электромагнитного фона существенно изменяется временная организация болевой чувствительности крыс обоих полов. В результате болевая чувствительность экспериментальных животных демонстрирует две ярко выраженные фазы: первоначально – гиперальгезия, затем – гипоальгезия.

Следовательно, гипомагнитная среда оказывает влияние не только на уровень болевой чувствительности, но и на ее ритмологическую составляющую.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

1. Болевая чувствительность, как крыс-самцов, так и крыс-самок в условиях четырнадцатидневного умеренного ЭМЭ демонстрирует в первую неделю фазу гиперальгезии, а на вторую – гипоальгезии; без значимых гендерных различий. Следовательно, электромагнитная среда является важным фактором, влияющим на систему ноцицепции.
2. В условиях умеренного ЭМЭ у крыс обоих полов исчезали ритмы длительностью 2 – 2,8 суток, гендерно зависимо перестраивались и подавлялись ритмы 3 – 5 суток и не подвергся изменению семидневный период.
3. У крыс обоих полов спектр средних ритмов длительностью около 4 **–** 4,7 суток заменялся на 3,5 суток. Однако, у крыс-самок в условиях ЭМЭ наблюдалось не только сокращение, но и заметное угнетение выраженности этого спектра.
4. В условиях ЭМЭ биоритмологические характеристики болевой чувствительности крыс обоих полов заметно перестраивались, что еще раз демонстрирует существенное значение геомагнитного фона в организации временного профиля биологических систем.

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

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

Список литературы

1. Лебедева-Георгиевская К.Б. Влияние антиортостатического вывешивания на активность, адаптацию к новой среде, исследовательское поведение и обмен моноаминов в мозге мышей / К.Б. Лебедева-Георгиевская, М.И. Матвеева, А.С. Базян и др. // Авиакосмическая и экологическая медицина. – 2017. – Т. 51., № 1. – С. 39–45.
2. Ходанович М.Ю. Влияние долговременного снижения уровня геомагнитного поля на биоэлектрическую активность мозга лабораторных крыс / Ходанович М.Ю., Кривова Н.А., Гуль Е.В. и др. // Вестник Томского государственного университета. – 2011. – № 348. – С. 155–160.
3. Замощина Т.А. Влияние моделируемых гипомагнитных условий дальнего космического полета на ритмическую организацию поведенческой активности крыс / Замощина Т.А., Кривова Н.А., Ходанович М.Ю. и др. // Авиакосмическая и экологическая медицина. – 2012. – Т. 46, № 1. – С. 17–23.
4. Костюк А.С. Участие опиоидной системы в изменениях ноцицепции мышей при электромагнитном экранировании / А. С. Костюк // Ученые записки Таврического национального университета имени В.И. Вернадского. – 2014. – Т. 27 (66), № 2. – С. 113–122.
5. Темурьянц Н. А. Блокада опиоидных рецепторов налоксоном у моллюсков Helix albescens модифицирует инфрадианную ритмику ноцицепции при умеренном электромагнитном экранировании / Н.А. Темурьянц, Е.Н. Чуян, К.Н. Туманянц, А.С. Костюк, Н.С. Ярмолюк // Ученые записки Крымского федерального университета имени В. И. Вернадского. – 2015. – Т. 1 (67), № 2. – С. 170–182.

6. Темурьянц Н.А. Электромагнитное экранирование изменяет поведение крыс / Н.А. Темурьянц, А. С. Костюк, К.Н. Туманянц // Журнал высшей нервной деятельности им. И. П. Павлова. – 2015. – Т. 65, № 2. – С. 222.
7. Можаровская И.А. Биоритмологические особенности физической выносливости крыс-самцов в норме и условиях умеренного электромагнитного экранирования / Можаровская И.А., Хусаинов Д.Р. // В книге: Космос и биосфера Тезисы докладов XII Международной крымской конференции, посвященной 100-летию Крымского федерального университета имени В.И. Вернадского, 120-летию А.Л. Чижевского, 100-летию В.А. Троицкой и 130-летию П.М. Нагорского. – 2017. – С. 121–125.
8. Темурьянц Н.А. Экзогенный мелатонин влияет на половое поведение крыс-самцов, находящихся в условиях электромагнитного экранирования // Темурьянц Н.А., Туманянц К.Н., Ярмолюк Н.С. и др. // Ученые записки Таврического национального университета имени В.И. Вернадского. Серия: Биология, химия. – 2014. – Т. 27, № 4 (66). – С. 75–83.
9. Темурьянц Н.А. Участие мелатонина в изменении ноцицепции моллюсков и мышей при длительном электромагнитном экранировании / Н.А. Темурьянц, А.С. Костюк, К.Н. Туманянц // Российский физиологический журнал им. И. М. Сеченова. – 2013. – Т. 99, № 11. – С. 1333–1341.
10. Ходанович М. Ю. Влияние долговременного снижения уровня геомагнитного поля на агрессивность у лабораторных крыс и активацию опиоидергических нейронов / М.Ю. Ходанович // Вестник Томского государственного университета. Биология. – 2013. – №1 (21). – С. 146–169.
11. Kokhan V.S. Risk of defeats in the central nervous system during deep space missions / V.S. Kokhan, M. I. Matveeva, A.S. Shtemberg, A. Mukhametov // Neuroscience & Biobehavioral Reviews. – 2016. – T. 71. – C. 621–632.
12. Wei Yiwen Modulation of resting state brain functional connectivity by exposure to acute fourth generation long term evolution electromagnetic field: An fMRI study / Yiwen Wei, Jiayi Yang, Zhiye Chen, Tongning Wu // Bioelectromagnetics. – 2019. – V.40, Issue1. – P. 42–51
13. Zhang X. Effects of hypomagnetic field on noradrenergic activities in the brainstem of golden hamster / X .Zhang, J.-F. Li, Q.-J. Wu, B. Li, J.-C. Jiang // Bioelectromagnetics. – 2007. – № 28. – P. 155–158.

THE EFFECT OF 14-DAY MODERATE ELECTROMAGNETIC SHIELDING ON THE DYNAMICS OF PAIN SENSITIVITY IN MALE AND FEMALE RATS

Khusainov D. R.[1], Temuryants N. A.[1], Tumanyants K. N.[1], Korenyuk I. I.[1], Khorolskaya K. D.[2]

[1]V. I. Vernadsky Crimean Federal University, Simferopol, Crimea, Russia
[2]Municipal budgetary educational institution "K. A. Trenyov gymnasium № 11'', Simferopol, Crimea, Russia
E-mail: gangliu@yandex.ru

Many authors have shown that electromagnetic shielding (EMS) causes noticeable changes in the functioning of living organisms: a shift in the phases of biological rhythms, a decrease in muscular efficiency rate, the suppression of sexual motivation, increase in aggression and a change in pain sensitivity. At the same time, from a fundamental point of view, the pain sensitivity of rats under EMS is poorly understood (not enough studied).

Experiments were carried out on 30 outbred male rats (200–240 g) and 30 female rats (animals 8 months old). All animals were a homogeneous sample with an average motor activity and level of pain sensitivity, and all the females at the beginning of the experiment were in the diestrus phase. The rats of each sex were divided into three groups: the control

(n = 10) and two EMS groups (n = 10 each of them). Rats of EMS groups were subjected to 14-day moderate EMS. The rats of the control groups during this fourteen-day period were not exposed to EMS and were kept in standard vivarium conditions. At the same time, all the other conditions of the housing of both groups: light, temperature, etc. created as identical as possible. The pain reactions of the rats were recorded in the classic pain models: "hot plate" and "electrostimulation". In the hot plate test the latent period of the pain response of animals at a plate temperature of 55°C was recorded, in the electrostimulation – pain threshold in volts.

As a result of the study, it was found that the pain sensitivity of both male and female rats under conditions of a fourteen-day moderate EMS exhibits a hyperalgesia phase in the first week, and hypoalgesia in the second week without significant gender differences. Fourier analysis showed that under the conditions of EMS the biorhythmological characteristics of pain sensitivity in rats of both sexes were noticeably rearranged. Thus, short periods with a length of 2–3 days (completely disappear) turned out to be most sensitive to its effects, to a lesser extent, average periods of 3–5 days (rearranged) and the seven-day period did not change.

***Keywords*:** pain sensitivity, shielding, rats, period

References

1. Lebedev-St. George K.B., Matveeva M. I., Bazan A. S., [et. al.] Influence of antiorthostatic suspension on the activity, adaptation to the new environment, exploratory behavior and monoamine metabolism in brains of mice, *Aerospace and environmental medicine*, **51** (1), 39 (2017).
2. Khodanovich M.Yu., Krivova N.A. Gul E.V. [et. al.] The effect of long-term decrease in the level of the geomagnetic field on the bioelectric activity of the brain of laboratory rats, *Bulletin of Tomsk state University*, **348**, 155 (2011).
3. Samoshina T.A., Krivova N.A. Khodanovich M.Yu. [et. al.] The influence of the simulated hypomagnetic conditions of long-range space flight on the rhythmic organization of the behavioral activity of rats, *Aerospace and environmental medicine,* **46** (1), 17 (2012).
4. Kostyuk A.S. Involvement of opioid system in the changes of nociception of mice in electromagnetic shielding, *Uchenye zapiski Tavricheskogo natsionalnogo universiteta im. V. I. Vernadskogo. Seriya: «Biologiya, khimiya»*, **27** (2), 113 (2014).
5. Temuryants N.A., Chuyan E.N., Tumanyants K.N., Kostyuk A.S., Yarmolyuk N.S. The blockade of the opioid receptors with naloxone in the helix albescens modifies the infra-Diane nociception in moderate electromagnetic shielding, *Uchenye zapiski Tavricheskogo natsionalnogo universiteta im. V.I. Vernadskogo. Seriya: «Biologiya, khimiya»*, **1** (2), 170 (2015).
6. Temuryants N.A., Kostyuk A.S., Tumanyants K.N. Electromagnetic shielding modifies the behavior of rats, *Journal of higher nervous activity them. I. P. Pavlov,* **65** (2), 222 (2015).
7. Mozharovskiy I.A., Khusainov D.R. Biorhythmic features of physical endurance of rats in norm and temperate electromagnetic shielding, *In: the Cosmos and the biosphere abstracts of the XII International Crimean conference dedicated to the 100th anniversary of the Crimean Federal University named after V. I. Vernadsky, the 120th anniversary of A. L. Chizhevsky, the 100th anniversary of V. A. Troitskaya, and the 130th anniversary of the P. M. Nagorskiy*, 121 (2017).
8. Temuryants N. A. Tumanyants K. N., Yarmolyuk N. S. [et al.] Exogenous melatonin affects the sexual behavior of male rats under electromagnetic shielding, *Uchenye zapiski Tavricheskogo natsionalnogo universiteta im. V.I. Vernadskogo. Seriya: «Biologiya, khimiya»*, **27** (4), 75 (2014).
9. Temuryants N.A., Kostyuk A.S., Tumanyants K. N. Involvement of melatonin in changing nociception mollusks and mice with prolonged electromagnetic shielding, *Rossiyskiy fiziologicheskiy zhurnal im. I.M. Sechenova*, **99** (11), 1333 (2013).

10. Khodanovich M.Yu. Effect of long-term reduction in the level of the geomagnetic field on aggression in laboratory rats and the activation of neurons opioidergic, *Bulletin of the Tomsk state University. Biology*, **1** (21), 146 (2013).
11. Kokhan V.S., Matveeva M.I., Shtemberg A.S., Mukhametov A. Risk of defeats in the central nervous system during deep space missions, *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*, **71**, 621 (2016).
12. Wei Yiwen, Yang Jiayi, Chen Zhiye, Wu Tongning Modulation of resting state brain functional connectivity by exposure to acute fourth generation long term evolution electromagnetic field: An fMRI study, *Bioelectromagnetics*, **40** (1), 42 (2019).
13. Zhang X., Li J.-F., Wu Q.-J., Li B., Jiang J.-C. Effects of hypomagnetic field on noradrenergic activities in the brainstem of golden hamster, *Bioelectromagnetics,* **28**, 155 (2007).

Ученые записки Крымского федерального университета имени В. И. Вернадского
Биология. Химия. Том 5 (71). 2019. № 1. С. 150–162.

УДК *581.14: 632.122.1: 631.811.98: 633.15*

МИТОТИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ АПИКАЛЬНОЙ МЕРИСТЕМЫ КОРНЕЙ *ZEA MAYS* L. ПОД ВЛИЯНИЕМ ПРЕПАРАТА ЦИРКОН ПРИ ХЛОРИДНОМ СТРЕССЕ

Чмелёва С. И., Собчук Н. А.

Таврическая академия (структурное подразделение) ФГАОУ ВО «Крымский федеральный университет имени В. И. Вернадского», Симферополь, Республика Крым, Россия
E-mail: sob4uk.n@gmail.com

Впервые получены данные по исследованию действия регулятора роста нового поколения Циркон на митотическую активность апикальной меристемы корней проростков кукурузы под влиянием хлоридного стресса. Отмечено действие препарата на митотический и фазные индексы. Получены экспериментальные данные, свидетельствующие о повышении солеустойчивости растений кукурузы в результате предпосевной обработки препаратом Циркон в концентрации 0,05 %.
Ключевые слова: препарат Циркон, регулятор роста, хлоридный стресс, митотический индекс, фазные индексы, солеустойчивость.

ВВЕДЕНИЕ

Несмотря на благоприятные условия для возделывания многих сельскохозяйственных культур, Крым относится к рискованной зоне земледелия. Значительное воздействие на природную среду Присивашья произошло с введением в строй Северо-Крымского канала. Вследствие произошел подъем уровня грунтовых вод, затопление почв, повышение засоленности почвы [1, 2]. Данный фактор оказывает отрицательное воздействие на все культивируемые виды растений, и уровень его тем выше, чем больше степень засоления. Негативное воздействие засоления выражается в ухудшении множества свойств и функций растений, что в результате приводит к понижению их продуктивности [3–6].

Кукуруза (*Zea mays* L.) в мире занимает третье место по посевным территориям и первое место – по урожайности. Значительный спектр ее применения связан с высокой продуктивностью, которая обусловлена С4-типом фотосинтеза и активными ростовыми процессами. При этом кукуруза требовательна к водному режиму, так как при интенсивном росте и образовании значительного объема вегетативной массы в короткий промежуток времени идет потребление большого количества микро- и макроэлементов [7, 8].

В практике сельского хозяйства применяют различные регуляторы роста растений с целью повышения урожайности и усиления устойчивости растений к экстремальным действиям внешней среды, в том числе, и к солевому стрессу [9–12]. К таким регуляторам относится стимулятор роста нового поколения Циркон,

действующим веществом которого является смесь гидроксикоричных кислот (ГКК), выделенная из растительного сырья *Echinacea purpurea* (L.) Moench [13]. В растениях Циркон осуществляет функции стимулятора роста, иммуномодулятора и адаптогена к стрессу [14–16].

Действие этого регулятора роста на растения в настоящее время достаточно изучено [17–21], однако данные по применению препарата Циркон с целью повышения солеустойчивости растений и изучению его действия на митотическую активность при засолении в литературе нами не обнаружены. Поэтому, **целью** нашей работы было исследовать митотическую активность апикальной меристемы корней проростков *Zea mays* L. под влиянием препарата Циркон при хлоридном стрессе.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В качестве объекта исследования мы использовали растения кукурузы *Zea mays* L., CV / ТАР 349 МВ.

Отобранные по средним размерам и протравленные в слабом растворе перманганата калия, семена предварительно замачивали на 4 ч в исследуемых растворах. После замачивания семена раскладывали в кюветах на фильтровальную бумагу по 50 шт. Для моделирования солевого стресса в кюветы приливали по 300 мл раствора с различными вариантами концентрации солей NaCl (50 мМ; 100 мМ; 150 мМ; 200 мМ; контроль 1 – дистиллированная вода). Для исследования действия препарата Циркон на прорастание семян кукурузы при хлоридном засолении использовали вышеперечисленные концентрации NaCl с добавлением 0,05 % регулятора роста (контроль 2 – 0,05 % Циркон). Семена проращивали в термостате согласно ГОСТ 12038–84 [22]. На 4-е сутки у проростков кукурузы отрезали корень (5–7 мм) и погружали его в раствор фиксатора (уксусный алкоголь) на сутки, далее фиксированные кончики корней переносили в раствор 70 % этилового спирта и таким образом сохраняли в холодильнике. Окрашивание проводили ацетокармином в течение 72 часов, после чего готовили временные препараты [23].

Контроль изготовления препарата осуществили под увеличением микроскопа ×100, а его исследование – под увеличением ×400. Каждый опыт проводили в трехкратной повторности. По каждому варианту эксперимента анализировали кончики корней 3 проростков, в каждом кончике корня – не менее 1000 клеток [24].

Митотический и фазные индексы рассчитывали по формулам Прохоровой [25].

Морфометрические параметры растений определяли по стандартным в физиологии растений методикам [26], оценку солеустойчивости – по методике Синельниковой [27], индекс толерантности – по методу Вилкинса [28].

Статистическую обработку экспериментальных данных осуществляли, рассчитывая среднюю арифметическую и стандартную ошибку средней арифметической. Для определения достоверных отличий распределений биометрических данных использовали t-критерий Стьюдента [29, 30].

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

В основе активации процессов роста растительного организма на органном уровне лежит стимуляция процессов клеточного роста, составной частью которой является митотическая активность меристемы. Меристематические ткани являются наиболее чувствительными и активно реагирующими на внешние воздействия [31]. Продолжительность митотических циклов растений зависит от видовых особенностей растения, его возраста, различных факторов внешней среды (температуры, увлажненности, освещенности и т. п.), а также может различаться у растений одного вида, например, у разных сортов кукурузы [32]. Для выяснения изменения процессов роста проростков кукурузы при осмотическом стрессе, вызванным хлоридным засолением, нами были определены митотические индексы ядер апикальных корневых меристем, как центров регулирования клетки после экзогенного воздействия регулятора роста.

Как показали наши исследования, в клетках апикальной меристемы корней проростков кукурузы препарат Циркон достоверно повышает митотическую активность в условиях хлоридного засоления.

Результаты статистической обработки данных исследования о влиянии регулятора роста Циркон на митотическую активность клеток апикальной меристемы корней проростков кукурузы при хлоридном засолении представлены на рис.1. и в табл. 1.

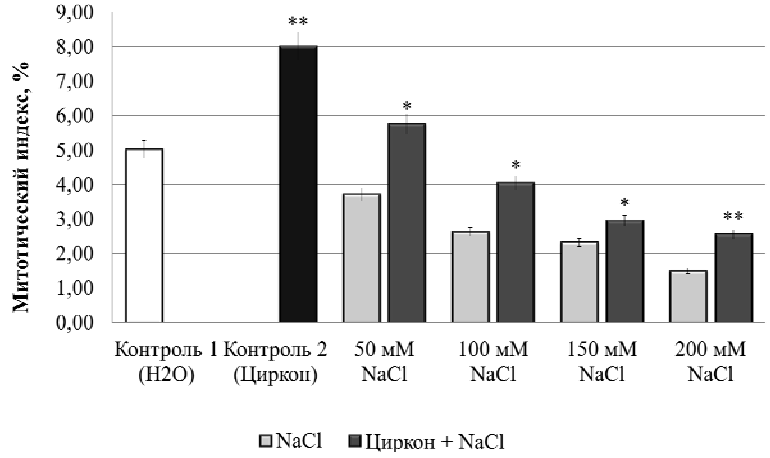


Рис. 1. Влияние препарата Циркон на митотический индекс клеток апикальной меристемы корней растений кукурузы при хлоридном засолении

При моделировании солевого стресса наблюдается ингибирование пролиферации клеток меристемы по сравнению с контролем 1. Отмечается обратно пропорциональная зависимость между концентрацией солевого раствора и митотическим индексом. Так, митотический индекс в вариантах опыта 50 мМ NaCl – 200 мМ NaCl понижается на 29,79–73,84 % по сравнению с контролем 1 (см. рис. 1).

Добавление регулятора роста Циркон в растворы солей вызывает стимуляцию пролиферации клеток меристемы. Статистически подтверждается достоверный положительный эффект препарата. Митотический индекс в контрольном варианте 2 – Циркон 0,05 % превышает митотический индекс в контроле 1 на 60,85 %. Данный показатель в вариантах опыта, содержащих Циркон и 50–200 мМ NaCl, достоверно больше на 27,29–70,81 % по сравнению с вариантами 50 мМ NaCl – 200 мМ NaCl. В вариантах опыта, пророщенных на солевых растворах, наблюдается торможение обеих фаз клеточного роста – деления и растяжения. Повышение митотического индекса в вариантах с добавлением препарата происходит за счет интенсивного деления клеток апикальной меристемы корней проростков, что значительно повышает скорость роста корневой системы всего растения.

Таблица 1

Влияние препарата Циркон на фазные индексы апикальной меристемы корней растений кукурузы при хлоридном засолении

Вариант опыта	Pi, %	Mi, %	Ai, %	Ti, %
Контроль 1 - H2O dist	***25,75±0,81***	***25,77±0,32***	***24,54±0,52***	***23,93±1,09***
50 мМ NaCl	26,68±0,78	24,97±0,96	25,03±0,61	23,32±0,24
100 мМ NaCl	28,58±0,26	27,53±1,27	23,12±1,88	20,77±1,47
150 мМ NaCl	28,15±0,55	25,42±0,97	23,91±0,66	22,52±0,92
200 мМ NaCl	29,11±1,33	25,07±0,91	22,84±1,48	22,98±2,30
Контроль 2 - Циркон 0,05%	***25,81±0,26***	***23,79±0,61***	***24,61±0,44***	***25,80±0,81***
Циркон 0,05% + 50 мМ NaCl	22,95±1,46	21,81±1,77	27,91±1,19	27,34±1,71
Циркон 0,05% + 100 мМ NaCl	24,51±2,10	21,94±2,37	28,22±2,94	25,33±2,34
Циркон 0,05% + 150 мМ NaCl	21,59±3,07	22,53±1,44	28,05±2,65	27,84±3,35
Циркон 0,05% + 200 мМ NaCl	23,26±2,76	20,79±1,54	27,93±1,70	28,02±2,13

Примечание: M ± m; разница средних значений контроля и опыта достоверна при $P \leq 0{,}01$ для всех вариантов.

Одновременно с изучением митотического индекса был проведен анализ длительности фаз митоза (см. табл. 1). Во всех исследованных вариантах не наблюдается достоверных отличий фазных индексов как при сравнении исследуемых вариантов с контролем 1, так и при сравнении вариантов с одинаковой концентрацией соли между собой.

По сравнению с контролем 1 профазный индекс в исследуемых вариантах находится в интервале -16,17…+13,04 %, метафазный индекс – в интервале -19,35…+6,83 %, анафазный индекс – в интервале -6,91…+15,01 %, телофазный индекс – в интервале -13,21…+17,08 %. При отсутствии достоверных отличий в фазных индексах, можно утверждать, что митоз в клетках протекает без каких-либо нарушений хромосом и клеточных структур.

Прорастание семян – сложный и обуславливаемый влиянием комплекса разнообразных факторов период в жизни растительного организма. Начальные фазы этого периода сопровождаются процессами, эффективность которых характеризует посевные качества семян и определяет состояние формирующихся проростков. Среди посевных качеств семян важную роль играют энергия прорастания, лабораторная всхожесть. На основании данных показателей энергии прорастания и всхожести семян можно судить о солеустойчивости растений [33].

В табл. 2 приведены данные по энергии прорастания и всхожести семян кукурузы, на основании которых проведена группировка вариантов опыта с различным уровнем засоления по уровню хлоридной солеустойчивости.

Таблица 2

Оценка солеустойчивости растений кукурузы под действием регулятора роста Циркон

Варианты опыта	Энергия прорастания, %	Всхожесть, %	Солевая устойчивость растений
Контроль 1 – H_2O dist	***91,67±4,32***	***95,00±3,17***	***высоко устойчивый***
50 мМ NaCl	75,00±3,71	78,33±1,99	устойчивый
100 мМ NaCl	38,33±1,89	60,00±2,98	среднеустойчивый
150 мМ NaCl	30,00±1,02	56,67±2,80	среднеустойчивый
200 мМ NaCl	11,67±0,58	55,00±1,79	среднеустойчивый
Контроль 2 – Циркон 0,05 %	***93,33±3,25***	***98,33±3,82***	***высоко устойчивый***
50 мМ NaCl + Циркон 0,05 %	91,67±3,34	96,67±3,95	высоко устойчивый
100 мМ NaCl + Циркон 0,05 %	85,00±3,09*	95,00 ±4,41	высоко устойчивый
150 мМ NaCl + Циркон 0,05 %	61,67±3,07*	85,00±4,23	высоко устойчивый
200 мМ NaCl + Циркон 0,05 %	33,33±1,55*	63,33±3,12	устойчивый

Примечание: M ± m; разница средних значений контроля и опыта достоверна при P≤0,01 для всех вариантов.

Как свидетельствует статистическая обработка полученных данных, препарат Циркон 0,05 % в исследуемых вариантах оказывает стимулирующее действие на процесс прорастание семян кукурузы. Регулятор роста повышает энергию прорастания в 1,02–2,86 раза, а всхожесть – в 1,04–1,58 раз по сравнению с контролем 1 и вариантами солевых растворов. При добавлении препарата Циркон в солевые растворы солеустойчивость возрастает. Так, при 50–150 мМ NaCl растения высоко солеустойчивые, а в варианте 200 мМ – устойчивые.

Индекс толерантности является показателем солеустойчивости растений. В результате анализа данных опыта по определению индекса толерантности растений кукурузы, выращенных на фоне хлоридного засоления (табл. 3), отмечено, позитивное действие Циркона на исследуемый показатель.

Таблица 3.

Индекс толерантности 11-дневных растений кукурузы, выращенных на фоне хлоридного засоления

Варианты	Прирост массы сухого вещества растений, мг	Прирост массы сухого вещества растений в контроле, мг	Индекс толерантности, %
50 мМ NaCl	89,21±4,33	110,19±5,31	81,10
100 мМ NaCl	30,15±1,41		27,41
150 мМ NaCl	25,42±1,21		23,11
200 мМ NaCl	14,11±0,69		12,83
50 мМ NaCl + Циркон 0,05 %	102,51±4,88		93,19
100 мМ NaCl + Циркон 0,05 %	88,23±4,31		80,21
150 мМ NaCl + Циркон 0,05 %	43,31±2,03		39,37
200 мМ NaCl + Циркон 0,05 %	16,67±0,80		15,15

Примечание: M ± m; разница средних значений контроля и опыта достоверна при P≤0,01 для всех вариантов.

Как свидетельствуют данные таблицы, индекс толерантности обратно пропорционален концентрации солевых растворов. При увеличении концентрации NaCl в растворах индекс толерантности понижается. Во всех вариантах с применением препарата Циркон индекс толерантности значительно выше аналогичных по содержанию солей вариантах. Так, индекс толерантности к засолению варианта Циркон + 50 мМ NaCl на 12,09 % превышает индекс

толерантности варианта 50 мМ NaCl, а у варианта Циркон + 150 мМ NaCl индекс толерантности больше на 16,26 % по сравнению с вариантом 150 мМ NaCl.

Таким образом, на основании полученных нами данных можно сделать вывод о достоверном положительном влиянии регулятора роста Циркон на митотическую активность клеток апикальной меристемы корней проростков. Предварительное замачивание семян в 0,05 % растворе биорегулятора при хлоридном засолении будет стимулировать митотическую активность апикальной меристемы, ускорять ростовые процессы в корнях, повышать их поглотительную способность, и, в конечном итоге, приведет к увеличению солеустойчивости и продуктивности растений при выращивании их в условиях осмотического стресса.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В клетках апикальной меристемы корней проростков кукурузы препарат Циркон достоверно повышает митотическую активность в условиях хлоридного засоления. При добавлении биорегулятора в солевые растворы митотический индекс достоверно больше на 27,3–70,8 % по сравнению с вариантами солевых растворов.

Во всех исследованных вариантах не наблюдается достоверных отличий фазных индексов как при сравнении исследуемых вариантов с контролем 1, так и при сравнении вариантов с одинаковой концентрацией соли между собой.

Регулятор роста в концентрации 0,05 % оказывает положительное влияние на солеустойчивость растений кукурузы. Варианты с Цирконом устойчивые и высокоустойчивые, индекс толерантности больше на 2,3–52,8 % по сравнению с вариантами со схожей концентрацией соли.

Список литературы

1. Парубец О. В. Система хозяйствования как фактор трансформации физико-географических процессов в Крыму в XX-XXI веках / О. В. Парубец // Экосистемы, их оптимизация и охрана. – 2010. – Вып. 3. – С. 155–166.
2. Сташкина А. Ф. Геоэкологическая угроза опустынивания ландшафтов зоны Присивашья Крымского полуострова / А. Ф. Сташкина // Вісник Харківського національного аграрного університету ім. В. В. Докучаєва. Серія: Рослинництво, селекція і насінництво, плодоовочівництво. – 2013. – № 9. – С. 203–209.
3. Жученко А. А. Эколого-генетические основы адаптивной системы селекции растений / А. А. Жученко // Сельскохозяйственная биология. – 2000. – № 3. – С. 3–29.
4. Удовенко Г. В. Солеустойчивость растений / Г. В. Удовенко. – Л., 1977. – 215 с.
5. Шихмурадов, А. З. Генетические аспекты солеустойчивости культурных растений / А. З. Шихмурадов // Известия ДГПУ. – 2011. – № 1. – С. 46–49.
6. Shabala S. N. Regulation of potassium transport in leaves: from molecular to tissue level / S. N. Shabala // Annals of Botany. – 2003. – V. 92. – P. 627–634.
7. Влияние препарата Циркон на рост и развитие растений кукурузы на начальных этапах онтогенеза в условиях почвенной засухи / С. И. Чмелева, Е. Н. Кучер, Ю. О. Дашкевич [и др.] // Ученые записки Таврического национального университета имени В.И. Вернадского. Серия: Биология, химия. – 2014. – Т. 27 (66). – № 1. – С. 223–231.
8. Семина С. А. Водопотребление кукурузы в зависимости от приемов возделывания / С. А. Семина, А. Г. Иняхин // Всероссийская научно-практическая конференция «Инновационные технологии в АПК: теория и практика». – Пенза, 2013. – С. 98–100.

9. Золотарева Е. В. Регуляторы роста повысят урожайность томатов к неблагоприятным погодным условиям / Е. В. Золотарева, З. В. Ошланова // Главный агроном. – 2004. – № 10. – С. 57–59.
10. Методические указания по применению регуляторов роста растений на овощных, бахчевых культурах и картофеле / Ш. Б. Байрамбеков [и др.] – Астрахань : ГНУ ВНИИОБ; М-во сельского х-ва; ЗАО «Глория», 2009. – 78 с.
11. Постников А. Н. Управление продуктивностью посадок картофеля и качеством урожая с помощью регуляторов роста / А. Н. Постников, О. Б Осетрова. // Достижения науки и техники АПК. – 2009. – № 8. – С. 28–29.
12. Пушкина Г. П. Пути повышения эффективности защиты лекарственных культур от вредных организмов / Г. П. Пушкина, Л. М. Бушковская // Регуляция роста, развития и продуктивности растений. Материалы IV международной научной конференции. – Минск, 2005. – С. 193–288.
13. Малеванная Н. Н. Циркон – новый регулятор роста растений полифунционального действия / Н. Н. Малеванная // Средства защиты растений, регуляторы роста, агрохимикаты и их применение при возделывании сельскохозяйственных культур: мат-лы конф. – Анапа, 2005. – С. 49–53. Малеванная Н. Н. Взрывной темперамент Циркона на службе растений / Н. Н. Малеванная // Новый садовод и фермер. – 2001. – № 1. – С. 45–47.
14. Малеванная Н. Н. Препарат Циркон – иммуномодулятор нового типа / Н. Н. Малеванная // Научно-практическая конференция «Применение препарата Циркон в производстве сельскохозяйственной продукции». – М., 2004. – С. 17–20.
15. Ткачук О. А. Эффективность применения регуляторов роста при возделывании яровой пшеницы в условиях лесостепной зоны Среднего Поволжья / О. А. Ткачук, Е. В. Павликова, А. Н. Орлов // Молодой ученый. – 2013. – № 4. – С. 677–679.
16. Алексеева К. Л. Влияние Циркона на урожайность и качество продукции капусты белокочанной и моркови столовой / К. Л. Алексеева, Л. Г. Сметанина, Л. А. Багров // Применение препарата Циркон в сельском хозяйстве: тез. докл. научн.-практ. конф. – М., 2004. – С. 12–13.
17. Барчукова А. Я. Циркон – стимулятор продуктивности овощных культур / А. Я. Барчукова // Применение препарата Циркон в сельском хозяйстве: тез. докл. науч.-практ. конф. – М., 2004. – С. 16–18.
18. Воронина Л. П. Продолжительность обработки семян редиса, огурца, овса препаратом Циркон в различной концентрации / Л. П. Воронина, Н. Н. Малеванная // Докл. РАСХН. – 2003. – № 3. – С. 13–15.
19. Серегина И. И. Влияние препарата Циркон на продуктивность яровой пшеницы и содержание тяжелых металлов в продукции при загрязнении почвы цинком, кадмием, свинцом / И. И. Серегина, Е. В. Чурсина // Агрохимия. – 2010. – №. 9. – С. 66–71.
20. Собчук Н. А. Влияние препарата Циркон на прорастание семян кукурузы (Zea mays L.) / Н. А. Собчук, С. И. Чмелева // Экосистемы. – Симферополь, 2015. – Вып. 4. – С. 45–51.
21. Устименко И. Ф. Эффективность препарата Циркон при возделывании картофеля / И. Ф. Устименко, А. Н. Постников // Достижения науки и техники АПК. – 2009. – №. 4. – С. 38–39.
22. ГОСТ 12038-84. Семена сельскохозяйственных культур. Методы определения всхожести (с Изменениями N 1, 2) [Электронный ресурс]. – Режим доступа к статье: http://docs.nevacert.ru/files/gost/gost_12038-1984.pdf (дата обращения 23.09.2017).
23. Паушева З. П. Практикум по цитологии растений / З. П. Паушева. – 4-е изд., перераб. и доп. – М. : Агропромиздат, 1988. – 271 с.: ил.
24. Физиолого-биохимические изменения в проростках пшеницы при инокуляции бактериями рода Azospirillum / Н. В. Евсеева [и др.] // Физиология и биохимия культурных растений. – 2011. – Т. 43. – № 2. – С. 171–178.
25. Прохорова И. М. Оценка митотического и мутогенного действия окружающей среды: Метод. указания / И. М. Прохорова, М. И. Ковалева, А. Н. Фомичева; Яросл. гос. ун-т. – Ярославль, 2003. – 32 с.
26. Третьяков Н. Н. Практикум по физиологии растений / Н. Н. Третьяков, Т. В. Карнаухова, Л. А. Паничкин – М.: Агропромиздат, 1990. – 271 с.
27. Методические указания для определения солеустойчивости овощных культур по прорастанию семян в солевых растворах. Томаты / Сост.: В. Н. Синельникова, Е. И. Смирнова. ВИР. – Л., 1975. – 18 с.

28. Wilkins D. S. The measurement of tolerance to edaphic factors by means of root growth / D. S. Wilkins // New Phytol. – 1978. – V. 80, № 3. – P. 623–633.
29. Павленко В. Б. Анализ экспериментальных данных на компьютере. Учебное пособие для студентов биологического факультета / Б. В. Павленко. – Симферополь, 2007. – 43 с.
30. Протасов К. В. Статистический анализ экспериментальных данных / К. В. Протасов. – М. : Мир. 2005. – 232 с.
31. Дмитриева С. А. Митотический индекс меристематических клеток и рост корней гороха *Pisum sativum* при действии модуляторов инозитольного цикла / С. А. Дмитриева, Ф. В. Минибаева, Л. Х. Гордон // Цитология. – 2006. – Т. 48. – № 6. – С. 475–479.
32. Собчук Н. А. Влияние предпосевной обработки кукурузы препаратом Циркон на митотическую активность апикальной меристемы корней кукурузы / Н. А. Собчук, С. И. Чмелева // Ученые записки Крымского федерального университета им. В. И. Вернадского. Серия «Биология, химия». – 2015. – Т. 1 (67). – № 1. – С. 107–114.
33. Чмелева С. И. Влияние препарата Циркон на рост и растений кукурузы на начальных этапах / С. И. Чмелева, Е. Н. Кучер, Ю. О. Дашкевич, М.И. Ситник // Ученые записки Таврического национального университета имени В. И. Вернадского. Серия: Биология, химия. – 2013. – Т. 26 (65), № 4. – С. 188–195.

MITOTIC ACTIVITY OF THE APICAL MERISTEM OF *ZEA MAYS* L. ROOTS UNDER INFLUENCE OF ZIRCON PREPARATION UNDER CHLORIDE STRESS

Chmeleva S. I., Sobchuk N. A.

V. I. Vernadsky Crimean Federal University, Simferopol, Crimea, Russia
E-mail: sob4uk.n@gmail.com

Despite the favorable conditions for the cultivation of many crops, Crimea belongs to the risky zone of agriculture. Significant impact on the natural environment of Prisivashia was made by the introduction of the North Crimean Canal. As a result, the groundwater level rose, soil was flooded, and soil salinity increased. The factor has a negative impact on all cultivated plant species, and its level is higher, the greater the degree of salinity. The negative effect of salinization is expressed in the deterioration of many properties and functions of plants, which as a result leads to a decrease in their productivity.

Maize (*Zea mays* L.) takes the third place in the world in sowing areas, and the first place – in productivity. A significant range of its application is associated with high productivity, which is due to S4-type of photosynthesis and active growth processes. In this case, maize is demanding for the water regime, because with intensive growth and the formation of a significant volume of vegetative mass, a large number of micro- and macroelements are consumed in a short period of time.

In the practice of agriculture, various plant growth regulators are used to increase the yield and enhance the resistance of plants to extreme environmental actions, including salt stress. These regulators include a new generation Zircon growth stimulant, whose active ingredient is a mixture of hydroxycinnamic acids (HCA) extracted from the plant material *Echinacea purpurea* (L.) Moench. Zircon performs in plants the functions of growth stimulant, immunomodulator and adaptogen to stress.

The effect of this growth regulator on plants has often been studied under optimal non-stress conditions, and data on the use of Zircon to improve the salt tolerance of plants and to study its effect on mitotic activity under such conditions have not been observed. Therefore, the aim of our work was to investigate the mitotic activity of the apical meristem of the roots of *Zea mays* L. sprouts under the influence of Zircon in condition of chloride stress.

As an object of study, we used maize plants *Zea mays* L., CV / TAP 349 MB.

Sampled on average size and etched in a weak solution of potassium permanganate, the seeds were pre-soaked for 4 hours in the solutions under study. After soaking, the seeds, 30 in number, were placed in cuvettes on a filter paper. To simulate salt stress, 300 ml of a solution with various concentrations of NaCl salts (50 mM, 100 mM, 150 mM, 200 mM; control 1 – distilled water) were poured into the cuvettes. To study the effect of the Zircon preparation on the germination of maize seeds in chloride salinity, the above concentrations of NaCl were used with the addition of 0.05% growth regulator (control 2 – 0.05% Zircon). Seeds were germinated in a thermostat according to GOST 12038-84. On day 4, rootlets (5–7 mm) were cut off from corn seedlings and immersed in a fixation solution (acetic alcohol) per day, then the fixed root tips were transferred to a solution of 70° ethyl alcohol and thus stored in a refrigerator. Staining was performed with acetocarmine for 72 hours, after that temporary preparations were made.

The control of the preparation was carried out under the magnification of the ×100 microscope, and its investigation – under the increase ×400. Each experiment was carried out in triplicate. For each variant of the experiment, the root tips of 3 seedlings were analyzed, at least 1000 cells in each root tip.

The mitotic and phase indices were calculated by Prokhorova's formulas.

Morphometric parameters of plants were determined by standard methods in plant physiology.

Statistical processing of experimental data was carried out by calculating the arithmetic mean and standard error of the arithmetic mean. To determine the reliable differences in the distribution of biometric data, Student's t-test was used.

As our studies have shown, in the cells of the apical meristem of the roots of maize seedlings, the Zircon praparation significantly increases the mitotic activity in conditions of chloride salinity.

In the modeling of salt stress, there is an inhibition of the proliferation of meristem cells compared to control 1. There is an inverse relationship between the concentration of saline and the mitotic index. Thus, the mitotic index in the variants of the experiment of 50 mM NaCl – 200 mM NaCl is reduced by 29.79–73.84 % compared to control 1.

The addition of Zircon growth regulator to salt solutions stimulates the proliferation of meristem cells. A reliable positive effect of the preparation is statistically confirmed. The mitotic index in control variant 2 – Zircon 0.05% exceeds the mitotic index in Control 1 by 60.85%. This indicator in the variants of the experiment containing Zircon and 50–200 mM NaCl is significantly larger by 27.29–70.81 % compared to the variants of 50 mM NaCl – 200 mM NaCl. In variants of the experiment with sprouting in saline solutions, inhibition of both phases of cell growth –division and extension – is observed. The increase in the mitotic index in variants with the addition of the preparation is due to

the intensive division of the cells of the apical meristem of the roots of the seedlings, which significantly increases the growth rate of the root system of the whole plant.

In all the investigated variants, there are no significant differences in the phase indices either in comparing the variants studied with the control 1 or in comparing the variants with the same salt concentration among themselves. Compared with the control 1, the prophasic index in the variants studied is in the range -16.17... +13.04%, the metaphase index is in the interval -19.35... +6.83%, the anaphase index is in the interval -6.91... +15.01%, the telophase index is in the interval -13.21... +17.08%. In the absence of significant differences in the phase indices, it can be argued that mitosis in cells proceeds without any chromosome disturbances and cellular structures.

Zircon 0.05% in the studied variants has a stimulating effect on the process of germination of maize seeds. The growth regulator raises the germination energy in 1.02–2.86 times, and the germination rate in 1.04–1.58 times compared to control 1 and variants of saline solutions. When Zircon is added to saline solutions, salt tolerance increases. Thus, at 50–150 mM NaCl, the plants are highly salt tolerant, and in the 200 mM version, they are stable.

In all variants with the use of Zircon, the tolerance index is significantly higher than the salt-like variants. Thus, the tolerance index to salinity of the Zircon + 50 mM NaCl variant is 12.09% higher than the tolerance index of the variant 50 mM NaCl, and in the Zircon + 150 mM NaCl version the tolerance index is 16.26% higher than the variant 150 mM NaCl.

Thus, on the basis of the data obtained, we can conclude that the positive regulator of Zircon growth regulator has a positive effect on the mitotic activity of the cells of the apical meristem of the seedlings roots. Pre-soaking seeds in a 0.05 % solution of the bioregulator with chloride salinity will stimulate the mitotic activity of the apical meristem, accelerate growth processes in the roots, increase their absorption capacity, and ultimately lead to an increase in salt tolerance and plant productivity when grown under osmotic conditions stress.

***Keywords*:** Zircon preparation, growth regulator, chloride stress, mitotic index, phase indices, salt tolerance.

References

1. Parubets O.V., The management system as a factor in the transformation of physico-geographical processes in Crimea in the XX–XXI centuries, *Ecosystems, their optimization and protection,* **3**, 155 (2010).
2. Stashkina A. F., Geoecological Threat to Desertification of Landscapes of the Prisivashie Zone of the Crimean Peninsula, *News of V.V. Dokuchaev Kharkiv National Agricultural University, Crop, seed, fruit and vegetable production, and breeding Series*, **9**, 203 (2013).
3. Zhuchenko A.A., Ecological and genetic foundations of the adaptive plant breeding system, *Agricultural Biology,* **3**, 3 (2000).
4. Udovenko G. V., *Salt-resistance of plants*, 215 p. (Leningrad, 1977).
5. Shikhmuradov A.Z., Genetic aspects of salt tolerance of cultivated plants, *Izvestiya of DSPU*, **1**, 46 (2011).
6. Shabala S. N., Regulation of potassium transport in leaves: from molecular to tissue level, *Annals of Botany*, **92**, 627 (2003).

7. Chmeleva S.I., Kucher E.N., Dashkevich Yu. O., Effect of Zircon on the growth and development of maize plants in the initial stages of ontogeny in conditions of soil drought, *Scientific Notes of Taurida National V. I. Vernadsky University. Series: Biology, Chemistry*, **27 (66)**, 223, (2014).
8. Semina S.A., Inyakhin A.G., Water consumption of maize depending on cultivation methods, *Proceedings of All-Russian scientific-practical conference "Innovative technologies in the agroindustrial complex: theory and practice"* (Penza, 2013), p. 98.
9. Zolotareva, Ye. V., Oshlanov Z.V., Growth regulators to increase the yield of tomatoes to unfavorable weather conditions, *Chief* agronomist, **10**, 57 (2004).
10. Bayrambekov Sh. B., *Methodical instructions on the application of plant growth regulators in vegetable, melons and potatoes*, 78 p. ("Gloria" Publishing House, Astrakhan, 2009).
11. Postnikov A.N., Osetrova O.B., Management of potato planting productivity and crop quality with the help of growth regulators, *Achievements of science and technology of the agro-industrial complex*, **8**, 28 (2009).
12. Pushkina G.P., Bushkovskaya L.M., Ways to increase the effectiveness of protection of medicinal crops from harmful organisms, *Proceedings of the IV International Scientific Conference "Regulation of growth, development and productivity of plants"* (Minsk, 2005), p. 193.
13. Malevannaya N.N., Zirkon – a new plant growth regulator of polyfunctional action, *Proceedings of the Conference "Plant protection products, growth regulators, agrochemicals and their application in the cultivation of crops"* (Anapa, 2005). p. 49. Malevannaya, N.N. The explosive temperament of Zirkon in the plants service, *New horticulturist and farmer,* **1**, 45 (2001).
14. Malevannaya N. N., Zircon preparation – immunomodulator of a new type, *Proceedings of the Scientific and Practical Conference "Application of Zircon in the production of agricultural products"* (Moscow, 2004), p. 17.
15. Tkachuk O.A., Pavlikova E.V., Orlov A.N., Efficiency of the use of growth regulators in the cultivation of spring wheat in the conditions of the forest-steppe zone of the Middle Volga Region, *Young Scientist*, **4**, p. 677 (2013).
16. Alekseeva K.L., Smetanina L.G., Bagrov L.A., Zirkon's influence on productivity and quality of production of cabbage and carrots, *Proceedings of the Scientific and Practical Conference "Application of Zircon in agriculture*" (Moscow, 2004), p. 12.
17. Barchukova A. Ya., Zirkon – a stimulator of the productivity of vegetable crops, *Proceedings of the Scientific and Practical Conference "Application of Zircon in agriculture"* (Moscow, 2004), p. 16.
18. Voronina L.P., Malevannaya N.N., Duration of treatment of seeds of radish, cucumber, oats with Zircon preparation in various concentrations, *Reports of Russian Academy of Agricultural sciences*, **3**, 13 (2003).
19. Seregina I.I., Chursina E.V., Influence of the Zircon preparation on the productivity of spring wheat and the content of heavy metals in production with soil contamination with zinc, cadmium, *Agrochemistry*, **9**, 66 (2010).
20. Sobchuk N.A., Chmeleva S.I., Effect of the Zircon preparation on the germination of maize seeds (*Zea mays* L.), *Ecosystems*, **4**, 45 (Simferopol, 2015).
21. Ustimenko, I.F., Postnikov A.N., Effectiveness of the Zircon preparation in potato cultivation, *Achievements of science and technology of the agro-industrial complex*, **4**, 38, 2009.
22. State standard GOST 12038–84. Seeds of agricultural crops. Methods for determining germination (with Changes No 1, 2), [Electronic resource], Mode of access to the article: http://docs.nevacert.ru/files/gost/gost_12038-1984.pdf (circulation date: September 23, 2017).
23. Pausheva, Z.P., *Practice on plant cytology*, 271 p (Agropromizdat Publishing House, Moscow, 1988).
24. Evseeva N.V., Physiological and biochemical changes in wheat germs during inoculation with bacteria of the genus Azospirillum, *Physiology and biochemistry of cultivated plants*, **43, № 2**, 171 (2011).
25. Prokhorova I.M., Kovalev M.I., Fomichev A.N., *Evaluation of the mitotic and mutogenic action of the environment: Method. instructions*, 32 p. (Yaroslavl state university, Yaroslavl, 2003).
26. Tretyakov N.N., Karnaukhova T.V., Panichkin L.A., Workshop on Plant Physiology, 271 p. (Agropromizdat Publishing House, Moscow, 1990).
27. Sinelnikova V.N., Smirnova E.I., *Methodical instructions for determining the salt tolerance of vegetable crops by germination of seeds in saline solutions. Tomatoes*, 18 p. (VIR, Leningrad, 1975).
28. WilkinsD. S., The measurement of tolerance to edaphic factors by means of root growth, *New Phytol*., **80, 3**, 623 (1978)

29. Pavlenko V.B., *Analysis of experimental data on a computer. Textbook for students of the Faculty of Biology*, 43 p. (Simferopol, 2007).
30. Protasov K.V., *Statistical analysis of experimental data*, 232 p. (Mir Publishing House, Moscow, 2005).
31. Dmitrieva S.A., Minibaeva F.V., Gordon L. Kh., Mitotic index of meristematic cells and growth of pea roots of Pisum sativum under the action of modulators of the inositol cycle, Cytology, **48, 6**, 475 (2006).
32. Sobchuk N.A., Chmeleva S.I., Effect of presowing maize treatment with Zircon on the mitotic activity of the apical meristem of maize roots, *Scientific Notes of V. I. Vernadsky Crimean Federal University*, *Series "Biology, Chemistry"*, **1 (67), 1**, 107 (2015).
33. Chmeleva S.I., Kucher E.N., Dashkevich Yu.O., Sitnik M.I., Effect of Zircon on the growth and planting of corn in the initial stages*, Scientific Notes of Taurida National V. I. Vernadsky University*. *Series: Biology, Chemistry*, **26 (65), 4**, 188 (2013).

Ученые записки Крымского федерального университета имени В. И. Вернадского
Биология. Химия. Том 5 (71). 2019. № 1. С. 163–178.

УДК 612.763

ДВИГАТЕЛЬНАЯ РЕАБИЛИТАЦИЯ ПАЦИЕНТОВ С НАРУШЕНИЯМИ МОТОРИКИ ВЕРХНИХ КОНЕЧНОСТЕЙ: АНАЛИЗ СОВРЕМЕННОГО СОСТОЯНИЯ ИССЛЕДОВАНИЙ (ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ)

Чуян Е. Н.[1], Бирюкова Е. А.[1], Бабанов Н. Д.[2]

[1]Таврическая академия (структурное подразделение) ФГАОУ ВО «Крымский федеральный университет имени В. И. Вернадского», Симферополь, Республика Крым, Россия
[2]ФГБУН «НИИ Нормальной физиологии имени П.К. Анохина», Москва, Россия
E-mail: biotema@mail.ru

Статья посвящена анализу современного состояния исследований в области двигательной реабилитации пациентов с нарушениями моторики верхних конечностей. Наличие большого числа современных публикаций, посвященных восстановлению двигательных функций путем стимулирования естественных механизмов пластичности мозга, свидетельствует о передовом характере исследований, направленных на развитие новых технологий и методов медицинской реабилитации пациентов с неврологической патологией, в том числе и нарушением моторики верхних конечностей. При этом в научной литературе отмечают два основных аспекта: положительный эффект использования роботизированных систем с БОС в практике постинсультной реабилитации и второй, который состоит в том, что прогресс в разработке более совершенных систем и технологий их применения упирается в недостаточное понимание принципов управления движением со стороны центральной нервной системы. Исследовательских усилий требует и обоснование двигательного режима, способов контроля процедур, уточнения и выбора надёжных маркёров состояний пациентов. Очевидно, для решения этих и других задач необходимо, с одной стороны, значительно расширить число регистрируемых параметров, характеризующих функциональное состояние испытуемых или пациентов в процессе выполнения моторной задачи в режиме БОС, а, с другой – разработать методические приемы, позволяющие судить о результатах воздействия.
Ключевые слова: биоуправление движением, биологическая обратная связь, двигательная нагрузка, стабилометрия, моторное обучение, функциональное состояние, нейрокомпьютерный интерфейс, нейрореабилитация, робототехнические системы.

В настоящее время физическая реабилитация пациентов с нарушениями моторных функций вышла на качественно новый уровень своего развития, что связано, в том числе, с развитием медицинской техники. Это обусловило значительный рост интереса к работам, связывающим моторное обучение, целенаправленную двигательную активность с нейропластичностью центральной нервной системы (ЦНС) [1, 2]. Значительное количество научных публикаций в области клинической неврологии посвящено комплексной реабилитации больных, перенесших инфаркт мозга различной тяжести и локализации [1–3]. Отметим, что степень разработанности биологических аспектов обеспечения моторных задач при организации целенаправленных движений, в том числе верхней конечности, по

нашему мнению, является недостаточной. Полагаем, что одним из основных вопросов при обсуждении эффективности различных подходов к двигательной реабилитации является возможность сравнения и сопоставления результатов разных исследований. Вместе с тем, анализ литературных данных отечественных и зарубежных авторов указывает на несопоставимость, а зачастую противоречивость и невоспроизводимость результатов исследований.

В связи с этим, целью настоящего исследования явился анализ современного состояния исследований в области двигательной реабилитации пациентов с нарушениями моторики верхних конечностей.

На сегодняшний день основной причиной инвалидизации при неврологических патологиях является развитие целого ряда двигательных расстройств, в том числе и нарушение моторики верхних конечностей [4, 5].

Следует отметить, что в последние годы достигнуты значительные успехи в лечении неврологических заболеваний, и, в частности, коррекции двигательных функций верхней конечности [2, 5, 6]. Немаловажную роль в этом ученые отводят открытиям в области фундаментальных основ пластических процессов в моторной коре головного мозга при ее повреждениях. Нейрофизиологические и нейроанатомические исследования на животных, неинвазивные методы картирования мозга у человека продемонстрировали способность коры мозга к значительной функциональной перестройке. При этом согласно многочисленным экспериментальным и клиническим исследования, в активизации механизмов нейропластичности ЦНС важную роль играют различные методы восстановительной терапии [2]. Современные методы восстановления двигательных функций направлены, прежде всего, на стимулирование естественных механизмов пластичности мозга, компенсирующих его повреждения [7–10], а повторяющиеся активные целенаправленные движения способствуют восстановлению двигательных функций.

При этом, как было указано выше, анализ отечественной и зарубежной литературы, посвященной исследованиям в области двигательной реабилитации пациентов с нарушениями моторики верхних конечностей, демонстрирует противоречивость и невоспроизводимость результатов исследований, что может быть связано с рядом факторов.

Во-первых, значительная часть исследований по применению гибридных технологий в комплексной реабилитации больных с нарушением моторных функций является клиническими, а потому носит в основном описательный характер, в то время как экспериментальный материал практически отсутствует. В ведущих мировых исследованиях рассматривается эффективность использования комплекса нейроинтерфейс "мозг-компьютер" (НМК) – системы, позволяющей осуществлять контроль за воображением движения на основе регистрации биоэлектрической активности мозга, возникающей при воображении целенаправленного движения, при управлении внешним роботизированным устройством (например, экзоскелетом руки, ортезом, средством передвижения и пр.). Имеются данные об успешной реабилитации больных с двигательными нарушениями в результате применения программно-аппаратного комплекса НМК и экзоскелета кисти (НМКЭ) [11–14].

При этом большинство исследований в клинике проведены с малыми выборками [11, 15, 16] или содержат лишь описания примеров клинических [16, 17].

Во-вторых, в подобных исследованиях обращают на себя внимание как большой разброс по тяжести заболевания (в том числе, степень выраженности пареза конечностей), так и различные восстановительные периоды после инсульта. В частности, в поздний восстановительный и резидуальный периоды инсульта у пациентов с умеренно выраженным парезом руки в результате комплексной реабилитации с использованием НМКЭ отмечено восстановление проксимальных, дистальных отделов руки, преимущественно в результате улучшения захвата кисти. У пациентов с грубыми парезами в эти восстановительные сроки включение НМКЭ в комплексную реабилитацию было менее эффективным [11].

Третьей причиной несопоставимости результатов исследования является использование различных роботизированных устройств и методик их применения в реабилитации. На передний план в этой области выходит применение так называемых "гибридных систем", основанных на использовании компьютерных робототехнических комплексов с применением биологической обратной связи (БОС) [18–21].

Для комплексной реабилитации пациентов с нарушениями моторных функций верхних конечностей широко используются устройства роботизированной механотерапии, предполагающей выполнение физических упражнений для развития движений в отдельных суставах поражённой конечности [22].

Можно привести следующие примеры экзоскелетов, применяющихся для реабилитации: ARM-Guide (Assistant Rehabilitation and Measurement Guide), который обеспечивает движения в локтевом и плечевом суставах [23]; MIME (Mirror Image Movement Enabler), управляющий движением предплечья и кисти по сигналам от здоровой руки [24]; BI Manu Track, обеспечивающий сгибание-разгибание кисти и пронацию-супинацию предплечья обеих рук [25]; Ne Robot (Neuro Rehabilitation Robot), стимулирующий движения в плечевом и локтевом суставах [26]; Haptic Master, исправляющий отклонения от "неправильных" движений [27]; T-WREX (Therapy Wilmington Robotic Exosceleton), блокирующий "ненужные" для различных лечебных упражнений степени подвижности поврежденной конечности [28, 29].

Все устройства роботизированной механотерапии по принципу действия можно разделить на пассивные и активные.

Механотерапевтическими аппаратами пассивного действия являются устройства, обеспечивающие движение строго в одном направлении при обязательной фиксации сегментов конечностей. Их основной задачей является увеличение подвижности в изолированном суставе за счет дозированного растяжения параартикулярных тканей, при условии мышечного расслабления [30, 31]. Пассивными, например, являются простейшие ортезы [30], позволяющие совершать разгрузку веса, либо ограничивать движение сустава по определённым направлениям во время постоперационной реабилитации. В качестве примера таких устройств можно привести экзоскелет руки WREX (Wilmington Robotic Exoskeleton) [32], который основан на комбинации противовесов и линейных пружин. Для перемещения руки, человеку необходимо совершить небольшое усилие, так как комплекс снимает большую часть нагрузки.

Однако, на сегодняшний день особый интерес вызывает применение робототехнических устройств активного действия (в том числе и для восстановления управляемости рук), отличающихся способностью по принципу биологической обратной связи (БОС) изменять характер своей работы. Применение таких устройств стало возможно благодаря тому, они основываются на применении "гибридных технологий", основанных на связи показаний показаниях, встроенных в экзоскелет датчиков и микропроцессорных устройств, и биологических сигналов, зарегистрированных непосредственно у пациента. К ним относится широкий спектр экзоскелетов, которые на сегодняшний день с успехом применяются в клинической практике в качестве методов роботизированной механотерапии [11] для реабилитации пациентов с нарушениями моторных функций вследствие, например, острого нарушения мозгового кровообращения [5, 6, 11].

Некоторые авторы [6] отмечают высокую эффективность применения систем, сочетающих технологии экзоскелета с технологией интерфейс "мозг-компьютер" (ИМК), основанной на анализе ЭЭГ сигналов для двигательной реабилитации. Практически этот подход реализован в таких методах, как тренировка в условиях виртуальной реальности, когда пациенты обучаются движениям по обратной связи [33, 34], и тренировка в условиях облегчения роботом [35, 36]. Этот подход основан на способности пациента совершать активные движения больной рукой или ногой и, следовательно, требует частичного сохранения двигательных функций. Если эти функции не сохранились, то перспективным методом стимулирования пластичности мозга остается только воображение движений.

Как показано во многих исследованиях [37, 38], воображение движений подчиняется тем же принципам, что и управление реальными движениями, и поэтому может стимулировать те же пластические механизмы [39].

Экзоскелеты часто сопрягают с компьютерной игрой, в которой курсор отражает движение джойстика в руке пациента, а пациент с помощью зрительной обратной связи может решать задачи компьютерных игр. В суставах некоторых экзоскелетов применяется пассивный пружинный механизм, обеспечивающий регулируемую разгрузку тренируемой руки, что позволяет пациенту двигать рукой с минимальными усилиями в суставах, в других экзоскелетах применяется активное управление суставами. Некоторые методы реабилитации предусматривают формирование необходимого движения в ходе компьютерной игры с настраиваемыми параметрами, в других же методиках врач выполняет движения пассивной рукой пациента, эти движения регистрируются, а затем воспроизводятся с помощью экзоскелета.

Важной частью подобных устройств является обеспечение БОС [12], своеобразная "гибридизация" живых и технических структур [14]. БОС при этом используется в качестве дополнительного канала информации о результативности выполнения заданной двигательной задачи [40]. Во время проведения процедуры, человеку предоставляется информация о внутренних физиологических показателях его состояния, тем самым испытуемый может менять стратегию своего поведения. Такие технологии уже показали высокую эффективность в вопросах качественной оценки реабилитации пациентов с нарушениями моторных функций вследствие острого нарушения мозгового кровообращения [3–6].

Одним из примеров применения БОС в робототехнических устройствах активного действия является использование электромиографического (ЭМГ) сигнала, однако, остаются проблемы, связанные с его управлением [41]. Ряд работ отмечает перспективность в качестве альтернативы ЭМГ использования так называемой "силовой миографии" (Force myography; СМГ) [42, 43]. Отмечается, что такая система является эффективным методом в обеспечении биологической обратной связи в задачах, связанных с мелкой моторикой рук [43]. Метод показал высокую эффективность при использовании на здоровых пациентах, однако, в связи с техническими особенностями его применения, сильно ограничен для использования в реабилитации.

Несмотря на то, что БОС с использованием ЭМГ является одной из самых популярных как в России [44], так и за рубежом [45], данный метод не исчерпал своих возможностей в вопросах качественной оценки и описания получаемой информации, а также в создании новых методик для клинических исследований.

Значительно различаются и применяемые в исследованиях ИМК. Основные из них использует два вида активности мозга: электрофизиологическую (обусловлена электрохимическими процессами, связанными с передачей информации между нейронами мозга и регистрируется в электро- (ЭЭГ) и магнитоэнцефалографии (МЭГ)) и гемодинамическую (обусловлена увеличением скорости доставки кислорода к активным областям мозга по сравнению с неактивными, регистрируется с помощью функциональной магниторезонансной томографии или околоинфракрасной спектроскопии). В отличие от методов регистрации электрофизиологической активности, гемодинамические методы только косвенно отражают изменения активности нейронов в связи с выполняемой ментальной задачей. Поэтому наибольшее число исследований касается использования электрических сигналов. Вместе с тем, для регистрации МЭГ требуются громоздкие и дорогостоящие устройства, что делает использование такой системы для реализации БОС в целях реабилитации затруднительным. То же касается использования гемодинамической активности. Некоторые авторы [46] отмечают перспективность метода транскраниальной магнитной стимуляции, как в диагностике, так и в восстановлении функций пораженных конечностей.

ИМК различаются также и по типу регистрируемых сигналов мозга, и по способам их преобразования в команды управления внешним устройством. Существуют ИМК не инвазивные, использующие в качестве сигнала потенциалы мозга, регистрируемые на поверхности головы (ЭЭГ) и инвазивные, основанные на использовании множественной активности отдельных нейронов, которая регистрируется с помощью системы микроэлектродов, вживляемых в ткань мозга. Следует заметить, что, несмотря на несомненные обнадеживающие результаты применения инвазивных ИМК, до их массового клинического применения еще довольно далеко. ИМК подразделяются также на градуальные и дискретные. В градуальном ИМК выучивается новая сенсомоторная координация, связывающая активность мозга с направлением движения к цели непрерывным преобразованием. В случае использования инвазивного ИМК, основанного на регистрации активности отдельных нейронов, задача управления курсором облегчается, так как имеется

исходная связь между активностью нейронов моторных областей коры мозга и желаемым направлением движения [47]. Использование градуальных инвазивных ИМК, основанных на регистрации активности отдельных нейронов, является типичным в экспериментах на обезьянах [48]. В отличие от градуальных, дискретные ИМК способны посылать внешнему техническому устройству только некоторый ограниченный набор команд. Примером бинарного ИМК является интерфейс, основанный на регистрации компонента вызванного потенциала P300, возникающего в ответ на неожиданный, редко предъявляемый значимый стимул, когда он появляется среди часто предъявляемых незначимых стимулов [49, 50]. Другой тип дискретного ИМК основан на распознавании пространственно-временных паттернов ЭЭГ, соответствующих различным типам ментальной деятельности. Идея подобного ИМК была впервые высказана в работе Millan J., Del R. et al. (1998) [51]. В большинстве работ в качестве пространственно-временного паттерна ЭЭГ исследуется пространственное распределение амплитуд различных ритмов ЭЭГ по поверхности головы, перестройка которых, как известно, отражает доминирование тех или иных когнитивных процессов. В настоящее время показана высокая эффективность ИМК, основанных на воображении движений [51-54]. Разделяют зрительное (испытуемый представляет зрительный образ собственного движения, рассматривая его от третьего лица) и кинестетическое воображение (испытуемый создает кинестетические ощущения движения. Показано, что кинестетическое воображение движений активирует те же области мозга, что и реальное движение, в то время, как зрительное воображение – в основном зрительные отделы мозга [55, 56]. Представительства исполнительных органов довольно широко распределены по поверхности коры [57]. Поэтому воображение движений разных органов создает разное распределение активности по поверхности коры и, соответственно, разные пространственные паттерны ЭЭГ, что облегчает задачу классификатора ИМК. Так, точная локализация источника электрической активности мозга, наиболее значимого для функционирования ИМК, основанного на воображении движений рук, была проведена в работе FrolovA.A. et al. (2012) [58]. Многочисленные исследования позволили выделить паттерны активности мозга, характерные для совершения и воображения движений [53, 54], а также для выполнения ментальных задач другого типа [56, 57]. Таким образом, представленные в современной литературе различия регистрируемых сигналов мозга, способов их преобразования в команды управления внешним устройством также не дают возможности в полной мере сопоставить результаты исследования.

В настоящее время как в России, так и за рубежом высокую эффективность показало применение стабилометрических методик оценки и коррекции функционального состояния пациентов с нарушениями моторных функций. Силовые платформы широко применяются и для спортивных исследований [58–60] и клинических исследований, в частности для анализа динамики восстановительного лечения пациентов с нарушением моторной функции [63], в диагностике и коррекции постурологических нарушений [60] и многих других областях. Искусственная обратная связь, организованная с помощью стабилоплатформ, используется для решения различных задач биоуправления движением [59, 60], в том числе как

средство медицинской реабилитации [64]. Добавление биоуправления в структуру стабилометрической процедуры значительно расширяет возможности применения стабилоплатформ, предоставляя новые инструменты (для изучения как традиционных параметров позы, так и сенсорного обеспечения. При этом нерешенные задачи и возможные противоречия в трактовке результатов применения биоуправления (в том числе движением верхней конечности) по опорной реакции связаны с недостаточным развитием методологии, условиями реализации тренингов, параметрами обратной связи и другими.

Недостаточно исследованной проблемой остается также зависимость между числом необходимых повторений и общим объёмом двигательной нагрузки, структурой нагрузки, выбором упражнений и достижением приемлемой функциональности конечности [60]. Анализ литературы указывает на то, что различия в общем объёме занятий для терапии в большей степени связаны с изменениями частоты и интенсивности упражнений, но при этом увеличение общего времени для реабилитации (объём занятий) соответствует лучшим результатам [65]. Имеются данные, что повторные курсы двигательной реабилитации, например, с применением экзоскелета кисти, позволяют достичь лучших результатов, чем единственный [60]. Иными словами, повышению функциональности конечности чаще соответствует больший объём тренировочных занятий, большее число повторений, выбор подходящего режима.

Во многих клинических исследованиях параметры дозирования двигательной нагрузки и число повторов упражнений не определены, хотя анализ данных указывает на положительную зависимость доза – реакция [66]. Однако другие авторы указывают на то, что длительная терапия оказывается нецелесообразной в первые несколько часов, дней или даже недель после инсульта [67]. Таким образом, при определении достаточного времени двигательной реабилитации вопрос дозирования действительно необходимого объёма упражнений остается мало исследованным.

По нашему мнению, указанные факторы привели к несопоставимости, а зачастую и противоречивости результатов клинических и экспериментальных исследований в области восстановления двигательных функций конечности за счет стимулирования естественных механизмов пластичности мозга, компенсирующих его повреждения.

Таким образом, наличие большого числа современных публикаций, посвященных восстановлению двигательных функций путем стимулирования естественных механизмов пластичности мозга, свидетельствует о передовом характере данных исследований, направленных на развитие новых технологий и методов медицинской реабилитации пациентов с неврологической патологией, в том числе и нарушением моторики верхних конечностей. Необходимо отметить также, что большинство современных публикаций по данной проблеме имеет ярко выраженный прикладной характер описания реабилитационных мероприятий пациентов с двигательными нарушениями, а фундаментальные исследования, посвященные выявлению системных механизмов биоуправления движением в режиме БОС, все еще проводятся недостаточно. Следовательно, мы сталкиваемся с типичной научной ситуацией, когда применение на практике новых идей опережает понимание механизмов действия новых методов и технологий, лежащих в их

основе. При этом в научной литературе отмечают два основных аспекта: положительный эффект использования роботизированных систем с БОС в практике постинсультной реабилитации и второй, который состоит в том, что прогресс в разработке более совершенных систем и технологий их применения упирается в недостаточное понимание принципов управления движением со стороны ЦНС, что может иногда вызывать сомнения в эффективности этих технологий. Нет достаточной ясности и в вопросе о том, за счёт каких именно нейронных механизмов и при каких условиях (в том числе при каком режиме включения конечностей) лучше достигается цель двигательной реабилитации. Исследовательских усилий требует и обоснование двигательного режима, способов контроля процедур, уточнения и выбора надёжных маркёров состояний пациентов.

Очевидно, для решения этих и других задач необходимо, с одной стороны, значительно расширить число регистрируемых параметров, характеризующих функциональное состояние испытуемых или пациентов в процессе выполнения моторной задачи в режиме БОС, а, с другой – разработать методические приемы, позволяющие судить о результатах воздействия. Актуальной задачей является установление оптимальных режимов моторного обучения с учетом взаимосвязи эффективности выполнения и представления моторной задачи в режиме БОС-управления верхней конечностью с общим объемом и режимом двигательной нагрузки.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Очевидно, для решения этих и других задач необходимо, с одной стороны, значительно расширить число регистрируемых параметров, характеризующих функциональное состояние испытуемых или пациентов в процессе выполнения моторной задачи в режиме БОС, а, с другой – разработать методические приемы, позволяющие судить о результатах воздействия. Актуальной задачей является установление оптимальных режимов моторного обучения с учетом взаимосвязи эффективности выполнения и представления моторной задачи в режиме БОС-управления верхней конечностью с общим объемом и режимом двигательной нагрузки.

Поддержано Грантом Государственного совета Республики Крым для молодых ученых на 2019 год. Руководитель Бирюкова Е. А

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

Список литературы

1. Daly J. J. Construction of efficacious gait and upper limb functional interventions based on brain plasticity evidence and model-based measures for stroke patients / J. J. Daly, R. L. Ruff // Scientific World Journal. – 2007. – Vol. 7. – P. 2031–2045.
2. Черникова Л. А. Пластичность мозга и современные реабилитационные технологии / Л. А. Черникова // Анналы клинической и экспериментальной неврологии. – 2007. – Т. 1, № 2. – С. 40–47.
3. Bach Y. Theoretical and practical considerations in the restoration of function after stroke / Y. Bach, P. Rita // Top Stroke Rehabilitation. – 2001. – Vol. 8, No 3. – P. 1–15.

4. Королев А. А. Нейрореабилитация: современные технологии восстановительного лечения постинсультной спастичности / А. А. Королев, Г. А.Суслова // Фундаментальные исследования. – 2012. – Вып. 7, часть 2. – С. 344–349.
5. Frolov A. A. Post-stroke Rehabilitation Training with a Motor-Imagery-Based Brain-Computer Interface (BCI)-Controlled Hand Exoskeleton: A Randomized Controlled Multicenter Trial / A. A. Frolov, O. Mokienko, R. Lyukmanov, E. Biryukova, S. Kotov, L.Turbina, G. Nadareyshvily, Y. Bushkova // Frontiers in Neuroscience. – 2017. – Vol. 11, No 400. – Published online.2017 Jul 20. doi: 10.3389/fnins.2017.00400
6. Фролов А. А. Принципы нейрореабилитации, основанные на использовании интерфейса “Мозг-компьютер” и биологически адекватного управления экзоскелетоном / А. А. Фролов, Е. В. Бирюкова, П. Д. Бобров, О. А. Мокиенко, А. К. Платонов, В. Е. Пряничников, Л. А. Черникова // Физиология человека. – 2013. – Т. 39, No 2. – С. 99–113.
7. Netz J. Reorganization of motor output in the non affected hemisphere after stroke / J. Netz, T. Lammers, V. Homberg // Brain. – 1997. – Vol. 120. – P.1579.
8. Platz T. Multimidal EEG analysis in man suggests impairment_specific changes in movement_related electric brain activity after stroke / T. Platz, I.H. Kim, H. Pintschovius [et al.] // Brain. – 2000. – Vol. 123. – P. 2475.
9. Cramer S. C. Functional imaging in stroke recovery / S.C. Cramer // Stroke. – 2004. – Vol. 35. – P. 2695/
10. Ward N. S. Mechanisms underlying recovery of motor function after stroke / N. S. Ward, L. G. Cohen // Archives of Neurology. – 2004. – Vol. 61. – P. 1844.
11. Кондур А. А. Эффективность использования нейроинтерфейса в восстановлении двигательной функции руки после инсульта: дис. на соискание ученой степени канд.мед. наук: спец. 14.01.11 «Нервные болезни». / Кондур А. А. – Москва, 2017. – 185 с.
12. Ang K. K. Clinical study of neurorehabilitation in stroken using EEG-based motor imagery brain-computer interface with robotic feedback / K. K. Ang, C. Guan, K. S. Chua, [et al.] // IEEE Engineering in Medicine and Biology Society. – 2010. – P. 49–52.
13. Daly J. J. Feasibility of a new application of noninvasive brain computer interface (BCI): a case study of training for recovery of volitional motor control after stroke / J. J. Day, R. Cheng, J. Rogers, K. Litinas, K. Hrovat, M. Dohring // Journal of Neurologic Physical Therapy. – 2014. – Vol. 33. – P. 203–211.
14. Frolov A. Post-stroke Rehabilitation Training with a Motor- Imagery-Based Brain-Computer Interface (BCI)-Controlled Hand Exoskeleton: A Randomized Controlled Multicenter Trial / A. Frolov, O. Mokienko, R. Lukmanov, E. Biryukova, S. Kotov, L. Turbina, G. Nadareshviyly, Y. Bushkova // Frontiers in neuroscience. – 2017. – Vol.11., No 400. – P. 1–11.
15. Shindo K. Effects of neurofeedback training with an electroencephalogram-based brain-computer interface for hand paralysis in patients with chronic stroke: a preliminary case series study / K. Shindo, K. Kawashima, J. Ushiba, N. Oto, M. Ito, T. Oto, A. Kimura, M. Liu // Journal of Rehabilitation Medicine. – 2011. – Vol. 43, No10. – P. 951–957.
16. Prasad G. Applying a brain-computer interface to support motor imagery practice in people with stroke for upper limb recovery: a feasibility study / G. Prasad, P. Herman [et al.] // Journal of NeuroEngineering and Rehabilitation. – 2010. – Vol. 7, No 1. – P. 60–68.
17. Buch E. Think to move: a neuromagnetic brain–computer interface (BCI) system for chronic stroke / E. Buch, C. Weber, L.G. Cohen, C. Braun, M.A. Dimyan, T. Ard, J. Mellinger, A. Caria, S.R. Soekadar, A. Fourkas, N. Birbaumer // Stroke. – 2008. – Vol. 39. – P. 910–917.
18. Frolov A. Sources of EEG activity Stroke the most relevant to performance of brain-computer interface based on motor imagery / A. Frolov, D. Husek, P. Bobrov [et. al.] // Neural Network World. – 2012. – Vol. 22, No 1. – P. 21.
19. Resquín F. Adaptive hybrid robotic system for rehabilitation of reaching movement after a brain injury: a usability study / F. Resquín, J. Gonzalez-Vargas, J. Ibáñez, F. Brunetti, I. Dimbwadyo, L. Carrasco, S. Alves, C. Gonzalez-Alted, A. Gomez-Blanco, J. L. Pons // Journal of NeuroEngineering and Rehabilitation. – 2017. – Vol.14, No 1. – P. 104. doi: 10.1186/s12984-017-0312-4.
20. Planelles D. Evaluating classifiers to detect arm movement intention from EEG signals / D. Planelles, E. Hortal, A. Costa, A. Ubeda, E. Iáez, J. M. Azorín // Sensors (Basel). – 2014. – Vol.14., No 10. – P. 18172. doi: 10.3390/s141018172

21. Paek A. Y. Reconstructing surface EMG from scalp EEG during myoelectric control of a closed looped prosthetic device / A. Y. Paek, J. D. Brown, R. B. Gillespie, M. K. O'Malley, P. A. Shewokis, J. L. Contreras-Vidal // Conference proceedings - IEEE engineering in medicine and biology society. – 2013. doi: 10.1109/EMBC.2013.6610820.
22. Yue Z. Hand Rehabilitation Robotics on Poststroke Motor Recovery / Z. Yue, X. Zhang, J. Wang // Behavioural Neurology. – 2017. doi: 10.1155/2017/3908135.
23. Reinkensmeyer D. J. Understanding and treating arm movement impairment after chronic brain injury: progress with the ARM guide / D. J. Reinkensmeyer, L. E. Kahn, M. Averbuch [et al.] // The Journal of Rehabilitation Research and Development. – 2000. – Vol. 37, No 6. – P. 653.
24. Lum P. S. Robot_assisted movement training compared with conventional therapy techniques for the rehabilitation of upper_limb motor function after stroke / P. S. Lum, C. G. Burgar, P. C. Shor [et al.] // Archives of physical medicine and rehabilitation. – 2002. – Vol. 83, No 7. – P. 952.
25. Hingtgen B. An upper extremity kinematic model for evaluation of hemiparetic stroke / B. Hingtgen, J. R. McGuire, M. Wang, G. F. Harris // Journal of Biomechanics. – 2006. – Vol. 39, No4. – P. 681.
26. Masiero S. Robotic_assisted rehabilitation of the upper limb after acute stroke / S. Masiero, A. Celia, G. Rosati, M. Armani // Archives of physical medicine and rehabilitation. – 2007. – Vol. 88, No 2. – P. 142.
27. Amirabdollahian F. Multivariate analysis of the Fugl_Meyer outcome measures assessing the effectiveness of the GENTLE/S robotmediated stroke therapy / F. Amirabdollahian, R. Loureiro, E. Gradwell [et al.] // Journal of NeuroEngineering and Rehabilitation. – 2007. – Vol. 4. – P. 4. doi:10.1186/1743 0003_4_4.
28. Iwamuro B. T. Effect of agravity_compensating orthosis on reaching after stroke: evaluation of the therapy assistant WREX / B. T. Iwamuro, E. G. Cruz, L. L. Connelly [et al.] // Archives of physical medicine and rehabilitation. – 2008. – Vol. 89. – P. 2121.
29. Динамика восстановления у пациентов с постинсультными двигательными нарушениями при повторных курсах нейрореабилитации с экзосклетом кисти, управляемого интерфейсом «мозг–компьютер» / С. В. Котов, Е. В. Бирюкова, Л. Г. Турбина, А. А. Кондур, Е. В. Зайцева // Журнал высшей нервной деятельности им. И.П. Павлова. –2017. – Т. 67 (4). – С. 445–52.
30. Burssens A. Influence of wrist position on maximum grip force in a post-operative orthosis / A. Burssens, N. Schelpe, J. Vanhaecke, M. Dezillie, F. Stockmans // Prosthet Orthot. – 2017. – Vol. 41, No 1. – P.78–84. doi: 10.1177/0309364615605395. Epub 2016 Jul 10.
31. Wang Z. R. Motion-based virtual reality training for improving motor functional recovery of upper limbs and neural reorganization in subacute stroke patients / Z. R. Wang, P. Wang, L. Xing, L. P. Mei, J. Zhao, T. Zhang // Neural Regeneration Research. – 2017. – Vol. 12, No 11. – P. 1823–1831. doi: 10.4103/1673-5374.219043.
32. Sadarangani P. G. Force Myography for Monitoring Grasping in Individuals with Stroke with Mild to Moderate Upper-Extremity Impairments: A Preliminary Investigation in a Controlled Environment / P. G. Sadarangani, X. Jiang, L. A. Simpson, J. J. Eng, C. Menon // Frontiers in bioengineering and biotechnology. – 2017. – No 5. – P. 42. – Published online, 2017, Jul 27. doi: 10.3389/fbioe.2017.00042.
33. Jack D. Virtual reality enhanced stroke rehabilitation / D. Jack, R. Boian, A. S Merians [et al.] // IEEE Transactions of Neural Systems Rehabilitation Engineering. – 2001. – Vol. 9. – P. 308.
34. Holden M. K. Virtual environment based telerehabilitation in patients with stroke / M. K. Holden, T. A. Dyar, L. Schwamm, E. Bizzi // Presence: Teleoperations and Virtual Environments. – 2005. – Vol. 14. – P. 214.
35. Takahashi C. D. Robotbased hand motor therapy after stroke / C. D. Takahashi, L. Der-Yeghianian, V. Le [et al.] // Brain. – 2008. – Vol. 131. – P. 425–437.
36. Volpe B. T. Robotic devices as therapeutic and diagnostic tools for stroke recovery / B. T. Volpe, P. T. Huerta, J. L. Zipse [et al.] // A. M. A. archives of neurology. – 2009. – Vol. 66. – P. 1086.
37. Decety J. Mentally simulated movements in virtual reality: does Fitts's law hold in motor imagery? / J. Decety, M. Jeannerod // Behavioural Brain Research. – 1995. – Vol. 72. – P. 127
38. Berthoz A. The role of inhibition in the hierarchical gating of executed and imagined movements / A. Berthoz // Cognitive Brain Research. – 1996. – Vol. 3. – P. 101
39. Lotze M. Motor imagery / M. Lotze, U. Halsband // The Journal of Physiology. – 2006. –Vol. 99. – P. 386

40. Пирадов М. А. Пластичность мозга и современные технологии нейрореабилитации / М. А. Пирадов, Л. А. Черникова, Н. А Супонева // Вестник Российской Академии Наук. – 2018. – Т. 88, №4. – С. 299–312.
41. Johnson R. E. EMG versus torque control of human-machine systems: equalizing control signal variability does not equalize error or uncertainty / R. E. Johnson, K. P. Kording, L. J. Hargrove, J. W. Sensinger // IEEE transactions on neural systems and rehabilitation engineering. – 2017. –Vol. 25, No 6. – P. 660–667. doi: 10.1109/TNSRE.2016.2598095. Epub 2016 Aug 25.
42. Xiao Z. G. Towards the development of a wearable feedback system for monitoring the activities of the upper-extremities / Z. G Xiao, C. Menon // Journal of Neuro Engineering and Rehabilitation. – 2014. – Vol. 11, No 2. – P. 654.
43. Sadarangani G. P. Force Myography for Monitoring Grasping in Individuals with Stroke with Mild to Moderate Upper-Extremity Impairments: A Preliminary Investigation in a Controlled Environment / G. P. Sadarangani, X. Jiang, L. A. Simpson, J. J. Eng, C. Menon // Frontiers in bioengineering and biotechnology. – 2017. – Vol. 5. – No 42. – Published online, 2017 Jul 27. doi: 10.3389/fbioe.2017.00042.
44. Информационная система биологической обратной связи по электромиографическому каналу с использованием очков дополненной реальности / Я. А. Туровский, Я. В. Арефьев, А. В. Алексеев, Ю. А. Ипполитов // Journal of new medical technologies. – 2017. – V. 24, № 2. – P. 147–151. doi: 10.12737artide_5947d3f44242c4.01994237
45. Tactile feedback is an effective instrument for the training of grasping with a prosthesis at low- and medium-force levels / A. M. De Nunzio, S. Dosen, S. Lemling, M. Markovic, M. A. Schweisfurth, N. Ge, B. Graimann, D. Falla, D.Farina // Exp Brain Res. 2017 Aug; 235(8):2547-2559. doi: 10.1007/s00221-017-4991-7. Epub 2017 May 26.
46. Lüdemann-Podubecká J. Repetitive transcranial magnetic stimulation for motor recovery of the upper limbafter stroke. Neural correlates of motor recovery after stroke / Lüdemann-Podubecká J., Bösl K., Nowak D. A. // Prog. Brain Res. – 2015. – № 218. – P. 281–311.
47. On the relations between the direction of two_dimensional (2D) arm movements and cell discharge in primate motor cortex / A. P. Georgopoulos, J. F. Kalaska, M. D. Crutcher [et al.] // J. Neurosci. – 1982. – V. 2. – P. 1527.
48. Lebedev M. A. Brain_machine interfaces: past, present and future / M. A. Lebedev, M. A. L. Nicolelis // Trends in Neurosciences. – 2006. – V. 29, № 9. – P. 536.
49. Sutton S. Evoked correlates of stimulus uncertainty / S. Sutton, M. Braren, J. Zubin, E.R. John // Science. – 1965. – V. 150. – P. 1187.
50. Donchin E.The contingent negative variation and the late positive wave of the average evoked potential / E. Donchin, D.B. Smith // EEG and Clin. Neurophysiol. – 1970. – V. 29. – P. 201.
51. Adaptive brain interfaces for physically_disabled people / J.del R. Millan, J. Mourino, M.G. Marciani [et al.] // 2nd Annual Int. Conf. of the IEEE Engineering in Medicine and Biology Science. Hong Kong. – 1998. – P. 2008.
52. Котов С.В. Реабилитационный потенциал постинсультных больных, обучающихся кинестетическому воображению движения – двигательный и когнитивный аспекты / Котов С.В., Турбина Л.Г., Бирюкова Е.В., Фролов А.А., Кондур А.А., Зайцева Е.В., Бобров П.Д. // Физиология человека – 2017. – Т.43 – С. 52–62.
53. Pfurtscheller G. Patterns of cortical activation during planning of voluntary movement / G. Pfurtscheller, A. Berghold // EEG and Clin. Neurophysiol. – 1989. – V. 72. – P. 250.
54. Pfurtscheller G. Event-related EEG/MEG synchronization and desynchronization: basic principles / G. Pfurtscheller, F. H. Lopes da Silva // Clin. Neurophysiol. – 1999. – V. 110. – P. 1842–57.
55. Jeannerod M. Neural simulation of action: a unifying mechanism for motor cognition / Jeannerod M. // Neuroimage. – 2001. – V. 14. – P. 103.
56. Иваницкий Г.А. Распознавание типа решаемой в уме задачи по нескольким секундам ЭЭГ с помощью обучаемого классификатора / Иваницкий Г. А. // Журн. высш. нерв. деятельности. – 1997. – Т. 47. – С. 743.
57. Николаев А. Р. Воспроизводящиеся паттерны альфа-ритма ЭЭГ при решении психологических задач / А. Р. Николаев, Г. А. Иваницкий, А. М. Иваницкий // Физиология человека. – 1998. – Т. 24, № 3. – С. 5.

58. Применение методов пневмографии и стабилометрии в диагностике и коррекции функционального состояния спортсмена в стрелковом спорте / Р. Н. Салихова, М. Б. Коликов, Д. А. Напалков, П. О Ратманова, В. В. Шиян // Теория и практика прикладных и экстремальных видов спорта. – 2012. – № 2. – С. 37–40.
59. Сафронова Н.С. Эффективность тренинга с биоуправлением в совершенствовании координационных способностей студенток занимающихся бадминтоном / Н.С. Сафронова, Е.И. Нагаева, П.С. Сафронова // Ученые записки Крымского федерального университета имени В.И. Вернадского. Серия Биология. Химия. – 2018. –Т. 4(70), No 3. – С. 163–173.
60. Гроховский С. С. К вопросу о "дозе" двигательной реабилитации после инсульта: обзор / С. С. Гроховский, О. В. Кубряк // Физиотерапия, бальнеология и реабилитация. – 2018. – Т. 17, № 2.– С. 66–71.
61. Peters D.M. Counting repetitions: an observational study of video game play in people with chronic poststroke hemiparesis. / Peters D.M., McPherson A.K., Fletcher B., McClenaghan B.A., Fritz S.L. // J. Neurol. Phys. Ther. – 2013. – 37(3). – P. 105–11.
62. Фещенко В.С. Постуральные нарушения у спортсменов высокой квалификации. Принципы диагностики и коррекции : автореф. дис. ... канд. мед. наук : 14.03.11 / Фещенко В.С. – М., 2013. –27 с.
63. Шишкина Е.С. Динамика устойчивости у больных в раннем восстановительном периоде ишемического инсульта в процессе тренировки на стабилометрической платформе : автореф. дис.... канд. мед. наук : 14.01.11 / Шишкина Е.С. – Пермь, 2014. –22 с.
64. Муравьева Н.В. Диагностика и коррекция постуральных нарушений у пациентов с гемигипоплазией : автореф. дис. ... канд. мед. наук : 14.03.11. / Муравьева Н.В. –М., 2015. –24 с.
65. Lloréns R. Effectiveness, usability, and cost-benefit of a virtual reality-based telerehabilitation program for balance recovery after stroke: a randomized controlled trial. / Lloréns R., Noé E., Colomer C., Alcañiz M. // Arch. Phys. Med. Rehabil. – 2015. – 96(3). – P. 418–25.
66. Peters D.M. Counting repetitions: an observational study of video game play in people with chronic poststroke hemiparesis. / Peters D.M., McPherson A.K., Fletcher B., McClenaghan B.A., Fritz S.L. // J. Neurol. Phys. Ther. – 2013. – 37(3). – P. 105–11.
67. Lang C.E. Dose and timing in neurorehabilitation: prescribing motor therapy after stroke. / Lang C.E., Lohse K.R., Birkenmeier R.L. // Curr. Opin. Neurol. – 2015. – 28(6). – P. 549–55.

UPPER LIMBS DISORDERS PATIENTS MOTOR REHABILITATION: OF THE MODERN STUDIES ANALYSIS (REVIEW)

Chuyan E. N.[1], Birukova E. A.[1], Babanov N. D.[2]

V. I. Vernadsky Crimean Federal University, Simferopol, Crimea, Russia
Anokhin Institute of Normal Physiology, Moscow, Russia
E-mail: biotema@mail.ru

The article was devoted analysis of the current state of motor research rehabilitation of patients with impaired motility of the upper limbs.

The large number of modern publications dedicated to the restoration of motor functions by stimulating natural mechanisms of brain plasticity indicative of advanced character research data aimed at development New technologies and methods of medical rehabilitation patients with neurological disorders including motility disorders of the upper limbs It should also be noted that most of the works on this issue has a pronounced applied character descriptions of patient rehabilitation activities with movement disorders and basic research is dedicated to identifying system mechanisms biocontrol movement in biofeedback mode not enough yet. Consequently, we are faced with a typical scientific

situation when the practical application of new ideas is ahead of the understanding of the mechanisms actions of new methods and technologies underlying them. At the same time in the scientific literature note two main aspects: the positive effect use of robotic systems with PE in practice post-stroke rehabilitation and the second one, which is that progress in developing more advanced systems and technologies for their application rests on lack of understanding of the principles of motion control by the CNS what may sometimes raise doubts about the effectiveness of these technologies. There is not enough clarity on the question of what particular neural mechanisms and under what conditions (including under what mode the inclusion of limbs) better achieved the goal of motor rehabilitation. Research effort requires and justification of the motor mode ways to control procedures, refine and select reliable markers of patient conditions. The urgent task is to establish the optimal modes motor learning, taking into account the relationship of performance and performance motor tasks in the mode of Biofeedback mode-control of the upper limb with the total volume and mode of the motor load.

Obviously, to solve these and other problems it is necessary, on the one hand, to significantly expand the number of parametres characterizing the functional state subjects or patients in the process of performing a motor task in biofeedback mode, and, on the other hand, to develop methodological techniques allowing to judge the impact.

***Keywords*:** movement biocontrol, biofeedback, motor load, stabilometry, motor learning, functional state, neurocomputer interface, neurorehabilitation, robotics.

Supported by Grant of the State Council of the Republic of Crimea for young scientists for 2019. Head Birukova E.A.

References

1. Daly J. J., Ruff R. L. Construction of efficacious gait and upper limb functional interventions based on brain plasticity evidence and model-based measures for stroke patients, *Scientific World Journal*, **7**, 2031 (2007).
2. Chernikova L. A. Brain plasticity and modern rehabilitation technologies, *Annals of Clinical and Experimental Neurology*, **1, 2**, 40 (2007).
3. Bach Y., Rita P. Theoretical and practical considerations in the restoration of function after stroke, *Top Stroke Rehabilitation*, **8, 3**, 1 (2001).
4. Korolev A. A., Suslova G. A. Neurorehabilitation: modern technologies of restorative treatment of post-stroke spasticity, *Fundamental'nyye issledovaniya*, **7, 2,** 344 (2012).
5. Frolov A. A., Mokienko O., Lyukmanov R., Biryukova E., Kotov S., Turbina L., Nadareyshvily G., Bushkova Y. Post-stroke Rehabilitation Training with a Motor-Imagery-Based Brain-Computer Interface (BCI)-Controlled Hand Exoskeleton: A Randomized Controlled Multicenter Trial, *Frontiers in Neuroscience*, **11, 400**. (2017) – Published online.2017 Jul 20. doi: 10.3389/fnins.2017.00400
6. Frolov A. A. Biryukova E. V., Bobrov P. D., Mokienko O. A., Platonov A. K., Pryanichnikov V.E., Chernikova L. A. Principles of neurorehabilitation based on the use of the brain-computer interface and biologically adequate control of exoskeleton, *Human Physiology*, **39**, **2**, 99 (2013).
7. Netz J., Lammers T., Homberg V. Reorganization of motor output in the non affected hemisphere after stroke, *Brain*, **120,** 1579 (1997).
8. Platz T., Kim I.H., Pintschovius H. [et al.] Multimidal EEG analysis in man suggests impairment specific changes in movement related electric brain activity after stroke, Brain, **123**, 2475 (2002).
9. Cramer S.C. Functional imaging in stroke recovery, *Stroke*, **35,** 2695 (2004).
10. Ward N. S., Cohen L. G. Mechanisms underlying recovery of motor function after stroke, Archives of Neurology, **61,** 1844 (2004).

11. Kondur A. A. *Efficiency of using neurointerface in restoring the motor function of a hand after a stroke*: dis. for the degree of Cand.med. Sciences: spec. 01.11 "Nervous diseases", 185 p. (Moscow, 2017).
12. Ang K. K., Guan C., Chua K. S., [et al.] Clinical study of neurorehabilitation in stroken using EEG-based motor imagery brain-computer interface with robotic feedback, *IEEE Engineering in Medicine and Biology Society*, 49 (2010).
13. Daly J. J., Cheng R., Rogers J., Litinas K., Hrovat K., Dohring M. Feasibility of a new application of noninvasive brain computer interface (BCI): a case study of training for recovery of volitional motor control after stroke, *Journal of Neurologic Physical Therapy*, **33,** 203 (2014).
14. Frolov A., Mokienko O., Lukmanov R., Biruykova E., Kotov S., Turbina L., Nadareshviyly G., Bushkova Y. Post-stroke Rehabilitation Training with a Motor- Imagery-Based Brain-Computer Interface (BCI)-Controlled Hand Exoskeleton: A Randomized Controlled Multicenter Trial, *Frontiers in neuroscience*, **11, 400**, 1 (2017).
15. Shindo K., Kawashima K., Ushiba J., Oto N., Ito M., Oto T., Kimura A., Liu M. Effects of neurofeedback training with an electroencephalogram-based brain-computer interface for hand paralysis in patients with chronic stroke: a preliminary case series study, *Journal of Rehabilitation Medicine*, **43, 10**, 951 (2011).
16. Prasad G., Herman P. [et al.] Applying a brain-computer interface to support motor imagery practice in people with stroke for upper limb recovery: a feasibility study, *Journal of NeuroEngineering and Rehabilitation*, **7, 1**, 60 (2010).
17. Buch E., Weber C., Cohen L.G., Braun C., Dimyan M.A., Ard T., Mellinger J., Caria A., Soekadar S.R., Fourkas A., Birbaumer N. Think to move: a neuromagnetic brain–computer interface (BCI) system for chronic stroke, *Stroke*, **39,** 910 (2008).
18. Frolov A., Husek D., Bobrov P. [et. al.] Sources of EEG activity Stroke the most relevant to performance of brain-computer interface based on motor imagery, *Neural Network World*, **22, 1**, 21 (2012).
19. Resquín F., Gonzalez-Vargas J., Ibáñez J., Brunetti F., Dimbwadyo I., Carrasco L., Alves S., Gonzalez-Alted C., Gomez-Blanco A., Pons J.L. Adaptive hybrid robotic system for rehabilitation of reaching movement after a brain injury: a usability study, *Journal of NeuroEngineering and Rehabilitation*, **14, 1**, 104 (2017). doi: 10.1186/s12984-017-0312-4.
20. Planelles D., Hortal E., Costa A., Ubeda A., Iáez E., Azorín J. M. Evaluating classifiers to detect arm movement intention from EEG signals, *Sensors (Basel),* **14, 10**, 18172 (2014). doi: 10.3390/s141018172
21. Paek A. Y., Brown J. D., Gillespie R. B., O'Malley M. K., Shewokis P. A., Contreras-Vidal J. L. Reconstructing surface EMG from scalp EEG during myoelectric control of a closed looped prosthetic device, *Conference proceedings – IEEE engineering in medicine and biology society,* (2013). doi: 10.1109/EMBC.2013.6610820.
22. Yue Z., Zhang X., Wang J. Hand Rehabilitation Robotics on Poststroke Motor Recovery, *Behavioural Neurology*, (2017). doi: 10.1155/2017/3908135.
23. Reinkensmeyer D. J., Kahn L. E., Averbuch M. [et al.] Understanding and treating arm movement impairment after chronic brain injury: progress with the ARM guide, *The Journal of Rehabilitation Research and Development*, **37, 6**, 653 (2000).
24. Lum P. S., Burgar C. G., Shor P. C. [et al.] Robot assisted movement training compared with conventional therapy techniques for the rehabilitation of upper limb motor function after stroke, *Archives of physical medicine and rehabilitation*, **83, 7**, 952 (2002).
25. Hingtgen B., McGuire J. R., Wang M., Harris G. F. An upper extremity kinematic model for evaluation of hemiparetic stroke, *Journal of Biomechanics*, **39, 4**, 681 (2006).
26. Masiero S., Celia A., Rosati G., Armani M. Robotic assisted rehabilitation of the upper limb after acute stroke, *Archives of physical medicine and rehabilitation*, **88, 2**, 142 (2007).
27. Amirabdollahian F., Loureiro R., Gradwell E. [et al.] Multivariate analysis of the Fugl Meyer outcome measures assessing the effectiveness of the GENTLE/S robotmediated stroke therapy, *Journal of NeuroEngineering and Rehabilitation*, **4,** 4. (2007). doi:10.1186/1743 0003
28. Iwamuro B., T. Cruz E. G., Connelly L. L. [et al.] Effect of agravity compensating orthosis on reaching after stroke: evaluation of the therapy assistant WREX, *Archives of physical medicine and rehabilitation*, **89,** 2121 (2008).
29. Kotov S. V., Biryukova E. V., Turbina L. G., Kondur A. A., Zaitseva E. V. Dynamics of recovery in patients with post-stroke motor disorders during repeated courses of neurorehabilitation with a brush

exosclet controlled by a brain-computer interface, *I.P. Pavlov Journal of Higher Nervous Activity,* **67 (4),** 445 (2017).
30. Burssens A. Schelpe N., Vanhaecke J., Dezillie M., Stockmans F., Influence of wrist position on maximum grip force in a post-operative orthosis, *Prosthet Orthot*., **41, 1**, 78. doi: 10.1177/0309364615605395. Epub 2016 Jul 10 (2017).
31. Wang Z. R., Wang P., Xing L., Mei L. P., Zhao J., Zhang T. Motion-based virtual reality training for improving motor functional recovery of upper limbs and neural reorganization in subacute stroke patients, *Neural Regeneration Research*., **12, 11**, 1823, doi: 10.4103/1673-5374.219043. (2017).
32. Sadarangani P., Jiang G. X., Simpson L. A., Eng J. J., Menon C. Force Myography for Monitoring Grasping in Individuals with Stroke with Mild to Moderate Upper-Extremity Impairments: A Preliminary Investigation in a Controlled Environment, *Frontiers in bioengineering and biotechnology*, **5,** 42. – Published online, 2017, Jul 27. (2017). doi: 10.3389/fbioe.2017.00042.
33. Jack D., Boian R., Merians A. S [et al.] Virtual reality enhanced stroke rehabilitation, *IEEE Transactions of Neural Systems Rehabilitation Engineering*, **9**, 308 (2001).
34. Holden M. K., Dyar T. A., Schwamm L., Bizzi E.Virtual environment based telerehabilitation in patients with stroke, *Presence: Teleoperations and Virtual Environments,* **14**, 214 (2005).
35. Takahashi C. D. Der-Yeghianian L., Le V. [et al.] Robotbased hand motor therapy after stroke, *Brain*, **131**, 435 (2008).
36. Volpe B. T., Huerta P. T., Zipse J. L. [et al.] Robotic devices as therapeutic and diagnostic tools for stroke recovery, *A. M. A. archives of neurology*, **66,** 1086 (2009).
37. Decety J., Jeannerod M. Mentally simulated movements in virtual reality: does Fitts's law hold in motor imagery? *Behavioural Brain Research*, **72**, 127 (1995).
38. Berthoz A. The role of inhibition in the hierarchical gating of executed and imagined movements, *Cognitive Brain Research*., **3,** 101 (1996).
39. Lotze M., Halsband U. Motor imagery, *The Journal of Physiology*, **99**, 386 (2006)
40. Piradov M. A., Chernikova L. A., Suponeva N. A Brain plasticity and modern technologies of neurorehabilitation, *Herald of the Russian Academy of Sciences,* **88**, **4,** 299 (2018).
41. Johnson R. E., Kording K. P., Hargrove L. J., Sensinger J. W. EMG versus torque control of human-machine systems: equalizing control signal variability does not equalize error or uncertainty, *IEEE transactions on neural systems and rehabilitation engineering,* **25**, **6,** 660 (2017). doi: 10.1109/TNSRE.2016.2598095. Epub 2016 Aug 25.
42. Xiao Z. G., Menon C. Towards the development of a wearable feedback system for monitoring the activities of the upper-extremities, *Journal of Neuro Engineering and Rehabilitation*, **11**, **2**, 654 (2014).
43. Sadarangani G. P., Jiang X., Simpson L. A., Eng J. J., Menon C. Force Myography for Monitoring Grasping in Individuals with Stroke with Mild to Moderate Upper-Extremity Impairments: A Preliminary Investigation in a Controlled Environment, *Frontiers in bioengineering and biotechnology*, **5**, **42**. (2017). Published online, 2017 Jul 27. doi: 10.3389/fbioe.2017.00042.
44. Turovsky Ya. A., Arefyev Ya. V., Alekseev A. V., Ippolitov Yu. A. Biological feedback information system for the electromyographic channel using augmented reality glasses, *Journal of new medical technologies*, **24, 2,** 147 (2017). doi: 12737artide_5947d3f44242c4.01994237
45. De Nunzio A. M., Dosen S., Lemling S., Markovic M., Schweisfurth M. A., Ge N., Graimann B., Falla D., Farina D., Tactile feedback is an effective instrument for the training of grasping with a prosthesis at low- and medium-force levels, *Exp Brain Res*., **235(8),** 2547 (2017). doi: 10.1007/s00221-017-4991-7. Epub 2017 May 26.
46. Lüdemann-Podubecká J., Bösl K., Nowak D. A. Repetitive transcranial magnetic stimulation for motor recovery of the upper limbafter stroke. Neural correlates of motor recovery after stroke, *Prog. Brain Res*., **218,** 281 (2015).
47. Georgopoulos A. P., Kalaska J. F., Crutcher M. D. [et al.] On the relations between the direction of two dimensional (2D) arm movements and cell discharge in primate motor cortex, *J. Neurosci*., **2**, 1527 (1982).
48. Lebedev M. A., Nicolelis M. A. L. Brain machine interfaces: past, present and future, *Trends in Neurosciences*, **29, 9**, 536 (2006).
49. Sutton S., Braren M., Zubin J., John E.R. Evoked correlates of stimulus uncertainty, *Science*, **150,** 1187 (1965).

50. Donchin E., Smith D.B., The contingent negative variation and the late positive wave of the average evoked potential, *EEG and Clin. Neurophysiol*., **29,** 201 (1970).
51. Millan J.del R., Mourino J., Marciani M.G. [et al.] Adaptive brain interfaces for physically disabled people, *2nd Annual Int. Conf. of the IEEE Engineering in Medicine and Biology Science. Hong Kong*, 2008 (1998).
52. Kotov S.V., Turbina L.G., Biryukova E.V., Frolov A.A., Kondur A.A., Zaytseva E.V., Bobrov P.D. The rehabilitation potential of post-stroke patients studying the kinesthetic movement imagination – motor and cognitive aspects, *Human Physiology*, **43,** 52 (2017).
53. Pfurtscheller G., Berghold A. Patterns of cortical activation during planning of voluntary movement, *EEG and Clin. Neurophysiol*., **72,** 250 (1989).
54. Pfurtscheller G., Lopes da Silva F. H. Event-related EEG/MEG synchronization and desynchronization: basic principles, *Clin. Neurophysiol*., **110**, 1842 (1999).
55. Jeannerod M. Neural simulation of action: a unifying mechanism for motor cognition, *Neuroimage*, **14**, 103 (2001).
56. Ivanitsky G.A. Recognition of the type of a problem to be solved in the mind for several seconds of an EEG using a trained classifier, *Neuroscience and Behavioral Physiology*, **47,** 743 (1997).
57. Nikolaev A. R., Ivanitsky G. A., Ivanitsky A. M. Recognition of the type of a problem to be solved in the mind for several seconds of an EEG using a trained classifier, *Human Physiology,* **24, 3,** 5 (1998).
58. Salikhova R. N., Kolikov M. B., Napalkov D. A., Ratmanova P. O., Shiyan V. V., The use of methods of pneumography and stabilometry in the diagnosis and correction of the functional state of an athlete in shooting sports, *Theory and practice of applied and extreme kinds of sport*, **2**, 37 (2012).
59. Safronova N.S., Nagaeva E.I., Safronova P.S. The effectiveness of training with biocontrol in improving the coordination abilities of female students involved in badminton, *Scientific Notes of V.I. Vernadsky Crimean Federal University. Biology. Chemistry*, **4(70), 3**, 163 (2018).
60. Grokhovsky S.S., Kubryak O.V. To the question of the "dose" of motor rehabilitation after a stroke: a review, *Russian Journal of the Physial Therapy, Balneotherapy and Rehabillitation,* **17, 2**, 66 (2018).
61. Peters D.M., McPherson A.K., Fletcher B., McClenaghan B.A., Fritz S.L. Counting repetitions: an observational study of video game play in people with chronic poststroke hemiparesis. *J. Neurol. Phys. Ther*., **37(3),** 105 (2013).
62. Feschenko V.S. Postural'nyye narusheniya u sportsmenov vysokoy kvalifikatsii. Printsipy diagnostiki i korrektsii : avtoref. dis. kand. med. Nauk [Postural disorders in athletes of high qualification. Principles of diagnosis and correction. Dissertation of the candidate of medical sciences]: 14.03.11. – 27 p. (M., 2013).
63. Shishkina E.S. Dinamika ustoychivosti u bol'nykh v rannem vosstanovitel'nom periode ishemicheskogo insul'ta v protsesse trenirovki na stabilometricheskoy platforme [Dynamics of resistance in patients in the early recovery period of ischemic stroke in the process of training on a stabilometric platform. Dissertation of the candidate of medical sciences] 14.01.11 – 22 p. (Perm, 2014).
64. Muravyova N.V. Diagnostika i korrektsiya postural'nykh narusheniy u patsiyentov s gemigipoplaziyey [Diagnosis and correction of postural disorders in patients with hemihypoplasia. Dissertation of the candidate of medical sciences] : 14.03.11. – 24 p. (M., 2015).
65. Lloréns R., Noé E., Colomer C., Alcañiz M. Effectiveness, usability, and cost-benefit of a virtual reality-based telerehabilitation program for balance recovery after stroke: a randomized controlled trial. *Arch. Phys. Med. Rehabil*., **96(3),** 418 (2015).
66. Peters D.M., McPherson A.K., Fletcher B., McClenaghan B.A., Fritz S.L. Counting repetitions: an observational study of video game play in people with chronic poststroke hemiparesis. *J. Neurol. Phys. Ther*., **37(3),** 105 (2013).
67. Lang C.E., Lohse K.R., Birkenmeier R.L. Dose and timing in neurorehabilitation: prescribing motor therapy after stroke. *Curr. Opin. Neurol*., **28(6)**, 549 (2015).

Ученые записки Крымского федерального университета имени В. И. Вернадского
Биология. Химия. Том 5 (71). 2019. № 1. С. 179–192.

УДК 57.084.1

ПОКАЗАТЕЛИ КАРДИОРЕСПИРАТОРНОЙ СИСТЕМЫ КРЫС ПРИ ДЕЙСТВИИ 1-ГИДРОКСИЭТАН-1,1-ДИФОСФОНОВОЙ КИСЛОТЫ

Чуян Е. Н., Раваева М. Ю., Придатко А. И., Черетаев И. В., Шульгин В. Ф.

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

Проведено исследование изменений показателей кардиореспираторной системы крыс при действии дифосфона, или 1-гидроксиэтан-1,1-дифосфоновой кислоты. Зарегистрированы дозозависимые изменения показателей кардиореспираторной системы у животных при введении дифосфона, которые проявлялись в разнонаправленном изменении показателей тканевой микрогемодинамики и частоты сердечных сокращений, частоты дыхания, артериального давления. Дифосфон в дозах 5 и 50 мг/кг оказывает гипотензивное, отрицательное хронотропное влияние, уменьшает частоту дыхания, улучшает процессы тканевой микрогемодинамики, а в дозах 100-200 мг/кг оказывают гипертензивное, положительное хронотропное влияние, повышает частоту дыхания на фоне тенденции к снижению показателей микроциркуляции относительно значений данных показателей в контроле.
Ключевые слова: биоскрининг,1-гидроксиэтан-1,1-дифосфоновая кислота, кардиореспираторная система, частота сердечных сокращений, частота дыхания, артериальное давление, показатели микроциркуляции, летальная доза.

ВВЕДЕНИЕ

В настоящее время проведение биологического скрининга эффективности и безопасности новых синтезированных химических соединений (кандидатов в лекарственные средства, БАДы) является одной из приоритетных задач государственной политики Российской Федерации в области развития фармакологической промышленности, сформулированной в «Стратегии развития фармацевтической промышленности Российской Федерации на период до 2020 г.», и направлено на решение крупной научной проблемы, имеющей важное значение для развития экономики Республики Крым и Российской Федерации в целом, а именно на разработку технологи снижения потерь от социально значимых заболеваний (Перечень критических технологий Российской Федерации, утвержденный Указом Президента РФ от 7 июля 2011 г. N 899).

В связи с этим исследование и выявление биологической активности новых синтезированных и природных соединений: их влияние на сердечно-сосудистую, дыхательную, нервную и другие системы организма является одним из актуальных направлений исследований физиологии и медицины.

В качестве тестируемых соединений могут выступать химические новосинтезированные соединения, у которых обнаружены и/или имеются желаемые свойства [1]. В частности, среди соединений с высокой биологической активностью

выделяются производные дифосфона [2]. Дифосфон, или 1-гидроксиэтан-1,1-дифосфоновая кислота (ГДК), является химическими веществом из группы бисфосфонатов, которое обладает рядом уникальных эффектов [3]: используется в медицине в качестве основного действующего компонента в составе препаратов ксидифон и этидронат для лечения остеопороза [4], опухолевых поражений костей [5], других костных и онкологических заболеваний [6], обладает антирезорбционной активностью [7], оказывает влияние на обмен кальция в костной ткани [8], а, следовательно, является основой для синтеза ряда производных, обладающих выраженной биологической активностью [9]. Как известно [10], кальций и АТФ принимают ключевое участие в функционировании организма на клеточном уровне организации. Ряд исследований показали способность 1-гидроксиэтан-1,1-дифосфоновой кислоты включаться в молекулы аденозинтрифосфата (АТФ) [11] и, образуя негидролизуемые аналоги АТФ [12], ингибировать АТФ-зависимые клеточные процессы, вызывая таким образом, апоптоз остеокластов [13]. Механизм действия ГДК на костную ткань заключается в стимулировании апоптоза остеокластов, тем самым предотвращая разрушение костной ткани [14]. Однако данные о влиянии бисфосфонатов на сердечно-сосудистую систему в литературе на сегодняшний день отсутствуют за исключением исследований, в которых показана возможность развития мерцательной аритмии при длительном пероральном приеме бисфосфонатов [15].

Таким образом, имеющиеся данные не отражают в полной мере действие ГДК на кардиореспираторную систему (КРС), возможные побочные эффекты и, следовательно, не представляется возможным судить о его безопасном применении в качестве действующего компонента при разработке препаратов нового поколения. Следовательно, целью настоящего исследования явилось выявление влияние ГДК в разных концентрациях на основные показатели КРС.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

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

Для эксперимента отбирали здоровых половозрелых самцов и самок лабораторных крыс массой 180–200 г линии Вистар («ФГУП «Питомник лабораторных животных «Рапполово»), прошедших карантин не менее 14 дней. Животных содержали в стандартных условиях вивария при температуре 18–22^{o}C на подстиле «Рехофикс МК 2000» (на основе початков кукурузы) с естественным 12-часовым свето-темновым циклом, свободным доступом к воде (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.

Экспериментальные исследования проводились на 84 белых крысах (42 самца и 42 самки), характеризующихся средней двигательной активностью и низкой эмоциональностью в тесте «открытого поля» которые составляют большинство в популяции, и поэтому у них развивается наиболее типичная реакция на действие

различных факторов [16], в том числе и тестируемых химических соединений. После предварительного отбора животных разделили на 6 групп по 14 крыс в каждой, 7 из которых самцы, 7 – самки.

Первая группа являлась биологическим контролем (К); вторая – пятая группы животных – экспериментальные (Э), получавшие ГДК внутрибрюшинно (объем 0,2 мл) в концентрациях 5, 50, 100, 150 и 200 мг/кг (Э-5, Э-50, Э-100, Э-150, Э-200) соответственно.

Тестируемое вещество было синтезировано на кафедре общей и неорганической химии факультета биологии и химии Таврической академии ФГАОУ «Крымский федеральный университет им. В. И. Вернадского» (химическая чистота составляла не менее 98,0%).

Биоскрининг ГДК проводился через 1 час [17] после внутрибрюшинного введения ГДК в указанных концентрациях. При этом животным контрольной группы одновременно вводили физиологический раствор (NaCl, 0,9%) того же объема. После этого у животных всех групп регистрировали показатели кардиореспираторной системы: частоту сердечных сокращений (ЧСС), частоту дыхания (ЧД), систолическое (САД) и диастолическое артериальное давление (ДАД), а также показатели микроциркуляции (Мц). На основании показателей АД рассчитывалось пульсовое давление (ПД), которое представляет собой разницу между показателями САД и ДАД.

АД, ЧСС и ЧД у крыс регистрировали с помощью системы NIBP200A («Biopac Systems, Inc.», США). АД и ЧСС фиксировалось с хвостовой артерии путем наложения манжеты на основание хвоста. Для записи ЧД датчик фиксировался на область грудной клетки. При регистрации показателей животные помещались в индивидуальный пенал и переносились в камеру Biopac с постоянной поддерживаемой температурой 33^0С для создания комфортных условий для животного.

Запись показателей проводилась в течение 5 минут от момента стабилизации сигналов от датчиков. Этого времени достаточно для 5-тикратного измерения АД, при этом ЧСС и ЧД регистрировались непрерывно. Запись и обработка данных производилась на компьютере с помощью программы «AcqKnowledge 4.2 for MP150».

Регистрация Мц проводилась при помощи лазерного анализатора кровотока «Лазма-МЦ» (производство НПП «Лазма», Россия) с использованием программы LDF 2.20.0.507WL. В качестве параметров, анализируемых методом ЛДФ, регистрировали неосцилляторные показатели базального кровотока: показатель перфузии (ПМ, перф. ед.), среднее квадратичное отклонение (флакс, СКО, перф. ед.), коэффициент вариации (КВ, %) [17]. С помощью вейвлет-анализа ЛДФ-сигнала определяли амплитуды колебаний кровотока разных частотных диапазонов. Наиболее низкая частота (0,0095-0,02 Гц) характерна для эндотелиальных колебаний, обусловленных периодическими сокращениями цитоскелета эндотелиоцитов. Эндотелиальные колебания отражают воздействие гуморально-метаболических факторов на микрососудистое русло и характеризуют состояние нутритивного кровотока [18]. Колебания в частотах 0,07–0,15 Гц, или миогенные

колебания, обусловлены периодической активностью гладкомышечных волокон артериол, приводящих к изменению диаметра их просвета (вазомоции) [19]. На такую периодичность констрикции и дилатации микрососудов накладываются нейрогенные колебания (0,02–0,046 Гц), отражающие симпатическую регуляторную активность [21]. К высокочастотным колебаниям относятся дыхательные (0,15–0,4 Гц) и пульсовые (0,8–0,16 Гц). Дыхательные волны представлены периодическими изменениями давления в венозном отделе сосудистого русла, вызываемыми дыхательными экскурсиями грудной клетки [22]. Пульсовые колебания кровотока обусловлены перепадами внутрисосудистого давления, которые в большей или меньшей степени синхронизированы с кардиоритмом [23].

Для статистической обработки были использованы данные трёх повторений эксперимента. Применялись непараметрические методы статистики, поскольку распределение значений переменных отличалось от нормального. Расчеты, статистическая обработка и графическое оформление полученных в работе данных по действия тестируемых соединений проводились с использованием программы MicrosoftExcel и программного пакета StatSoft\STATISTICA 8. Достоверность статистических различий между контрольной (внутрибрюшинное введение физиологического раствора) и экспериментальными группами с различными дозами введения ГДК (5, 50, 100, 150 и 200 мг/кг) определяли с помощью критерия Манна-Уитни.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

В диапазоне используемых концентраций было отмечено изменение исследуемых параметров у животных под влиянием ГДК. Установлено, что при использовании дозы ГДК 5 мг/кг и 50 мг/кг наблюдалось снижение АД, а при увеличении дозы исследуемого вещества – их повышение относительно контроля. Так, в дозе 5 мг/кг показатели САД и ДАД снижались на 6,0 % ($p \leq 0,05$) и 11,3 % ($p \leq 0,05$), а при 50 мг/кг – на 7,0 % ($p \leq 0,05$) и 9,6 % ($p \leq 0,05$) соответственно по сравнению с таковым в контрольной группе животных. При увеличении концентрации ГДК до 100, 150 и 200 мг/кг происходило достоверное повышение АД относительно значений в контроле (рис. 1). Максимальные значения этих показателей зарегистрированы в дозе 200 мг/кг и превысили контрольные показатели на 27,9% ($p \leq 0,05$).

Анализ половых различий в изменении показателей КРС показал, что направленность действия ГДК у самцов и самок идентична, однако выраженность изменений показателей у самцов была выше. При этом различия между изменениями показателей под влиянием ГДК у самцов и самок при действии в дозах 5 и 50 мг/кг были не достоверны, а достоверные различия появлялись только при введении вещества в дозах 100–200 мг/кг. Так, ГДК в дозе 100 мг/кг у самцов показатели САД и ДАД превышали таковые у самок на 6,7% и 10,0% ($p \leq 0,05$). При использовании дозы 150 мг/кг значение показателя САД у самцов превосходило САД самок на 7,0%($p \leq 0,05$), однако, значения ДАД оказались ниже, чем у самок на 12,0% ($p \leq 0,05$). В дозе 200 мг/кг значения САД и ДАД у самцов превышали таковые у самок на 17,1%($p \leq 0,05$) и 20,8% ($p \leq 0,05$) соответственно (см. рис. 1). Исходя из

полученных данных, можно сделать вывод о большей чувствительности самцов по сравнению с самками к более высоким концентрациям ГДК.

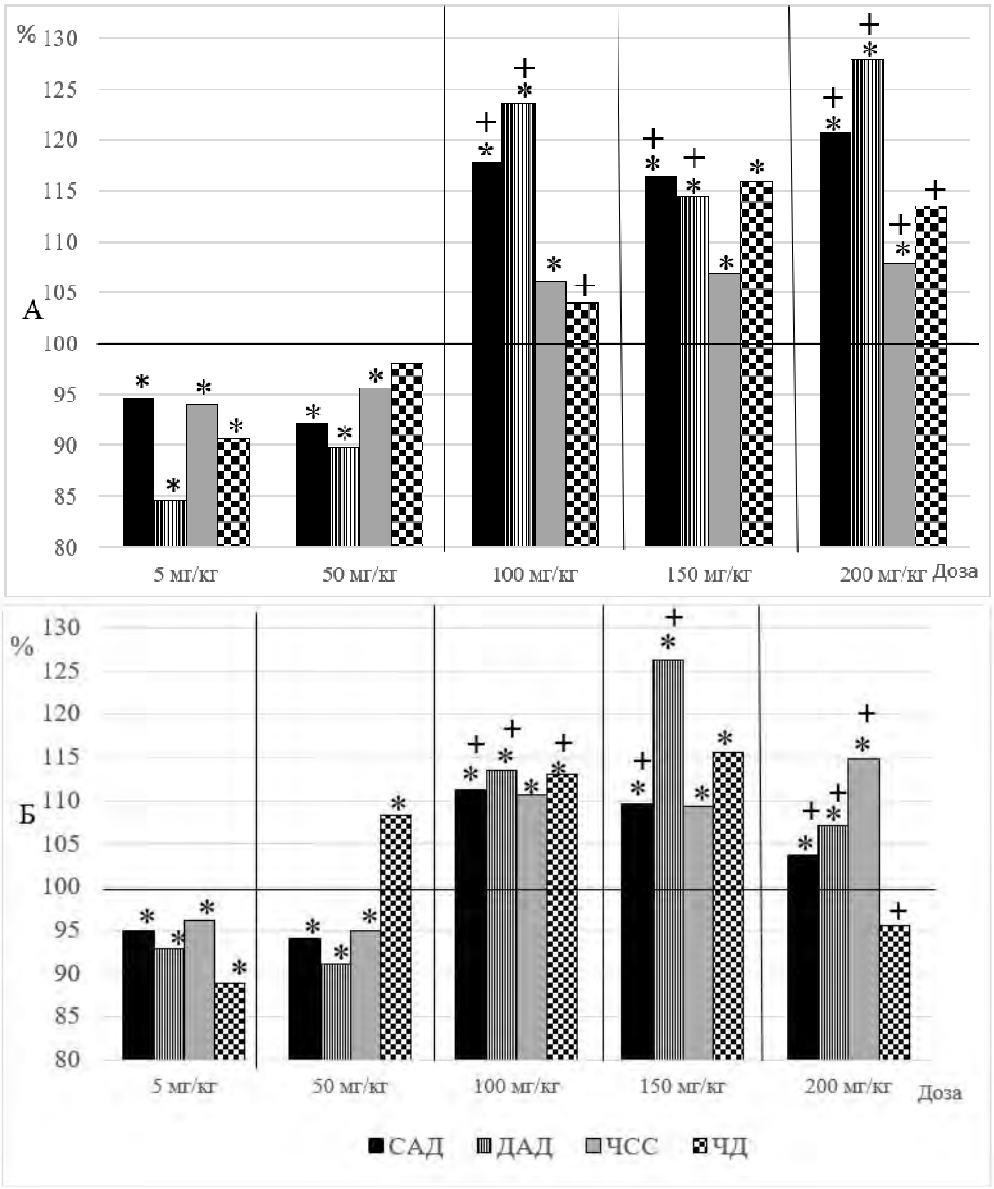


Рис. 1. Зависимость показателей кардиореспираторной системы крыс самцов (А) и самок (Б) от дозы 1-гидрокси-1,1-этилидендифосфоновой кислоты

Примечание: * – уровень достоверности различий по критерию Манна-Уитни относительно значений показателей в контроле; + – уровень достоверности относительно половой принадлежности; САД – систолическое артериальное давление; ДАД – диастолическое артериальное давление; ЧСС – частота сердечных сокращений; ЧД – частота дыхания.

Частота сердечных сокращений после введения ГДК в дозе 5 мг/кг достоверно снизилась на 5,0 % ($p \leq 0,05$), а при использовании дозы 50 мг/кг – на 4,5 % ($p \leq 0,05$). Показатель ЧСС в дозе 100 мг/кг превысил контрольные значения в среднем на 8,0% ($p \leq 0,05$). При увеличении концентрации препарата до 150 и 200 мг/кг наблюдалось повышение исследуемого параметра на 8,1 % ($p \leq 0,05$) и 11,2 % ($p \leq 0,05$) соответственно относительно значений таковых показателей в контрольной группе животных (см. рис. 1). Значения ЧСС на протяжении всего эксперимента у самок превосходили значения ЧСС у самцов, что свидетельствует о более высокой чувствительности самок к действию ГДК, однако в дозе 200 мг/кг, наоборот, ЧСС у самок превысила контрольное значение на 7,8% ($p \leq 0,05$), а у самцов на – 14,9 % ($p \leq 0,05$) соответственно.

Частота дыхания при использовании дозы ГДК 5 мг/кг снизилась на 10,2 % ($p \leq 0,05$), при дозе 50 мг/кг достоверное увеличение ЧД наблюдалось только у самок. При увеличении дозы ГДК ЧД повышалась на 8,3 % ($p \leq 0,05$) в концентрации 100 мг/кг и на 15,8 % при использовании дозы 150 мг/кг ($p \leq 0,05$) (см. рис. 1). Достоверных половых отличий в изменениях ЧД под влиянием ГДК не обнаружено.

Таким образом, ГДК вызывает изменения показателей кардиореспираторной системы лабораторных животных. При этом выраженность и направленность изменений этих показателей зависит от дозы ГДК: вещество в дозах 5 и 50 мг/кг оказывает гипотензивное, отрицательное хронотропное влияние, урежает частоту дыхания; высокие дозы вещества (100–200 мг/кг) оказывают гипертензивное, положительное хронотропное влияние и повышают частоту дыхания. При использовании доз ГДК 5 мг/кг и 50 мг/кг половых различий в реакции КРС не обнаружено, дальнейшее повышение доз данного соединения до 100 и 200 мг/кг приводит к появлению таковых в отношении показателя АД причем, у самцов были зарегистрированы достоверно более высокие значения данных показателей, чем у самок.

Как показали проведенные исследования, ГДК оказывает влияние и на изменение показателей Мц, при этом половые отличия в реакциях Мц на действие ГДК не выявлены, поэтому приводятся усредненные данные для самцов и самок.

Исследование показателей тканевой микрогемодинамики показало, что введение ГДК в дозе 5 мг/кг приводит к достоверному увеличению амплитуд колебаний эндотелиального (Аэ, на 52,2 %, $p \leq 0,05$), нейрогенного (Ан, на 42,2 %, $p \leq 0,05$), миогенного (Ам, на 22 %, $p \leq 0,05$) ритмов, интегрального показателя микроциркуляции (ПМ, на 56 %, $p \leq 0,05$) на фоне снижения амплитуд пульсовых колебаний (Ас, на 26 %, $p \leq 0,05$) по отношению к таковым в контрольной группе животных (рис. 2).

Увеличение дозы ГДК до 50 мг/кг привело к прогрессивному увеличению Аэ на 77 % ($p \leq 0,05$), Ан – на 45 % ($p \leq 0,05$), Ам – на 39 % ($p \leq 0,05$), ПМ – на 57 % ($p \leq 0,05$) по отношению к значениям данных показателей в контрольной группе животных (см. рис. 2).

Дальнейшее повышение дозы до 100-200 мг/кг вызвало снижение всех показателей Мц. Так, при введении ГДК в дозе 100 мг/кг Аэ снижается на 72,7 % ($p \leq 0,05$), Ан – на 49,7 % ($p \leq 0,05$), Ам – 54,4 % ($p \leq 0,05$), Ад – 39,5 % ($p \leq 0,05$),

Ас – 24 % ($p \leq 0,05$), Пм – 67,9 % ($p \leq 0,05$) относительно значений показателей, зарегистрированных у животных после введения дозы ГДК 50 мг/кг. Необходимо отметить, что данные изменения Мц при введении ГДК в дозах 100-200 мг/кг были недостоверны по сравнению с таковыми в контрольной группе животных, за исключением изменения показателя Ад, снижение которого на 27 % ($p \leq 0,05$) освидетельствует об уменьшении тонуса венул и развитии венозного застоя при введении ГДК в дозе 200 мг/кг.

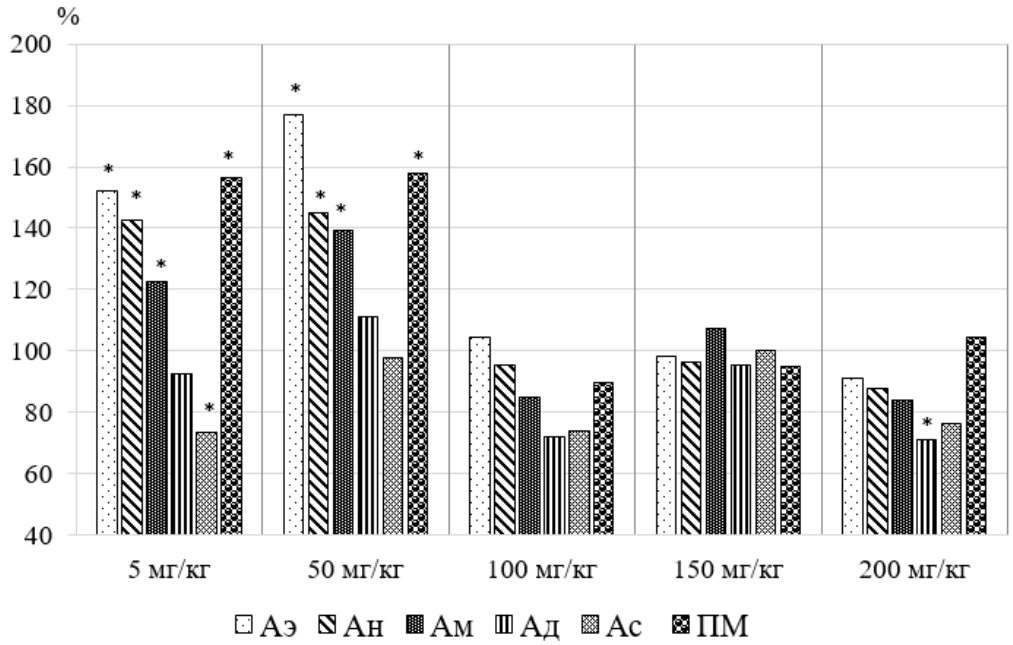


Рис. 2. Показатели микроциркуляции при действии 1-гидрокси-1,1-этилиден дифосфоновой кислоты в разных концентрациях (в % по отношению к значениям в контрольной группе, принятым за 100%).

Примечания: * – достоверность различий показателей у животных экспериментальной группы с таковыми у животных контрольной группы по критерию Манна-Уитни при $p \leq 0,05$; Аэ – амплитуды эндотелиального генеза, Ан – амплитуды нейрогенных колебаний, Ам – амплитуды миогенных колебаний, Ад –амплитуды дыхательных колебаний, Ас – амплитуды пульсовых колебаний, ПМ – показатель перфузии.

Таким образом, ГДК в дозах 5 и 50 мг/кг оказывает существенное влияние как на ПМ, так и на амплитуды выделенных ритмов ЛДФ-граммы. Поскольку Аэ синхронизированы с периодическим релизингом оксида азота (NO) эндотелием сосудов [20], то повышение данного показателя свидетельствует об увеличении секреции NO эндотелием и, как следствие, развитии эндотелий-зависимой вазодилатации. Повышение амплитуд колебаний ЛДФ-граммы в нейрогенном диапазоне (Ан), которые связаны с симпатическими адренергическими влияниями на гладкие мышцы артериол и артериолярных участков артерио-венулярных

анастомозов [20] отражает снижение периферического сопротивления в данных областях микрорусла, следствием чего является улучшение нутритивного кровотока. Увеличение амплитуд миогенных ритмов (Ам) отражает снижение тонуса прекапиллярных сфинктеров и прекапиллярных метартериол [24]. Поскольку известно, что ритмы данного диапазона обусловлены колебаниями концентрации Ca^{2+} через мембраны мышечных клеток [24, 25], следовательно, повышение Ам свидетельствует о снижении тонуса прекапилляров вследствие развития Ca^{2+}-зависимой мышечной релаксации под влиянием исследуемых веществ. Данные изменения микрогемодинамики нашли свое отражение в увеличении интегрального показателя микроциркуляции ПМ, что указывает на увеличение перфузии крови.

Следовательно, зарегистрированы дозозависимые изменения показателей КРС у животных при введении ГДК, которые проявлялись в разнонаправленном изменении показателей тканевой микрогемодинамики и показателей АД, ЧСС и ЧД. Так, при введении ГДК в дозах 5 и 50 мг/кг наблюдалось достоверное изменение активности практически всех компонентов регуляции микрососудистого тонуса (кроме Ад), что выражалось в увеличении эндотелий-зависимой вазодилатации, снижении периферического сопротивления, увеличении притока крови в нутритивное микрососудистое русло, улучшении венулярного оттока. Указанные изменение показателей микрогемодинамики в дозах ГДК 5 и 50 мг/кг находят свое отражение и на системном уровне, что проявилось в достоверном снижении САД и ДАД. Вероятно, что уменьшение периферического сопротивления емкостных сосудов Мц и, соответственно, увеличение притока крови в ткани позволило снизить системное АД. В тоже время, снижение АД могло произойти вследствие уменьшения активности симпатического (в пользу чего свидетельствует увеличение Ан) и/или увеличения парасимпатического компонента вегетативной нервной системы (ВНС). О влиянии ГДК на ВНС свидетельствует и уменьшение ЧСС, которая связана с активностью симпатического и парасимпатического отделов и является результатом многоконтурной и многоуровневой реакции системы регуляции кровообращения [26]. Известно, [27], что ЧСС играет основную роль в системе барорефлекторной стабилизации АД, причем является не гомеостатической переменной, а регулирующим воздействием, величина которой изменяется в широких пределах при действии различных факторов. Изменение ЧД может являться и результатом изменения АД, поскольку в дыхательном центре продолговатого мозга выявляются нейроны, активность которых прямо пропорционально связана с изменением АД [28].

При повышении дозы ГДК до 100-200 мг/кг реакция КРС животных меняется на противоположную: происходит достоверное повышение САД, ДАД, ЧСС и ЧД на фоне тенденции к снижению показателей Мц относительно значений данных показателей в контроле. Вероятно, что высокие концентрации ГДК приводят к активации симпатической нервной системы и централизации кровообращения, которой сопутствует повышение АД, ЧСС и ЧД. Подобные изменения КРС сопровождают практически все срочные реакции организма на действие экстремальных эндо- и экзогенных факторов.

По нашему мнению, изменения гемодинамических и респираторных показателей при введении животным ГДК могут рассматриваться не как самостоятельные феномены, а во взаимосвязи между собой, поскольку ГДК, влияя на ВНС, изменяет параметры КРС, сохраняя при этом их физиологические взаимоотношения.

Таким образом, в настоящем исследовании установлено, что ГДК влияет на функциональные показатели КРС – жизненно важной системы организма, что выражается в изменении ЧСС, ЧД, САД, ДАД и показателей Мц. При этом выраженность и направленность изменений данных показателей зависела от дозы вводимого вещества. Наиболее эффективными по влиянию на показатели КРС оказались дозы ГДК 5 и 50 мг/кг.

Необходимо отметить, что в исследованиях острой токсичности тестируемого вещества на животных после его однократного введения были экспериментально определены летальные концентрации для этого соединения и построена кривая токсичности (рис. 3): LD20, при которой наблюдалась первая смертность животных, составила 200 мг/кг; LD50 – 250 мг/кг, а абсолютная летальная доза LD100 – 400 мг/кг, что позволяет отнести ГДК к 3 классу опасности – умеренно токсичным веществам.

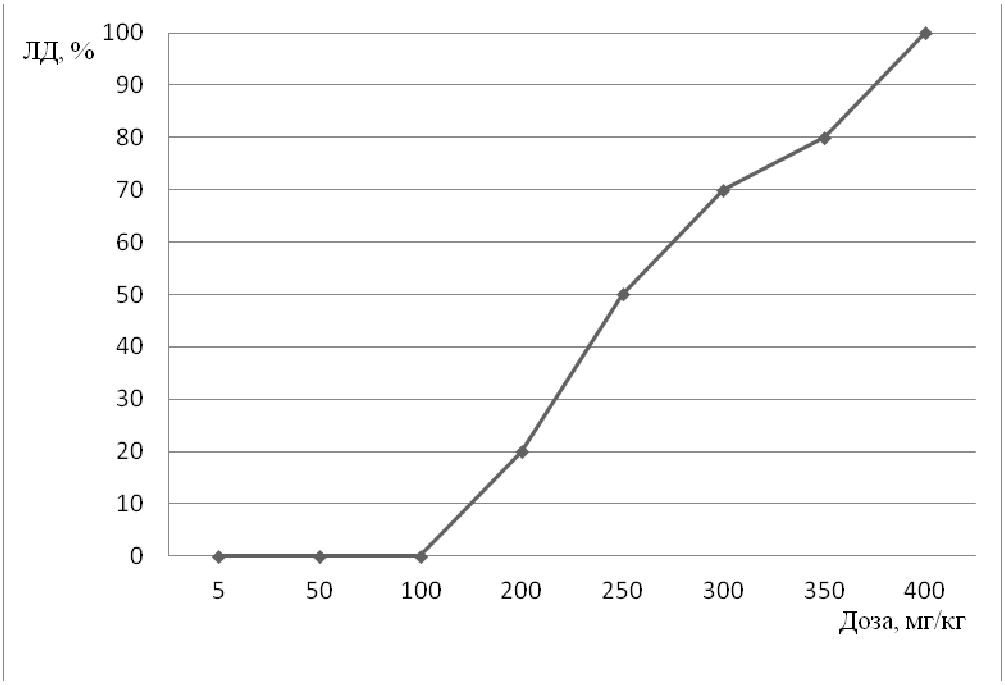


Рис.3. Кривая «доза-эффект» острой токсичности 1-гидрокси-1,1-этилиден дифосфоновой кислоты (ГДК). Примечание: ЛД – летальная доза.

Согласно современным представлениям об оценке фармакологической безопасности лекарственных средств в доклинических исследованиях [30], дозы,

которые являются фармакологически безопасными для ГДК составляют 5 и 50 мг/кг. Именно в этих дозах целесообразно проводить дальнейшие исследования с использованием моделей гипертензии и других заболеваний КРС. Таким образом, можно заключить, что ГДК может быть рекомендована как компонент для синтеза новых производных, проявляющих выраженное гипотензивное и кардиотропное действие.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

1. 1-гидроксиэтан-1,1-дифосфоновая кислота влияет на функциональные показатели кардиореспираторной системы лабораторных животных, что выражается в изменении частоты сердечных сокращений, частоты дыхания, систолического и диастолического артериального давления, показателей микроциркуляции.
2. Зарегистрированы дозозависимые изменения показателей кардиореспираторной системы у животных при введении 1-гидроксиэтан-1,1-дифосфоновой кислоты, которые проявлялись в разнонаправленном изменении показателей тканевой микрогемодинамики и показателей частоты сердечных сокращений, частоты дыхания, систолического и диастолического артериального давления.
3. 1-гидроксиэтан-1,1-дифосфоновой кислота в дозах 5 и 50 мг/кг оказывает гипотензивное, отрицательное хронотропное влияние, уменьшает частоту дыхания, улучшает процессы тканевой микрогемодинамики, что выражается в увеличении эндотелий-зависимой вазодилатации, снижении периферического сопротивления, увеличении притока крови в нутритивное микрососудистое русло, улучшении венулярного оттока.
4. 1-гидроксиэтан-1,1-дифосфоновой кислота в дозах 100–200 мг/кг оказывают гипертензивное, положительное хронотропное влияние, повышает частоту дыхания на фоне тенденции к снижению показателей микроциркуляции относительно значений данных показателей в контроле.
5. Половые различия в реакции кардиореспираторной системы на введение 1-гидроксиэтан-1,1-дифосфоновой кислоты не выявлены за исключением частоты сердечных сокращений и артериального давления при введении вещества в дозах 100-200 мг, при которых у самок зарегистрированы более высокие значения этих показателей по сравнению с таковыми у самцов.

Работа выполнена при финансовой поддержке гранта Российского научного фонда No 18-13-00024 «Координационные соединения дифосфонатов металлов со спейсерированными1,2,4-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) ФГАОУВО «Крымский федеральный университет им В.И. Вернадского».

Список литературы

1. 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.
2. 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.
3. 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.
4. Russell R. Determinants of structure-function relationships among bisphosphonates / R. Russell // Bone. – 2007. – Vol. 40, No 5. – P. 21–25.
5. 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.
6. 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 адъювантном лечении рака молочной железы / И. В. Высоцкая // Опухоли женской репродуктивной системы. – 2008. – № 3. – С. 36–40.
7. Петриев В. М. Остеотропныерадиофармпрепараты 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.
8. Дроздов В. Эффективность и безопасность лечения остеопении и остеопороза бифосфонатами / В. Дроздов, Ю. Эмбутниекс // Врач. – 2010. – № 5. – С. 67–71.
9. Ковальчук П. А. Бифосфонаты 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.
10. Черетаев И. В. 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.
11. Cheretaev I. V. 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.
12. Cattalini J. P. Bisphosphonate-Based Strategies for Bone / J. P. Cattalini, M. Pharm, A. R. Boccaccini // Tissue engineering: Part B. – 2012. – V. 18, No 5. – P. 324–326.
13. 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.
14. 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.
15. Berridge M. G. Neuronal calcium signaling / M. G. Berridge // Neuron. – 1998. – Vol. 21, No 1. – P. 13–18.
16. Беспрозванный И. Б. Система кальциевой сигнализации при нейродегенерации / И. Б. Беспрозванный // ActaNaturae. – 2010. – Т. 2, № 1. – С. 80–88.
17. Князькова И. И. Клиническая фармокология бисфосфонатов / И. И. Князькова // Ліки України. – 2014. – № 5–6. – С. 84–89.
18. Чуян Е. Н. Физиологические механизмы биологических эффектов низкоинтенсивного ЭМИ КВЧ. / Е. Н. Чуян, Н. А. Темурьянц, О. Б. Московчук: монография. – Симферополь: ЧП «Эльиньо», 2003. – 448 с.

19. Козлов В. И. Лазерная допплеровская флоуметрия и анализ коллективных процессов в системе микроциркуляции / В. И. Козлов, Л. В. Корси, В. Г. Соколов // Физиология человека. – 1998. – Т. 24, №6. – 112 с.
20. Козлов В. И. М тод лазерной допплеровской флоуметрии / Козлов В. И., Мач Э. С., Литвин Ф. Б., Терман О. А., Сидоров В. В. // Пособие для врачей. – 2001. – 22 с.
21. Крупаткин А. И. Лазерная допплеровская флоуметрия микроциркуляции крови: руководство для врачей. / А. И. Крупаткин, В. В. Сидоров. – М.: Медицина, 2005. – 254 с.
22. Маколкин В. И. Метод лазерной допплеровской флоуметрии в кардиологии / В. И. Маколкин, В. В. Бранько, Є. А. Богданова. // Пособие для врачей. – М.: Россельхозакадемия. – 1999. – 48 с.
23. Hoffman U. The freaquency histogram – A new method for the evaluation of Laser Doppler Flux Motion. / Hoffman U., Yanar A., Bolinger A. // Microvascul. Res. – 1990. – P. 293–301.
24. 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.
25. Burnstock, G. Physiology and pathophysiology of purinergic neurotransmission / G. Burnstock // Physiol. Rev. – 2007. – Vol. 87, No 2. – P. 659–797.
26. Иванов Г. Г. Минутные, циркадные и сезонные колебания микроальтернаций ЭКГ-сигнала по данным дисперсионного картирования / Г. Г. Иванов, Р. М. Баевский, Г. Гази [и др.] // Клин. информат. и Телемед. – 2013. – Т. 9, вып. 6. – С. 25–32.
27. Спицина Т. А. Вариабельность сердечного ритма у лиц молодого возраста с артериальной гипертензией в зависимости от исходного вегетативного тонуса / А. П. Спицин, Т. А. Спицина // Сибирский медицинский журнал. – 2011. – Т. 26, № 2–1. – С. 56–61.
28. Герасимов И. Г. Взаимосвязь между показателями гемодинамики и дыхания у человека / И. Г. Герасимов, Е. В. Самохина // Физиология человека. – 2003. – Т. 29, № 4. – С. 72–75.
29. Панкова Н. Б. Анализ вариабельности сердечного ритма и артериального давления при разных функциональных пробах у женщин и мужчин / Н. Б. Панкова, С. А. Надоров, М. Ю. Карганов // Физиология человека. – 2008. – Т. 34, № 4. – С. 64–72.
30. Енгалычева Г. Н. Оценка фармакологической безопасности лекарственных средств в доклинических исследованиях / Г. Н. Енгалычева, Р. Д. Сюбаев, А. Н. Васильев [и др.] // Ведомости научного центра экспертизы средств медицинского применения. – 2013. – № 1. – С. 10–13.

THE INDICATORS OF THE CARDIORESPIRATORY SYSTEM OF RATS UNDER THE ACTION OF 1-HYDROXYETHANE-1,1-DIPHOSPHONIC ACID

Chuyan E. N., Ravaeva M. Yu., Pridatko A. I., Cheretaev I. V., Shulgin V. F.

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

The study of changes of indicators of cardiorespiratory system in rats under the action of diphosphane, or 1-hydroxyethane-1,1-diphosphonic acid. Dose-dependent changes in the parameters of the cardiorespiratory system in animals with the introduction of diphosphone were registered, which manifested themselves in a multidirectional change in the parameters of tissue microhemodynamics and heart rate, respiratory rate, blood pressure. Diphosphone in doses of 5 and 50 mg / kg has a hypotensive, negative chronotropic effect, reduces respiration rate, improves the processes of tissue microhemodynamics, and in doses of 100–200 mg/kg have a hypertensive, positive chronotropic effect, increases respiration rate against the background of a tendency to decrease in microcirculation relative to the values of these indicators in the control.

1-hydroxyethane-1,1-diphosphonic acid affects the functional parameters of the cardiorespiratory system of laboratory animals, which is expressed in changes in heart rate, respiratory rate, systolic and diastolic blood pressure, microcirculation. Dose-dependent changes in cattle indices in animals with the introduction of 1-hydroxyethane-1,1-diphosphonic acid were Recorded, which manifested themselves in a multidirectional change in tissue microhemodynamics and heart rate, respiratory rate, systolic and diastolic blood pressure. 1-hydroxyethane-1,1-diphosphonic acid in doses of 5 and 50 mg / kg has a hypotensive, negative chronotropic effect, reduces respiration rate, improves tissue microhemodynamic processes, which is expressed in increasing endothelium-dependent vasodilation, reducing peripheral resistance, increasing blood flow into the nutritive microvascular bed, improving venular outflow. 1-hydroxyethane-1,1-diphosphonic acid in doses of 100-200 mg / kg have a hypertensive, positive chronotropic effect, increases respiration rate against the background of a tendency to decrease in microcirculation parameters relative to the values of these parameters in the control. Sexual differences in the reaction of the cardiorespiratory system to the introduction of 1-hydroxyethane-1,1-diphosphonic acid were not revealed except for the heart rate and blood pressure when administered at doses of 100–200 mg, in which males recorded higher values of these indicators compared to those in females.

***Keywords*:** bioscreening,1-hydroxyethane-1,1-diphosphonic acid, cardiorespiratory system, heart rate, respiration rate, blood pressure, microcirculation indices, lethal dose.

References

1. Drake, M. T. Clarke B. L., Khosla S., Bisphosphonates: Mechanism of Action and Role in Clinical Practice, Mayo. *Clin. Proc*., **83, 9**, 1032 (2008).
2. Reszka A. A., Rodan G. A. Mechanism of Action of Bisphosphonates, *Curr. Osteoporos. Rep*., **3, 2**, 45 (2003).
3. 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).
4. Russell R., Determinants of structure-function relationships among bisphosphonates, *Bone,* **40, 5**, 21 (2007).
5. 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 klinicheskoj onkologii (ASCO). Chast' I. Rekomendacii po primeneniyu bisfosfonatov v lechenii raka molochnoj zhelezy, *Opuholi zhenskoj reproduktivnoj sistemy*, **2**, 14 (2008).
6. 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 klinicheskoj onkologii (ASCO). Chast' II. Bisfosfonaty v ad"yuvantnom lechenii raka molochnoj zhelezy, *Opuholi zhenskoj reproduktivnoj sistemy*, **3**, 36 (2008).
7. 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).
8. Drozdov V., Ehmbutnieks YU., Effektivnost' i bezopasnost' lecheniya osteopenii i osteoporoza bifosfonatami, *Vrach*, **5**, 67 (2010).
9. 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).
10. 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).

11. Cheretaev I. V., Korenyuk I. I., Khusainov D. R. [et al.]. 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).
12. Cattalini J. P., Pharm M., Boccaccini A. R., Bisphosphonate-Based Strategies for Bone, *Tissue engineering: Part B*, **18, 5**, 324 (2012).
13. Mostovoj S. O., Shul'gin V. F., Peshkov V. M., Korrekciya s pomoshch'yu helatoobrazuyushchih veshchestv osteoskleroticheskih izmenenij v nizhnechelyustnoj kosti krys, vyzvannyh priyomom bisfosfonatov, *Citologiya*, **60, 6**, 476 (2018).
14. 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).
15. Berridge M. G., Neuronal calcium signaling, *Neuron,* **21, 1**, 13 (1998).
16. Besprozvannyj I. B., Sistema kal'cievoj signalizacii pri nejrodegeneracii, Acta Naturae, 2, 1, 80 (2010).
17. Knyazkova I. I. Clinical pharmacology of bisphosphonates, *Liki Ukrainy*, **5**–**6**, 84 (2014).
18. Chuyan E. N., Temur'yants N. A., Moskovchuk O. B. *Fiziologicheskiye mekhanizmy biologicheskikh effektov nizkointensivnogo EMI KVCH*, monografiya, 448 p . (CHP «El'in'o»Simferop ol':, 2003).
19. Kozlov V. I., Korsi L. V., Sokolov V. G. Lazernaya dopplerovskaya floumetriya i analiz kollektivnykh protsessov v sisteme mikrotsirkulyatsii, *Fiziologiya cheloveka*, **24, (6)**, 112 (1998).
20. Kozlov V. I., Mach E. S., Litvin F. B., Terman O. A., Sidorov V. V *Metod lazernoy dopplerovskoy floumetrii Posobiye dlya vrachey*, 22 (2001).
21. Krupatkin A. I., Sidorov V. V. *Lazernaya dopplerovskaya floumetriya mikrotsirkulyatsii krovi*: rukovodstvo dlya vrachey, 254 p . (M., Meditsina, 2005).
22. Makolkin V. I., Bran'ko V. V., Bogdanova Ê. A. *Metod lazernoy dopplerovskoy floumetrii v kardiologii*, Posobiye dlya vrachey, 48 p . (M., Rossel'khozakademiya, 1999).
23. Hoffman U., Yanar A., Bolinger A. The freaquency histogram – A new method for the evaluation of Laser Doppler Flux Motion, *Microvascul. Res.*, 293 (1990).
24. Stefanovska A., Bracic M. Physics of the human cardiovascular system, *Contemporary Physics.*, **40 (1),** 31 (1999).
25. Krupatkin A. I. Pul'sovyye i dykhatel'nyye ostsillyatsii krovotoka v mikrotsirkulyatornom rusle kozhi, *Fiziologiya cheloveka*, **34(3),** 70 (2008).
26. Ivanov G., Baevsky R., Ghazi G., Minute, circadian and seasonal fluctuations of microalternations of an electrocardiogram-signal according to dispersive mapping, *Rev. Lett.*, **9**, 25 (2013).
27. Spitsin A., Spitsina T., heart rate Variability in young people with hypertension depending on the initial vegetative tone, *Siberian medical journal*, **26 (2)**, 56 (2011)
28. Gerasimov I., Samokhina E., the Relationship between hemodynamics and respiration in humans, *Fiziologiya cheloveka*, **29 (4)**, 72 (2003).
29. Pankova N., Analysis of heart rate variability and blood pressure during different functional tests in women and men, *Fiziologiya cheloveka*, **34 (4)**, 64 (2008).
30. Engalycheva G., Evaluation of pharmacological safety of drugs in preclinical studies, *Bulletin of the scientific center of expertise of medical applications*, **1**, 10 (2013).

Ученые записки Крымского федерального университета имени В. И. Вернадского
Биология. Химия. Том 5 (71). 2019. № 1. С. 193–199.

УДК 502.51:351.853.2(470.56)

СОВРЕМЕННОЕ ЭКОЛОГИЧЕСКОЕ СОСТОЯНИЕ ПАМЯТНИКА ПРИРОДЫ РОДНИК БЕЛОГЛИНКА (САРАКТАШСКИЙ РАЙОН, ОРЕНБУРГСКАЯ ОБЛАСТЬ)

Шайхутдинова А. А.[1,2], Гарицкая М. Ю.[2], Холодилина Т. Н.[2]

[1]Институт клеточного и внутриклеточного симбиоза УрО РАН, Оренбург, Россия
[2]Оренбургский государственный университет, Оренбург, Россия
E-mail: varvarushka@yandex.ru

Приведены результаты анализа воды родника Белоглинка Саракташского района Оренбургской области по органолептическим, физико-химическим и микробиологическим показателям. В результате было установлено превышение норм согласно требованиям СанПиН 2.1.4.1175-02 «Гигиенические требования к качеству воды нецентрализованного водоснабжения. Санитарная охрана источников» по общей жесткости в 4,7 раза и запаху. Превышений по микробиологическим показателям не выявлено. Применение данной воды в лечебных целях может привести к нарушению функций почек и сердечно-сосудистой системы. Указывается на необходимость проведения информирования отдыхающих о несоответствии показателей качества воды родника Белоглинка существующим нормативам.
Ключевые слова: памятник природы, родник Белоглинка, Оренбургская область.

ВВЕДЕНИЕ

В настоящее время одним из эффективных способов сохранения природных комплексов является организация особо охраняемых природных территорий (ООПТ). ООПТ с учетом особенностей режима делят на ряд категорий согласно Федеральному закону «об особо охраняемых природных территориях» [1]. Наиболее многочисленной группой являются памятники природы.

На территории Оренбургской области на 15.12.2017 года действуют 344 ООПТ общей площадью 159,6 тыс. га, что составляет 1,3 % от площади области. Из них 341 объект является ООПТ областного значения (340 памятников природы и биологический заказник «Светлинский»). Общая площадь данных территорий составляет 59,2 тыс. га [2].

Одним из ценных в природоохранном отношении на территории Оренбургской области является родник Белоглинка. Родниковая вода активно используется местным населением для самолечения заболеваний желудочно-кишечного тракта и кожи. Однако оценка безопасного применения данной воды до настоящего времени не проводилась. Поэтому целью исследования была оценка качества воды родника Белоглинка по органолептическим, физико-химическим и микробиологическим показателям.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Гидрогеологический памятник природы регионального значения родник Белоглинка общей площадью 0,5 га располагается на территории Саракташского района Оренбургской области в 7 км к юго-востоку от поселка Белогорский (табл. 1). Источник представляет собой выход на поверхность подземных сероводородных вод. Ручей, образованный родником Белоглинка, впадает в реку Алабайталку [3].

Таблица 1

Характеристика родника Белоглинка

№	Показатели	Характеристика
1	Местоположение	Саракташский район Оренбургской области
2	Геологический тип	Гидрогеологический
3	Общая площадь	0,5 га
4	Дата создания	21.05.1998
5	Значение	Региональное
6	Текущий статус	Действующий
7	Категория	Памятник природы
8	Нормативно-правовая основа функционирования геологического объекта	Распоряжение главы администрации Оренбургской области № 505-р, 21.05.1998 г.
9	Перечень основных объектов охраны	Выход подземных сероводородных вод

Родник Белоглинка имеет следующие морфометрические характеристики: источник точечный, нисходящий, постоянно действующий. Характер истечения – безнапорное донное подпитывание. Территория родника не благоустроена. Беседка разрушена. Охранная зона отсутствует. Прилегающая территория не загрязнена бытовым мусором. Родник находится в глубоком овраге под открытым небом. К источнику ведет проторенная тропа. Местное название источника – Вонючий родник.

При визуальном обследовании памятника природы было установлено, что камни на выходе воды покрыты сернистым налетом. Вода из источника вытекает спокойно, изливаясь под действием силы тяжести. Скорость выхода в летнюю межень достигает 0,01 м/с, глубина составляет 0,15 м, ширина 0,7 м (табл. 2).

Отбор проб воды и грунта производили в летнюю межень 2018 года (наиболее жесткий по водности период) согласно ГОСТ Р 51592-2000 «Вода. Общие требования к отбору проб» [4–6]. Пригодность родниковой воды определяли соответствием требованиям СанПиН 2.1.4.1175-02 «Гигиенические требования к качеству воды нецентрализованного водоснабжения. Санитарная охрана источников» [7]. Качество оценивали по органолептическим, физико-химическим и микробиологическим показателям.

Таблица 2

Некоторые морфометрические показатели родника Белоглинка

Наименование показателя	Единицы измерения	Значение показателя
Скорость на выходе	м/с	0,01
Глубина	м	0,15
Ширина	м	0,7
Характер грунта	–	камень

Исследовались следующие органолептические показатели: запах, цветность, мутность, прозрачность.

Исследовались такие физико-химические показатели: кислотность, содержание растворенного кислорода, общая минерализация, нитриты, хлориды, гидрокарбонаты, щелочность, общая жесткость и ионы кальция, магния, железа. Анализ проб родниковой воды по физико-химическим показателям осуществляли по стандартным методикам на базе ФГБНУ «Федеральный научный центр биологических систем и агротехнологий РАН» г. Оренбург.

Определяли микробиологические характеристики: общее микробное число, общие колиформные бактерии, термотолерантные колиформные бактерии.

Отбор образцов грунта производили гидробиологическим скребком с длиной ножа 16 см. Обработка проб была проведена по общепринятым в гидробиологии методикам [4].

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

В результате проведенных исследований выявлено, что по органолептическим показателям вода из родника Белоглинка представляет собой бесцветную прозрачную жидкость без посторонних включений. Запах характеризуется как сероводородный и по интенсивности соответствует 5 баллам (табл. 3). Прозрачность изменяется в небольших пределах – от 52 до 56 см. Мутность воды незначительная (0,2 г/л) и находится в пределах нормы (табл. 3). Вода в роднике Белоглинка холодная, температура в летний период в среднем составляет 9,3 ^{o}C.

Таблица 3

Оценка качества воды родника Белоглинка по органолептическим показателям

Наименование показателя	Единицы измерения	Значение показателя	Норматив по СанПиН 2.1.4.1175-02 [2]
Запах	баллы	5	не более 2 – 3
Привкус	баллы	не определяли	не более 2 – 3
Цветность	градусы	4,6	не более 30
Мутность (по коалину)	г/дм^3	0,2	не более 1,5 – 2,0

Водородный показатель родниковой воды равен 7,4, что укладывается в нормативы для вод, применяемых в питьевых целях (табл. 4).

Уровень минерализации (по величине сухого остатка) составляет 1218 мг/л (табл. 4).

Таблица 4

Некоторые гидрохимические показатели качества воды родника Белоглинка

Наименование показателя	Единицы измерения	Значение показателя	Норматив по СанПиН 2.1.4.1175-02 [2]
pH	–	7,4	6 – 9
Общая минерализация	мг/л	1218	1000 – 1500
Жесткость общая	мг-экв/дм^3	33,1	7,0
Хлорид-ионы	мг/дм^3	40,2	не более 350

Общая жесткость достаточно велика и составляет 33,1 мг-экв/дм^3 (табл. 4). Исследуемая родниковая вода относится к группе очень жестких вод.

Содержание хлоридов не превышает установленные нормы (табл. 4).

Насыщение воды кислородом в летнюю межень 2018 года критическое и составляет 0,8 мг/л или 7,08 % насыщения (табл. 5).

Таблица 5

Некоторые физико-химические показатели качества воды родника Белоглинка

Наименование показателя	Единицы измерения	Значение показателя
Растворенный кислород	мг/л	0,8
Щелочность	мг-экв/дм^3	5,0
Железо общее	мг/дм^3	0,08
Нитрит-ионы	мг/дм^3	0,085
Гидрокарбонат-ионы	мг/дм^3	610,0
Ионы кальция	мг/дм^3	483,6
Ионы магния	мг/дм^3	99,7

Содержание железа не превышает значений предельно допустимой концентрации равной 0,3 мг/л для вод, применяемых для питья, и составляет 0,08 мг/л. Содержание нитритов равно 0,085 мг/л и соответствует ПДК (3 мг/л) (табл. 5).

В воде исследуемого родника содержится 12,8 мг/л сероводорода [1], следовательно, она относится к слабосероводородным.

Результаты микробиологического исследования свидетельствуют о том, что в летнюю межень 2018 года не отмечалось превышение показателей общего микробного числа (табл. 6). Общие колиформные и термотолерантные

колиформные бактерии за период исследования в пробах не обнаруживались (табл. 6).

Таблица 6

Микробиологические показатели качества воды родника Белоглинка

Наименование показателя	Результат	Норма по СанПиН 2.1.4.1175-02 [2]
Общие колиформные бактерии КОЕ / 100 мл	0	отсутствие
Термотолерантные колиформные бактерии, КОЕ / 100 мл	0	отсутствие
Общее микробное число, КОЕ / 1 мл	20	100

В роднике Белоглинка в собранных образцах грунта представителей бентофауны не обнаружено.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Проведенные лабораторные исследования воды родника Белоглинка по органолептическим показателям показывают превышение нормативных значений по запаху. Изучаемая природная вода относится к группе жестких вод и ее применение может привести к нарушению функции почек, сердечно-сосудистой системы, опорно-двигательного аппарата и органов пищеварения [8]. Источник относится к слабосероводородным и мог бы быть использован в лечебных целях. Однако сероводородные воды обладают как полезными свойствами, так и могут нанести вред. Применение такой воды должно осуществляться только по назначению врача.

За период исследования в воде из родника превышений по санитарно-показательным бактериям выявлено не было.

Лимитирующим фактором для представителей бентофауны является критически низкое содержание растворенного кислорода. Сероводород в воде вреден для гидробионтов как косвенно – через снижение концентрации растворенного кислорода, идущего на окисление S^{2-} до S, так и непосредственно. Для многих представителей водного населения он смертелен даже в самых малых концентрациях [9].

В целом по комплексу представленных показателей отмечается не соответствие качества воды исследуемого родника по некоторым критериям согласно требованиям СанПиН 2.1.4.1175-02 «Гигиенические требования к качеству воды нецентрализованного водоснабжения. Санитарная охрана источников», т. е. не пригодна для питьевого использования.

Рекомендуется провести информирование населения, использующего воды родника Белоглинка в лечебных целях, о несоответствии по физико-химическим показателям, с целью предупреждения различных заболеваний.

Список литературы

1. Федеральный закон от 14.03.1995 № 33-ФЗ «Об особо охраняемых природных территориях».
2. Особо охраняемые природные территории Оренбургской области. Режим доступа : http://mpr.orb.ru/ecology/102/
3. Чибилев А. А. Природное наследие Оренбургской области : особо охраняемые природные территории / А. А. Чибилев, В. М. Павлейчик, А. А. Чибилев (мл). – Оренбург : УрО РАН, Печатный дом «Димур», 2009. – 328 с.
4. Абакумов В. А. Руководство по методам гидробиологического анализа поверхностных вод и донных отложений / В. А. Абакумов. – Ленинград : Гидрометеоиздат, 1983. – 240 с.
5. ГОСТ 18963-73 Вода питьевая. Методы санитарно-бактериологического анализа. Сборник ГОСТов. – М. : ФГУП «Стандартинформ», 2010.
6. ГОСТ 31861-2012 Вода. Общие требования к отбору проб. – М. : Стандартинформ, 2013. – 32 с.
7. Гигиенические требования к качеству воды нецентрализованного водоснабжения. Санитарная охрана источников. СанПиН 2.1.4.1175-02. Минздрав России, 2003. – 13 с.
8. Степанов Н. А. Характеристика влияния качественного состава питьевой воды на здоровье человека / Н. А. Степанов, Е. И. Заводова // Гигиена труда и медицинская экология. – 2015. – № 3. – С. 207–212.
9. Константинов А. С. Общая гидробиология / А. С. Константинов. – М. : Высшая школа, 1986. – 472 с.

MODERN ECOLOGICAL STATE OF THE NATURAL MONUMENT SPRING BELOGLINKA (SARAKTASH DISTRICT, ORENBURG REGION)

Shayhutdinova A. A.[1,2], Garitskaya M. Y.[2], Kholodilina T. N.[2]

[1]Institute of cellular and intracellular symbiosis of Orenburg Federal research center of Ural branch RAS, Orenburg, Russia
[2]Orenburg state University, Orenburg, Russia
E-mail: varvarushka@yandex.ru

On the territory of the Orenburg region is a spring Beioglinka, which is an outlet to the surface of hydrogen sulfide waters. Water from the spring Beloglinka actively used by the population of the Orenburg region for self-treatment of diseases of the gastrointestinal tract and skin.

During the field work in the summer low water in 2018, water samples were taken and morphometric characteristics of the spring were determined. The quality of spring water was assessed by organoleptic, physico-chemical and microbiological parameters for compliance with the requirements of SanPiN 2.1.4.1175-02 «Hygienic requirements for water quality of non-centralized water supply. Sanitary protection of sources».

As a result of the conducted researches it is-revealed that on organoleptic indicators water from a spring Beloglinka represents colorless transparent liquid without foreign inclusions. The smell of the investigated spring water is characterized as hydrogen sulfide and the intensity corresponds to 5 points.

The pH of the spring water equal to 7,4. The level of mineralization of water from the spring is 1218 mg/l, which fits into the existing standards SanPiN 2.1.4.1175-02.

As a result of studies it was found that the totai water hardness of the spring Beloglinka is large enough and is 33,1 mg-EQ/dm^3.

Water belongs to the group of very hard waters. The saturation of water with oxygen in the summer low water in 2018 is critical and is 0,8 mg/1 or 7,08 % saturation.

According to the iron content of the test water does not exceed the maximum permissible concentration of 0,3 mg /1 for water used for drinking and is 0,08 mg/1.Nitrite content is 0,085 mg/1 and corresponds to MPC (3 mg/1).The water of the studied spring contains 12,8 mg/l of hydrogen sulfide, respectively, it belongs to the low-hydrogen sulfide.

Keywords**:** nature monument, Beloglinka spring, Orenburg region.

References

1. Federal law of 14.03.1995 No. 33-FL «On specially protected natural areas».
2. Specially protected natural areas of the Orenburg region. Mode of access : http://mpr.orb.ru/ecology/102/
3. Chibilyov A. A., Pavlejchik V. M. and Chibilev A. A., *The Natural heritage of the Orenburg region: protected areas*, 328 p. (Printing house «Dimur», Orenburg, 2009).
4. Abakumov V. A., *A Manual on methods of hydrobiological analysis of surface waters and bottom sediments*, 240 p. (Gidrometeoizdat, Leningrad, 1983).
5. GOST 18963-73 Drinking Water. Methods of sanitary and bacteriological analysis. A Collection Of Standards (FSUE «STANDARTINFORM», Moscow, 2010).
6. GOST 31861-2012 Water. General requirements for sampling (STANDARTINFORM, Moscow, 2013).
7. Hygienic requirements for water quality of non-centralized water supply. Sanitary protection of sources. SanPiN 2.1.4.1175-02 (Ministry Of Health Of Russia, 2003).
8. Stepanov N. A. and Zavodova E. I., Characterization of the influence of the qualitative composition of drinking water on human health, *Occupational Hygiene and medical ecology*. 3, p. 207 (2015).
9. Konstantinov A. S., *General Hydrobiology*, 472 p. (High school, Moscow, 1986).

Ученые записки Крымского федерального университета имени В. И. Вернадского
Биология. Химия. Том 5 (71). 2019. № 1. С. 200–211.

УДК 612.821

ВЛИЯНИЕ ЭФИРНОГО МАСЛА КОТОВНИКА КОШАЧЬЕГО НА ПСИХОЭМОЦИОНАЛЬНОЕ СОСТОЯНИЕ И УМСТВЕННУЮ РАБОТОСПОСОБНОСТЬ ОБУЧАЮЩИХСЯ

Ярош А. М.[1], Ибрагимова Э. Э.[2], Тонковцева В. В.[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 ЭМ котовника кошачьего на психоэмоциональное состояние и умственную работоспособность обучающихся во время учебных занятий в двух возрастных группах: 17–21 и 22–45 лет. Показано, что ЭМ котовника кошачьего в обеих возрастных группах улучшило самооценку психоэмоционального состояния и тонуса обучаемых, более выраженно – в младшей группе. В корректурной пробе в старшей возрастной группе исходно темп работы достоверно выше, чем в младшей. В младшей группе ЭМ котовника кошачьего повысило темп работы к концу занятий, в старшей динамика не отличалась достоверно от контрольной. В обеих возрастных группах ЭМ котовника кошачьего предупредило повышение количества ошибок к концу занятий.
Ключевые слова: эфирное масло, котовник кошачий, обучающиеся, умственная работоспособность; психоэмоциональное состояние.

ВВЕДЕНИЕ

Современный этап развития общества ознаменовался бурным развитием науки и техники, что ставит задачу неуклонного повышения эффективности обучения, являющейся одной из приоритетных задач учебных заведений. В данном направлении проводится серьезная работа, однако следует отметить, что усложнение образовательных программ, увеличение учебной нагрузки и требований преподавателей в большинстве случаев может привести к переутомлению обучающихся и, как следствие, снижению эффективности обучения. В данном контексте использование методов, способствующих снижению указанных негативных процессов и улучшению психофизиологического статуса обучающихся имеет важную практическую ценность. К числу методов коррекции психоэмоционального состояния можно отнести ароматерапию [1]. В наших исследованиях было показано, что курсовое воздействие ЭМ котовника кошачьего повышает подвижность нейромышечных процессов и умственную работоспособность у людей молодого и среднего возрастов, а однократный сеанс улучшает общее состояние, самочувствие, настроение и работоспособность, а также снижает личностную тревожность [2, 3].

Целью данной работы является изучение влияния эфирного масла котовника кошачьего при его вдыхании в концентрации 1 мг/м^3 во время учебных занятий на психоэмоциональное состояние и умственную работоспособность обучающихся разных возрастных групп.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Исследование проводилось на базе ГБОУВО РК «Крымский инженерно-педагогический университет» г. Симферополь. В нем принимали участие обучающиеся двух возрастных групп: 80 человек (40 – опыт и 40 – контроль) в возрасте от 17 до 21 года (очная форма обучения) и 40 человек (20 – опыт и 20 – контроль) – 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 эфирного масла котовника кошачьего в концентрации 1 мг/м^3. Длительность аромавоздействия во время учебного занятия составляла 60 минут.

Основные компоненты (доля более 1%) эфирного масла (ЭМ) котовника кошачьего (*Nepeta cataria* L.): β-непеталактона – 37,09 %, цитронеллола – 18,83 %, α-непеталактона – 11,22 %, гераниола – 7,90 %, β-кариофиллена – 6,65 %, гераниаля – 4,03 %, непетовой кислоты – 2,79 %, цис-оцимена – 1,97 %, β-пинена – 1,29 %, цитронеллаля – 1,03 %, ментола – 1,04 %, менее 1 % – кариофилленоксида, гумулена, сабинена, α-пинена, линалоола, хризантемаля и др. Компонентный состав 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 (предлагалось оценить свое состояние отметкой на шкале по следующим параметрам: общее состояние, самочувствие, настроение, психологическая напряженность, работоспособность, бодрость, внимательность) [4].

– Модификация методики корректурной пробы (таблицы Иванова-Смоленского [5]), которая применяется для оценки темпа психомоторной деятельности, работоспособности, внимания и утомляемости.

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 с помощью программы Statistika Analystsoft [6].

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

В младшей возрастной группе (17–21 год) исходные (до начала занятия и воздействия ЭМ котовника кошачьего) 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 котовника кошачьего к концу занятий, в сравнении с исходными значениями, достоверно улучшилась оценка общего состояния, самочувствия, настроения и снизилась психологическая напряженность. При этом оценка самочувствия, настроения и психологической напряженности после занятий в опыте оказалась достоверно лучшей, чем в контроле.

Таблица 1

Влияние ЭМ котовника кошачьего 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	40	контрольная	109,20±4,25	114,30±3,66	
	40	опытная	108,50±3,17	120,70±3,05	0,001
Самочувствие	40	контрольная	105,10±4,14	106,38±4,42	
	40	опытная	103,88±2,79	119,55±2,99	0,0001
	$P_{к/о}$			0,02	
Настроение	40	контрольная	118,33±3,77	113,35±4,03	
	40	опытная	121,28±4,51	137,20±3,99	0,0002
	$P_{к/о}$			0,001	
Напряженность – расслабленность	40	контрольная	116,60±4,47	115,00±4,19	
	40	опытная	116,00±4,23	130,55±4,59	0,003
	$P_{к/о}$			0,02	

Условные обозначения: P – достоверность различий данных до и после воздействия, $P_{к/о}$ – достоверность различий данных контрольной и опытной групп ($p < 0,05$).

В старшей возрастной группе (22–45 лет) исходные (до начала занятия и воздействия ЭМ котовника кошачьего) значения изученных показателей психоэмоционального состояния обучающихся в контроле и в опыте не имели достоверных различий (таблица 2). В то же время, исходная оценка психологического напряжения в старшей группе достоверно хуже, чем в младшей (таблица 3) и в контроле, и в опыте.

В процессе занятий (контроль) значения общего состояния, самочувствия и настроения не претерпели достоверных изменений, психологическая напряженность

на уровне тенденции снизилась, но осталась на уровне тенденции более высокой, чем в младшей группе.

Таблица 2

Влияние учебного занятия с ЭМ котовника кошачьего 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	20	контрольная	101,80±6,24	103,90±4,94	
	20	опытная	106,00±8,94	123,95±8,89	0,02
	$P_{к/о}$			0,1	
Самочувствие	20	контрольная	106,40±5,75	102,30±5,15	
	20	опытная	109,10±9,07	114,65±9,77	
Настроение	20	контрольная	107,45±6,47	110,90±4,73	
	20	опытная	108,05±9,47	122,25±8,82	0,03
Напряженность – расслабленность	20	контрольная	93,75±3,79	100,20±4,56	0,06
	20	опытная	88,85±7,82	109,45±7,51	0,03

Условные обозначения: P – достоверность различий данных до и после воздействия, $P_{к/о}$ – достоверность различий данных контрольной и опытной групп ($p < 0,05$).

При проведении занятий на фоне ароматизации атмосферы помещения ЭМ котовника кошачьего к концу занятий в сравнении с исходными значениями достоверно улучшилась оценки общего состояния и настроения, уменьшилась психологическая напряженность. При этом оценка общего состояния после занятий в опыте оказалась на уровне тенденции лучшей, чем в контроле.

В сравнении с младшей группой после занятий в опыте остались худшими оценки настроения (тенденция) и психологической напряженности (таблица 3).

Таким образом, воздействие во время занятия эфирного масла котовника кошачьего в концентрации 1 мг/м^3 оказало положительное влияние на психоэмоциональное состояние обучающихся обеих возрастных групп, но более выраженно это проявилось в младшей возрастной группе.

Исходные (до начала занятия и воздействия ЭМ котовника кошачьего) значения изученных показателей тонуса обучающихся младшей возрастной группы в контроле и в опыте не имели достоверных различий (таблица 4). В процессе занятий (контроль) значения ни одного из показателей психоэмоционального состояния обучающихся в контроле не претерпели достоверных изменений.

Таблица 3

Сравнение влияния учебного занятия с ЭМ котовника кошачьего на самооценку психоэмоционального состояния у обучающихся 17–21 года (младшая группа) и 22–45 лет (старшая группа) через 60 минут экспозиции (по показателям теста для исследования самооценки по методике Дембо-Рубинштейн в модификации А.М. Прихожан, мм шкалы)

Показатель	n	Группа	Возрастная группа	До	После
Настроение	40	опытная	младшая	121,28±4,51	137,20±3,99
	20	опытная	старшая	108,05±9,47	122,25±8,82
		$P_{мл/ст}$			0,1
Напряженность – расслабленность	40	контрольная	младшая	116,60±4,47	115,00±4,19
	20	контрольная	старшая	93,75±3,79	100,20±4,56
		$P_{мл/ст}$		0,002	0,1
	20	опытная	младшая	88,85±7,82	109,45±7,51
	40	опытная	старшая	116,00±4,23	130,55±4,59
		$P_{мл/ст}$		0,002	0,02

Условные обозначения: $P_{мл/ст}$ – достоверность различий данных показателя между младшей и старшей группой ($p < 0,05$).

При проведении занятий на фоне ароматизации атмосферы помещения ЭМ котовника кошачьего значения показателей работоспособности, бодрости и внимательности к концу занятий достоверно улучшилась. При этом в конце занятий в опыте оценка бодрости оказалась достоверно лучшей, чем в контроле.

Таблица 4

Влияние ЭМ котовника кошачьего 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	40	контрольная	113,93±3,09	113,58±3,70	
	40	опытная	111,28±4,17	120,13±4,75	0,03
Вялость – бодрость	40	контрольная	102,23±5,01	106,00±5,23	
	40	опытная	101,25±5,61	121,18±5,62	0,002
		$P_{к/о}$		0,01	
Рассеянность – внимательность	40	контрольная	110,93±3,52	113,10±4,76	
	40	опытная	107,40±3,94	123,15±4,33	0,001

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 котовника кошачьего) значения изученных показателей тонуса обучающихся старшей возрастной группы в контроле и в опыте не имели достоверных различий (таблица 5). В то же время исходная оценка работоспособности в контроле старшей группы была достоверно хуже, чем в младшей.

В процессе занятий (контроль) значения ни одного из показателей тонуса не претерпели достоверных изменений.

При проведении занятий на фоне ароматизации атмосферы помещения ЭМ котовника кошачьего (опыт) достоверно улучшились оценки работоспособности и внимательности. При этом оценка работоспособности достигла уровня младшей группы.

Таблица 5

Влияние ЭМ котовника кошачьего 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	P	$P_{к/о}$ пос
Разбитость – работоспособность	20	контрольная	98,75±5,86	105,75±6,06		0,01
	$P_{мл/ст}$		0,02			
	20	опытная	98,75±9,50	123,70±8,24	0,004	
Вялость – бодрость	20	контрольная	99,65±5,83	104,15±6,17		
	20	опытная	104,45±8,49	112,25±8,19		
Рассеянность – внимательность	20	контрольная	107,20±3,78	110,55±5,24		
	20	опытная	103,65±9,41	118,55±7,82	0,01	

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 ($p < 0,05$).

Исходные (до начала занятия и воздействия ЭМ котовника кошачьего) значения изученных объективных показателей умственной работоспособности обучающихся младшей возрастной группы (темп работы и ошибки в корректурной пробе) в контроле и в опыте не имели достоверных различий (таблица 6).

В процессе занятий без ЭМ котовника кошачьего (контроль) на обеих минутах теста темп работы не изменился, а количество ошибок достоверно возросло.

На фоне ароматизации атмосферы помещения (опыт) на обеих минутах теста темп работы достоверно увеличился, а количество ошибок не изменилось.

Таблица 6.

Влияние ЭМ котовника кошачьего на умственную работоспособность обучающихся 17–21 года через 60 минут экспозиции во время учебного занятия (корректурная проба)

Показатель	Группа	n	Исходно	После	P
Темп на 1 минуте, знак/мин	контрольная	40	310,00±6,03	313,00±7,15	
	опытная	40	312,00±8,50	366,00±7,52	0,00000001
	$P_{к/о}$			0,001	
Темп на 2 минуте, знак/мин	контрольная	40	309,00±9,06	313,00±8,34	
	опытная	40	309,25±12,39	366,23±9,96	0,000001
	$P_{к/о}$			0,001	
Ошибки на 1 минуте, знак	контрольная	40	1,50±0,30	3,18±0,45	0,002
	опытная	40	1,85±0,29	1,80±0,31	
	$P_{к/о}$			0,02	
Ошибки на 2 минуте, знак	контрольная	40	1,85±0,38	3,25±0,55	0,02
	опытная	40	1,73±0,29	2,28±0,34	

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 котовника кошачьего) значения изученных показателей умственной работоспособности обучающихся старшей возрастной группы (темп работы и ошибки в корректурной пробе) в контроле и в опыте не имели достоверных различий (таблица 7). В то же время, темп работы на первой минуте был достоверно выше, чем в младшей группе, на второй минуте – на уровне тенденции в контроле. Различия в ошибках между старшей и младшей группами не достоверны.

В процессе занятий (контроль) темп работы на 1-й минуте теста достоверно снизился, а на 2-й не претерпел достоверных изменений в сравнении с исходным. Соответственно, темп работы в контроле после занятий в старшей группе на обеих минутах достоверно выше в сравнении с соответствующими контролями в младшей группе. Ошибки после занятий (контроль) в старшей группе увеличились на 1-й минуте теста и на обеих минутах теста не имели достоверных отличий от младшей.

При проведении занятий на фоне ароматизации атмосферы помещения ЭМ котовника кошачьего темп работы в старшей группе достоверно снизился на 1-й минуте теста и на уровне тенденции – на 2-й и на обеих минутах теста стал достоверно ниже темпа работы после занятий в младшей группе. Количество ошибок к концу занятий в опыте не изменилось на обеих минутах теста и стало меньшим, чем в контроле, а на 2-й минуте – на уровне тенденции меньшим, чем в младшей группе.

Таблица 7

Влияние ЭМ котовника кошачьего на умственную работоспособность обучающихся 22–45 лет через 60 минут экспозиции во время учебного занятия (корректурная проба)

Показатель	Группа	n	Исходно	После	P	$P_{к/о}$ пос
Темп на 1 минуте, знак/мин	контрольная	20	364,00±14,19	340,00±9,84	0,01	
	$P_{мл/ст}$		0,001	0,05		
	опытная	20	366,00±12,74	336,00±12,78	0,01	
	$P_{мл/ст}$		0,001	0,05		
Темп на 2 минуте, знак/мин	контрольная	20	342,00±15,75	352,00±12,17		0,05
	$P_{мл/ст}$		0,1	0,01		
	опытная	20	338,00±13,76	318,00±11,04	0,06	
	$P_{мл/ст}$ <			0,01		
Ошибки на 1 минуте, знак	контрольная	20	1,30±0,26	3,20±0,68	0,02	0,1
	опытная	20	1,50±0,44	1,75±0,31		
Ошибки на 2 минуте, знак	контрольная	20	1,65±0,44	2,90±0,62		0,05
	опытная	20	1,70±0,59	1,30±0,29		
	$P_{мл/ст}$			0,1		

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 котовника кошачьего в обеих возрастных группах улучшило психоэмоциональное состояние обучаемых и самооценку тонуса. Однако обучающиеся младшей группы в этом плане оказались более чувствительными к действию ЭМ котовника кошачьего: более выраженно, чем в старшей группе улучшились психоэмоциональное состояние и оценка тонуса.

При объективном тестировании умственной работоспособности в простых операциях также выявилась разница между разными возрастными группами. Исходный темп работы в корректурной пробе в старшей группе был достоверно большим, чем в младшей, на обеих минутах теста. Но к концу занятий в старшей группе он достоверно снизился на 1-й минуте теста и в контроле, и в опыте, и на уровне тенденции на 2-й минуте в опыте. В младшей группе к концу занятий он не изменился в контроле и достоверно увеличился в опыте на обеих минутах теста. Иными словами, ЭМ котовника кошачьего при исходно высоких значениях темпа работы в корректурной пробе не проявляет никакого действия – динамика как в контроле. При пониженной исходной скорости работы ЭМ котовника кошачьего, в отличие от психорелаксационной программы (контроль), повышает значение этого показателя.

Ошибки выросли к концу занятий в контроле и не изменились в опыте в обеих возрастных группах. А поскольку ошибки являются индикатором сосредоточенности, внимания при проведении теста, можно прийти к заключению,

что ЭМ котовника кошачьего стабилизирует умственные процессы при выполнении теста, способствует повышению внимательности. Полученные данные согласуются с литературными, согласно которым растения подсемейства Котовниковые (*Nepetoídeae*), обладают выраженным противотревожным и антидепрессивным действием [7, 8], обусловленным высоким содержанием биологически активных соединений.

Обычно повышение скорости работы приводит к увеличению количества ошибок. По-видимому, стабилизирующее влияние ЭМ котовника кошачьего оказалось столь значительным, что увеличение скорости работы в младшей группе не отразилось на ошибках. Основной механизм действия ЭМ – метаболический, протекающий на внутриклеточном уровне благодаря поступлению в организм дефицитного промежуточного метаболита, замыкающего цепь последовательных биохимических реакций [9]. Стабилизация умственных процессов у испытуемых при воздействии ЭМ котовника кошачьего может быть следствием усиления выделения нейромедиатора гамма-аминомасляной кислоты (ГАМК, GABA) в аксо-аксональных терминалях нейронов головного мозга. В частности, установлено, что флавоноид главного компонента *N. menthoides* выполняет роль пускового механизма системы ГАМК [10]. ГАМК является одним из самых важных тормозных нейромедиаторов ЦНС, рецепторы которого присутствуют практически во всех нейрональных группах структур головного мозга [11]. В процессе пресинаптического торможения аксо-аксональные синапсы выделяют ГАМК, осуществляющую локальную деполяризацию мембраны, приводящую к снижению выделения возбуждающего нейтротрансмиттера в синапсах [12].

Установлено, что ГАМК-ергические вещества обладают способностью к снижению тонуса сосудов головного мозга, что приводит к улучшению его кровоснабжения, осуществляемого в результате непосредственного влияния ГАМК-рецепторов стенок сосудов [13]. Становится очевидным, что выделение тормозного медиатора в сочетании с улучшенным кровоснабжением головного мозга будет способствовать повышению умственных процессов и концентрации внимания у обучающихся. Следует отметить, что активность пресинаптического торможения зависит от возраста испытуемых [14–16], возможно этим обусловлено то, что обучающиеся младшей возрастной группы оказались более чувствительными к действию ЭМ котовника кошачьего, проявляющемуся в выраженном психоэмоциональном состоянии.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

1. В обеих возрастных группах к концу занятия без воздействия ЭМ котовника кошачьего (контроль) не отмечено достоверных изменений в сравнении с исходными самооценок психоэмоционального состояния и тонуса.
2. ЭМ котовника кошачьего в обеих возрастных группах улучшило самооценку психоэмоционального состояния и тонуса обучаемых во время занятий, более выраженно – в младшей возрастной группе.
3. В корректурной пробе в младшей возрастной группе, где исходно темп работы

на первой минуте теста достоверно ниже, чем в старшей, и в контроле, и в опыте, ЭМ котовника кошачьего достоверно стимулировало темп работы на обеих минутах теста. В старшей возрастной группе оно не оказало достоверного влияния на этот показатель.

4. Ошибки работы в корректурной пробе в обеих возрастных группах одинаковы и возрастают к концу занятий в контроле. ЭМ котовника кошачьего предупреждает рост числа ошибок в обеих группах.
5. Высказано предположение, что стабилизация умственных процессов и концентрация внимания при выполнении теста в сочетании с действием ЭМ котовника кошачьего, обусловлена выделением аксо-аксональных синапсов нейронов головного мозга тормозного нейромедиатора гамма-аминомасляной кислоты, обуславливающего концентрацию нервных процессов и улучшение кровоснабжения головного мозга.

Список литературы

1. Сахаров Б. Ароматерапия / Борис Сахаров. – М.: Профит-Стайл, 2018. – 288 с.
2. Тонковцева В. В. Влияние на нервную систему человека курсового воздействия эфирным маслом котовника кошачьего / Тонковцева В. В., Ярош А. М. // Таврический медико-биологический вестник. – 2012. – Том 15, № 1 (57). – С. 321–327.
3. Тонковцева В. В. Влияние курсового воздействия эфирными маслами лаванды узколистной и котовника кошачьего на психоэмоциональное состояние, умственную работоспособность и нейромоторные процессы человека в условиях курортной рекреации / Тонковцева В. В., Ярош А. М. // Сборник научных трудов ГНБС. – 2015. – Том 141. – С. 65–78.
4. Яньшин П. В. Клиническая психодиагностика личности. Учебно-методическое пособие. 2-е изд., испр. / Яньшин П. В. – СПб.: Речь, 2007. – 320 с.
5. Столяренко Л.Д. Основы психологии: Практикум / Л.Д. Столяренко. – Ростов-на-Дону: Феникс, 2002. – С. 42–44.
6. AnalystSoft Inc. Дружелюбная статистика для ПК // URL: www.analystsoft.com/ru (Accessed 25.05.2018).
7. Bernardi M.M. Antidepressant-like effects of an apolar extract and chow enriched with *Nepeta cataria* (catnip) in mice / M.M. Bernardi, T.B. Kirsten, S.A. Salzgeber, E.L.Ricci et al. // Psychology & Neuroscience. – 2010. – Vol. 3. – №. 2. – P. 251–258.
8. Rabbani M. Evaluation of the anxiolytic effect of *Nepeta persica* Boiss. in mice / M. Rabbani, S. E. Sajjadi, A. Mohammadi // Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine. – 2008. – Vol. 5, №. 2. – P. 181-186.
9. Бобрик Ю.В. Ароматерапия, аэрофитотерапия – перспективы развития и возможности применения при реабилитации больных, профилактике заболеваний / Ю.В. Бобрик, И.Ю. Тимофеев, А.В. Кулинченко, А.С. Бабынин, С.В. Козуля // Таврический медико-биологический вестник. – 2014. – Том 17, №2 (66). – С. 17–21.
10. Ranjbar M. Efficacy of a Combination of Melissa officinalis L. and Nepeta Menthoides Boiss. & Buhse on Insomnia: A Triple-Blind, Randomized Placebo-Controlled Clinical Trial / M. Ranjbar, A. Salehi, H. Rezaeizadeh, M.M. Zarshenas, K. Sadeghniiat-Haghighi, M. Mirabzadeh, A. Firoozabadi // The journal of Alternative and Complementary Medicine. – 2018. – P. 1–7.
11. Fagg G. E Amino acid neurotransmitters and their pathways in the mammalian central nervous system / G.E. Fagg, A.C. Foster // Neuroscience. – № 9. – P. 701–709.
12. Aymard C. Modulation of presynaptic inhibition of Ia afferents during voluntary wrist flexion and extension in man / C. Aymard, M. Baret, R. Katz, C. Lafitte, A. Pénicaud, S. Raoul // Experimental Brain Research. – 2001. – V. 137. – P. 127–131.
13. Мирзоян Р.С. Нейропротекторные и цереброваскулярные эффекты ГАМК-миметиков / Р. С. Мирзоян // Экспериментальная и клиническая фармакология. – 2003. – Том 66. – №2. – С. 53–56.

14. Челноков А.А. Возрастные особенности спинального торможения человека при произвольной двигательной активности мышц голени / А.А. Челноков, Р.М. Городничев // Теория и практика физической культуры. – 2013. – № 11.– С. 80.
15. Челноков А.А. Возрастные особенности формирования спинального торможения скелетных мышц у лиц мужского пола / А.А. Челноков, Р.М. Городничев // Физиология человека. – 2015. – Том 41, № 6. – С. 86–94.
16. Челноков А.А. Нейрональные тормозные сети спинного мозга (научный обзор) / А.А. Челноков // NovaInfo.Ru. Биологические науки – 2016. – № 42–3.– С. 24–47.

IMPACT OF *NEPETA CATARIA* ESSENTIAL OIL ON THE PSYCHO–EMOTIONAL STATE AND MENTAL CAPACITY OF STUDENTS

Yarosh A. M.[1], Ibragimova E. E.[2], Tonkovtseva V. V.[1], Bekmambetov T. R.[1]

[1]FSFIS "The Nikitsky Botanical Gardens – National Scientific Center of the RAS", Nikita, Yalta, Crimea, Russia
[2]FSFIHE RC "The Crimean Engineering Pedagogical University", Simferopol, Crimea, Russia
E-mail: valyalta@rambler.ru

The impact of *Nepeta Cataria* essential oil on the psycho-emotional state and mental capacity of students of two age groups (17–21 and 22–45 years) during classes has been studied. It is shown that *Nepeta Cataria* essential oil in both age groups improved the self-esteem of the psycho-emotional state and tonus of students, and it was more pronounced in the younger group. In the correction task of the older age group, the initial rate of work was significantly higher than in the younger one. In the younger group the essential oil of *Nepeta Cataria* made the pace of work increase by the end of classes, in the older one the dynamics did not differ significantly from the control. In both age groups the use of *Nepeta Cataria* essential oil prevented the increase in the number of errors by the end of classes.

It has been suggested that stabilization of mental processes and concentration of attention when performing a test in combination with the effect of *Nepeta cataria* essential oil is due to the release of axo-axonal synapses of brain neurons of the inhibitory neurotransmitter GABA, which causes the concentration of nerve processes and the improvement of blood supply to the brain.

Selection of the inhibitory mediator in combination with an improved blood supply to the brain contributes to an increase in mental processes and concentration of attention in students. It should be noted that the activity of presynaptic inhibition depends on the age of the subjects, perhaps this is due to the fact that students of the younger age group were more sensitive to the effect of *Nepeta cataria* essential oil, which manifests itself in a pronounced psycho-emotional state.

***Keywords*:** essential oil, *Nepeta Cataria*, students, mental capacity, psycho-emotional state.

References

1. Sakharov B. Aromatherapy, 288 p (Moscow: Profit-Style, 2018).
2. Tonkovtseva V.V., Yarosh A.M. Changes of function of the nervous system of manat the course of influence of *Nepeta cataria* L. essential oil, *Tauride's biomedical newsletter*. **15** (1, 57), 327 (2012).
3. Tonkovtseva V.V., Yarosh A. M. Course treatment with essential oils of Lavandula officinalis and *Nepeta cataria* and its effect on human psychoemotional state, mental capacity and neuromotor processes under conditions of resort recreation, *Works of the State Nikit. Botan. Gard.* 141, 78 (2015).
4. Yanshin P.V., Clinical psychodiagnostics of the person. *Educational and methodical gran*, 320 p (St. Petersburg: Speech, 2007).
5. Stolyarenko, L.D. Fundamentals of psychology: Workshop, 704 p. (Rostov-on-Don: Phoenix, 2006).
6. AnalystSoft Inc. (Electronic resource) *Friendly statistics for PC*, www.analystsoft.com/ru (Accessed 25.05.2018).
7. Bernardi M.M. Antidepressant-like effects of an apolar extract and chow enriched with *Nepeta cataria* (catnip) in mice, *Psychology & Neuroscience*. **3 (**2), 258 (2010).
8. Rabbani M. Evaluation of the anxiolytic effect of *Nepeta persica* Boiss. in mice, Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine. **5** (2), 186 (2008).
9. Bobrik Yu.V., Timofeev I.Yu., Kulinchenko A.V., Babynin A.S., Kozulya S.V. Aromatherapy and aerophytotherapy prospects of development and possibilities of application for prophylaxis of diseases and rehabilitation of patients, *Tauride's biomedical newsletter*. **17** (2, 66), 21 (2014).
10. Ranjbar M., Salehi A., Rezaeizadeh H., Zarshenas M.M., Sadeghniiat-Haghighi K., Mirabzadeh M., Firoozabadi A. Efficacy of a Combination of *Melissa officinalis* L. and *Nepeta menthoides* Boiss. & Buhse on Insomnia: A Triple-Blind, Randomized Placebo-Controlled Clinical Tria, *The journal of Alternative and Complementary Medicine*. 7 (2018).
11. Fagg G.E., Foster A.C. Amino acid neurotransmitters and their pathways in the mammalian central nervous system, *Neuroscience*. **9** (4), 709 (1983).
12. Aymard C., Baret M., Katz R., Lafitte C., Pénicaud A., Raoul S. Modulation of presynaptic inhibition of Ia afferents during voluntary wrist flexion and extension in man, *Experimental Brain Research*. **137**, 131 (2001).
13. Mirzoyan P.C. Neuroprotective and cerebrovascular effects of GABA mimetics, *Experimental and clinical pharmacology*. **66** (2), 56 (2003).
14. Chelnokov, A.A., Gorodnichev, R.M. Age-related features of human spinal inhibition at voluntary shin muscle activity, *Theory and Practice of Physical Culture*, **11**, 80 (2013).
15. Chelnokov A.A., Gorodnichev R.M. Age peculiarities of the spinal inhibition of skeletal muscles formation in male persons*, Human physiology*. **41** (6), 94 (2015).
16. Chelnokov A.A. Neural brake networks of the spinal cord (scientific review), *NovaInfo.Ru. Biological sciences*. **42-3**, 47 (2016).

ХИМИЧЕСКИЕ НАУКИ

Ученые записки Крымского федерального университета имени В. И. Вернадского
Биология. Химия. Том 5 (71). 2019. № 1. С. 212–220.

УДК 663.252.6/.253.34:543.544.4(470.75)

ИССЛЕДОВАНИЕ ФЕНОЛЬНОГО СОСТАВА ВИНОПРОДУКЦИИ В ЗАВИСИМОСТИ ОТ СПОСОБА ПЕРЕРАБОТКИ ВИНОГРАДНОЙ ГРОЗДИ

Аристова Н. И.[1], Гришин Ю. В.[1], Панов Д. А.[2]

[1]ФГБУН «ВННИИВиВ «Магарач» РАН», Ялта, Республика Крым, Россия
[2]Таврическая академия (структурное подразделение) ФГАОУ ВО «Крымский федеральный университет им. В. И. Вернадского», Симферополь, Республика Крым, Россия
E-mail: akademik_n@mail.ru

В данной работе приведены результаты исследований фенольного состава и антиоксидантной активности столовых виноматериалов из белых технических сортов винограда, выращенного в условиях климата Республики Крым, в зависимости от способа его переработки и с использованием виноградных гребней. Исследование показало, что полное сбраживание сахаров мезги с гребнями приводит к повышению в продукции массовых концентраций фенольных веществ в 5 раз и антиоксидантной активности в 2,0 раза по сравнению с традиционным способом «по-белому». Установлено, что содержание основных мономерных форм фенольных соединений столовых белых виноматериалов, полученных брожением мезги с гребнями, изменяется в следующей последовательности: флаван-3-олы > оксикоричные кислоты > оксибензойные кислоты > флавоны. Выведены уравнения регрессий, отражающие взаимосвязь показателя антиоксидантной активности и значения массовой концентрации фенольных веществ в столовых белых виноматериалах, полученных с использованием гребней. Разработанный ресурсосберегающий способ переработки винограда белых технических сортов с применением отходов виноделия позволит получить высококачественную продукцию, обогащенную биологически активными соединениями.
Ключевые слова: виноград, виноматериал; виноградные гребни, фенольные соединения, процианидины, антиоксидантная активность.

ВВЕДЕНИЕ

Современные технологии глубокой переработки пищевого сырья строятся на принципах безотходного производства: продукты переработки либо возвращаются в производственный цикл, либо используются в других отраслях, в том числе в сельскохозяйственном производстве. Внедрение таких технологических схем позволит получить новые продукты. В рамках выполнения мероприятий Комплексной программы развития биотехнологии в Российской федерации на период до 2020 года будут созданы условия для распространения технологий глубокой переработки пищевого сырья и радикального снижения отходов пищевой промышленности [1].

Из литературных данных известно, что при переработке 1 тыс. тонн винограда на сусло и вино образуется примерно 120 т выжимки, 4 т семян, 5 т гребней и других вторичных продуктов виноделия. Характеристика гребней, отделяемых при дроблении винограда как отходы виноделия имеет следующую характеристику: массовая концентрация сахаров – 1,5–2,0 г/дм^3, массовая доля фенольных веществ 3–6 %, минеральных веществ до 2,5 %, винной кислоты около 0,1 % [2]. В научной отечественной литературе также известны данные об исследовании антиоксидантной активности (АОА) плодовых культур, гребней винограда, фенольных соединений и АОА белых игристых вин различных стран-производителей, качества и безопасности вин, полученных вторичным брожением [3–6]. В работах зарубежных ученых L. L. Chaillou и G. Serrelli имеются данные об изучении фенольных соединений столовых белых вин, проявляющих антиоксидантные свойства в зависимости от технологии получения продукции [7, 8].

Согласно исследованиям J. Tauchen, столовые белые вина, приготовленные из винограда белых технических сортов («Совиньон блан», «Шардоне» и «Ркацители») по общепринятой в Европе технологии, предполагающей быстрое отделение сусла от твёрдых частей винограда, обладают низким значением массовой концентрации фенольных веществ, варьирующим в диапазоне от 0,20 до 0,29 г/дм^3. В тоже время вино, приготовленное из винограда сорта Ркацители с применением кахетинской технологии (брожение мезги с гребнями), отличалось более высокой массовой концентрацией фенольных веществ, составившей 0,40 г/дм^3. Также в результате данных исследований двумя методами DPPH и ORAC [9] была установлена величина АОА, составившая для столовых белых вин европейского типа диапазоны значений 0,07–0,34 г/дм^3 (в пересчёте на Тролокс методом DPPH) и 0,48–1,64 г/дм^3 (в пересчёте на Тролокс методом ORAC), а в случае столового белого вина, приготовленного по кахетинскому методу брожения, значение данного показателя составило 0,54 и 1,67 г/дм^3 (в пересчёте на Тролокс этими же методами), соответственно. Природный антиоксидант ресвератрол был обнаружен только в образце, приготовленном по кахетинскому способу, в котором его содержание составило 0,32 мг/л, а значение массовой концентрации кверцетина находилось в пределах обнаружения [9].

Фенольные соединения обладают высокой биологической активностью и участвуют в регулировании различных процессов. Твердые элементы грозди содержат большое количество природных антиоксидантов, проявляющие противовоспалительные, антиаллергенные, антиканцерогенные свойства. Полифенолы винограда в основном содержатся в семенах (60 % от суммы фенольных соединений), в кожуре (30 %) и в меньшей степени в мякоти и кистях (10 %). Процианидины олигомерные и полимерные принадлежат к группе соединений, которые недостаточно изучены, поэтому изучение этого вопроса представляет особый интерес. В литературе имеются данные о биологической активности процианидинов. Они способны ингибировать рост раковых клеток, угнетать процессы, связанные с образованием холестерина, подавлять активность ферментов, участвующих в воспалительных процессах [10].

Однако малоизученным остаётся вопрос формирования индивидуального фенольного состава и антиоксидантной активности столовых белых вин в зависимости от способа переработки виноградной грозди с использованием гребней и мезги.

Целью данной работы являлось исследование динамики компонентного фенольного состава полученной винопродукции из белых сортов винограда в зависимости от способа переработки виноградной грозди с использованием гребней в условиях климата Республики Крым.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Объектами исследований являлись образцы виноматериалов из винограда белых технических сортов «Ркацители», «Шардоне» и «Рислинг рейнский», выращенных в условиях климата Республики Крым. Исследуемые образцы виноматериалов были получены микровиноделием с использованием традиционного технологического способа «по-белому» (контроль) и с использованием твердых частей винограда (гребни, мезги). Отбор проб виноматериалов осуществляли по ГОСТ 31730-2012 [11], подготовку проб – по ГОСТ 26671-2014 [12]. Основные физико-химические показатели образцов столовых белых виноматериалов определяли стандартизированными и принятыми в виноделии методами анализа [13].

Антиоксидантную активность определяли методом хемилюминисценции на приборе фотохемилюминометр Photochem производства Analytik Jena AG (США). Массовую концентрацию фенольных веществ определяли фотоколориметрическим методом. Качественный и количественный состав фенольных веществ в объектах исследования определяли методом высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ) с использованием хроматографической системы Agilent Technologies (модель 1100, США) с диодно-матричным детектором и методикам [14]. Для разделения веществ полифенольной природы использовали хроматографическую колонку Zorbax SB-C18 размером 2,1×150 мм, заполненную силикагелем с привитой октадецилсилильной фазой с размером частиц сорбента 3,5 мкм. Хроматографирование проводили в градиентном режиме. В состав элюента входили 0,6 % водный раствор трифторуксусной кислоты и метанол. Скорость потока элюента – 0,25 мл/мин, объем вводимой пробы – 1 мкл. Идентификацию компонентов производили путем сравнения спектральных характеристик и времени удерживания со стандартными образцами. Расчёт количественного содержания индивидуальных компонентов производили с использованием калибровочных графиков зависимости площади пика от концентрации вещества, построенных по растворам индивидуальных веществ. В качестве стандартов использовали галловую кислоту, кофейную кислоту, (+)-D-катехин, кверцетин дигидрат, изокверцитрин (Fluka Chemie AG, Швейцария) и (-)-эпикатехин, сиреневую кислоту фирмы (Sigma-Aldrich, Швейцария). Все определения проводили в трёх повторностях. Результаты исследований обрабатывали стандартными методами математической статистики. Стандартное отклонение результатов измерений не более 5 %.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Основные химико-технологические показатели образцов столовых белых виноматериалов, приготовленных различными технологическими схемами, соответствовали ГОСТ 32030-2013 [15].

Анализ полученных данных (Табл. 1 и 2) показал**,** что идентифицированный компонентный состав фенольных соединений столовых виноматериалов из винограда белых технических сортов, полученных с применением различных способов переработки (традиционного способа «по-белому» и с различной степенью сбраживания сахаров и с использованием ферментированных гребней) состоит из мономерных форм – флавонов, флаван-3-олов, оксибензойных и оксикоричных кислот, а также из мономерных и полимерных процианидинов.

Таблица 1

Фенольный компонентный состав образцов столовых виноматериалов из белых сортов винограда, полученных различными способами переработки

№	Наименование виноматериала	Массовая концентрация, мг/дм^3			
		Флаван-3-олы	Флавоны	Окси-бензойные кислоты	Оксико-ричные кислоты
1	Ркацители «по-белому» способу (контроль)	14,70	0,20	1,30	25,00
2	Ркацители, частичное сбраживание сахаров с гребнями	62,40	3,60	8,20	29,60
3	Ркацители, полное сбраживание сахаров с гребнями	111,60	4,70	17,80	34,40
4	Шардоне «по-белому» способу (контроль)	13,70	-	-	27,13
5	Шардоне, частичное сбраживание сахаров с гребнями	67,80	20,50	9,00	31,80
6	Шардоне, полное сбраживание сахаров с гребнями	119,56	37,40	15,69	42,26
7	Рислинг рейнский «по-белому» способу (контроль)	12,65	-	3,01	31,13
8	Рислинг рейнский, частичное сбраживание сахаров с гребнями	65,24	7,34	12,49	36,96
9	Рислинг рейнский, полное сбраживание сахаров с гребнями	115,01	16,20	19,92	48,00

Таблица 2

Фенольный компонентный состав и АОА образцов столовых виноматериалов из белых сортов винограда, полученных различными способами переработки

№	Наименование виноматериала	Массовая концентрация олигомерных процианидинов, мг/дм^3	Массовая концент-рация полимер-ных процианидинов мг/дм^3	АОА, г/дм^3
1	Ркацители «по-белому» способу (контроль)	259,10	375,00	0,87
2	Ркацители, частичное сбраживание сахаров с гребнями	626,00	1328,00	1,42
3	Ркацители, полное сбраживание сахаров с гребнями	786,00	2122,00	1,74
4	Шардоне «по-белому» способу (контроль)	97,00	101,00	0,79
5	Шардоне, частичное сбраживание сахаров с гребнями	163,00	433,00	1,32
6	Шардоне, полное сбраживание сахаров с гребнями	291,00	770,00	1,65
7	Рислинг рейнский «по-белому» способу (контроль)	106,00	146,00	0,81
8	Рислинг рейнский, частичное сбраживание сахаров с гребнями	209,00	662,00	1,50
9	Рислинг рейнский, полное сбраживание сахаров с гребнями	276,00	840,00	1,68

При этом способ переработки винограда белых технических сортов с использованием гребней позволяет получить более высокое содержание фенольных веществ различных форм, чем в традиционном способу переработки винограда «по-белому» (контроль). Отличие мономерных форм фенольных соединений виноматериала из винограда сорта «Шардоне», полученного традиционным способом «по-белому» (контроль) состоит в отсутствии флавонов и оксибензойных кислот, а в виноматериале из винограда сорта «Рислинг рейнский» отсутствуют флавоны. Установлено, что полное сбраживание сахаров мезги с гребнями приводит к повышению в виноматериале из винограда сорта «Ркацители» массовых концентраций фенольных веществ в 4,6 раза и АОА в 2,0 раза по сравнению с традиционным способом «по-белому». Аналогичная зависимость наблюдается для

винограда сорта «Шардоне» – массовая концентрация фенольных веществ возрастает в 5,3 раза и АОА в 2,0 раза. Для винограда сорта «Рислинг рейнский» – массовая концентрация фенольных веществ повышается в 4,4 раза и АОА в 2,1 раза.

Практически во всех виноматериалах были идентифицированы олигомерные и полимерные процианидины. Сумма процианидинов составляет основную массу (80–90%) фенольных веществ, причем наибольшее содержание наблюдается в столовых образцах виноматериала «Ркацители». Согласно табличным данным мономерный фенольный состав виноматериалов, приготовленных по общепринятой технологии для получения белых вин, представлен, в основном, оксикоричными кислотами (50%), а в виноматериалах, полученных путем сбраживания сахаров с гребнями, представлен флаван-3-олами (60%).

Методом регрессионного анализа были получены уравнения регрессий, отражающие взаимосвязь показателя антиоксидантной активности и значения массовой концентрации фенольных веществ в виноматериалах приготовленных без контактирования с твердыми частями винограда (контроль) и с использованием ферментированных гребней:

«Ркацетели»: $y = 0{,}365x + 0{,}636$, $R^2 = 0{,}996$,

где y – показатель антиоксидантной активности, г/дм^3;

x – значение массовой концентрации фенольных веществ, г/дм^3;

R^2 – коэффициент детерминированности.

«Шардоне»: $y = 0{,}822x + 0{,}636$, $R^2 = 0{,}972$.

«Рислинг рейнский»: $y = 0{,}875x + 0{,}568$, $R^2 = 0{,}984$.

На основании данных таблиц были построены графики зависимости показателя АОА от массовой концентрации фенольных веществ виноматериалов, полученных различными способами (Рис. 1).

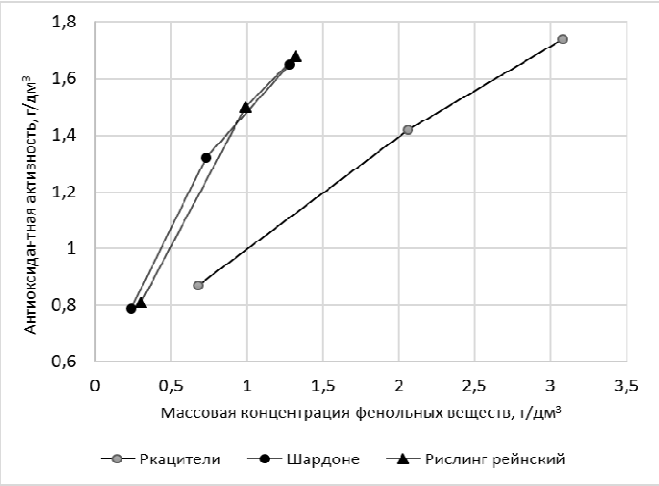


Рис. 1. Зависимость АОА от массовой концентрации фенольных веществ виноматериалов, полученных различными способами.

Проведенный регрессионный анализ показал наличие положительной корреляционной зависимости между массовой концентрацией фенольных веществ и антиоксидантной активностью

Работа выполнена в рамках Государственного задания ФАНО России (№ 0833-2015-0001).

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

1. Изучен фенольный состав и антиоксидантная активность столовых белых виноматериалов из технического винограда белых сортов с использованием гребней.
2. Показано, что полное сбраживание сахаров мезги с гребнями приводит к повышению содержания фенольных веществ в 4,4–5,3 раза, а антиоксидантной активности – в 2,0–2,1 раза по сравнению с традиционным способом «по-белому».

Список литературы

1. Распоряжение правительства РФ от 17 апреля 2012 г. № 559-р Стратегия развития пищевой и перерабатывающей промышленности Российской Федерации на период до 2020 года [Электронный ресурс] – Режим доступа: http://base.consultant.ru.
2. Шольц, Е.П. Технология переработки винограда: учеб. пособие для вузов / Е. П. Шольц, В. Ф Пономарев. – М.: Агропромиздат, 1990. – 447 с.
3. Романова Н.Г. Определение антиоксидантной активности плодово-ягодного сырья, гребней винограда, зеленого и черного чая / Н.Г. Романова, В.Н. Зеленков, А.А. Лапин // Известия ТСХА. – 2011. – Вып. 3. – С. 163–167.
4. Гришин Ю.В. Исследование антиоксидантной активности фенольных веществ белых игристых вин различных стран- производителей / Ю.В. Гришин, Н.И. Аристова, Д.А. Панов // Ученые записки Крымского федерального университета имени В.И. Вернадского. Сер Биология, химия. – 2018. – Т.4 (70), № 2. – С. 193–202.
5. Аристова Н.И. Исследование показателей качества и безопасности вин, полученных вторичным брожением / Н.И Аристова, Ю.В. Гришин [и др.] // «Инновации в пищевой биотехнологии»: сборник трудов Международного симпозиума (14-16 мая 2018 г.), г. Кемерово / под общ. ред. А.Ю. Просекова; ФГБОУ ВО «Кемеровский государственный университет». – Кемерово, 2018. – С. 384–389.
6. Лутков И.П. Влияние мацерации на качество виноматериалов для игристых вин / И.П. Лутков, А.С. Макаров, Т.А. Жилякова, Н.И. Аристова, Н.Ю. Луткова, Д.В. Ермолин // «Магарач». Виноградарство и виноделие. – 2007. – № 2. – С. 16–18.
7. Chaillou L.L. New method to determine antioxidant activity of polyphenols / L.L. Chaillou, M. A. Nazareno // J. of Agricultural and Food Chemistry. – 2006. – V. 54. – P. 8397–8402.
8. Serrelli G. Evalution of natural occurring bioactive compounds and antioxidant activity in Nugarus white wines / G. Serrelli, I. Jerkovic, Z. Marianovic, K.A. Gil, C.I.G. Tuberoso // J. Food Research Internatoinal – 2017. – V. 99. – P. 571–576.
9. Tauchen J. In vitro antioxidant activity and phenolic composition of Georgian, Central and West European wines / J. Tauchen, P. Marsik, M. Kvasnikova, D. Maghradze, L. Kokoska, T. Vanek, P. Landa // J. of Food Composition and Analysis – 2015. – V. 41. – P. 113–121.
10. Sandhu Amandeep K. Effects of exogenous abscisic acid on antioxidant capacities, anthocyanins, and flavonol contents of muscadine grape (*Vitis rotundifolia*) skins / Amandeep K. Sandhu, Dennis J. Gray, Jiang Lu, Liwei Gu // Food Chemistry. – 2011. – Vol. 126, № 3. – P. 982–988.
11. ГОСТ 31730-2012. Продукция винодельческая. Правила приёмки и методы отбора проб. – М.: Стандартинформ, 2013. – 12 с.

12. ГОСТ 26671-2014. Продукты переработки фруктов и овощей, консервы мясные и мясорастительные. Подготовка проб для лабораторных анализов. – М.: Стандартинформ, 2014. – 10 с.
13. Гержикова В.Г. Новые методы идентификации и оценки качества виноградных вин / В. Г. Гержикова, Н.С. Аникина, Л.Г. Владимирова, Л.А. Михеева, Т.А. Жилякова, Н.И. Аристова, И. П. Лутков // Вестник «Крымское качество»: научно-технический сборник.– Симферополь, 2006. – Вып. 2 (8). – С.103–107.
14. Р 4.1. 1672-03 Руководство по методам контроля качества и безопасности биологически активных добавок к пище. – М.: Федеральный центр Госсанэпидемнадзора Минздрава России, 2004. – 184 с.
15. ГОСТ 32030-2013. Вина столовые и виноматериалы столовые. Общие технические условия. – М.: Стандартинформ, 2013. – 7 с.

STUDY OF THE DYNAMICS OF THE PHENOLIC COMPOSITION OF VINE PRODUCTION DEPENDING ON THE METHOD OF PROCESSING GRAPE HARVEST

Grishin Yu.V.[1], Aristova N.I.[1], Panov D.A.[2]

[1]Government-Financed Establishment of the Republic of the Crimea "National Research Institute for Vine and Wine "Magarach", Crimea
[2]V. I. Vernadsky Crimean Federal University, Simferopol, Russia
E-mail: akademik_n@mail.ru

From literature data it is known that during the processing of 1 thousand tons of grapes per must and wine, about 120 tons of squeeze, 4 tons of seeds, 5 tons of crests and other secondary products of winemaking are formed. The scientific literature also contains data on the study of the antioxidant activity (AOA) of fruit crops, grape crests, phenolic compounds and AOA of white sparkling wines from various producing countries, the quality and safety of wines obtained by secondary fermentation.

Phenolic compounds have high biological activity and are involved in the regulation of various processes. They contain a large number of natural antioxidants, exhibiting anti-inflammatory, anti-allergic, anti-carcinogenic properties. Phenolic substances accumulate in the solid elements of the bunch. Oligomeric and polymeric procyanidins belong to a group of compounds that are not well understood, so the study of this issue is of particular interest. However, the question of the formation of individual phenolic composition and antioxidant activity of table white wines, depending on the method of processing the grape bunch using ridges and pulp, remains little studied.

The purpose of this work was to study the dynamics of the component phenolic composition of the obtained wine production from white grape varieties, depending on the method of processing the grape bunch using the ridges in the Republic of Crimea.

This paper presents the results of studies of the dynamics of the phenolic composition and antioxidant activity (AOA) of table wine materials from white technical grape varieties grown in the Republic of Crimea, depending on the method of its processing using grape ridges. The study showed that complete digestion of pulp sugars with ridges leads to an increase in production of mass concentrations of phenolic substances by 5 times and antioxidant activity by 2.0 times compared with the traditional "white" method. It was established that the main

monomeric forms of phenolic compounds of table white wine materials obtained by fermentation of pulp with ridges are arranged in the following sequence: flavan-3-oly > hydroxycinnamic acids > hydroxybenzoic acids > flavones. The equations of regressions are derived, reflecting the relationship between the indicator of antioxidant activity and the values of the mass concentration of phenolic substances in table white wine materials obtained using ridges. The developed resource-saving method of processing grapes of white technical varieties using wine-making waste will allow to obtain high-quality products, enriched with biologically active compounds, of a functional orientation.

Keywords: grapes, wine; grape crests, phenolic compounds, procyanidins, antioxidant activity.

References

1. Order of the Government of the Russian Federation of April 17, 2012 No. 559-p. Strategy for the development of the food and processing industry of the Russian Federation for the period until 2020 [Electronic resource] – Access mode: http://base.consultant.ru. (*in Russ.*)
2. Scholz E.P., Ponomarev V.F. Technology processing of grapes: studies. manual for universities, 447 p. ("Agropromizdat", Moscow, 1990). (*in Russ.*)
3. Romanova, N.G., Zelenkov V.N., Lapin A.A. Determination of the antioxidant activity of fruit and berry raw materials, the crests of grapes, green and black tea, *Izvestiya TSKHA*, **3**, 163 (2011). (*in Russ.*)
4. 4. Grishin Yu.V., Aristova N.I., Panov D.A. Study of the antioxidant activity of phenolic substances in white sparkling wines from various producing countries, *Scientific Notes of V.I. Vernadsky Crimean Federal University – Series: Biology, Chemistry,* **70 (4) 2**, 193 (2018). (*in Russ.*)
5. Aristova, N.I., Grishin Yu.V. Study of quality and safety indicators of wines produced by secondary fermentation, *"Innovations in food biotechnology": a collection of works of the International Symposium*, 384 (FGBOU VO «Kemerovskiy gosudarstvennyy universitet», Kemerovo, 2018). (*in Russ.*)
6. Lutkov, I.P., Makarov A.S., Zhilyakova T.A., Aristova N.I., Lutkova N.Yu., Ermolin D.V. Influence of maceration on the quality of wine materials for sparkling wines, "*Magarach", viticulture and winemaking*, **2**, 16 (2007). (*in Russ.*)
7. Chaillou L.L., Nazareno M.A. New method to determine antioxidant activity of polyphenols, *J. of Agricultural and Food Chemistry*, **54**, 8397 (2006).
8. Serrelli G., Jerkovic I., Marianovic Z., Gil K.A., Tuberoso C.I.G. Evalution of natural occurring bioactive compounds and antioxidant activity in Nugarus white wines, *J. Food Research Internatoinal*, **99**, 571 (2017).
9. Tauchen J., Marsik P., Kvasnikova M., Maghradze D., Kokoska L., Vanek T., Landa P. In vitro antioxidant activity and phenolic composition of Georgian, Central and West European wines, *J. of Food Composition and Analysis*, **41**, 113 (2015).
10. Sandhu A.K., Gray D.J., Lu J., Gu L. Effects of exogenous abscisic acid on antioxidant capacities, anthocyanins, and flavonol contents of muscadine grape (*Vitis rotundifolia*) skins, *Food Chemistry*, **126 (3)**, 982 (2011).
11. *GOST 31730-2012 wine Production. Acceptance rules and sampling methods*, 12 p. (Standartinform, Moscow, 2013). (*in Russ.*)
12. *GOST 26671-2014 Products of processing fruits and vegetables, canned meat and meat plant. Preparation of samples for laboratory analyses,* 7 p. (Standartinform, Moscow, 2014). (*in Russ.*)
13. Gerzhikova, V.G., Anikina N.S., Vladimirova L.G., Mikheeva L.A., Zhilyakova T.A., Aristova N.I., Lutkov I.P. New methods for identifying and assessing the quality of grape wines, *Vestnik «Krymskoye kachestvo»: nauchno-tekhnicheskiy sbornik*, **2** (**8**), 103 (2006). (*in Russ.*)
14. *P 4.1. 1672-03 Quality control methods Manual and safety of biologically active additives to food*, 184 p. (Federal Center gossanepidemnadzora Russian Ministry of Health, Moscow, 2004). (*in Russ.*)
15. GOST 32030-2013 Wine canteen and wine canteen. General technical conditions, 7 p. (Standartinform, Moscow, 2013). (in Russ.)

Ученые записки Крымского федерального университета имени В. И. Вернадского
Биология. Химия. Том 5 (71). 2019. № 1. С. 221–233.

УДК 541.183

ИЗУЧЕНИЕ БИОДИНАМИКИ ФОСФОРА В АКВАТОРИИ ГЕРАКЛЕЙСКОГО ПОЛУОСТРОВА С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ ИЗОТОПОВ $^{32, 33}$P

Довгий И. И.[1], Кременчуцкий Д. А.[1], Козловская О. Н.[1], Бежин Н. А.[2], Проскурнин В. Ю.[3]

[1]ФГБУН Морской гидрофизический институт Фрумкина РАН, Севастополь, Россия
[2]ФГАОУ ВО Севастопольский государственный университет, Севастополь, Россия
[3]ФГБУН Институт морских биологических исследований, Севастополь, Россия
E-mail: dovhyi.illarion@yandex.ru

Проведено сравнительное изучение методов извлечения короткоживущих изотопов ^{32}P и ^{33}P из морской воды. В качестве новой методики предложено извлечение ^{32}P и ^{33}P гранулированным оксидом алюминия. Показаны преимущества предложенной методики в сравнении с известной литературной. Получен профиль объемной активности ^{32}P и ^{33}P в растворенной форме и взвешенном веществе в верхнем перемешанном слое. На основании данных объемной активности ^{32}P и ^{33}P рассчитан показатель биодинамики фосфора – время обращения ^{32}P и ^{33}P в неорганическую и взвешенную органическую формы.
Ключевые слова: радиоизотопы фосфора, ^{32}P, ^{33}P, морская радиохимия, биодинамика фосфора, бухта Ласпи.

ВВЕДЕНИЕ

Короткоживущие космогенные радионуклиды, такие как ^{32}P, ^{33}P и ^{7}Be, являются мощными инструментами для изучения океана, поскольку имеют единственный источник поступления – атмосферные выпадения и малые периоды полураспада, позволяющие изучать процессы, протекающие с высокой интенсивностью [1–3]. Исследования, связанные с ^{32}P и ^{33}P, являются одними из самых сложных в морской радиохимии. Это обусловлено малыми периодами полураспада ^{32}P ($T_{1/2}$ = 25,3 д, E_{max} = 1,71 МэВ) и ^{33}P ($T_{1/2}$ = 14,3 д, E_{max} = 0,249 МэВ) и низкими значениями объемной активности в морской воде. До настоящего времени известно небольшое количество работы в этой области. Пионерские работы были выполнены *D. Lal* в Скриппсовском институте океанографии в конце 80-х годов [4–7]. Эти исследования получили развитие в работах *N. Waser* и *R. Bacon* [8–10], а также *C. Benitez-Nelson* и *K. Buesseler* [11–13] из Океанографического института в Вудсхоле. Из сравнительно недавних работ следует отметить работы ученых из Китая [14] и Японии [15]. Основные процессы, изучаемые в указанных работах, это исследования биодинамики фосфора и коэффициентов диффузии в верхнем перемешанном слое. Исследования изотопов ^{32}P и ^{33}P ранее в Черном море не проводились [16].

Цель настоящей работы разработка нового метода для извлечения радионуклидов ^{32}P и ^{33}P из морской воды и определение количественных параметров биодинамики фосфора в прибрежной зоне Черного моря, а именно, в районе бухты Ласпи.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Материалы.

Азотная, соляная кислоты, аммиак, хлорид железа (+3), хлорид магния, хлорид аммония (Реахим, Россия) имели квалификацию чда и использовались без очистки. Использовали катионит КУ-2-8 и анионит АВ-17-8 производства ГП «Смолы» (г. Каменское, Украина), нитроцеллюлозные мембранные фильтры «Владисарт» (0.45 μм размер пор, 47 мм диаметр) г. Владимир, Россия, оксид алюминия активный ТУ 2163-002-25074287-2013, производства НПП «Техпроект», г. Екатеринбург.

Приготовление картриджей, импрегнированных $Fe(OH)_3$

За основу были взяты методики, описанные в [11, 15]. Для импрегнирования использовали картриджи длиной 5 и 10 дюймов. Картриджи промывались 1 М NaOH и 1 М HCl трижды в течении 12 часов. Для импрегнирования нагревались в течении 8 часов в 50 % $FeCl_3$ при 85–90ºС. Затем выдерживались в 3 М NH_3 ночь, промывались дистиллированной водой и упаковывались в полиэтиленовую пленку.

Извлечение природного фосфора из морской воды

Для проведения тестовых экспериментов по извлечению фосфора из морской воды пробу объемом 1 $м^3$ закачивали в бак. На стадии закачки воды в бак добавлялась аликвота KH_2PO_4 до концентрации фосфора в морской воде 20 мкмоль $л^{-1}$. Проба оставлялась на ночь для достижения равновесия.

Проба пропускалась через систему, состоящую из полипропиленовых картриджей с размером пор 1 мкм для механической очистки воды от взвесей, адсорберов на основе $Fe(OH)_3$ или наполненного гранулированным Al_2O_3, объем адсорбера 700 мл (высота насыпки 10 дюймов). После пропускания каждых 100 л морской воды отбирали аликвоту для определения концентрации фосфат-ионов.

Эксперименты проводились при скоростях потока равных 3,7; 5,7; 7,5 л $мин^{-1}$. Степень извлечения стабильного фосфора из морской воды (R) рассчитывали по формуле:

$$R = \frac{C_0 - C}{C_0} \cdot 100\ \% \qquad (1)$$

где C_0 – исходная концентрация фосфат-иона в морской воде, мкмоль $л^{-1}$; C – концентрация фосфат-иона в пробе после сорбента, мкмоль $л^{-1}$.

Ряд адсорберов с Al_2O_3 был взят для определения степени десорбции при обработке раствором щелочи.

Измерение форм фосфора в морской воде

Концентрации растворенного неорганического фосфора (DIP, мкмоль $л^{-1}$) и общего растворенного фосфора (TDP, мкмоль $л^{-1}$) проводили, используя стандартные методики [17]. Растворенный органический фосфор (DOP, мкмоль $л^{-1}$) рассчитывали, как разницу: DOP = TDP – DIP. Концентрацию взвеси определяли по приращению массы фильтров, отнесенной к объему воды прокаченной через них.

Извлечение ^{32}P и ^{33}P из морской воды

Работы проводились в ходе 103 рейса НИС «Профессор Водяницкий» 19 сентября 2018 г. в акватории бухты Ласпи. Координаты станции (44°24.781, 33°41.628). Пробы морской воды отбирались вибрационным и поверхностным насосами со следующих горизонтов 3 м (6007 л, средняя скорость элюирования

5,8 л мин$^{-1}$), 15 м (3600 л, средняя скорость элюирования 7,4 л мин$^{-1}$), 30 м (4752 л, средняя скорость элюирования 7,9 л мин$^{-1}$). Для извлечения ^{32}P и ^{33}P из морской воды использовалась установка, описанная в предыдущем пункте с адсорберами высотой 10 дюймов. При использовании Al_2O_3 использовали два адсорбера для определения радиохимического выхода (S) по уравнению:

$$S = \left(1 - \frac{B}{A}\right) \cdot 100\ \% \qquad (2)$$

где A и B – активность ^{32}P или ^{33}P на первом и втором адсорбере, соответственно, dpm.

Радиохимическая пробоподготовка

Полипропиленовые картриджи (фильтров механической очистки) озоляли при 600ºC в течении 4 часов. Золу растворяли в 8 M HNO_3 + 30 % H_2O_2. Отбиралась аликвота для определения выхода стабильного фосфора.

С картриджей Al_2O_3 фосфор десорбировали кипячением с 480 мл 1 M NaOH в течении 0,5 ч. Раствор отделяли фильтрованием. Добавляли 190 мл конц. HNO_3 и 100 мл конц. NH_3 доводили до 800 мл, вносили 6 мг стабильного фосфора в виде KH_2PO_4 для определения выхода, фильтровали, нагревали до кипения. Добавляли 75 мл молибдата аммония (100 г л$^{-1}$) для осаждения $(NH_4)_3[PMo_{12}O_{40}]\cdot 2H_2O$. Далее осадок обрабатывали как описано в нашей работе [18]. Схема радиоаналитического определения изотопов ^{32}P и ^{33}P в морской воде представлена на рис. 1, 3; взвешенном органическом веществе на рис. 2, 3.

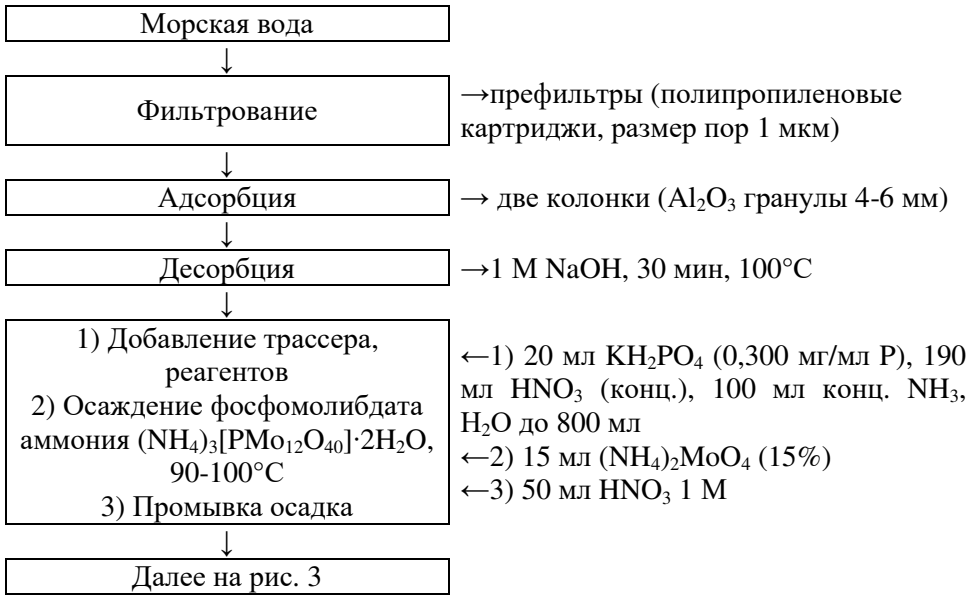


Рис. 1. Схема извлечения и радиоаналитического определения ^{32}P и ^{33}P в морской воде.

Выход по процессам радиохимической подготовки определяли по

стабильному фосфору:

$$\eta = \frac{m(P) \cdot 100\%}{m_0(P)} \quad (3)$$

где m_0(P) – масса внесенного стабильного фосфора 6 мг/л и фосфора в счетном образце.

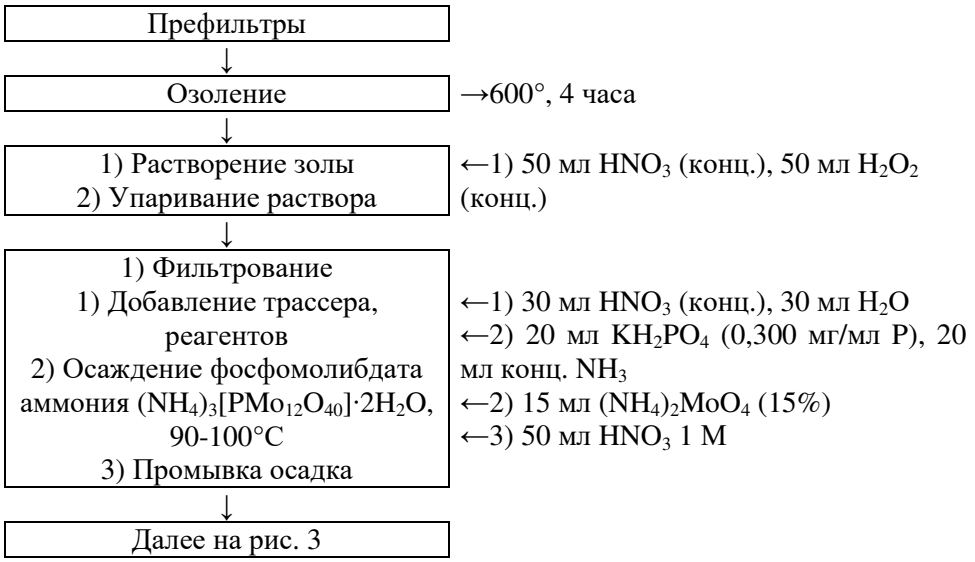


Рис. 2. Схема извлечения и радиоаналитического определения ^{32}P и ^{33}P во взвешенном органическом веществе.

Измерение ^{32}P и ^{33}P

^{32}P и ^{33}P измеряли на ультранизкофоновом спектрометре Wallac 1220 Quantilus (Perkin Elmer). Для ^{32}P and ^{33}P (E_{max} >156 keV) эффективность счета обычно выше 95% [14], неопределенность не превышает 10%.

Расчет объемной активности ^{33}P (dpm/м^3).

$$A(^{33}P) = \frac{(R_{150-450} - R_{ph150-450})}{[\eta \cdot (1-\varphi) \exp(-\lambda(^{33}P) \cdot t) \cdot V]} \quad (4)$$

где $R_{150\text{-}450}$ скорость счета по каналам 150-450; $R_{ph150\text{-}450}$ – скорость счета фона по каналам 150-450; η – химический выход; $(1 - \varphi)$ – доля пробы взятая на ЖСС; t – время прошедшее с пробоотбора до измерения; $\lambda(^{33}P) = ln\ 2/T_{1/2} = ln\ 2/25{,}3 = 0{,}0274$ сут$^{-1}$ – константа распада ^{33}P; V – объем пробы (м^3).

Расчет объемной активности ^{32}P (dpm/м^3).

$$A(^{32}P) = \frac{(R_{450-800} - R_{ph450-800})}{[\eta \cdot (1-\varphi) \exp(-\lambda(^{32}P) \cdot t) \cdot V]} \quad (5)$$

где $R_{450\text{-}800}$ скорость счета по каналам 450-800; $R_{ph450\text{-}800}$ – скорость счета фона по каналам 450-800; η – химический выход; φ – доля пробы взятая на ЖСС; t – время прошедшее с пробоотбора до измерения; $\lambda(^{32}P) = ln\ 2/T_{1/2} = ln\ 2/14{,}3 = 0{,}04847$ сут$^{-1}$ – константа распада ^{32}P; V – объем пробы (м^3).

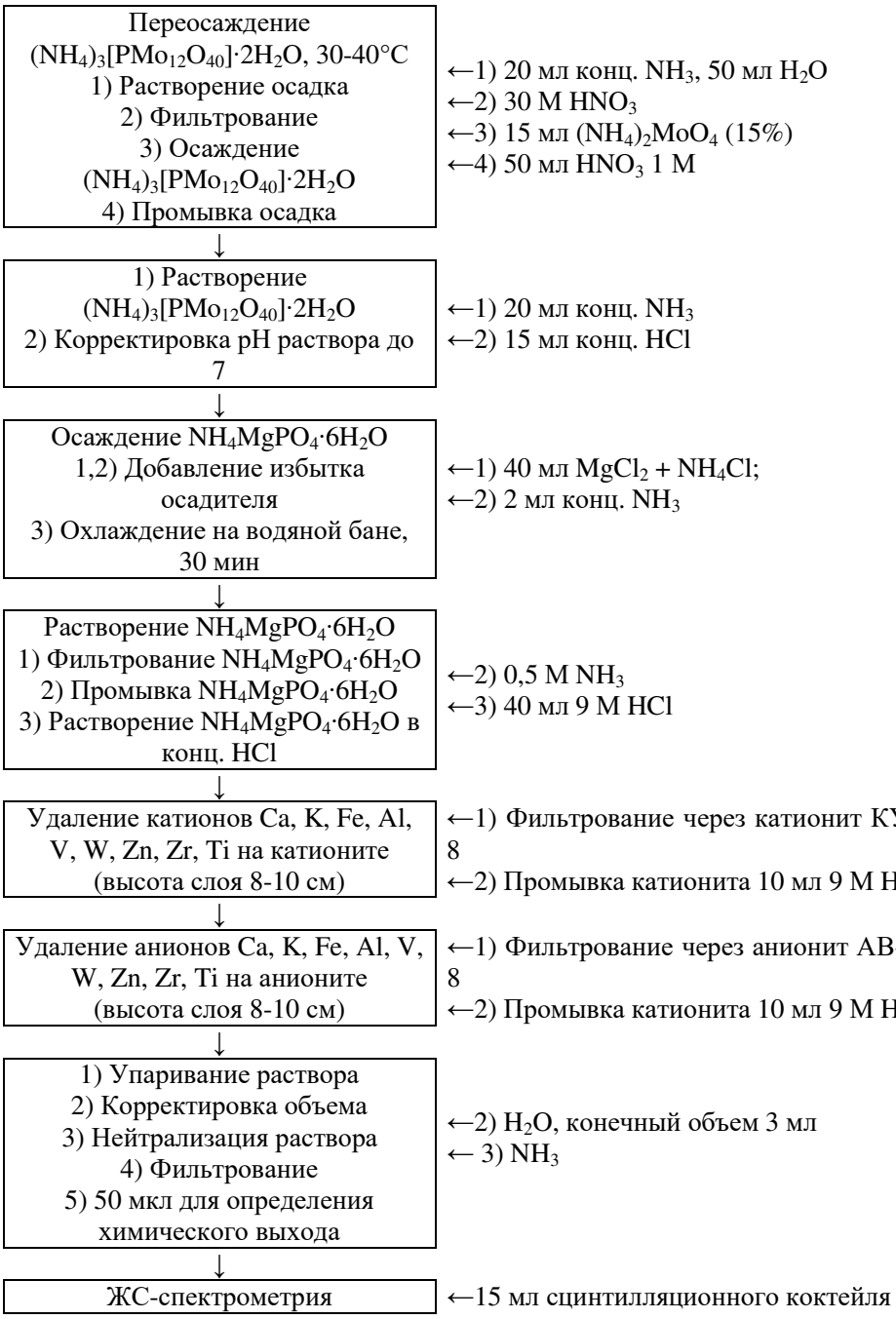


Рис. 3. Общая для морской воды и взвешенного органического вещества радиоаналитическая подготовка проб

Расчет количественных характеристик биодинамики фосфора

Время обращения фосфора в неорганическую и взвешенную форму рассчитывали по формуле:

$$t = \frac{\ln\frac{R_P}{R_S}}{\lambda_{ss} - \lambda_{ss}} \qquad (6)$$

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

При проведении сравнительных экспериментов по извлечению фосфат-ионов из морской воды по «классической» методике [11] с использованием полипропиленовых картриджей, импрегнированных $Fe(OH)_3$, были выявлены следующие недостатки.

– Низкая скорость элюирования (около 4 л·мин$^{-1}$ для 10 дюймовых и 2 л·мин$^{-1}$ для 2 дюймовых адсорберов) морской воды, вследствие высокого гидродинамического сопротивления. Это приводит к тому, что элюировать пробы морской воды более 3,5 м^3 с каждого из трех горизонтов невозможно для станций время работы, на которых менее 15 часов, при обычном времени работы на станции 1,5-2 часа.

– Вымывание $Fe(OH)_3$ из картриджа приводит к искажению значения радиохимического выхода. Из-за этого использование двух адсорберов для определения радиохимического выхода извлечения изотопов ^{32}P и ^{33}P проблематично. Второй адсорбер забивается $Fe(OH)_3$, вымывающимся из первого. Проблему можно было решить используя стабильных изотоп, как трассер. Однако необходимо иметь не стационарные емкости для морской воды суммарным объемом более 12 м^3, что проблематично даже для такого судна как «Профессор Водяницкий» (водоизмещение 1498 тонн).

– Уменьшение скорости прокачки с 15 л·мин$^{-1}$ (без нагрузки) до 4 л·мин$^{-1}$ приводит к быстрому износу и поломкам насосного оборудования.

– Импрегнирование картриджей гидроксидом железа(+3) трудоемкая процедура.

Поэтому при проведении работ в экспедиции использовался активный Al_2O_3.

Определение эффективности извлечения изотопов ^{32}P и ^{33}P из морской воды проводили с добавлением в отфильтрованные пробы морской воды стандартного раствора KH_2PO_4 до концентрации 20 мкмоль л$^{-1}$. Было выполнено три серии экспериментов с различными средними скоростями элюирования (рис. 4). Показано, что увеличение скорости элюирования с 3,7 до 7,5 л·мин$^{-1}$ приводит к уменьшению степени извлечения в среднем на 10%. Также степень извлечения уменьшается в среднем на 5% при пропускании объема воды со 100 до 1000 л, вследствие насыщения сорбента. Очевидно, что при дальнейшем увеличении объема пропущенной морской воды степень извлечения также будет уменьшается.

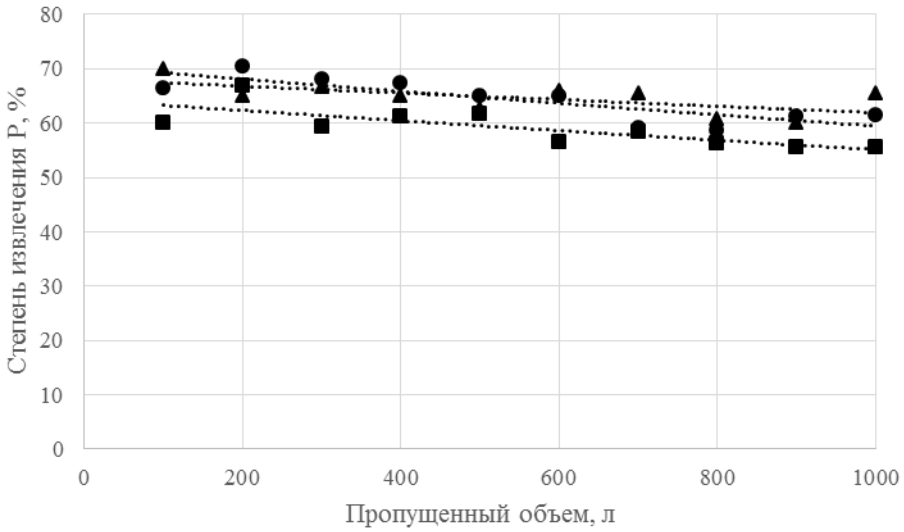


Рис. 4. Зависимость степени извлечения фосфора от объема пропущенной пробы при различных скоростях элюирования морской воды (■ – 7,5 л·мин$^{-1}$, ▲ – 5,7 л·мин$^{-1}$, ● – 3,7 л·мин$^{-1}$).

Измеренные величины концентрации различных форм фосфора приведены в табл. 1 и на рис. 5–6. Они имеют типичных для данного сезона и места отбора проб (поверхностный слой, прибрежный район) характер изменения – низкая на всех горизонтах концентрация растворенного неорганического фосфора, уменьшающаяся с глубиной концентрация общего взвешенного фосфора и увеличивающаяся растворенного связана с деятельностью микроорганизмов, их гибелью и седиментацией, а также разложением. Неоднородный характер имеет распределение взвешенного органического вещества. При этом следует отметить высокие значения концентрации взвеси – более 1 мг л$^{-1}$.

Таблица 1

Значения концентрации различных форм фосфора

Горизонт	Температура, °C	DIP, мкмоль л$^{-1}$	TDP, мкмоль л$^{-1}$	DOP, мкмоль л$^{-1}$	Концентрация взвешенного фосфора TPP, мкмоль л$^{-1}$	Концентрация взвеси, мг л$^{-1}$
3	23,1	0,03	0,21	0,18	0,0400	1,42
15	19,2	0,03	0,27	0,24	0,0348	1,52
30	13,4	0,03	0,48	0,45	0,0331	1,33

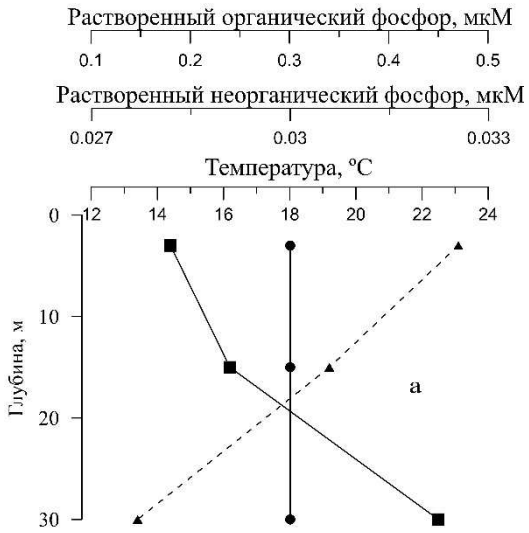


Рис. 5. Значения концентраций растворенного органического фосфора (DOP, ■), растворенного неорганического фосфора (DIP, ●) и температуры (▲) для горизонтов 3, 15 и 30 м.

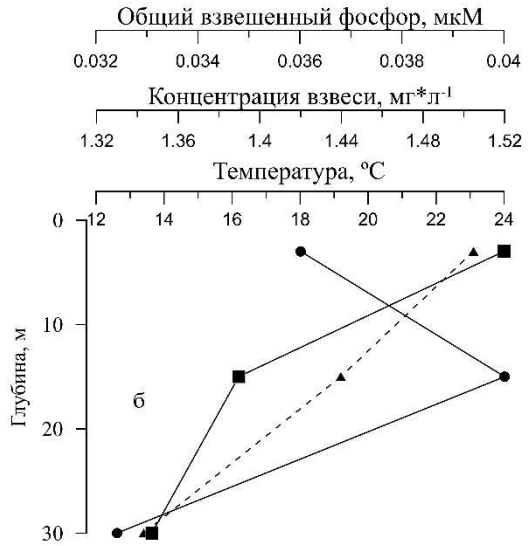


Рис. 6. Значения концентраций общего взвешенного фосфора (TPP, ■), взвешенного органического вещества (●) и температуры (▲) для горизонтов 3, 15 и 30 м.

Значения объемной активности изотопов ^{32}P и ^{33}P в растворенной и во взвешенной форме представлены в табл. 2 и на рис. 7, 8. Значения объемной активности ^{32}P и ^{33}P соотносятся с многочисленными литературными данными [11,

15], в тоже время как полученные значения объемной активности во взвешенной форме ^{32}P и ^{33}P превышают литературные, например [15]. Это связанно с тем, что отбор проб в этих работах осуществлялся в открытой части океана, в которой концентрация взвешенного органического вещества на порядок ниже.

Таблица 2

Значения объемной активности изотопов ^{32}P и ^{33}P

Гориз онт	Растворенная форма				Взвешенная форма		
	S, %	A(^{33}P), dpm / м^3	A(^{32}P), dpm / м^3	^{33}P / ^{32}P	A(^{33}P), dpm / м^3	A(^{32}P), dpm / м^3	^{33}P / ^{32}P
3	46,6	2,87 ±0,14	2,56 ±0,13	1,12 ±0,11	3,93 ±0,20	2,68 ±0,13	1,47 ±0,15
15	45,8	2,72 ±0,14	2,47 ±0,10	1,10 ±0,11	2,90 ±0,15	1,99 ±0,10	1,46 ±0,15
30	49,1	1,30 ±0,06	1,16 ±0,06	1,11 ±0,11	2,60 ±0,13	1,60 ±0,08	1,63 ±0,16

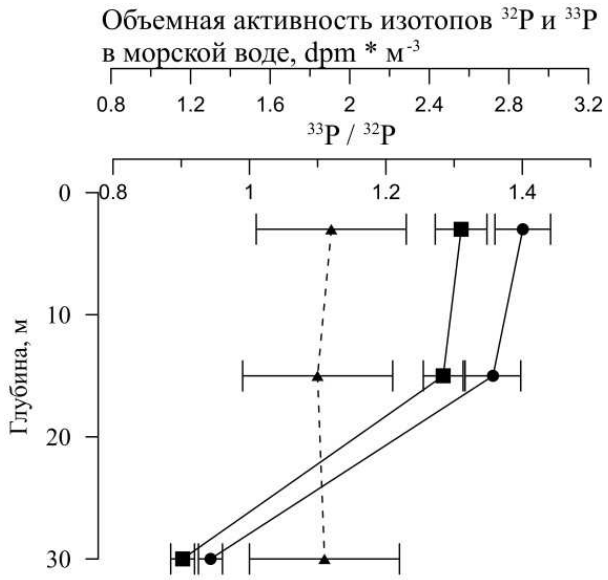


Рис. 7. Значения объемной активности ^{32}P (■) и ^{33}P (●) и отношения ^{33}P / ^{32}P (▲) в морской воде для горизонтов 3, 15 и 30 м.

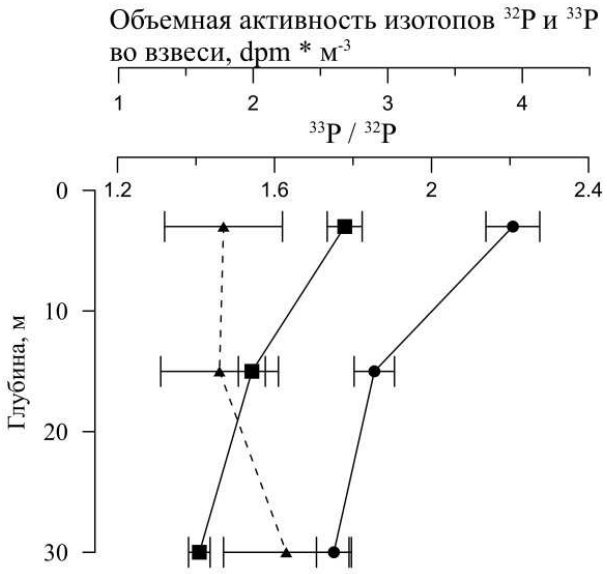


Рис. 8. Значения объемной активности ^{32}P (■) и ^{33}P (●) и отношения ^{33}P / ^{32}P (▲) во взвешенном органическом веществе (б) для горизонтов 3, 15 и 30 м.

На основании данных отношения ^{33}P / ^{32}P в морской воде на различных горизонтах и в источнике – атмосферных выпадениях в сентябре месяце (1,05), по формуле (6) были рассчитаны значения времени обращения фосфора в неорганическую форму, равное 2,6±1,1 дня. Из значений ^{33}P / ^{32}P во взвеси и источнике – морской воде по формуле (6) были рассчитаны значения времени обращения фосфора во взвешенную органическую форму, равное 14,8±7,3 дней. Полученные результаты согласуются с величинами, полученными в работе [13] для данного времени года.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

1. Выявлены преимущества и недостатки активного Al_2O_3 в сравнении с «классическим» методом извлечения изотопов ^{32}P и ^{33}P из морской воды. К преимуществам относится возможность прокачки морской воды с высокой скоростью около 7 л·мин$^{-1}$ (10 КО·мин$^{-1}$). Основным недостатком является относительно низкий радиохимический выход извлечения ^{32}P и ^{33}P около 50%.
2. Определены объемные активности ^{32}P и ^{33}P и отношение ^{33}P / ^{32}P для различных горизонтов отбора проб морской воды.
3. Рассчитано время обращение фосфора в неорганическую и взвешенную органическую форму.

Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ и города Севастополь в рамках научного проекта № 18-43-920005 р_а, а также

государственного задания ФАНО Российской Федерации (тема «Прибрежные исследования» № 0827-2019-0004).

Список литературы

1. Lal D. An overview of five decades of studies of cosmic ray produced nuclides in oceans / D. Lal // Science of the Total Environment. – 1999. – Vol. 237–238. – P. 3–13.
2. Benitez-Nelson C.R. The biogeochemical cycling of phosphorus in marine systems / C.R. Benitez-Nelson // Earth-Science Reviews. – 2000. – Vol. 51, Is. 1 – 4. – P. 109–135.
3. Ruttenberg K.C. Treatise on Geochemistry. The Global Phosphorus Cycle. Editor: William H. Schlesinger. Elsevier. – 2003. – P. 499–558.
4. Lal D. Twin cosmogenic radiotracer studies of phosphorus recycling and chemical fluxes in the upper ocean / D. Lal, Y. Chung, T. Platt, [et al.] // Limnology and Oceanography. – 1988. – Vol. 33, Is. 6, part 2. – P. 1559–1567.
5. Lal D. Cosmogenic ^{32}P and ^{33}P used as tracers to study phosphorus recycling in the upper ocean / D. Lal, T. Lee // Nature. – V. 333. – P. 752–754.
6. Lee T. Studies of vertical mixing in the Southern California Bight with cosmogenic radionuclides 32P and 7Be. / T. Lee, E. Barg, D. Lal // Limnology and Oceanography. – 1991. – Vol. 36, Is. 5. – P. 1044–1052.
7. Lee T. Techniques for extraction of dissolved inorganic and organic phosphorus from large volumes of sea water / T. Lee, D. Lal // Analytica Chimica Acta. – 1992. – Vol. 260, Is. 1. – P. 113–121.
8. Waser N.A. Determination of natural ^{32}P and ^{33}P in rainwater, marine particles and plankton by low-level beta counting / N.A. Waser, A.P. Fleer, T.R. Hammar, [et al] // Nuclear Instruments and Methods in Physics Research Section A: Accelerators, Spectrometers, Detectors and Associated Equipment. – 1994. –. Vol. 338, Is. 2–3. – P. 560–567.
9. Waser N. A. D. Cosmic ray produced ^{32}P and ^{33}P in Cl, S and K at mountain altitude and calculation of oceanic production rates / N. A. D. Waser, M.P. Bacon // Geophysical Research Letters. – 1994. – Vol. 21, Is. 11. – P. 991–994.
10. Waser N. A. D. Natural activities of ^{32}P and ^{33}P and the ratio in suspended particulate matter and plankton in the Sargasso Sea / N. A. D. Waser, M.P. Bacon, A.F. Michaels // Deep Sea Research Part II: Topical Studies in Oceanography. – 1996. – Vol. 43, Is. 2–3. – P. 421–436.
11. Benitez-Nelson C.R. Measurement of Cosmogenic ^{32}P and ^{33}P Activities in Rainwater and Seawater / C.R. Benitez-Nelson, K.O. Buesseler // Analytical Chemistry. – 1998. – Vol. 70, Is. 1. – P. 64–72.
12. Benitez-Nelson C.R. Phosphorus 32, phosphorus 33, beryllium 7, and lead 210: Atmospheric fluxes and utility in tracing stratosphere/troposphere exchange / C.R. Benitez-Nelson, K.O. Buesseler // Journal of Geophysical Research: Atmospheres. –1999. – Vol. 104, Is. D9. – P. 11745–11754.
13. Benitez-Nelson C.R. Variability of inorganic and organic phosphorus turnover rates in the coastal ocean / C.R. Benitez-Nelson, K.O. Buesseler // Nature. – 1999. – Vol. 398. – P. 502–505.
14. Chen M. Determination of cosmogenic ^{32}P and ^{33}P in environmental samples / M. Chen, Z. Yang, L. Zhang [et al] // Acta Oceanologica Sinica. – 2013. – Vol. 32, Is. 6. – P. 18–25.
15. Nakanishi T. Simultaneous measurements of cosmogenic radionuclides ^{32}P, ^{33}P and ^{7}Be in dissolved and particulate forms in the upper ocean / T. Nakanishi, M. Kusakabe, T. Aono [et al] // Journal of Radioanalytical and Nuclear Chemistry. – 2099. –Vol. 279, Is. 3. – P. 769–776.
16. Egorov V. Black Sea: Radionuclides. Encyclopedia of Inorganic Chemistry / V. Egorov, S. Gulin, G. Polikarpov. [et al]. Wiley. – 2010. – P. 437–452.
17. Grasshoff K. Methods of seawater analysis / K. Grasshoff, M, Ehrhardt, K. Kremling [et al]. – Weinheim: Wiley-VCH. –. 1999. – 600 p.
18. Dovhyi I.I. Atmospheric Depositional Fluxes of Cosmogenic ^{32}P, ^{33}P and ^{7}Be in the Sevastopol Region / I. I. Dovhyi, D.A. Kremenchutskii, V. Yu. Proskurnin [et al] // Journal of Radioanalytical and Nuclear Chemistry. – 2017. Vol. 314 – Is. 3. – P. 1643–1652.

STUDYING THE BIODYNAMICS OF PHOSPHORUS IN THE AQUATORIA OF THE HERACLEIC PENINSULA WITH THE USE ISOTOPES $^{32, 33}$P

Dovhyi I.I.[1], Kremenchutsky D.A.[1], Kozlovskaya O.N.[1], Bezhin N.A.[2], Proskurnin V.Yu.[3]

[1]Marine Hydrophysical Institute of RAS, Sevastopol, Russia
[2]Sevastopol State University, Sevastopol, Russia
[3] The A.O. Kovalevsky Institute of Marine Biological Research of RAS, Sevastopol, Russia
E-mail: dovhyi.illarion@yandex.ru

The ^{32}P and ^{33}P short-lived isotopes sorbtion from seawater methods were compared in this study. The recovery of ^{32}P and ^{33}P by granular alumina is proposed as a new technique (method). The advantages of the proposed technique (method) in comparison with that well-known from literature are shown. The profile of ^{32}P and ^{33}P specific activity in the dissolved form and suspended matter in the upper mixing layer was obtained. The ^{33}P/^{32}P activity ratios were used for the calculation of phosphorus biodynamics indicator, the time of conversion of ^{32}P and ^{33}P into inorganic and particulate organic forms. The advantages and disadvantages of active Al_2O_3 in comparison with the "classical" method of extracting ^{32}P and ^{33}P isotopes from seawater are revealed. The advantages include the possibility of pumping sea water at a high speed of about 7 $l \cdot min^{-1}$ (10 $KO \cdot min^{-1}$). The main disadvantage is the relatively low radiochemical yield of ^{32}P and ^{33}P extraction of about 50%. Volumetric activities of ^{32}P and ^{33}P and the ratio of ^{33}P / ^{32}P were determined for different seawater sampling horizons. Conversion times of phosphorus in inorganic and suspended organic form were calculated.

Keywords: radioisotopes of phosphorus, ^{32}P, ^{33}P, marine radiochemistry, biodynamic of phosphorus, Laspi bay.

References

1. Lal D., An overview of five decades of studies of cosmic ray produced nuclides in oceans, *Sci. Total Environ.*, **237–238**, 3 (1999).
2. Benitez-Nelson C.R., The biogeochemical cycling of phosphorus in marine systems, *Earth-Sci. Rev.,* **51** (1–4), 109 (2000).
3. Ruttenberg K.C., The Global Phosphorus Cycle, in *Treatise on Geochemistry Editor*, edited by William H. Schlesinger, p. 499–558 (Elsevier, 2003).
4. Lal D., Chung Y., Platt T., Lee T., Twin cosmogenic radiotracer studies of phosphorus recycling and chemical fluxes in the upper ocean, *Limnol. Oceanogr.*, **33** (6, part 2), 1559 (1988).
5. Lal D., Lee T., Cosmogenic ^{32}P and ^{33}P used as tracers to study phosphorus recycling in the upper ocean, *Nat*., **333** (6175), 752 (1988).
6. Lee T., Barg E., Lal D., Studies of vertical mixing in the Southern California Bight with cosmogenic radionuclides ^{32}P and ^{7}Be, *Limnol. Oceanogr*., **36** (5), 1044 (1991).
7. Lee T., Lal D., Techniques for extraction of dissolved inorganic and organic phosphorus from large volumes of sea water, *Anal. Chim. Acta*, **260** (1), 113 (1992).
8. Waser N.A., Fleer A.P., Hammar T.R., Buesseler K.O., Bacon M.P., Determination of natural ^{32}P and ^{33}P in rainwater, marine particles and plankton by low-level beta counting, *Nucl. Instrum. Methods Phys. Res. Sect. A: Accel., Spectrom., Detect. Assoc. Equip.,* **338** (2–3), 560 (1994).
9. Waser N.A.D., Bacon M.P., Cosmic ray produced ^{32}P and ^{33}P in Cl, S and K at mountain altitude and calculation of oceanic production rates, *Geophys. Res. Lett*., **21** (11), 991 (1994).

10. Waser N.A.D., Bacon M.P., Michaels A.F., Natural activities of ^{32}P and ^{33}P and the ratio in suspended particulate matter and plankton in the Sargasso Sea, *Deep Sea Research Part II. Top Stud. Oceanogr.*, **43** (2–3), 421 (1996).
11. Benitez-Nelson C.R., Buesseler K.O., Measurement of Cosmogenic ^{32}P and ^{33}P Activities in Rainwater and Seawater, *Anal. Chem.*, **70** (1), 64 (1998).
12. Benitez-Nelson C.R., Buesseler K.O., Phosphorus 32, phosphorus 33, beryllium 7, and lead 210: Atmospheric fluxes and utility in tracing stratosphere/troposphere exchange, *J. Geophys. Res.*, **104** (D9), 11745 (1999).
13. Benitez-Nelson C.R., Buesseler K.O., Variability of inorganic and organic phosphorus turnover rates in the coastal ocean, *Nat.*, **398** (6727), 502 (1999).
14. Chen M., Yang Z., Zhang L., Qiu Y., Ma Q., Huang Y., Determination of cosmogenic ^{32}P and ^{33}P in environmental samples, *Acta Oceanol. Sin.*, **32** (6), 18 (2013).
15. Nakanishi T., Kusakabe M., Aono T., Yamada M., Simultaneous measurements of cosmogenic radionuclides ^{32}P, ^{33}P and ^{7}Be in dissolved and particulate forms in the upper ocean, *J. Radioanal. Nucl. Chem.*, **279** (3), 769 (2009).
16. Egorov V., Gulin S., Polikarpov G., Osvath I., Black Sea: Radionuclides, in *Encyclopedia of Inorganic Chemistry*, p. 437–452 (Wiley, 2010).
17. Grasshoff K., Ehrhardt M., Kremling K., Anderson L.G., *Methods of seawater analysis*, 3rd, completely rev. and extended ed., p. 600 (Wiley-VCH, Weinheim, New York, 1999).
18. Dovhyi I.I., Kremenchutskii D.A., Proskurnin V.Yu., Kozlovskaya O.N., Atmospheric Depositional Fluxes of Cosmogenic ^{32}P, ^{33}P and ^{7}Be in the Sevastopol Region, *J. Radioanal. Nucl. Chem.*, **314** (3), 1643 (2017).

Ученые записки Крымского федерального университета имени В. И. Вернадского
Биология. Химия. Том 5 (71). 2019. № 1. С. 234–242.

УДК 579.84:615.011.5:615.277.3

ОЦЕНКА БИОТОКСИЧЕСКОГО И ПОВРЕЖДАЮЩЕГО ДНК ДЕЙСТВИЙ КОМПЛЕКСОВ ЦИСПЛАТИНА С ФУЛЛЕРЕНОМ C_{60} С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ МОРСКИХ ЛЮМИНЕСЦЕНТНЫХ БАКТЕРИЙ И РЕКОМБИНАНТНЫХ LUX-БИОСЕНСОРОВ

Кацев А. М.[1], Евстигнеев М. П.[2], Сало В. А.[2],Шарипов Э. Т.[1]

[1]Медицинская академия (структурное подразделение) ФГАОУ ВО «Крымский федеральный университет имени В. И. Вернадского», Симферополь, Республика Крым, Россия
[2]ФГАОУ ВО «Севастопольский государственный университет», Севастополь, Россия
E-mail: katsev@mail.ru

Описаны результаты исследования комбинированного действия цисплатина и фуллерена C_{60} на биолюминесценцию морских бактерий *V. fischeri* F1и рекомбинантных штаммов *E. coli* MG1655 (pRecA-lux) и (pColD-lux). Полученные данные указывают на существование взаимодействия фуллерена с цисплатином, которое проявляется в снижении биотоксичности препарата на 20–40%, а также его генотоксичности в 2–6 раз. Предполагается связь полученных данных с возможным образованием нековалентных комплексов фуллерен–цисплатин, действие которых происходит независимо от типа биологических систем, что может быть использовано при создании наноразмерных лекарственных форм с адресной доставкой лекарственных веществ.
Ключевые слова: фуллерен, противоопухолевые препараты, биолюминесцентные бактерии, lux-биосенсоры.

ВВЕДЕНИЕ

Определенные успехи, достигнутые к настоящему времени в проблематике разработки оптимальных систем адресной доставки лекарственных препаратов, за редкими исключениями не оказывают системного влияния на качество современной химиотерапии рака. Стандартные противоопухолевые препараты (например, доксорубицин, цисплатин, митоксантрон и др.), широко используемые в клинической практике по всему миру, являются типичным примером соединений, характеризуемых высокой побочной токсичностью при химиотерапии, значительная часть которых так и не была введена на рынок фармацевтической продукции (например, ногаламицин, актиномицин Д и др.). Понижение токсичности этих препаратов могло бы быть достигнуто путем создания эффективной системы адресной доставки, в качестве которой в настоящее время рассматривают наночастицы углерода, среди которых наиболее перспективным является немодифицированный фуллерен C_{60}.

В 2008 году появились первые свидетельства о том, что водная смесь модифицированного фуллерена C_{60} (фуллеренола) обладает протекторным эффектом в

отношении кардио- и гепатотоксичности, индуцированной антибиотиком доксорубицином [1, 2]. Начиная с 2012 года стали появляться первые систематические исследования подобного эффекта в отношении водной смеси немодифицированного фуллерена C_{60} в комбинации с доксорубицином и некоторыми другими препаратами [3], причем было показано, что концентрация антибиотика в раковых клетках увеличивается, вызывая выраженное увеличение противоопухолевого эффекта *in vitro* и *in vivo* [4–6]. Результаты этих исследований показали, что наблюдаемое повышение противоопухолевого эффекта за счет снижения токсичности лежит в плоскости научного поиска механизмов нековалентного комплексообразования частиц фуллерена C_{60} с лекарственными препаратами в физиологической среде [7, 8]. Чуть позже аналогичный эффект был предсказан и обнаружен в отношении другого противоопухолевого препарата цисплатина, что позволило сформулировать гипотезу о том, что комбинация фуллерена C_{60} с противоопухолевыми лекарственными препаратами может выступать в роли системы адресной доставки и в будущем явиться основой новой лекарственной формы этих препаратов [9, 10]. Для новой и быстроразвивающейся отрасли знаний – молекулярной медицины – этот результат мог бы иметь большое значение не только в отношении группы противоопухолевых средств, но и перспективы разработки способов повышения медико-биологической эффективности других типов препаратов.

Если допустить справедливость гипотезы о комплексообразовании биологически активных соединений с фуллереном как ключевого этапа механизма ожидаемого медико-биологического синергизма при их совместном введении в биосистему, то наблюдаемый эффект может быть условно независим от типа используемой биосистемы (клеточной линии), то есть введение комбинации фуллерена и препарата должно сопровождаться биологическим синергизмом этих компонентов по сравнению с их действием по отдельности. Ранее данное допущение нашло предварительное подтверждение на примере *in vitro* тестирования комбинированного действия смесей фуллерен–препарат в делящихся и неделящихся клеточных системах [11], а также *in vivo* тестирования на модели мышей с трансплантированными клеточными линиями [4–6]. В настоящей работе на примере двух стандартных противоопухолевых агентов – доксорубицина и цисплатина – нами был впервые использован метод тестирования комбинаций фуллерен–препарат на различных биолюминесцентных штаммах делящихся бактерий, хорошо зарекомендовавший себя ранее как метод оценки токсичности различных биологически активных соединений [12].

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В работе использовали водорастворимую форму фуллерена C_{60}, приготовленную по методике [13]. Рабочие растворы противоопухолевых антибиотиков получали разведением концентрата цисплатина для приготовления растворов для инфузий (Цисплатин-ЛЭНС, Лэнс-Фарм ООО, Россия) с концентрацией 0,5 мг/мл, а также Доксорубицин-РОНЦ (РОНЦ им. Н. Н. Блохина РАМН филиал «Наукапрофи», Россия).

Оценку неспецифического антибактериального действия противоопухолевых препаратов проводили на морских биолюминесцентных бактериях *Vibrio fischeri* F1, *Photobacterium leiognathi* Cr1 и *Vibrio* sp. W16 из коллекции Медицинской академии Крымского федерального университета [14]. Также для оценки специфического повреждающего действия антибиотиков и их комплексов с фуллереном, в отношении нуклеиновых кислот, были использованы рекомбинантные lux-биосенсоры *E. coli* MG1655 (pRecA-lux) и *E. coli* MG1655 (pColD-lux), любезно предоставленные д. б. н. И. В. Мануховым (Лаборатория молекулярной генетики, МФТИ). Методики биотестирования на основе как морских светящихся тест-бактерий, так и рекомбинантных lux-биосенсоров, были описаны ранее [15].

Для выращивания бактерий и подготовки их для биотестирования использовали жидкие и плотные питательные среды (HiMedia M001, M002, Индия). При культивировании морских бактерий в среду дополнительно вводили хлорид натрия до конечной концентрации 3 %. Питательные среды для рекомбинантных бактерий содержали 1% NaCl и 100 мкг/мл ампициллина. Измерение интенсивности биолюминесценции при биотестировании проводили с помощью биолюминометра БЛМ 8801 (СКТБ «Наука», Красноярск), а также LuMate® (Awareness Technology Inc., США).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

В работе изучали действие цисплатина и его комплексов с фуллереном C_{60} на морские светящиеся бактерии, а также на генно-инженерные Lux-штаммы, чувствительные к специфическому повреждению ДНК. Изучение действия цисплатина и доксорубицина показало, что они ингибируют люминесценцию морских бактерий *Vibrio fischeri* F1, *Photobacterium leiognathi* Cr1 и нового биопленкообразующего штамма *Vibrio* sp. Наиболее чувствительным к действию антибиотиков оказались бактерии *V. fischeri* F1 (рис.1).

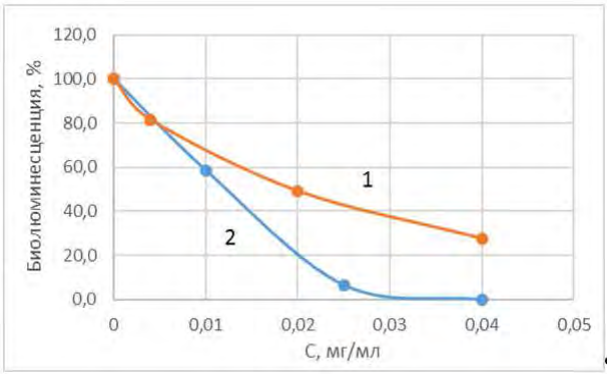


Рис. 1. Действие доксорубицина (1) и цисплатина (2) на биолюминесценцию морских бактерий *V. fischeri* F1.

Изучение действия противоопухолевых препаратов на генно-инженерные штаммы *E. coli* pRecA-lux и pColD-lux представлено на рис. 2. Диоксидин, используемый как

положительный контроль, индуцировал люминесценцию Lux-штаммов pRecA-lux и pColD-lux, с соответствующими индексами 10 и 72. Сходными характеристиками обладал и исследуемый цисплатин, который активировал биолюминесценцию репортерных штаммов в 8 и 38 раз, соответственно. Доксорубицин в исследуемых условиях не проявлял повреждающее действие в отношении ДНК и не вызывал значительных изменений интенсивности бактериального свечения.

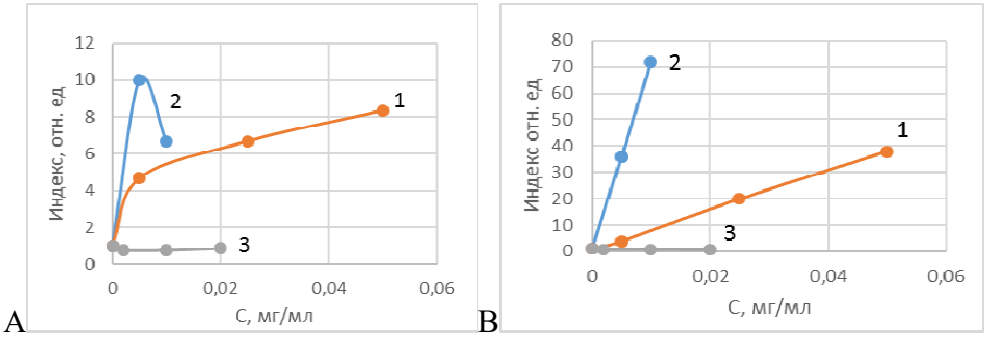


Рис. 2. Действие цисплатина (1), диоксидина (2) и доксорубицина (3) на биолюминесценцию рекомбинантных *E. coli* MG1655 бактерий: A – pRecA-lux; B – pColD-lux.

Изучение действия фуллерена C_{60} выявило отсутствие его влияния на биолюминесценцию как морских светящихся, так и рекомбинантных тест-бактерий.

На следующем этапе анализировали совместное действие цисплатина и фуллерена C_{60} на биолюминесценцию морских бактерий *V. fischeri* F1. При соотношении цисплатин/фуллерен (моль/моль) менее 12 (концентрации C_{60} $7 \cdot 10^{-6}$ и $1{,}4 \cdot 10^{-6}$ моль/л) наблюдалось уменьшение ингибирующей биолюминесценцию способности препарата в среднем на 20–40 % (рис. 3).

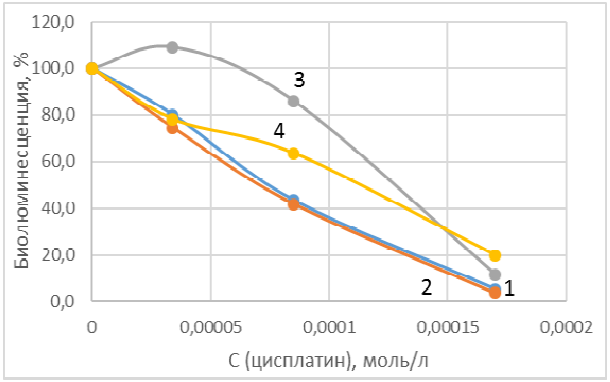


Рис. 3. Совместное действие цисплатина и фуллерена C_{60} при концентрациях фуллерена 0 (1), $2{,}80 \cdot 10^{-6}$ (2), $7{,}00 \cdot 10^{-6}$ (3), $1{,}40 \cdot 10^{-5}$ (4) моль/л соответственно.

Аналогично результатам биотестирования на морских светящихся бактериях, добавление фуллерена к цисплатину снижало его ДНК-тропное действие, что приводило к уменьшению значений индексов индукции биолюминесценции рекомбинатных Lux-биосенсоров. Для *E. coli* MG1655 (pRecA-lux) соотношения цисплатин/фуллерен (моль/моль) от 4,8 до 120 вызывали двукратное снижение индекса индукции биолюминесценции (рис. 4).

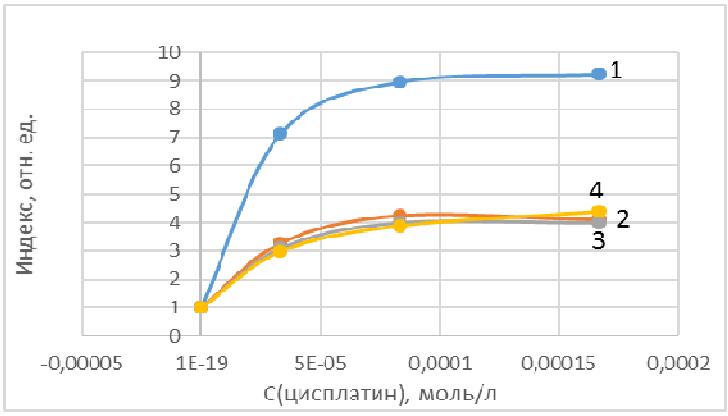


Рис. 4. Совместное действие цисплатина и фуллерена на биолюминесценцию рекомбинантного *E. coli* (pRecA-lux) при концентрациях фуллерена 0 (1), $1{,}39 \cdot 10^{-6}$ (2), $3{,}47 \cdot 10^{-6}$ (3), $6{,}94 \cdot 10^{-6}$ (4) моль/л соответственно.

Введение тех же соотношений цисплатина и фуллерена C_{60} в среду *E. coli* MG1655 (pColD-lux) приводило к уменьшению индексов индукции биолюминесценции от 2 до 6,6 раз (рис. 5).

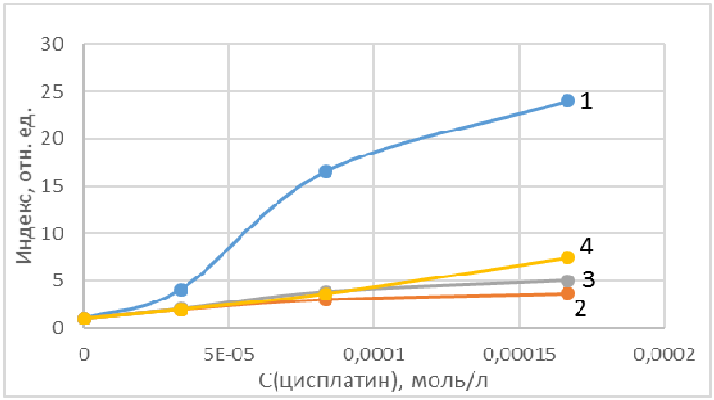


Рис. 5. Совместное действие цисплатина и фуллерена на биолюминесценцию рекомбинантного *E. coli* (pColD-lux) при концентрациях фуллерена 0 (1), $1{,}39 \cdot 10^{-6}$ (2), $3{,}47 \cdot 10^{-6}$ (3), $6{,}94 \cdot 10^{-6}$ (4) моль/л соответственно.

Полученные данные свидетельствуют о том, что образование комплексов цисплатина, одного из широко используемых препаратов цитотоксического действия, с фуллереном C_{60}, приводит к снижению некоторых видов биологической активности, таких как био(-эко)токсичность и генотоксичность, анализируемых по интенсивности биолюминесценции морских светящихся бактерий и рекомбинантных биорепортерных штаммов. Полученные результаты совпадают с данными других работ, где было показано образование комплексов цисплатина с фуллереном [9, 10], их более высокую противоопухолевую активность с одновременным снижением мутагенного эффекта по данным теста Амеса [10], а также снижение биологической активности доксорубицина, этидия бромида и профлавина при образовании комплексов с фуллереном C_{60} [11]. Таким образом, исходная гипотеза об условной независимости проявления эффекта биологического взаимодействия фуллерен–препарат от типа клеточной системы, являющееся следствием нековалентного комплексообразования фуллерена с молекулами препарата в физиологической жидкости, нашло подтверждение в настоящей работе. Предположительно, адсорбция препарата в кластеры фуллерена, существующие в жидкости, блокирует его действие на биосистему, что проявляется в понижении токсичности. В этом смысле эффект действия фуллерена на препарат подобен действию хорошо изученных в настоящее время молекул–интерцепторов, типа кофеина, хлорофиллина, витамина B_2: интерцепторы образуют нековалентные гетерокомплексы с молекулами препарата, понижая его активную концентрацию и биологический эффект [16, 17]. К сожалению, более глубокой интерпретации механизма биологического взаимодействия фуллерен–препарат в настоящее время дать невозможно, что является предметом дальнейших исследований. Тем не менее, проведенное биотестирование *in vitro* эффекта действия смеси фуллерен-препарат на различные клеточные системы важно для формулирования рекомендаций к использованию этих смесей в последующем доклиническом скрининге в качестве новых лекарственных форм стандартных противоопухолевых антибиотиков.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

1. Показано, что противоопухолевые препараты цисплатин и доксорубицин проявляют свою общую неспецифическую токсичность ингибируя бактериальную люминесценцию трех видов морских светящихся тест-бактерий.
2. С использованием рекомбинантных биорепортерных штаммов *E. coli* pRecA-lux и pColD-lux, чувствительных к повреждению нуклеиновых кислот, установлено, что таким биологическим эффектом обладает цисплатин (индексы индукции биолюминесценции составляли 8 и 38, в зависимости от тест-штамма), но не доксорубицин.
3. Биотестирование совместного действия цисплатина и фуллерена С60 на морских светящихся тест-бактериях и на рекомбинантных биорепортерных штаммах показало, что комплексообразование лекарственного вещества с наночастицами приводит к снижению как общей биотоксичности (на 20–40%), так и генотоксичности (в 2–6,6 раза).

Список литературы

1. Injac R. Cardioprotective effects of fullerenol C(60)(Oh)(24) on a single dose doxorubicin-induced cardiotoxicity in rats with malignant neoplasm / R. Injac, M. Perse, M. Boskovic, V. Djordjevic-Milic, A. Djordjevic, A. Hvala, A. Cerar, B. Strukelj // Technol. Cancer. Res. Treatment. – 2008. – Vol. 7, № 1. – P. 15–25.
2. Injac R. Protective effects of fullerenol C60(OH)24 against doxorubicin-induced cardiotoxicity and hepatotoxicity in rats with colorectal cancer / R. Injac, M. Perse, M. Cerne, N. Potocnik, N. Radic, B. Govedarica, A. Djordjevic, A. Cerar, B. Strukelj // Biomaterials. – 2009. – Vol. 30, № 6. – P. 1184–96.
3. Al-Subiai S. N. Merging nano-genotoxicology with eco-genotoxicology: an integrated approach to determine interactive genotoxic and sub-lethal toxic effects of C(60) fullerenes and fluoranthene in marine mussels, Mytilus sp. / S. N. Al-Subiai, V. M. Arlt, P. E. Frickers, J. W. Readman, B. Stolpe, J. R. Lead, A. J. Moody, A. N. Jha // Mutat. Res. – 2012. – Vol. 745, № 1–2. – P. 92–103.
4. Prylutska S. C60 fullerene as synergistic agent in tumor-inhibitory Doxorubicin treatment / S. Prylutska, I. Grynyuk, O. Matyshevska, Y. Prylutskyy, M. Evstigneev, P. Scharff, U. Ritter // Drugs in R&D.– 2014. – Vol. 14, № 4. – P. 333–40.
5. Panchuk R. R. Application of C60 Fullerene-Doxorubicin Complex for Tumor Cell Treatment In Vitro and In Vivo / R. R. Panchuk, S. V. Prylutska, V. V. Chumakl, N. R. Skorokhyd, L. V. Lehka, M. P. Evstigneev, Y. I. Prylutskyy, W. Berger, P. Heffeter, P. Scharff, U. Ritter, R. S. Stoika // J. Biomed. Nanotechnology. – 2015. – Vol. 11, № 7.– P. 1139–52.
6. Prylutska S. V. Complex of C60 Fullerene with Doxorubicin as a Promising Agent in Antitumor Therapy / S. V. Prylutska, L. M. Skivka, G. V. Didenko, Y. I. Prylutskyy, M. P. Evstigneev, G. P. Potebnya, R. R. Panchuk, R. S. Stoika, U. Ritter, P. Scharff // Nanoscale Res. Lett. – 2015. – Vol. 10, № 1. – P. 499–505.
7. Evstigneev M. P.Complexation of C60 fullerene with aromatic drugs. / M. P. Evstigneev, A. S. Buchelnikov, D. P. Voronin, Y. V. Rubin, L. F. Belous, Y. I. Prylutskyy, U. Ritter // Chem. Phys. Chem. – 2013. – Vol. 14, № 3. – P. 568–78.
8. Prylutskyy Y. I. Characterization of C60 fullerene complexation with antibiotic doxorubicin. / Y. I. Prylutskyy, M. P. Evstigneev, I. S. Pashkova, D. Wyrzykowski, A. Woziwodzka, G. Gołuńsk., J. Piosik, V. V. Cherepanov, U. Ritter // Phys. Chem. Chem. Phys. – 2014. – Vol. 16, № 42. – P. 23164–72.
9. Prylutskyy Y. I. Structural self-organization of C60 and cisplatin in physiological solution / Y. I. Prylutskyy, V. V. Cherepanov, M. P. Evstigneev, O. A. Kyzyma, V. I. Petrenko, V. I. Styopkin, L. A. Bulavin, N. A. Davidenko, D. Wyrzykowski, A. Woziwodzka, J. Piosik, R. Kaźmierkiewicz, U. Ritter // Phys. Chem. Chem. Phys. – 2015. – Vol. 17, № 39. – P. 26084–92.
10. Prylutska S. C60 fullerene enhances cisplatin anticancer activity and overcomes tumor cell drug resistance / S. Prylutska, R. Panchuk, G. Gołuński, L. Skivka, Y. Prylutskyy, V. Hurmach, N. Skorohyd, A. Borowik, A. Woziwodzka, J. Piosik, O. Kyzyma, V. Garamus, L. Bulavin, M. Evstigneev, A. Buchelnikov, R. Stoika, W. Berger, U. Ritter, P.Scharff // Nano Research. – 2017. – Vol. 10, № 2. – P. 652–671.
11. Skamrova G. B. Interceptor effect of C60 fullerene on the in vitro action of aromatic drug molecules / Skamrova G. B., Laponogov I., Buchelnikov A. S., Shckorbatov Y. G., Prylutska S. V., Ritter U., Prylutskyy Y. I., Evstigneev M. P. // Eur.Biophys. J. – 2014. – Vol. 43, № 6–7. – P. 265–276.
12. Дерябин Д. Г. Бактериальная биолюминесценция: фундаментальные и прикладные аспекты / Д. Г. Дерябин. – М: Наука, 2009. – 248 с.
13. Ritter U. Structural features of highly stable reproducible C60 fullerene aqueous colloid solution probed by various techniques / U. Ritter, Y. I. Prylutskyy, M. P. Evstigneev, N. A. Davidenko, V. V. Cherepanov, A. I. Senenko, O. A. Marchenko, A. G.Naumovets // Fullerenes Nanotubes and Carbon Nanostructures. – 2015. – Vol. 23, № 6. – P. 530–534.
14. Кацев А. М. Новые термофильные люминесцентные бактерии, выделенные из Азовского моря. / А. М. Кацев // Таврический медико-биологический вестник. – 2014. – Т. 17, № 2. – С. 59–64.
15. Малыгина В. Ю. Светящиеся бактерии Черного и Азовского морей / В. Ю. Малыгина, А. М. Кацев // Экология моря. – 2003. – Т. 64. – С. 18–23.

16. Woziwodzka A. Caffeine and other methylxanthines as interceptors of food-borne aromatic mutagens: inhibition of Trp-P-1 and Trp-P-2 mutagenic activity / Woziwodzka A., Gołuński G., Wyrzykowski D., Kaźmierkiewicz R., Piosik J // Chem. Res. Toxicol. – 2013. – Vol. 26, № 11. – P. 1660–1673.
17. Hill G. M. Attenuation of cytotoxic natural product DNA intercalating agents by caffeine. / Hill G. M., Moriarity D. M., Setzer W. N // Sci. Pharm. – 2011. – Vol. 79, № 4. – P. 729–747.

ESTIMATION OF THE BIOTOXIC AND DNA TROPIC ACTIVITY OF CISPLATIN COMPLEXES WITH FULLERENE C60 WITH APPLYING OF MARINE LUMINESCENT BACTERIA AND RECOMBINANT LUX-BIOSENSORS

Katsev A. M.[1], Evstigneev M. P.[2], Salo V. A.[2], Sharipov E. T.[1]

[1]V. I. Vernadsky Crimean Federal University, Simferopol, Russia
[2]Sevastopol State University, Sevastopol, Russia
E-mail: katsev@mail.ru

The combined effect of cisplatin and its complexes with fullerene C_{60} on the bioluminescence of marine luminous bacteria *V. fischeri* F1, as well as on genetically engineered Lux-strains sensitive to the action of DNA-tropic agents *E. coli* MG1655 (pRecA-lux) and (pColD-lux).

Cisplatin induced the luminescence of Lux-strains pRecA-lux and pColD-lux at 8 and 38 times, respectively.The study of the action of fullerene C_{60} revealed the absence of influence on bioluminescence of both marine luminous and recombinant test bacteria.The next step was to analyze the joint effect of cisplatin and fullerene C60 on the bioluminescence of sea bacteria *V. fischeri* F1. At a cisplatin/fullerene (mol/mol) ratio of less than 12 (C_{60} concentrations of $7 \cdot 10^{-6}$ and $1.4 \cdot 10^{-6}$mol/l), the inhibiting bioluminescence of the drug ability was on average 20–40 %.

Similar to the results of biotesting on marine luminous bacteria, the addition of fullerene to cisplatin reduced its DNA-tropic effect, which led to a decrease in the indices of induction of bioluminescence of recombinant Lux-biosensors. For *E. coli* MG1655 (pRecA-lux), the cisplatin/fullerene (mol/mol) ratios of 4.8 to 120 caused a two-fold decrease in the bioluminescence induction index. The introduction of the same ratios of the antibiotic and fullerene C_{60} to *E. coli* MG1655 (pColD-lux) resulted in a decrease in indices of induction of bioluminescence from 2 to 6.6 times.

The obtained data indicate the existence of fullerene interaction with cisplatin, which manifests itself in a decrease in the eco- and genotoxicity of the drug effect on strains of luminous bacteria when administered as an aqueous mixture with fullerene C_{60}. This effect is presumably a consequence of non-covalent complexation of fullerene with drug molecules and manifests itself in various types of biosystems – the dividing and non-dividing cell lines *in vitro* and *in vivo*. Such rapid *in vitro* testing of the effect of the fullerene-drug mixture on various cellular systems is important for formulating recommendations for the use of these mixtures in subsequent preclinical screening as new dosage forms of standard antitumor drugs.

Keywords: fullerene, antitumor drugs, bioluminescent bacteria, lux-biosensors.

References

1. Injac R., Perse M., Boskovic M., Djordjevic-Milic V., Djordjevic A., Hvala A., Cerar A., Strukelj B. Cardioprotective effects of fullerenol C(60)(Oh)(24) on a single dose doxorubicin-induced cardiotoxicity in rats with malignant neoplasm, *Technol. Cancer. Res. Treatment*, **7**(1), 15 (2008).
2. Injac R., Perse M., Cerne M., Potocnik N., Radic N.,Govedarica B., Djordjevic A., Cerar A., Strukelj B. Protective effects of fullerenol C60(OH)24 against doxorubicin-induced cardiotoxicity and hepatotoxicity in rats with colorectal cancer, *Biomaterials*, **30**(6), 1184 (2009).
3. Al-SubiaiS. N., Arlt V. M., Frickers P. E., Readman J. W., Stolpe B., Lead J. R., Moody A. J., Jha A. N. Merging nano-genotoxicology with eco-genotoxicology: an integrated approach to determine interactive genotoxic and sub-lethal toxic effects of C(60) fullerenes and fluoranthene in marine mussels, Mytilus sp., *Mutat. Res.*, **745**(1-2), 92 (2012).
4. Prylutska S., Grynyuk I., Matyshevska O., Prylutskyy Y., Evstigneev M., Scharff P., Ritter U. C60 fullerene as synergistic agent in tumor-inhibitory Doxorubicin treatment, *Drugs in R&D*, **14**(4), 333 (2014).
5. Panchuk R. R.,Prylutska S. V., Chumakl V. V., Skorokhyd N. R., Lehka L. V., Evstigneev M. P., Prylutskyy Y. I., Berger W., Heffeter P., Scharff P., Ritter U., Stoika R. S. Application of C60 Fullerene-Doxorubicin Complex for Tumor Cell Treatment In Vitro and In Vivo, *J. Biomed. Nanotechnology*, **11**(7), 1139 (2015).
6. Prylutska S. V., Skivka L. M., Didenko G. V., Prylutskyy Y. I., Evstigneev M. P., Potebnya G. P., Panchuk R. R., Stoika R. S., Ritter U., Scharff P. Complex of C60 Fullerene with Doxorubicin as a Promising Agent in Antitumor Therapy, *Nanoscale Res. Lett.*, **10**(1), 499 (2015).
7. Evstigneev M. P., Buchelnikov A. S., Voronin D. P., Rubin Y. V., Belous L. F., Prylutskyy Y. I., Ritter U. Complexation of C60 fullerene with aromatic drugs, *Chem. Phys. Chem.*, **14**(3), 568 (2013).
8. Prylutskyy Y. I., Evstigneev M. P., Pashkova I. S., Wyrzykowski D., Woziwodzka A., Gołuński G., Piosik J., Cherepanov V. V., Ritter U. Characterization of C60 fullerene complexation with antibiotic doxorubicin, *Phys. Chem. Chem. Phys.*, **16**(42), 23164 (2014).
9. Prylutskyy Y. I.,Cherepanov V. V., Evstigneev M. P., Kyzyma O. A., Petrenko V. I., Styopkin V. I., Bulavin L. A., Davidenko N. A., Wyrzykowski D., Woziwodzka A., Piosik J., Kaźmierkiewicz R., Ritter U. Structural self-organization of C60 and cisplatin in physiological solution, *Phys. Chem. Chem. Phys.*, **17**(39), 26084 (2015).
10. Prylutska S., Panchuk R., Gołuński G., Skivka L., Prylutskyy Y., Hurmach V., Skorohyd N., Borowik A., Woziwodzka A., Piosik J., Kyzyma O., Garamus V., Bulavin L., Evstigneev M., Buchelnikov A., Stoika R., Berger W., Ritter U. and Scharff P. C60 fullerene enhances cisplatin anticancer activity and overcomes tumor cell drug resistance, *Nano Research*, **10**(2), 652 (2017).
11. Skamrova G. B., Laponogov I., Buchelnikov A. S.,Shckorbatov Y. G., Prylutska S. V., Ritter U., Prylutskyy Y. I., Evstigneev M. P. Interceptor effect of C60 fullerene on the in vitro action of aromatic drug molecules, *Eur.Biophys. J.*, **43**(6-7), 265 (2014).
12. Deryabin D. G. Bacterial bioluminescence: fundamental and application aspects, 248 p. (M: Science, 2009).
13. Ritter U., Prylutskyy Y. I.,Evstigneev M. P., Davidenko N. A., Cherepanov V. V., Senenko A. I., Marchenko O. A.,Naumovets A. G. Structural features of highly stable reproducible C60 fullerene aqueous colloid solution probed by various techniques, *Fullerenes Nanotubes and Carbon Nanostructures*, **23**(6), 530 (2015).
14. Katsev A. M. New thermophilic luminescent bacteria isolated from Azov sea, *Tavricheskiy Mediko-Biologicheskiy Vestnik*, **17**(2), (2014).
15. Maligina V. Yu., Katsev A. M. Luminous bacteria from the Black sea and the Sea of Azov, *EkologiyaMorya*, **64**, 18 (2003).
16. Woziwodzka A., Gołuński G., Wyrzykowski D., Kaźmierkiewicz R., Piosik J. Caffeine and other methylxanthines as interceptors of food-borne aromatic mutagens: inhibition of Trp-P-1 and Trp-P-2 mutagenic activity, *Chem. Res. Toxicol.*, **26**(11), 1660 (2013).
17. Hill G. M., Moriarity D. M., Setzer W. N. Attenuation of cytotoxic natural product DNA intercalating agents by caffeine, *Sci. Pharm.*, **79**(4), 729 (2011).

Ученые записки Крымского федерального университета имени В. И. Вернадского
Биология. Химия. Том 5 (71). 2019. № 1. С. 243–248.

УДК 548.18

ПОВЕДЕНИЕ СИСТЕМЫ $C_U|C_USO_4|C_U$ В СИНУСОИДАЛЬНОМ ИСКУССТВЕННОМ ПОЛЕ СИЛЫ ТЯЖЕСТИ

Сандулов Д. Б.

Таврическая академия (структурное подразделение) ФГАОУ ВО «Крымский федеральный университет им. В. И. Вернадского», Симферополь,
Республика Крым, Россия
E-mail: 777milenx@mail.ru

Исследовано поведение системы $Cu|CuSO_4|Cu$ в искусственном поле силы тяжести. Концентрацию электролита в ячейке изменяли от 10^{-5}М до 10^{-1}М. Электрохимическая ячейка представляла собой цилиндр, в торцах которого располагались дисковые электроды. Ось ячейки была параллельна направлению действия поля. При увеличении скорости вращения ротора в разбавленных растворах, в системе возникал резкий скачок потенциала. Наибольший скачок потенциала наблюдали в ячейке с концентрацией электролита 10^{-5} М, а наименьший при концентрации 10^{-1} М. Кроме этого было изучено влияние синусоидальных колебаний искусственного поля силы тяжести. Период синусоидальных колебаний при этом составлял 125 , 250 и 500 с, а амплитуда колебаний искусственной силы тяжести (g) определялась частотами вращения ротора – 125, 250, 500, 1000 и 2000 $с^{-1}$.
Ключевые слова: поле силы тяжести, электрохимическая ячейка, колебания потенциала.

ВВЕДЕНИЕ

Раннее было исследовано поведение системы $Cu|CuSO_4|Cu$ в искусственном поле силы тяжести [1, 2]. Концентрацию растворов сульфата меди при этом изменяли от 0,1 М до 1,0 М. В процессе увеличения величины поля до постоянной величины возникали самопроизвольные колебания потенциала, частотный анализ которых показал, что они кратны 8 с.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Для исследования этих колебаний, а также для изучения поведения раствора сульфата меди, при весьма малых концентрациях была изготовлена ячейка из метилметакрилата. Внутренняя часть ячейки представляла собой цилиндр диаметром $0{,}5\cdot10^{-2}$ м. и длиной $1\cdot10^{-2}$ м. В торцах ячейки располагались дисковые медные электроды диаметром $0{,}5\cdot10^{-2}$ м. Расстояние между электродами было $1\cdot10^{-2}$ м. Электроды были выполнены из листовой меди марки 9999. Ячейка располагалась внутри ротора так, что ось ячейки была параллельна направлению действию поля. В качестве центрифуги была использована УЦПЗ-45, позволявшая получать скорость вращения ротора $45\cdot10^{3}$ $с^{-1}$. Концентрацию растворов сульфата меди для исследования изменяли от 10^{-5} М до 10^{-1} М.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

При проведении экспериментов оказалось, что поведение сильно разбавленных растворов резко отличалось от поведения концентрированных растворов. Так при увеличении величины поля силы тяжести возникал резкий скачок потенциала, который начинал резко уменьшаться еще в то время, когда величина поля продолжала нарастать до постоянной величины. После резкого падения, как правило, возникали колебания, амплитуда которых незначительно превышала величину постоянной составляющей значения потенциала при установившейся скорости вращения ротора. На рисунке 1 приведен график зависимости возникающего потенциала в системе при концентрации сульфата меди 10^{-5} М и при увеличении частоты вращения ротора от 0 до постоянной величины – 6000 $с^{-1}$.

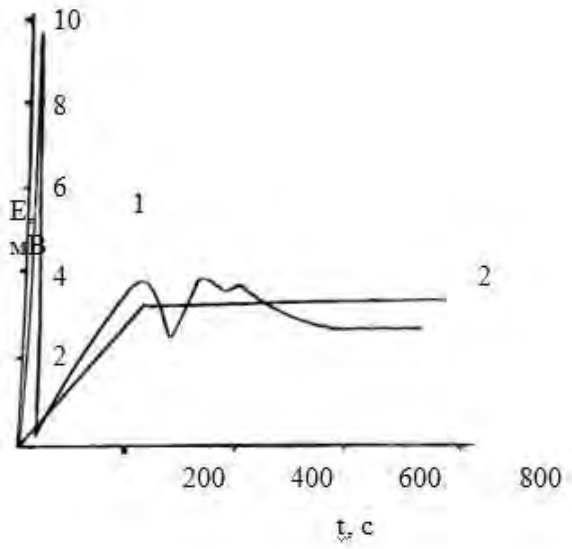


Рис. 1. Зависимость ЭДС системы $Cu/CuSO_4/Cu$ от величины действия искусственного поля силы тяжести.

1 – возникающий потенциал, 2 – скорость вращения ротора (6000 $с^{-1}$).

Как видно из графика, резкий скачок потенциала до 9,74 мВ с последующим падением до 0,23 мВ напоминает ″упругое взаимодействие″ ионов меди с электродом. В дальнейшем потенциал претерпевает колебание, после чего устанавливается до постоянного значения. В отличие от данных [1], где в системе положительный заряд в ячейке был ближе к центру вращения ротора, в последнем случае положительный заряд был сконцентрирован на противоположном ее конце. Последнее может быть объяснено большей подвижностью ионов Cu^{+2}, обусловленной меньшим размером радиуса иона меди по сравнению с радиусом сульфат-иона. Следует отметить, что скачок потенциала, возникающий при увеличении искусственного поля силы тяжести в ячейке с раствором концентрации сульфата меди 0,1 М, не превышал 1,25 мВ. В связи с тем, что устройство позволяло

накладывать на исследуемую ячейку электрические колебания или колебания искусственного поля силы тяжести, было предпринято исследование влияния синусоидальных колебаний искусственного поля силы тяжести. С этой целью на постоянную составляющую скорости вращения ротора, накладывали колебания с частотой одно за 125, 250 и 500 с, и амплитудой g, определяемой частотами вращения ротора 125, 250, 500, 1000 и 2000$с^{-1}$. Данные, полученные в результате этого эксперимента (зависимость t – периода колебаний и A – амплитуды колебаний от концентрации сульфата меди), приведены в таблице 1.

Таблица 1

Колебания, возникшие в электрохимической ячейке под действием синусоидального искусственного поля силы тяжести, в зависимости от концентрации сульфата меди

$C(CuSO_4) = 1 \cdot 10^{-5}$ моль/л

		1/t	2/t	3/t	4/t	5/t	6/t	7/t	8/t	9/t	10/t	11/t	12/t	13/t	14/t	15/t
t	125	100	12	86	12	29	12	11	12	10	12	13	12	15	12	15
A	500															
t	250	97	13	90	14	41	13	28	13	17	13	14	13	9	13	19
A	1000															
t	500	98	7	45	6	8	6	13	6	10	6	8	6	13	6	4
A	500															
t	500	100	3	54	2	19	2	8	2	7	2	4	2	4	2	2
A	1000															

$C(CuSO_4) = 1 \cdot 10^{-4}$ моль/л

		1/t	2/t	3/t	4/t	5/t	6/t	7/t	8/t	9/t	10/t	11/t	12/t	13/t	14/t	15/t
t	125	99	27	100	27	11	27	37	27	37	27	11	27	99	25	99
A	500															
t	125	9	6	100	5	39	6	41	5	41	5	39	6	100	4	8
A	100															
t	500	100	4	13	4	6	4	6	4	6	4	4	4	6	4	5
A	250															
t	500	100	4	11	4	21	4	13	4	2	4	4	4	5	4	6
A	500															
t	500	98	5	44	5	7	5	11	5	9	5	7	5	6	5	3
A	1000															
t	500	94	8	100	7	27	7	12	7	20	7	8	7	5	7	11
A	2000															
t	250	98	3	93	3	74	3	51	3	32	3	21	3	21	3	23
A	2000															

$C(CuSO_4) = 1 \cdot 10^{-3}$ моль/л

		1/t	2/t	3/t	4/t	5/t	6/t	7/t	8/t	9/t	10/t	11/t	12/t	13/t	14/t	15/t
t	125	100	16	18	16	25	16	24	16	18	15	100	14	26	17	26
A	125															
t	125	48	15	100	15	48	15	13	15	20	14	16	14	11	14	15
A	1000															
t	250	100	12	21	12	8	12	22	12	10	12	12	12	10	12	16
A	250															
t	250	74	6	100	5	22	5	23	5	10	5	10	5	3	5	5
A	1000															
t	500	100	1	23	1	10	1	5	1	0	1	1	1	2	1	1
A	1000															

$C(CuSO_4) = 1 \cdot 10^{-2}$ моль/л

		1/t	2/t	3/t	4/t	5/t	6/t	7/t	8/t	9/t	10/t	11/t	12/t	13/t	14/t	15/t
t	125	100	9	64	9	26	9	7	9	13	9	7	9	10	9	4
A	500															
t	125	25	4	100	4	25	4	7	4	9	4	6	4	4	4	3
A	1000															
t	500	98	7	27	7	16	7	52	7	11	7	10	7	6	7	7
A	250															
t	500	98	7	7	7	11	7	8	7	6	7	6	7	6	6	5
A	1000															

$C(CuSO_4) = 1 \cdot 10^{-1}$ моль/л

		1/t	2/t	3/t	4/t	5/t	6/t	7/t	8/t	9/t	10/t	11/t	12/t	13/t	14/t	15/t
t	500	98	7	27	7	16	7	52	7	11	7	10	7	6	7	7
A	250															
t	500	98	7	7	7	11	7	8	7	6	7	6	7	6	6	5
A	1000															

Как и следовало ожидать, колебания возникали в связи с тем, что концентрации ионов меди и сульфат-ионов распределялись по длине ячейки в соответствии с действием искусственного поля силы тяжести и массой ионов. Характеристика этих колебаний определялась концентрацией раствора, частотой колебания и амплитудой колебания. Эти величины приведены в тексте и таблице. В растворах не зависимо от концентрации чем меньше был период колебания и больше амплитуда, тем чаще возникали нечётные гармоники с достаточно большой амплитудой. Для растворов с концентрацией 10^{-5} М, периоде колебания 125 с и амплитуде 500 $с^{-1}$ возникали две гармоники - первая и третья. А при колебании с периодом 250 с и амплитуде

1000 $с^{-1}$, кроме первой и третьей гармоник, возникали пятая и седьмая гармоники и далее вплоть до пятнадцатой гармоники. Подобная картина наблюдалась для концентрации сульфата меди 10^{-4} М. В случае концентрации сульфата меди 10^{-3} М при периоде колебания 125 с и амплитуде колебания 1000 $с^{-1}$, система вела себя как стабильный усилитель. По мере увеличения концентрации, особенно при концентрации 10^{-1} М, максимальное значение амплитуды колебаний наблюдалось только для случая, когда период колебания составлял 500 с, амплитуда колебания 250 $с^{-1}$ для гармоник первой и седьмой. При частоте 500 с и амплитуде 1000 $с^{-1}$ система близка к резонансу.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

1. Наибольшей амплитудой отличались колебания в растворах с концентрацией 10^{-5} М (до 3,75 мВ) и 0,25 мВ в случае с растворами 10^{-1} М.
2. В растворах, не зависимо от концентрации, чем меньше был период колебания и больше амплитуда, тем чаще возникали нечётные гармоники с достаточно большой амплитудой.
3. Описанное поведение системы напоминает поведение нелинейного конденсатора, в котором частота задаётся не электрическими колебаниями, а колебаниями поля силы тяжести.

Список литературы

1. Сандулов Д.Б. Влияние искусственного поля силы тяжести на поведение системы $Cu/CuSO_4/Cu$ и $Ag/AgNO_3/Ag$ / Д.Б. Сандулов, В.А. Докторевич // Электрохимия. – 1984. – Т. XX. – № 3. – С. 358–361.
2. Сандулов Д.Б. Ячейка с раствором сильного электролита в центробежном поле / Д.Б. Сандулов, Ю.А. Раков, В.А. Докторевич // Термодинамика необратимых процессов и её применение (тезисы докладов II–й Всесоюзной конференции). Черновицкий государственный университет, Черновцы. – 1984. – С. 240.

BEHAVIOR OF SYSTEM $Cu/CuSO_4/Cu$ IN THE SINEWAVE ARTIFICIAL FIELD OF GRAVITY

Sandulov D. B.

V. I. Vernadsky Crimean Federal University, Simferopol, Russia
E-mail: vika.tim@list.ru

Behavior of the system Cu|CuSO4|Cu is investigational in the artificial field of gravity. The concentration of electrolyte in a cell was changed from a 10^{-5} M to 10^{-1} M. the Electrochemical cell was a cylinder, disk electrodes were situated in the butt ends of that. The axis of cell was parallel to direction of action of the field. At the increase of speed of rotation of rotor in dilute solutions, there was a sharp jump of potential in the system. The most jump of potential was looked after in a cell with the concentration of electrolyte by a 10^{-5} M, and the least during a concentration 10^{-1} M. Particular interest

presented the process of influence of sinewave vibrations of the artificial field of gravity. For this purpose on the permanent constituent of potential, arising up in a cell at permanent speed of rotation of rotor laid on the sinewave vibrations of the artificial field of gravity frequency 125 with, 250 with, 500 with, and by amplitude from 125 c^{-1} to 2000 c^{-1}. As a result of imposition of these vibrations there were vibrations of potential in a cell. Frequency of these vibrations depended, both from frequency and from amplitude. Most influence on frequency and amplitude of vibrations arising up in a cell, amplitude of questioner oscillation rendered. Especially it showed up at the concentrations of electrolyte a 10^{-5} M – 10^{-3} M and to amplitude from 125 c^{-1} to 2000 c^{-1}.

Keywords: the field of gravity, electrochemical cell, vibrations of potential.

References

1. Sandulov D.B., Doctorevich V.A. Influence of the artificial field of gravity on behavior of the system $Cu/CuSO_4/Cu$ and $Ag/AgNO_3/Ag$, *Electrochemistry*, **XX** (3), 358 (1984). (*in Russ*.)
2. Sandulov D.B., Rakov Yu.A., Doctorevich V.A. Cell with solution of strong electrolyte in the centrifugal field. Thermodynamics of irreversible processes and her application (theses of lectures of II-d All-union conference). *Chernivtsi state university, Chernivtsi*, 240 (1984).

Ученые записки Крымского федерального университета имени В. И. Вернадского
Биология. Химия. Том 5 (71). 2019. № 1. С. 249–254.

УДК 678.83:620.178

ИССЛЕДОВАНИЕ ВЛИЯНИЯ СОДЕРЖАНИЯ ВОЛОКНА НА СТЕПЕНЬ КРИСТАЛЛИЧНОСТИ И ПРОЧНОСТНЫЕ СВОЙСТВА ТЕРМОСТОЙКИХ ОРГАНОПЛАСТИКОВ

Ткаченко Э. В., Толстенко Ю. В.

Севастопольский государственный университет, Севастополь, Россия
E-mail: tkelly@rambler.ru

Исследовано влияние содержания (5–20 масс. %) полиимидных волокон на степень кристалличности органопластиков на основе ароматического полиамида фенилона С-1. Показано, что с увеличением содержания волокна до 15 масс. % степень кристалличности возрастает. Показана хорошая корреляция между степенью кристалличности, твердостью, модулем упругости, пределом текучести при сжатии органопластиков.
Ключевые слова: полимерные композиты, полиамиды, наполнители, свойства.

ВВЕДЕНИЕ

В настоящее время работами как отечественных, так и зарубежных исследователей убедительно показано широкое многообразие форм структурной упорядоченности в аморфных полимерных системах, начиная от простейших агрегатов цепей типа пачек и фибрилл и заканчивая весьма сложными элементами структур внешне правильной формы. Развитие различных форм надмолекулярных структур из одних и тех же макромолекул должно приводить к разным свойствам полимерного тела [1]. Особого внимания заслуживает нахождение связи между типом и размером надмолекулярных структур в полимерах и физико-механическими свойствами [2].

Известно, что степень кристалличности оказывает очень большое влияние на такие свойства полимеров, как плотность, модуль упругости, твердость, проницаемость и теплоемкость. В частично кристаллическом полимере его аморфные и кристаллические области будут иметь различные свойства несмотря на их одинаковую химическую природу [3].

Учитывая вышеизложенное, цель настоящей работы заключалась в исследовании влияния содержания волокна на степень кристалличности и прочностные свойства термостойких термопластичных органопластиков.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В качестве связующего при создании органопластиков использовали фенилон С-1 (ТУ 6-05-226-72) – продукт поликонденсации *м*- и *п*-фенилендиамина и изофталевой кислоты. Структурная формула этого полимера следующая:

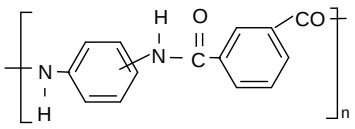


Рис. 1. Строение фенилона С-1.

Фенилон С-1 представляет собой порошок розового цвета с насыпной плотностью 0,2–0,4 г/см^3. Удельная вязкость его 0,5%-ного раствора в ДМФА (с добавкой 5 % хлористого лития) не менее 0,75 [4].

В качестве армирующего наполнителя использовали полиимидное волокно марки аримид-Т, свойства которого представлены в таблице 2 [5]. Строение аримида-Т может быть выражено следующей формулой:

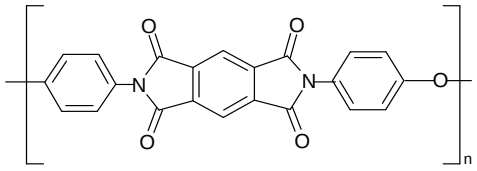


Рис. 2. Строение аримида-Т.

Приготовление композиций осуществляли методом сухого смешения в аппарате с вращающимся электромагнитным полем с помощью ферромагнитных частиц, впоследствии извлекаемых методом магнитной сепарации. Перерабатывались композиции в образцы методом компрессионного прессования.

Рентгенодифракционные исследования проводили на установке УРС-50ИМ. Данная установка применяется для решения большинства задач рентгеноструктурного анализа, в частности, для определения фазового состава, точного нахождения периодов решетки, блочной структуры, определения характеристических температур. Большим преимуществом является то, что она позволяет резко сократить время, затрачиваемое на получение рентгенограмм и фотометрических кривых. В опытах использовали МоКα-излучение (длина волн 0,710 Å).

Твердость материалов по Роквеллу ($HR_в$) определяли вдавливанием в поверхность испытуемого образца индентора, представляющего собой полированный закаленный стальной шарик. Измерение основано на общей глубине проникновения, которая вычисляется как общая глубина после снятия основной нагрузки минус упругое восстановление после снятия основной нагрузки и минус глубина проникновения при малой нагрузке. Число твердости по Роквеллу вычисляется: 130 минус глубина внедрения с шагом 0,002 мм.

Для определения модуля упругости при сжатии (Е) по диаграмме определяли значение нагрузок, которые отвечают величинам относительной деформации 0,1 и 0,3% (ГОСТ 9550-81). Расчеты проводили по формуле (1):

$$E = \frac{(F_2 - F_2) \cdot h_0}{A_0 \cdot (\Delta h_2 - \Delta h_1)}, \qquad (1)$$

где F_1 – нагрузка, которая отвечает относительной деформации 0,1%, Н;

F_2 – нагрузка, которая отвечает относительной деформации 0,3 %, Н;

h_o – начальная высота образца, мм; A_o – площадь поперечного сечения образца, мм; Δh_1 – изменение высоты, которая отвечает нагрузке F_1, мм; Δh_2 – изменение высоты, которая отвечает нагрузке F_2, мм.

Разрушающее напряжение при сжатии (σ) рассчитывали по формуле (2):

$$\sigma = P / F, \qquad (2)$$

где P – нагрузка, МПа; F – минимальная площадь поперечного сечения образца, мм^2.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Для определения степени кристалличности были зарегистрированы дифрактограммы для прессованного фенилона С-1 и композитов, содержащих 5, 10, 15 и 20 масс. % волокна аримид-Т. Полученные дифракционные кривые представлены на рис. 3.

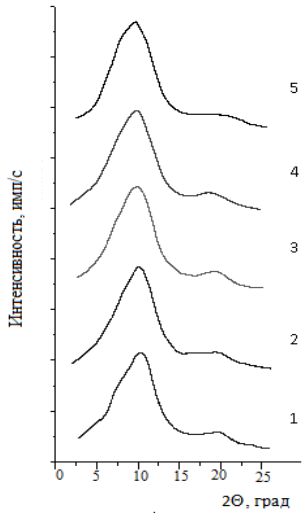


Рис. 3. Дифракционные кривые фенилона С-1 и композитов, содержащих 5, 10, 15 и 20 масс. % волокна (1–5 соответственно).

Степень кристалличности определяли по методике Германса и Вейдингера [6]. Поскольку явно видимых четких пиков кристаллической фазы на дифракционных кривых нет, мы предполагали, что величиной, пропорциональной содержанию кристаллической фазы можно считать разность площадей под экспериментальной дифракционной кривой и под кривой, аппроксимирующей аморфное гало

($S_{эксп} - S_{гало}$), тогда как величиной, пропорциональной содержанию аморфной фазы, является площадь под кривой, аппроксимирующей аморфное гало ($S_{гало}$).

Как видно из рис. 3, аморфное гало полимера имеет два максимума (2θ около 10 и 20°), поэтому его описывали как суперпозицию двух гауссовских кривых. Аппроксимацию и интегрирование кривых выполняли с помощью пакета прикладных математических программ Scilab, причем, поскольку степень кристалличности (судя по характеру дифрактограмм) невелика, то лучшей кривой считали такую, которая оптимально описывает экспериментальную дифрактограмму. Все кривые интегрировали в диапазоне 2θ от 3 до 24°.

Согласно [6] степени кристалличности *x* и *y* для пары образцов определяются по формулам (3):

$$x=\frac{A(1-B)}{A-B};\quad y=\frac{1-B}{A-B}, \qquad (3)$$

$$\text{где } A=\frac{S^1_{эксп}-S^1_{гало}}{S^2_{эксп}-S^2_{гало}};\quad B=\frac{S^1_{гало}}{S^2_{гало}}.$$

Дифрактограммы обрабатывали попарно. Из пяти образцов можно составить десять различных пар, причем каждый образец в этих парах встречается четыре раза, поэтому степень кристалличности каждого образца была определена четырежды и результаты усреднялись.

Полученные таким образом величины степени кристалличности исследованных образцов представлены на рис. 4 (кривая 4).

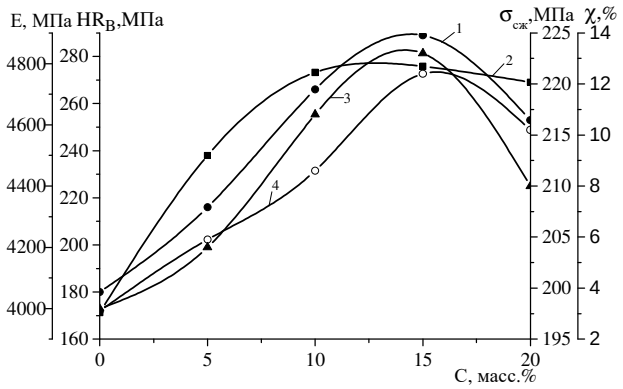


Рис. 4. Зависимость степени кристалличности (4) и прочностных характеристик (твердость по Роквеллу (1), модуль упругости (2), предел текучести при сжатии (3) композитов на основе фенилона С-1 от содержания волокна аримид-Т.

С увеличением содержания волокна до 15 масс. % степень кристалличности полимерных композитов возрастает. Дальнейшее увеличение содержания волокна до

20 масс. % приводит к снижению степени кристалличности вследствие понижения сегментальной подвижности макромолекул на границе раздела полимер–волокно.

На рис. 4 также представлены и результаты измерений прочностных характеристик (твердости по Роквеллу (1), модуля упругости (2), предела текучести при сжатии (3)) исследованных материалов, которые хорошо коррелируют с найденными величинами степени кристалличности.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

1. По дифракционным кривым определено, что наполнение ароматического полиамида фенилона С-1 полиимидными волокнами до 15 масс. % приводит к увеличению степени кристалличности. Дальнейшее увеличение содержания волокна до 20 масс. % приводит к уменьшению степени кристалличности вследствие понижения сегментальной подвижности макромолекул на границе раздела полимер–волокно.
2. Показано, что увеличение степени кристалличности приводит к упорядочиванию структуры и, как следствие, к возрастанию прочностных свойств полимерных композитов.

Список литературы

1. Аскадский А.А. Введение в физико-химию полимеров / А.А. Аскадский, А.Р. Хохлов. – М.: Научный мир, 2009. – 389 с.
2. Симонов-Емельянов Н.Д. Основы создания композиционных материалов / Н.Д. Симонов-Емельянов, В.Н. Кулезнев. – М.: МИХМ, 1986. – 86 с.
3. Gowariker V.R. Polymer science / V.R. Gowariker, N.V. Viswanathan, J. Sreedhar. – New Delhi: Wiley Eastern Ltd, 1986. – 524 c.
4. Термостойкие ароматические полиамиды / Л. Б. Соколов, В. Д. Герасимов, В. М. Савинов, В. К. Беляков. – М.: Химия, 1975. – 256 с.
5. Юркевич В.В. Технология производства химических волокон / В.В. Юркевич, А.Б. Пакшвер. – М.: Химия, 1987. – 304 с.
6. Hermans P.H. On the determination of the crystalline fraction of polyethylenes from X-ray diffraction / P. H. Hermans, A. Weidinger // Macromol. Chem. Phys. – 1961. – Vol. 44, № 1. – P. 24–36.

THE STUDY OF THE INFLUENCE OF FIBER CONTENT ON THE DEGREE OF CRYSTALITY AND THE STRENGTH OF PROPERTIES OF HEAT-RESISTANT ORGANOPLASTICS

Tkachenko E.V., Tolstenko Y.V.

Sevastopol State University, Sevastopol, Russia
E-mail: tkelly@rambler.ru

Currently, the work of both domestic and foreign researchers convincingly shows a wide variety of forms of structural orderliness in amorphous polymer systems, ranging from the simplest aggregates of chains such as the study of the influence of the content of polyimide fibers on the degree of bundles and fibrils and ending with very complex elements of structures of externally regular shape. The development of various forms of supramolecular

structures from the same macromolecules should lead to different properties of the polymer body [1]. Of particular note is the determination of the relationship between the type and size of supramolecular structures in polymers and physicomechanical properties [2].

It is known that the degree of crystallinity has a very large influence on such properties of polymers as density, elastic modulus, hardness, permeability and heat capacity. In a partially crystalline polymer, its amorphous and crystalline regions will have different properties, despite their identical chemical nature [3].

Considering all of the above, the purpose of this work was to study the effect of fiber content on the degree of crystallinity and strength properties of heat-resistant thermoplastic organoplastics.

Phenilon C-1 (TU 6-05-226-72), a product of polycondensation of *m*- and *p*-phenylenediamine and isophthalic acid, was used as a binder in the creation of organoplastics. As a reinforcing filler polyimide fiber brand arimid-T was used.

In order to determine the degree of crystallinity, diffraction patterns were recorded for pure compressed phenylon C-1 and composites containing 5, 10, 15, and 20 wt. % fiber arimid-T.

The compositions were prepared by the method of dry mixing in a rotating electromagnetic field in the presence of ferromagnetic particles. Compositions were processed into samples by compression pressing.

The degree of crystallinity was determined by the method of Germans and Weidinger [6]. Since there are no clearly visible clear peaks of the crystalline phase on the diffraction curves, we assumed that the quantity proportional to the content of the crystalline phase can be considered the difference of areas under the experimental diffraction curve and under the curve approximating the amorphous halo ($S_{exp} - S_{galo}$), while phase, is the area under the curve that approximates an amorphous halo (S_{halo}).

With increasing fiber content up to 15 mass. % degree of crystallinity of polymer composites increases. A further increase in fiber content to 20 mass. % leads to a decrease in the degree of crystallinity due to a decrease in the segmental mobility of macromolecules at the polymer-fiber interface. In fig. 5 also presents the results of measurements of strength characteristics (Rockwell hardness (1), modulus of elasticity (2), yield strength under compression (3)) of the materials studied, which correlate well with the found values of the degree of crystallinity.

Keywords: polymer composites, polyamides, fillers, properties.

References

1. Askadsky A.A., Khokhlov A.R., *Introduction to the physics and chemistry of polymers*, 389 p. (Scientific world, Moscow, 2009). *(in Russ.).*
2. Simonov-Emelyanov N. D., Kuleznev V.N., *The ɞasics of composite materials*, 86 p. (Moscow Institute of Chemical Engineering, Moscow, 1986). *(in Russ.).*
3. Gowariker V.R., Viswanathan N.V., Sreedhar J., *Polymer science*, 524 p. (Wiley Eastern Ltd, New Delhi, 1986).
4. Sokolov L.B., Gerasimov V.D., Savinov V.D., Belyakov V.K., *Heat-resistant aromatic polyamides*, 256 p. (Chemistry, Moscow, 1975). *(in Russ.).*
5. Yurkevich V.V., Pakshver A.B., *Chemical fiber production technology*, 304 p. (Chemistry, Moscow, 1987). *(in Russ.).*
6. Hermans P.H., Weider A., On the determination of the crystalline fraction of polyethylenes from X-ray diffraction, *Macromol. Chem. Phys*., **44** (1), 24 (1961).

Ученые записки Крымского федерального университета имени В. И. Вернадского
Биология. Химия. Том 5 (71). 2019. № 1. С. 255–261.

УДК 547.917 + 542.97

СИНТЕЗ ПЕРАЦЕТАТОВ β-*O*- И β-*S*-АРИЛГЛИКОЗИДОВ *N*-АЦЕТИЛГЛЮКОЗАМИНА В УСЛОВИЯХ МЕЖФАЗНОГО КАТАЛИЗА

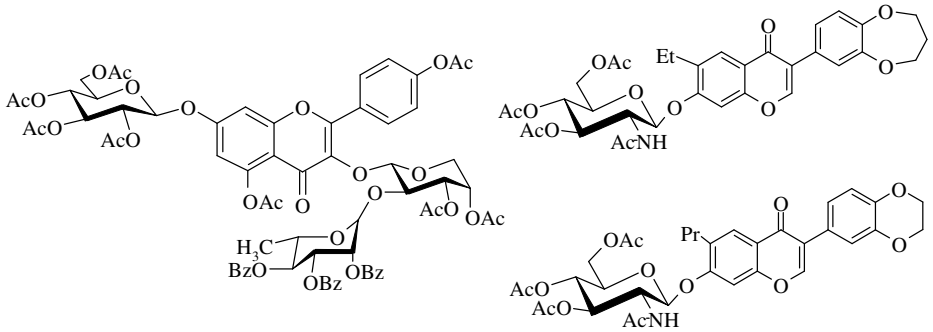
Цикалова В. Н., Купреева Н. А., Уржаткина А. С.

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

Для построения 1,2-*транс*-гликозидной и тиогликозидной связи в случае простых фенолов и тиофенолов применена система межфазного катализа «жидкость–жидкость», ранее использованная для флавоновых производных. В случае взаимодействия 2-нафтола с производным *N*–ацетилглюкозамина исследовано влияние различных четвертичных аммонийных солей в качестве катализаторов.
Ключевые слова: β-арилгликозиды *N*-ацетилглюкозамина, метод межфазного катализа, гликозидный синтез, четвертичные аммонийные соли.

ВВЕДЕНИЕ

Метод межфазного катализа широко используется в гликозидном синтезе в системе «жидкость–жидкость», «твердое тело–органический растворитель». В такой двухфазной системе осуществляется взаимодействие между твердыми или растворенными в воде солями, кислотами, основаниями или нейтральными молекулами и веществами в органических растворителях. Эти реакции катализируются ониевыми солями, комплексами краун-эфиров, солями щелочных металлов или комплексными солями. В качестве катализаторов могут быть использованы, например, бромид тетраэтиламмония, бромид пропилтриэтиламмония, бромид октилтриэтиламмония, иодид тетрабутиламмония, бромид гексадекантриметиламмония, бромид пентилтриэтиламмония, аликват 336, 15-краун-5, 18-краун-6, дибензо-18-краун-6, стеарат натрия [1–3].



В системе «жидкость–жидкость» в качестве оснований используют или водный раствор щелочи или водный раствор карбоната калия. В работах [4–6] раствор карбоната калия использовали в различных концентрациях в качестве основания в синтезе флавоноидных гликозидов различных нейтральных и аминосахаров. Однако этот подход не применялся для гликозилирования простых фенолов. Поэтому целью данной работы является гликозилирование фенола, 2-нафтола, тиофенола, *n*-тиокрезола и одного из флавонов методом межфазного катализа в присутствии бромида тетрабутиламмония и карбоната калия, а также исследование реакции гликозилирования 2-нафтола в условиях межфазного катализа в системе «жидкость–жидкость» в присутствии основания – карбоната калия и различных четвертичных аммониевых солей в качестве катализаторов.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В работе использованы реактивы: фенол, β-нафтол, тиофенол, *n*-тиокрезол бромиды тетраэтиламмония и тетрабутиламмония, хлориды триэтилбензиламмония и октадецилтриметиламмоний, йодид тетрабутиламмония, 2-ацетамидо-3,4,6-три-*O*-ацетил-2-дезокси-α-D-глюкопиранозилхлорид [7].

Анализ состава реакционных смесей, чистоты синтезированных соединений, а также контроль хода реакций осуществляли методом тонкослойной хроматографии (ТСХ) на пластинках Kieselgel 60-F254 (Merck) в системе растворителей бензол–пропан-2-ол, 10:1 (А). ТСХ проводили на пластинках Sorbfil-АФВ-УФ («Сорбполимер», Россия). Вещества обнаруживали визуально по люминесценции в УФ (254 нм), и 5% раствором серной кислоты в этаноле с последующим нагреванием хроматограмм до 200–300°С.

Спектр ^{1}H ЯМР получен на приборе Varian VXR-400 (400 МГц) (Институт живых систем Северо-Кавказского федерального университета, г. Ставрополь), внутренний стандарт – тетраметилсилан, химические сдвиги приведены в δ-шкале.

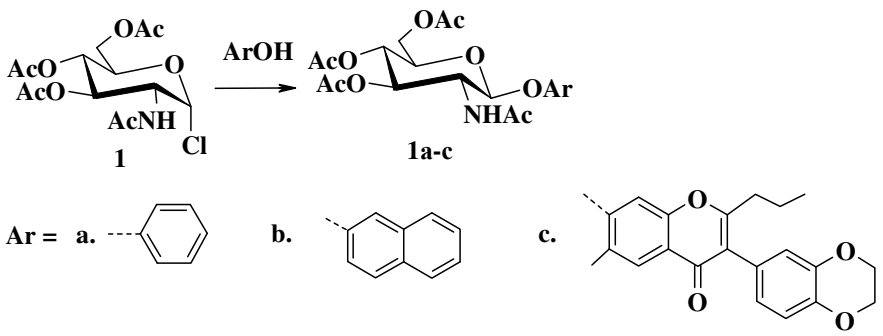


Рис. 1. Общая схема синтеза перацетатов β-*O*-арилгликозидов *N*-ацетилглюкозамина **1a-c**.

Общий метод получения перацетатов β-*O*-арилгликозидов *N*-ацетилглюкозамина 1a-c.

Смесь, состоящую из 0,82 ммоля 2-ацетамидо-3,4,6-три-О-ацетил-2-дезокси-α-D-глюкопиранозилхлорида **1**, 0,82 ммоля фенола (ArOH), 0,82 ммоля четвертичной аммонийной соли, растворяли в 15 мл хлороформа и добавляли 23,7 ммоля 0,18 М карбоната калия. Реакцию проводили при температуре 60ºС, при перемешивании в течение 1,5 часа. По окончании синтеза (контроль ТСХ, система А) органический слой промывали 5 мл воды, отделяли, сушили безводным Na_2SO_4 и упаривали. Гликозиды **1a-c** выделяли перекристаллизацией из изопропилового спирта.

Фенил-2-ацетамидо-3,4,6-три-О-ацетил-2-дезокси-β-D-глюкопиранозида (1a). Реакция протекала по общей схеме в присутствии 0,82 ммоля бромида тетрабутиламмония. Выход: 28%. Т. пл. 197–201°С, $[\alpha]_{546}$ –20° (с 1,0; хлороформ). Лит. данные: т. пл. 205–206°С, $[\alpha]_{546}$ –13° (с 0,95; хлороформ) [8].

Нафтил-2-ацетамидо-3,4,6-три-О-ацетил-2-дезокси-β-D-глюкопиранозид (1b).

Вариант а. Реакция протекала в присутствии 0,82 ммоля бромида тетрабутиламмония. Выход: 34%. Т. пл. 207–210°С, $[\alpha]_{546}$ –10° (с 1.0; хлороформ). Лит. данные: т. пл. 217–218°С, $[\alpha]_{546}$ –8° (с 1.05; хлороформ) [8].

^{1}Н ЯМР (400 МГц, $CDCl_3$, КССВ J, Гц): 1,96 м.д., с; 2,06 м.д., с; 2,08 м.д., с; (12 Н, NAc, 3 OAc), 3,95 м.д., ддд (1 Н, Н-5, $J_{5,\,6a}$ 5,5 , $J_{5,\,6b}$ 2,5), 4,17 м.д., ддд (1 Н, Н-2, $J_{2,\,3}$ 10), 4,21 м.д., дд и 4,29 м.д., дд (2 Н, Н-6a, Н-6b, $J_{6b,\,6b}$ 12), 5,17 м.д., дд (1 Н, Н-4, $J_{4,\,5}$ 9), 5,42 м.д., д (1 Н, Н-1, $J_{1,\,2}$ 8,8), 5,46 м.д., дд (1 Н, Н-3, $J_{3,\,4}$ 9), 5,80 м.д., д (1 Н, NHAc, $J_{2,\,NH}$ 8,5), 7,20 м.д., м, 7,34 м.д., м, 7,39 м.д., м, 7,45 м.д., м, 7,70–7,79 м.д., м (7 Н, СН аром.).

Вариант б. Реакция протекала в присутствии 0,82 ммоля бромида тетраэтиламмония. Выход: 3 %.

Вариант в. Реакция протекала в присутствии 0,82 ммоля хлорида бензилтриэтиламмония. Выход: 7 %.

Вариант г. Реакция протекала в присутствии 0,82 ммоля тетрабутиламмоний иодида. Выход: 0,3 %.

Вариант д. Реакция протекала в присутствии 0,82 ммоля хлорида октадецилтриметиламмония. Выход: 29 %.

3. **7-(2-Ацетамидо-3,4,6-три-О-ацетил-2-дезокси-β-D-глюкопиранозилокси)-2-метил-6-пропил-3',4'-этилендиоксиизофлавон (1c)**. Реакция протекала по общей схеме в присутствии 0,82 ммоля бромида тетрабутиламмония. Выход: 56%. Т. пл. 235–238°С (с разложением), $[\alpha]_{546}$ +80° (с 1,0; хлороформ). Лит. данные: т. пл. 238–240°С (с разложением), $[\alpha]_{546}$ +81° (с 1.0; хлороформ) [5].

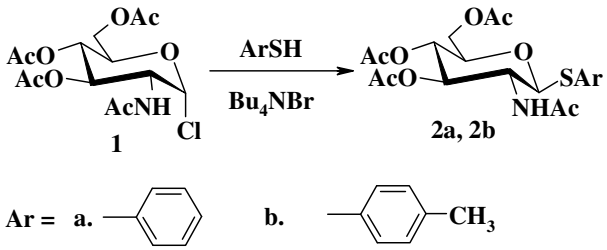


Рис 2. Общая схема синтеза перацетатов *S*-β-арилгликозидов *N*-ацетилглюкозамина **2a**, **2b**.

Общий метод получения перацетатов *S*-β-арилгликозидов *N*-ацетилглюкозамина 2a и 2b.

Смесь, состоящую из 0,68 ммоля 2-ацетамидо-3,4,6-три-О-ацетил-2-дезокси-α-D-глюкопиранозилхлорида **1**, 2 ммоля тиофенола (*п*-тиокрезола), в присутствии 0,68 ммоля бромида тетрабутиламмония, 3,06 ммоля карбоната калия (0,18 М раствор) и 10 мл хлороформа оставили при перемешивании и температуре 50ºС на 1 час. По окончании синтеза (контроль ТСХ, система А) органический слой промывали 5 мл воды, отделяли, сушили безводным Na_2SO_4 и упаривали. Гликозиды **2a** и **2b** выделяли перекристаллизацией из изопропилового спирта.

Фенил-2-ацетамидо-3,4,6-тетра-*О*-ацетил-2-дезокси-1-тиа-β-D-глюкопиранозид (2a), выход: 87%. Т. пл. 195–197°С, $[\alpha]_{546}$ –31° (с 1,0; хлороформ). Лит. данные: т. пл. 200-201°С, $[\alpha]_{546}$ –39,1° (с 1,0; хлороформ) [9].

***п*-Толил-2-ацетамидо-3,4,6-тетра-*О*-ацетил-2-дезокси-1-тиа-β-D-глюкопиранозид (2b)**, выход: 74%. Т. пл. 215–217°С, $[\alpha]_{546}$ –20,8° (с 1,0; хлороформ). Лит. данные: т. пл. 215–216°С, $[\alpha]_{546}$ –21,5° (с 1,0; хлороформ) [9].

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Метод межфазного катализа в системе «жидкость–жидкость» в присутствии четвертичных аммониевых солей и водного раствора основания – карбоната калия был применен для гликозилирования фенола, 2-нафтола, 2-метил-6-пропил-3',4'-этилендиоксиизофлавона, тиофенола и *п*-тиокрезола. В случае синтеза *О*-арилгликозидов гликозил-донор и гликозил-акцептор были выбраны в соотношении 1:1. Четвертичная аммонийная соль использовалась в соотношении 1:1 к гликозил-донору, а карбонат калия в соотношении 4,5:1 к гликозил-донору. Выход *О*-β-фенилгликозида **1a** составил 28 %, что существенно ниже выхода в случае использования в качестве основания гидроксида натрия (66 %) [8]. На примере гликозилирования 2-нафтола было проведено исследование влияния катализатора – четвертичной аммониевой соли на выход гликозида (рис. 3).

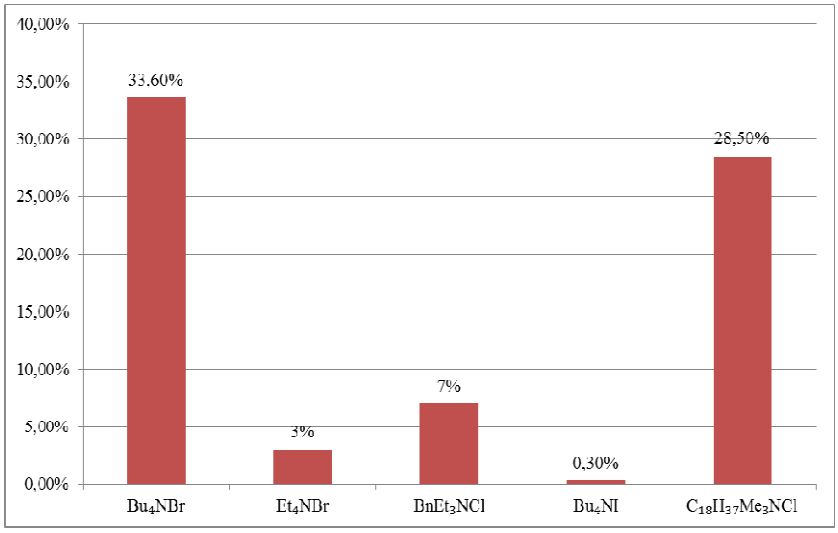


Рис. 3. Влияние типа катализатора в синтезе нафтил-2-ацетамидо-3,4,6-три-*O*-ацетил-2-дезокси-β-D-глюкопиранозида (**1b**).

Самые высокие выходы гликозидов (34 % и 29 %) были выявлены в случае использования бромида тетрабутиламмония и хлорида октадецилтриметиламмония, что согласуется с данными о том, что для эффективного проведения синтеза количество атомов углерода в катализаторе должно быть не меньше 15 [3]. Однако присутствие иодида тетрабутиламмония не дало хорошего результата, что, возможно, связано с разложением иодных солей при нагревании (0,3 %). Менее эффективными оказались катализаторы бромид тетраэтиламмония и хлорид бензилтриэтиламмония, в случае которых выходы составили 3 % и 7 %, соответственно.

Для сравнения мы проанализировали выход реакции гликозилирования 2-метил-6-пропил-3',4'-этилендиоксиизофлавона α-хлоридом **1**. По сравнению с простыми фенолами выход гликозида **1c** был максимальным (56%). Видимо, для гликозилирования флаваноидов подходит более мягкое основание – карбонат калия, а для простых фенолов лучшим основанием является гидроксид натрия. Такой же подход был впервые применен для синтез *S*-β-арилгликозидов на примере тиофенола и *n*-тиокрезола. Выходы соответствующих полученных гликозидов **2a** и **2b** составили 87 % и 74 %, что выше выходов, полученных в условиях межфазного катализа, но в присутствии щелочи в качестве основания [9].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

1. При взаимодействии α-D-глюкопиранозилхлорида и 2-нафтола максимальный выход (34 %) был получен при использовании катализатора бромида тетрабутиламмония, а минимальный выход (0,3 %) – в присутствии иодида тетрабутиламмония.

2. Сравнительный анализ гликозилирования α-D-глюкопиранозилхлоридом эквивалентных количеств фенола и 2-метил-6-пропил-3',4'-этилендиоксиизофлавона в системе «жидкость–жидкость» показал, что для флавонов подходит более мягкое основание – карбонат калия, а для простых фенолов лучшим основанием является гидроксид натрия.
3. На примере гликозилирования тиофенола и *п*-тиокрезола показана эффективность метода межфазного катализа в присутствии четвертичной аммонийной соли и водного раствора карбоната калия в четырех кратном избытке.

Список литературы

1. Курьянов В. О. Катализируемый краун-соединениями синтез β-арилгликозидов *N*-ацетилглюкозамина / В. О. Курьянов, Т. А. Чупахина, А. Е. Земляков [и др.] // Биоорганическая химия. – 2001. – Т. 27, № 6. – С. 434–438.
2. Курьянов В. О. Синтез гликозидов мурамоилдипептида с хромоновыми агликонами / В. О. Курьянов, Т. А. Чупахина, А. Е. Земляков [и др.] // Химия природных соединений. – 2001. – № 1. – С. 35–38.
3. Демлов Э. Межфазный катализ / Э. Демлов, З. Демлов; под ред. Л. А. Яновской. – М.: «Мир», 1987. – С. 466.
4. Li M. Synthesis of quercetin 3-*O*-(2-galloyl)-α-L-arabinopyranoside / M. Li, X. Han, B. Yu // Tetrahedron Lett. – 2002. – Vol. 43. – P. 9467–9470.
5. Земляков А. Е. Синтез *N*-ацетилглюкозаминидинов производных изофлавона / А. Е. Земляков, В. Н. Цикалова, В. Я. Чирва [и др.] // Химия природных соединений. – 2013. – № 6. – С. 868–870.
6. Yuguo D. The first total synthesis of calabricoside A / D. Yuguo, G. Wei, R. J. Linhardt // Tetrahedron Letters. – 2003. – № 44. – P. 6887–6890.
7. Голодников Г.В. Практикум по органическому синтезу: Учебное пособие. / Г. В. Голодников, Т. В. Мандельштам. – Л.: Издательство Ленинградского университета, – 1976. – С. 179.
8. Земляков А. Е. Синтез β-арилгликозидов *N*-ацетилмурамоил-L-аланил-D-изоглутамина / А. Е. Земляков, В. В. Цикалов, В. О. Курьянов [и др.] // Биоорганическая химия. – 2001. – Т. 27, № 6. – С. 439–443.
9. Земляков А. Е. Синтез и биологическая активность *S*-β-арилгликозидов 1-тио-*N*-ацетилмурамоил-L-аланил-D-изоглутамина / А. Е. Земляков, В. Н. Цикалова, Л. Р. Азизова [и др.] // Биоорганическая химия. – 2008. – Т. 34, № 2. – С. 245–251.

SYNTHESIS OF PERACETATES OF β-*O*- AND β-*S*-ARYLGLYCOSIDES *N*-ACETYLGLUCOSAMINE IN CONDITIONS OF INTERPHASE CATALYSIS

Tsikalova V. N., Kupreeva N. A., Urzhatkina A. S.

V. I. Vernadsky Crimean Federal University, Simferopol, Crimea, Russian Federation
E-mail: vika.tim@list.ru

The method of interphase catalysis is widely used for glycosidic synthesis in systems «liquid–liquid» and «solid–organic solvent». Catalysis in system «liquid-liquid» was used to glycosylate phenol, 2-naphthol, 2-methyl-6-propyl-3', 4'-ethylenedioxyisoflavone, thiophenol and *p*-thiocresol c of ammonium salts and an aqueous solution of potassium carbonate with a concentration of 0,18 M. For the getting of *O*-arylglycosides, the glycosyl donor α-D-glucosaminul chlorid and glycosyl acceptor were selected in a 1:1

ratio, for the synthesis of *S*-arylglycosides – a 1:3 ratio. The quaternary ammonium salts were used in the ratio of 1:1 to the glycosyl donor, and potassium carbonate in the ratio of 4,5 to 1 glycosyl donor. Chloroform was taken as an organic solvent. A mixture was stirred for 1-1,5 h at 50°C until traces of the glycosyl donor disappeared. The residue was crystallization from isopropyl alcohol. The yield of peracetate *O*-β-phenylglycoside *N*-acetylglucosamine was 28 %, which is significantly lower than the yield in the presence sodium hydroxide (66 %). Using the example of glycosylation of 2-naphthol, a studies was conducted of the influence of the quaternary ammonium salts on the reaction yield. The highest yields, 34 % and 29 %, were found for tetrabutylammonium bromide and octadecyltrimethylammonium chloride. The presence of tetrabutylammonium iodide did not give a good result, which is possibly due to the decomposition of iodine salts when heated (0,3 %). Catalysts tetraethylammonium bromide and benzyltriethylammonium chloride turned out to be less effective, the yields in these cases were 3 % and 7 %. The glycosylation reaction of 2-methyl-6-propyl-3', 4'-ethylenedioxyisoflavone was carried out for collation, the yield of this glycoside was maximum 56 %. As seen for glycosylation of flavanoids of peracetate α-D-glucosaminul chlorid an effective base is as potassium carbonate, and for simple phenols, sodium hydroxide is the best base. The structure of naphthyl-2-acetamido-3,4,6-tri-*O*-acetyl-2-deoxy-β-D-glucopyranoside were confirmed by PMR spectroscopy. The same approach was first used for the synthesis of β-aryl-1-tia-*N*-acetylglucosamines using thiophenol and p-thiocresol. The yields of the corresponding obtained glycosides were 87% and 74%, which is higher than the yields in the presence of sodium hydroxide as a base.

Keywords: β-arylglycosides of *N*-acetylglucosamine, interphase catalysis method, glycosidic synthesis, quaternary ammonium salts.

References

1. Kuryanov V. O., Chupakhina T. A., Zemlyakov A. E., Kotlyar S. A., Kamalov G. L., Chirva V.Ya. Catalyzed crown compounds synthesis of β-aryl glycosides of N-acetylglucosamine, *Bioorganic chem.*, **27 (6)**, 434 (2001). (*in Russ*.)
2. Kuryanov V. O., Chupakhina T. A., Zemlyakov A. E, Chirva V. Ya., Ishchenko V. V., Khilya V. P. Synthesis of Muramoyl Dipeptide Glycosides with Chromonic Aglycons, *Natural Chemistry compounds*, **1**, 35 (2001). (*in Russ*.)
3. Demlov E., Demlov Z. (1987) *Interphase catalysis*. Moscow: World. (*in Russ*.)
4. Li M., Han X., Yu B. Synthesis of quercetin 3-*O*-(2-galloyl)-α-L-arabinopyranoside, *Tetrahedron Lett*., **43**, 9467 (2002).
5. Zemlyakov A. E, Tsikalova V. N., Zemlyakov S. A., Chirva V. Ya., Khilya V. P. Synthesis of *N*-acetyglucosaminide derivatives of isoflavone, *Chemistry of natural compounds*, **6**, 868 (2013). (*in Russ*.)
6. Yuguo D., Weia G., Linhardt R. The first total synthesis of calabricoside A, *Tetrahedron Lett*., **44**, 6887 (2003).
7. Golodnikov G. V., Mandelstam T. V. (1976) *Workshop on organic synthesis*. Leningrad: Publishing House of the Leningrad University. (*in Russ*.)
8. Zemlyakov A. E., Tsikalov V. V., Kuryanov V. O., Chirva V. Ya., Bovin N. V. Synthesis of *N*-acetylmuramoyl-L-alanyl-D-isoglutamine β-arylglycosides, *Bioorganic Chem.*, **27(6)**, 439 (2001). (*in Russ*.)
9. Zemlyakov A. E., Tsikalova V. N., Azizova L. R., Chirva V. Ya., Mulik E. L., Shkalev M. V., Kalyuzhin O. V., Kiselevsky M. V. Synthesis and biological activity of S-β-aryl glycosides of 1-thio-*N*-acetylmuramoyl-L-alanyl-D-isoglutamine, *Bioorganic Chem.*, **34(2)**, 245 (2008). (*in Russ*.)

Ученые записки Крымского федерального университета имени В. И. Вернадского
Биология. Химия. Том 5 (71). 2019. № 1. С. 262–267.

УДК 547.918:547.972:35:543.42

МОЛЕКУЛЯРНЫЙ КОМПЛЕКС КВЕРЦЕТИНА С ГЛИЦИРАМОМ: СПЕКТРОФОТОМЕТРИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ

Яковишин Л. А.[1], Гришковец 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

Методом изомолярных серий в спектрофотометрическом варианте для молекулярного комплекса тритерпенового гликозида моноаммонийной соли глицирризиновой кислоты (глицирама, GC) и флавонола кверцетина (Quer) установлен состав 1:2. Для комплекса рассчитана константа устойчивости $K_{GC–Quer}=(8,4\pm0,7)\cdot10^5$ M^{-1} (при 369 нм).
Ключевые слова: кверцетин, глицирризиновая кислота, глицирам, супрамолекулярный комплекс, спектрофотометрия, константа устойчивости.

ВВЕДЕНИЕ

В настоящее время интенсивно изучаются супрамолекулярные комплексы тритерпеновых гликозидов с биологически активными веществами, что обусловлено возможностью создания на их основе различных фармацевтических композиций с полезными медико-биологическими свойствами [1–6]. В частности, начато исследование комплексообразования сапонинов с биомолекулами полифенольной природы [7–9]. При этом были получены комплексы моноаммонийной соли глицирризиновой кислоты (глицирама, GC; рис. 1) с флавонолом кверцетином (Quer; рис. 1) [7, 8] и тройной комплекс, включающий GC, Quer и холестерин [9]. Комплексы были проанализированы методом ИК-Фурье-спектроскопии.

Данная статья посвящена установлению состава комплекса GC с Quer методом изомолярных серий в спектрофотометрическом варианте и определению его константы устойчивости (*K*).

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Использовали образец GC (Calbiochem, США; чистота ≥95 % по ВЭЖХ) и Quer (Реахим, чда) без предварительной подготовки.

УФ-спектры получены при температуре 21 °C на двулучевом сканирующем спектрофотометре LEKI SS2110UV (MEDIORA OY, Финляндия) в кварцевых кюветах (l=1 см). Для составления изомолярной серии использовали 10^{-4} М водно-

спиртовые растворы GC и Quer (растворитель – смесь 1:9 по объему 96 % водного этанола и водного фосфатного буферного раствора Na_2HPO_4–NaH_2PO_4 с pH 7,2). Полученные смеси выдерживали при температуре 21 °C в течение 40 мин при постоянном перемешивании. Для определения состава каждого комплекса и константы его устойчивости *K* было проведено 5 независимых экспериментов. Погрешность определения *K* не превышала 10 %. Для работы со спектрофотометром использовали встроенное программное обеспечение SS2110UV.

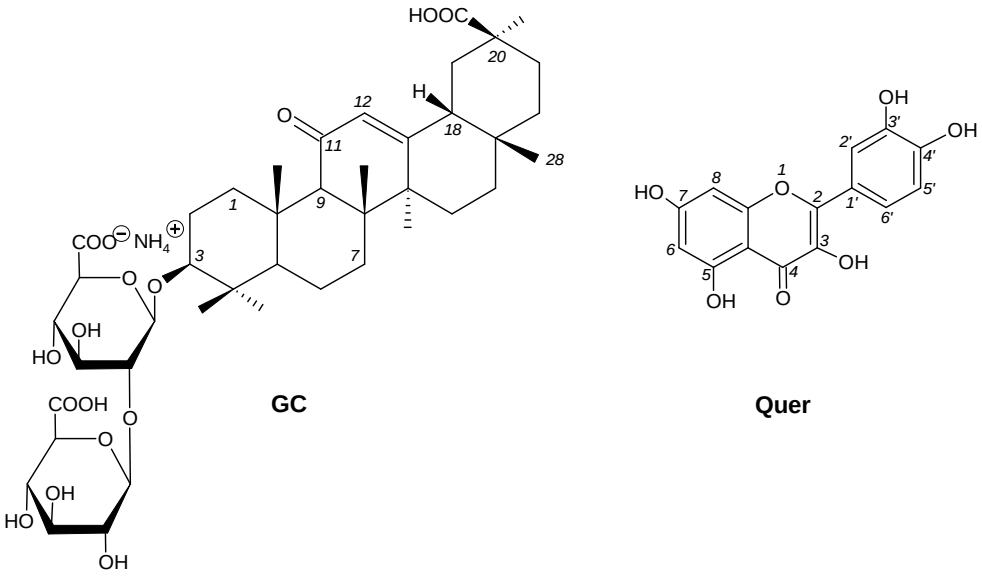


Рис. 1. Моноаммонийная соль глицирризиновой кислоты (глицирам, GC) и кверцетин (Quer).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Состав комплекса GC с Quer, равный 1:2, определен методом изомолярных серий при 369 нм. Изомолярная кривая приведена на Рис. 2. Аналогичный состав комплекса GC с Quer был установлен и при построении изомолярной кривой при 258 нм. Таким образом, комплекс включает одну молекулу GC и две молекулы Quer. Ранее полученные комплексы GC с биологически активными молекулами чаще всего имели состав 1:1 [3, 5]. Спектр поглощения изомолярной серии GC с Quer обладает изобестическими точками при 234 и 281 нм (рис. 3).

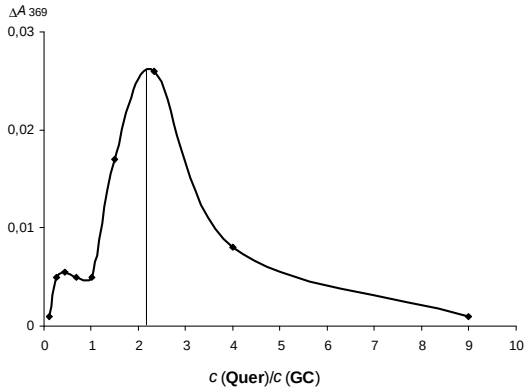


Рис. 2. Зависимость изменения оптической плотности ΔA от соотношения компонентов изомолярной серии при λ=369 нм (c(Quer)=10^{-4} М, c(GC)=10^{-4} М).

Недавно установлено, что в масс-спектрах Quer в условиях лазерной десорбции и ионизации наблюдаются пики ионов его димеров [10]. Молекулы Quer в кристаллах ассоциированы за счет π-π-стекинг-взаимодействий [10]. В димере Quer–Quer и ассоциатах Quer–витамин С и Quer–витамин Е наблюдаются стекинг-взаимодействия и водородные связи [11]. Были получены комплексы Quer с катионами металлов, соответственно имеющие состав 2:1 [12, 13].

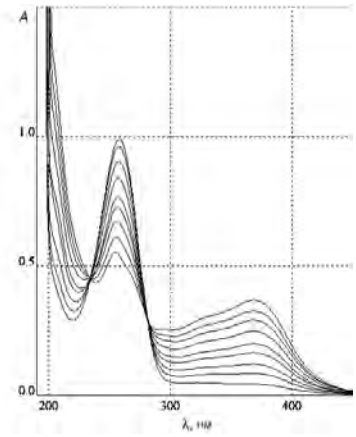


Рис. 3. Кривые поглощения изомолярной серии растворов (c(Quer)=10^{-4} М, c(GC)=10^{-4} М).

Состав комплексов каротиноидов с глицирризиновой кислотой равен 1:2 [14, 15]. Авторами указанных работ сделан вывод об образовании комплексов из 1 моль каротиноида и 1 моль димера глицирризиновой кислоты. По формуле Бенеси–Хилдебранда была рассчитаны константы устойчивости комплексов $K\approx10^4$ $М^{-1}$ (в среде водного этанола). С учетом высказанного для комплексов каротиноидов и

найденного состава комплекса GC–Quer, между GC и Quer в растворе устанавливается следующее равновесие:

$$GC + Quer_2 \rightleftarrows GC–Quer_2$$

$$K_{GC\text{-}Quer} = \frac{[GC\text{-}Quer_2]}{[GC][Quer_2]}, \quad (1)$$

где $K_{GC–Quer}$ – константа устойчивости комплекса.

$K_{GC–Quer}$, равная $(8{,}4\pm0{,}7)\cdot10^5$ M^{-1}, была рассчитана по методу А.К. Бабко на основе изомолярной кривой при λ = 369 нм по формуле 2 [16]. Комплексы GC с биомолекулами и фармацевтическими субстанциями имели в большинстве случаев K порядка 10^3–10^5 M^{-1} [5].

$$K = \frac{\Delta A_0 \Delta A_1}{c(\Delta A_0 - \Delta A_1)^2}, \quad (2)$$

где c – суммарная концентрация веществ, равная 10^{-4} М, ΔA_0 – изменение оптической плотности, соответствующее комплексу при полном отсутствии диссоциации, а ΔA_1 – изменение оптической плотности, соответствующее значению на фактической кривой.

Возможно, что в полученном молекулярном комплексе димер Quer–Quer, обусловленный стекинг-взаимодействиями, связывается с молекулой GC. Гетероассоциация в комплексе GC с Quer может быть вызвана водородными связями ($–C{=}O_{GC}\cdots H–O–_{Quer}$ и $–(H)O\cdots H–O–$) и гидрофобными взаимодействиями, что было ранее подтверждено ИК-спектроскопией [7, 8].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

1. Методом изомолярных серий установлен состав молекулярного комплекса GC и Quer, равный 1:2, соответственно.
2. На основе изомолярных кривых рассчитана константа устойчивости комплекса, равная $(8{,}4\pm0{,}7)\cdot10^5$ M^{-1}.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ (проект № 18-43-920002 р_а).

Список литературы

1. Tolstikova T.G. The complexes of drugs with carbohydrate-containing plant metabolites as pharmacologically promising agents / T.G. Tolstikova, M.V. Khvostov, A.O. Bryzgalov // Mini Rev. Med. Chem. – 2009. – Vol. 9, № 11. – P. 1317–1328.
2. Толстикова Т.Г. На пути к низкодозным лекарствам / Т.Г. Толстикова, А.Г. Толстиков, Г. А. Толстиков // Вестник РАН. – 2007. – Т. 77, № 10. – С. 867–874.
3. Молекулярные комплексы тритерпеновых гликозидов плюща и солодки с доксорубицином / Л. А. Яковишин, В. И. Гришковец, А. В. Клименко [и др.] // Хим.-фарм. журн. – 2014. – Т. 48, № 6. – С. 37–40.

4. Polyakov N.E. Glycyrrhizic acid as a novel drug delivery vector: synergy of drug transport and efficacy / N. E. Polyakov, T.V. Leshina // Open Conf. Proc. J. – 2011. – Vol. 2. – P. 64–72.
5. 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. Atta-ur-Rahman. – Amsterdam: Elsevier, 2018. – Vol. 55. – Chapter 11. – P. 351–383.
6. Солодка: Биоразнообразие, химия, применение в медицине / Г.А. Толстиков, Л.А. Балтина, В. П. Гранкина [и др.]. – Новосибирск: Гео, 2007. – 311 с.
7. 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.
8. Yakovishin L.A. Molecular complex of quercetin with glycyram / L.A. Yakovishin, E.N. Korzh // AIP Conference Proceeding. – 2019. – Vol. 2063. – P. 040066.
9. Яковишин Л.А. Взаимодействие кверцетина с холестерином / Л.А. Яковишин, Е.Н. Корж, В. И. Гришковец // Ученые записки Крымского федерального университета им. В. И. Вернадского. Биология. Химия. – 2018. – Т. 4 (70), № 4. – С. 328–336.
10. Гринёв В.С. Фрагментация кверцетина и нарингенина, а также фотоиндуцируемые процессы в условиях лазерной десорбции и ионизации / В.С. Гринёв, С.А. Коннова, В.В. Игнатов // Изв. Сарат. ун-та. Нов. сер. Сер. Химия. Биология. Экология. – 2016. – Т. 16, вып. 4. – С. 433–438.
11. Synergism of antioxidant action of vitamins E, C and quercetin is related to formation of molecular associations in biomembranes / G. Fabre, I. Bayach, K. Berka [et al.] // Chem. Commun. (Camb.). – 2015. – Vol. 51, № 36. – P. 7713–7716.
12. Study of interaction between metal ions and quercetin / T.S. de Castilho, T.B. Matias, K.P. Nicolini, J. Nicolini // Food Sci. Hum. Well. – 2018. – Vol. 7, № 3. – P. 215–219.
13. Liu Y. Studies on transition metal-quercetin complexes using electrospray ionization tandem mass spectrometry / Y. Liu, M. Guo // Molecules. – 2015. – Vol. 20, № 5. – P. 8583–8594.
14. Host-guest complexes of carotenoids with β-glycyrrhizic acid / N.E. Polyakov, T.V. Leshina, N. F. Salakhutdinov, L.D. Kispert // J. Phys. Chem. B. – 2006. – Vol. 110, № 13. – P. 6991–6998.
15. Поляков Н.Э. Некоторые аспекты реакционной способности каротиноидов. Окислительно-восстановительные процессы и комплексообразование / Н.Э. Поляков, Т.В. Лёшина // Успехи химии. – 2006. – Т. 75, № 12. – С. 1175–1192.
16. Бабко А.К. Физико-химический анализ комплексных соединений в растворах / А. К. Бабко. – К.: Изд-во АН УССР, 1955. – 328 с.

MOLECULAR COMPLEX OF QUERCETIN WITH GLYCYRAM: SPECTROPHOTOMETRIC ANALYSIS

Yakovishin L. A.[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: chemsevntu@rambler.ru

Quercetin (Quer) is one of the most famous flavonols. Quer was founded in different plants. Quer has P-vitamin activity and exhibits antioxidant, anti-inflammatory, antispasmodic, antisclerotic, diuretic, and antitumor effects. Triterpene glycoside glycyram (monoammonium glycyrrhizinate, GC) is an anti-inflammatory and antiallergic drug.

The complexation of GC with Quer in solution (solvent: 1 : 9 mixture of 96 % EtOH and aqueous phosphate buffer Na_2HPO_4–NaH_2PO_4 with pH 7.2 (v/v)) at 21 °C was investigated by spectrophotometric method. Absorption spectrum of isomolar series for

GC–Quer mixture has isobestic points at 234 and 281 nm. It was shown that GC and Quer forms a 1 : 2 complex, having a stability constant $K_{GC–Quer} = (8,4±0,7)·10^5$ M^{-1} (at $\lambda = 369$ nm). In the previously obtained complexes of GC with biomolecules and drugs, stability constants were of the order of 10^3–10^5 M^{-1}.

It is possible that, in the complex of GC with Quer, the Quer–Quer dimer due to stacking interactions binds to the GC molecule. Hetero-association in the complex can be caused by hydrogen bonds ($–C=O_{GC}\cdots H–O–_{Quer}$ and $–(H)O\cdots H–O–$) and hydrophobic interactions. It was previously confirmed by ATR FTIR spectroscopy.

Keywords: quercetin, glycyrrhizic acid, glycyram, supramolecular complex, spectrophotometry, stability constant.

References

1. Tolstikova T.G., Khvostov M.V., Bryzgalov A.O., The complexes of drugs with carbohydrate-containing plant metabolites as pharmacologically promising agents, *Mini Rev. Med. Chem.*, **9** (11), 1317 (2009).
2. Tolstikova T.G., Tolstikov A.G., Tolstikov G.A., On the way to low-dose drugs, *Vestnik RAN*, **77** (10), 867 (2007). (*in Russ.*).
3. Yakovishin L.A., Grishkovets V.I., Klimenko A.V., Degtyar A.D., Kuchmenko O.B., Molecular complexes of ivy and licorice triterpene glycosides with doxorubicin, *Khim.-Farm. Zhurn.*, **48** (6), 37 (2014). (*in Russ.*).
4. Polyakov N.E., Leshina T.V., Glycyrrhizic acid as a novel drug delivery vector: synergy of drug transport and efficacy, *Open Conf. Proc. J.*, **2**, 64 (2011).
5. 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).
6. 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.*).
7. 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.*).
8. Yakovishin L.A., Korzh E.N., Molecular complex of quercetin with glycyram, *AIP Conference Proceeding*, **2063**, 040066 (2019).
9. Yakovishin L.A., Korzh E.N., Grishkovets V.I., Interaction of quercetin with cholesterol, *Scientific Notes of V.I. Vernadsky Crimean Federal University. Biology. Chemistry*, **4** (4), 328 (2018). (*in Russ.*).
10. Grinev V.S., Konnova S.A., Ignatov V.V., Fragmentation of quercetin and naringenin and photoinduced processes under laser desorption/ionization conditions, *Izvestiya of Saratov University. New series. Series: Chemistry. Biology. Ecology*, **16** (4), 433 (2016). (*in Russ.*).
11. Fabre G., Bayach I., Berka K., Paloncýová M., Starok M., Rossi C., Duroux J.L., Otyepka M., Trouillas P., Synergism of antioxidant action of vitamins E, C and quercetin is related to formation of molecular associations in biomembranes, *Chem. Commun. (Camb.)*, **51** (36), 7713 (2015).
12. de Castilho T.S., Matias T.B., Nicolini K.P., Nicolini J., Study of interaction between metal ions and quercetin, *Food Sci. Hum. Well.*, **7** (3), 215 (2018).
13. Liu Y., Guo M., Studies on transition metal-quercetin complexes using electrospray ionization tandem mass spectrometry, *Molecules*, **20** (5), 8583 (2015).
14. Polyakov N.E., Leshina T.V., Salakhutdinov N.F., Kispert L.D., Host-guest complexes of carotenoids with β-glycyrrhizic acid, *J. Phys. Chem. B.*, **110** (13), 6991 (2006).
15. Polyakov N.E., Leshina T.V., Certain aspects of the reactivity of carotenoids. Redox processes and complexation, *Russ. Chem. Rev.*, **75** (12), 1175 (2006). (in Russ.).
16. Babko A.K., *Physico-chemical analysis of complex compounds in the solutions*, 328 p. (Izd-vo AN USSR, Kiev, 1955). (in Russ.).

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

Андреева Оксана Андреевна	Таврическая академия (структурное подразделение) ФГАОУ ВО «Крымский федеральный университет им. В. И. Вернадского», магистр 2 курса кафедры экологии и зоологии
Аристова Надежда Ивановна	Государственное бюджетное учреждение Республики Крым «ННИИВиВ «Магарач», кандидат технических наук, старший научный сотрудник отдела аналитических исследований и инновационных технологий, e-mail: akademik_n@mail.ru
Архангельская Елена Валерьяновна	Таврическая академия (структурное подразделение) ФГАОУ ВО «Крымский федеральный университет им. В.И. Вернадского», кандидат биологических наук, доцент, доцент кафедры медико-биологических основ физической культуры
Бабанов Никита Дмитриевич	ФГБНУ «Научно-исследовательский институт нормальной физиологии имени П. К. Анохина», лаборант-исследователь лаборатории физиологии функциональных состояний человека, e-mail: n.babanov@nphys.ru
Бежин Николай Алексеевич	ФГАОУ ВО Севастопольский государственный университет, кандидат технических наук, доцент кафедры химическая инженерия и дозиметрия, e-mail: nickbezhin@yandex.ru
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 фитореабилитаци человека, e-mail: valyalta@rambler.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
Гарицкая Марина Юрьевна	Оренбургский государственный университет, кандидат биологических наук, доцент кафедры экологии и природопользования, e-mail: ecolog@mail.osu.ru
Герасимчук Владимир Николаевич	Таврическая академия (структурное подразделение) ФГАОУ ВО «Крымский федеральный университет им. В.И. Вернадского», магистрант кафедры медико-биологических основ физической культуры
Гришин Юрий Владимирович	Государственное бюджетное учреждение Республики Крым «ННИИВиВ «Магарач», м.н.с. отдела аналитических исследований и инновационных технологий

Гришковец Владимир Иванович	Таврическая академия (структурное подразделение) ФГАОУ ВО «Крымский федеральный университет им. В. И. Вернадского», доктор химических наук, профессор кафедры общей и физической химии
Джелдубаева Эльвиза Рашидовна	Таврическая академия (структурное подразделение) ФГАОУ ВО «Крымский федеральный университет имени В. И. Вернадского», кандидат биологических наук, доцент кафедры физиологии человека и животных и биофизики
Довгий Илларион Игоревич	ФГБУН Морской гидрофизический институт РАН, кандидат химических наук, доцент, старший научный сотрудник отдела биогеохимии моря, e-mail: dovhyi.illarion@yandex.ru
Евстигнеев Максим Павлович	Севастопольский государственный университет, д-р физ-мат. наук, профессор, проректор по научной работе
Елкина Наталья Маратовна	Медицинская академия (структурное подразделение) ФГАОУ ВО «Крымский федеральный университет имени В. И. Вернадского», кандидат биологических наук, преподаватель подготовительных курсов
Еременко Виктор Иванович	Курская государственная сельскохозяйственная академия, доктор биологических наук, профессор, заведующий кафедрой эпизоотологии, радиобиологии и фармакологии, e-mail: vic.eriomenko@yandex.ru
Загноенко Наталья Евгеньевна	Медицинская академия (структурное подразделение) ФГАОУ ВО «Крымский федеральный университет имени В. И. Вернадского», выпускница
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
Кадочникова Виктория Игоревна	Таврическая академия (структурное подразделение) ФГАОУ ВО «Крымский федеральный университет имени В. И. Вернадского», факультет биологии и химии, кафедра ботаники и физиологии растений и биотехнологий, бакалавр 5 курса заочной формы обучения
Казакова Вера Валентиновна	Медицинская академия (структурное подразделение) ФГАОУ ВО «Крымский федеральный университет имени В. И. Вернадского», кандидат биологических наук, доцент кафедры медицинской биологии

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
Кацев Андрей Моисеевич	Медицинская академия (структурное подразделение) ФГАОУ ВО «Крымский федеральный университет имени В. И. Вернадского», доктор биологических наук, заведующий кафедрой медицинской и фармацевтической химии, имеющий ученое звание профессор
Кириллова Алла Викторовна	Таврическая академия (структурное подразделение) ФГАОУ ВО «Крымский федеральный университет имени В.И. Вернадского», кандидат биологических наук, доцент кафедры физиологии человека и животных и биофизики
Кобечинская Валентина Григорьевна	Таврическая академия (структурное подразделение) ФГАОУ ВО «Крымский федеральный университет имени В.И. Вернадского», кандидат биологических наук, доцент кафедры экологии и зоологии
Козловская Ольга Николаевна	ФГБУН Морской гидрофизический институт РАН, младший научный сотрудник отдела биогеохимии моря, e-mail: o.n.kozlovska@gmail.com
Коношенко Светлана Владимировна	Таврическая академия (структурное подразделение) ФГАОУ ВО «Крымский федеральный университет имени В. И. Вернадского», доктор биологических наук, профессор кафедры биохимии
Коренюк Иван Иванович	Таврическая академия (структурное подразделение) ФГАОУ ВО «Крымский федеральный университет имени В. И. Вернадского», доктор биологических наук, профессор кафедры физиологии человека и животных и биофизики
Кравчук Елена Александровна	Таврическая академия (структурное подразделение) ФГАОУ ВО «Крымский федеральный университет имени В. И. Вернадского», Ботанический сад им. Н. В. Багрова; младший научный сотрудник
Кременчуцкий Дмитрий Александрович	ФГБУН Морской гидрофизический институт РАН, младший научный сотрудник отдела биогеохимии моря, e-mail: d.kremenchutsky@gmail.com
Кукушкина Татьяна Абдулхаиловна	Центральный сибирский ботанический сад СО РАН, старший научный сотрудник лаборатории фитохимии

Куличенко Александр Михайлович — Таврическая академия (структурное подразделение) ФГАОУ ВО «Крымский федеральный университет имени В. И. Вернадского», кандидат биологических наук, старший научный сотрудник центра коллективного пользования научным оборудованием «Экспериментальная физиология и биофизика», e-mail: alexander.kulichenko@gmail.com

Купреева Наталья Андреевна — Таврическая академия (структурное подразделение) ФГАОУ ВО «Крымский федеральный университет имени В. И. Вернадского», обучающаяся 2М курса магистратуры факультета биологии и химии

Кухарик Оксана Николаевна — Таврическая академия (структурное подразделение) ФГАОУ ВО «Крымский федеральный университет имени В. И. Вернадского», выпускница

Ладыгина Людмила Владимировна — Институт морских биологических исследований им А. О. Ковалевского РАН, кандидат биологических наук, старший научный сотрудник, e-mail: lvladygina@yandex.ru

Мадяр Стефан-Арпад Иосифович — Международная общественная академия «Модус Колорис», доктор философии, член Национального союза художников Украины, Президент Международной общественной академии «Модус Колорис», e-male: stefan-madyar@ukr.net

Мартоян Мариа Манвеловна — Таврическая академия (структурное подразделение) ФГАОУ ВО «Крымский федеральный университет имени В. И. Вернадского», выпускница

Махин Сергей Анатольевич — Таврическая академия (структурное подразделение) ФГАОУ ВО «Крымский федеральный университет имени В. И. Вернадского», кандидат биологических наук, доцент кафедры общей психологии и психофизиологии, e-mail: smakhin@inbox.ru

Миронов Олег Андреевич — ФГБУН «Институт морских биологических исследований имени А. О. Ковалевского РАН», кандидат биологических наук, Старший научный сотрудник отдела морской санитарной гидробиологии, e-mail: mironov87@gmail.com

Муравьева Ирина Петровна — ФГБУН «Институт морских биологических исследований имени А. О. Ковалевского РАН», младший научный сотрудник отдела морской санитарной гидробиологии, e-mail: imuraveva@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 «Крымский федеральный университет имени В. И. Вернадского», кандидат химических наук, доцент кафедры общей и физической химии факультета биологии и химии, e-mail: despanov@gmail.com

Пиркова
Анна Васильевна

Институт морских биологических исследований им А. О. Ковалевского РАН, кандидат биологических наук, старший научный сотрудник, e-mail: apirkova@ukr.net

Придатко
Алена Игоревна

Таврическая академия (структурное подразделение) ФГАОУ ВО «Крымский федеральный университет имени В.И. Вернадского», аспирант кафедры физиологии человека и животных и биофизики

Проскурнин
Владислав Юрьевич

ФГБУН Институт морских биологических исследований РАН, младший научный сотрудник отдела радиационной и химической биологии, e-mail: v.proskurnin.imbr@gmail.com

Просянникова
Ирина Борисовна

Таврическая академия (структурное подразделение) ФГАОУ ВО «Крымский федеральный университет имени В. И. Вернадского», кандидат биологических наук, доцент кафедры ботаники и физиологии растений и биотехнологий

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

Ребик
Анастасия Алексеевна

Казанский (Приволжский) федеральный университет, студентка 1-го курса магистратуры Института фундаментальной медицины и биологии, e-mail: rebik_anastasiya@mail.ru

Репецкая
Анна Игоревна

Таврическая академия (структурное подразделение) ФГАОУ ВО «Крымский федеральный университет имени В. И. Вернадского», Ботанический сад им. Н.В. Багрова, директор

Ротмистровская
Елена Геннадьевна

ФГБОУ ВО «Курский государственный медицинский университет», ассистент кафедры нормальной физиологии, кандидат биологических наук, e-mail: rotmistrovskaya.lena@mail.ru

Сало
Виктория Андреевна

Севастопольский государственный университет, аспирант кафедры "Физика"

Сандулов
Дмитрий Борисович

Таврическая академия (структурное подразделение) ФГАОУ ВО «Крымский федеральный университет имени В. И. Вернадского», кандидат технических наук, доцент кафедры общей и физической химии

Седельникова Людмила Леонидовна	Центральный сибирский ботанический сад СО РАН, доктор биологических наук, старший научный сотрудник лаборатории интродукции декоративных растений, e-mail: lusedelnikova@yandex.ru
Соболев Валерий Иванович	Институт педагогики, психологии и инклюзивного образования Гуманитарно-педагогической академии (филиал) Крымского федерального университета им. В. И. Вернадского в г. Ялте, доктор биологических наук, профессор, профессор кафедры здоровья и реабилитации, e-mail: v.sobolev@mail.ru
Собчук Наталья Андреевна	Таврическая академия (структурное подразделение) ФГАОУ ВО «Крымский федеральный университет имени В. И. Вернадского», зав. лаборатории кафедры ботаники и физиологии растений
Темурьянц Наталья Арменаковна	Таврическая академия (структурное подразделение) ФГАОУ ВО «Крымский федеральный университет имени В. И. Вернадского», доктор биологических наук, профессор кафедры физиологии человека и животных и биофизики
Ткаченко Элла Владимировна	ФГАОУ ВО «Севастопольский государственный университет», старший преподаватель кафедры «Химия», e-mail: tkelly@rambler.ru
Толстенко Юлия Викторовна	ФГАОУ ВО «Севастопольский государственный университет», кандидат химических наук, доцент кафедры «Химия»
Тонковцева Валентина Валериевна	Федеральное государственное бюджетное учреждение науки «Ордена трудового красного знамени Никитский ботанический сад – Национальный научный центр Российской академии наук», научный сотрудник лаборатории фитореабилитаци человека, e-mail: valyalta@rambler.ru
Трибрат Наталья Сергеевна	Таврическая академия (структурное подразделение) ФГАОУ ВО «Крымский федеральный университет имени В.И. Вернадского», кандидат биологических наук, доцент кафедры физиологии человека и животных и биофизики
Туманянц Каринэ Николаевна	Таврическая академия (структурное подразделение) ФГАОУ ВО «Крымский федеральный университет имени В. И. Вернадского», кандидат биологических наук, директор Центра коллективного пользования научным оборудованием «Экспериментальная физиология и биофизика», e-mail: timur328@gmail.com
Уржаткина Антонина Сергеевна	ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии в Республике Крым и городе федерального значения Севастополе», химик-эксперт

Холодилина Татьяна Николаевна	Оренбургский государственный университет, кандидат сельскохозяйственных наук, доцент кафедры экологии и природопользования, e-mail: ecolog@mail.osu.ru
Хорольская Катерина Дмитриевна	Муниципальное бюджетное общеобразовательное учреждение «Гимназия №11 имени К. А. Тренева», обучающаяся 10 класса
Хусаинов Денис Рашидович	Таврическая академия (структурное подразделение) ФГАОУ ВО «Крымский федеральный университет имени В.И. Вернадского», кандидат биологических наук, доцент кафедры физиологии человека и животных и биофизики
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
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
Чёрный Сергей Васильевич	Таврическая академия (структурное подразделение) ФГАОУ ВО «Крымский федеральный университет им. В.И. Вернадского», кандидат биологических наук, доцент кафедры медико-биологических основ физической культуры
Чмелёва Светлана Ивановна	Таврическая академия (структурное подразделение) ФГАОУ ВО «Крымский федеральный университет имени В. И. Вернадского», кандидат биологических наук, доцент кафедры ботаники и физиологии растений и биотехнологий
Чуян Елена Николаевна	Таврическая академия (структурное подразделение) ФГАОУ ВО «Крымский федеральный университет имени В. И. Вернадского», доктор биологических наук, профессор кафедры физиологии человека и животных и биофизики
Шайхутдинова Анастасия Анатольевна	Институт клеточного и внутриклеточного симбиоза Оренбургского федерального исследовательского центра УрО РАН, лаборатория водной микробиологии, старший научный сотрудник, Оренбургский государственный университет, кандидат технических наук, старший преподаватель кафедры экологии и природопользования, e-mail: varvarushka@yandex.ru
Шарипов Эдем Тахирович	Медицинская академия (структурное подразделение) ФГАОУ ВО «Крымский федеральный университет имени В. И. Вернадского», аспирант кафедры медицинской и фармацевтической химии

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

Щуров Сергей Вячеславович — Институт морских биологических исследований имени А. О. Ковалевского РАН, научный сотрудник, e-mail: skrimea@mail.ru

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

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

Архангельская Е. В., Герасимчук В. Н., Чёрный С. В., Туманянц К. Н.
АНТРОПОМЕТРИЧЕСКИЕ И ФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ КАЧЕСТВА СПОРТСМЕНОВ, ЗАНИМАЮЩИХСЯ БОКСОМ И БАСКЕТБОЛОМ 3

Джелдубаева Э. Р., Трибрат Н. С., Кириллова А. В., Чуян Е. Н.
ИЗМЕНЕНИЕ БОЛЕВОЙ ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТИ У КРЫС В ЗАВИСИМОСТИ ОТ ИНДИВИДУАЛЬНО-ТИПОЛОГИЧЕСКИХ ОСОБЕННОСТЕЙ 13

Еременко В. И., Ротмистровская Е. Г.
ДИНАМИКА КОРТИЗОЛА В КРОВИ ТЕЛОЧЕК РАЗНЫХ ПОРОД ПОСЛЕ НАГРУЗКИ НА КОРУ НАДПОЧЕЧНИКОВ АДРЕНОКОРТИКОТРОПНЫМ ГОРМОНОМ 23

Иванова-Ханина Л. В.
АДАПТАЦИЯ РАСТЕНИЙ-РЕГЕНЕРАНТОВ ЕЖЕВИКИ К УСЛОВИЯМ *EX VITRO* .. 30

Кайда А. И., Махин С. А., Эйсмонт Е. В., Павленко В. Б.
ВЗАИМОСВЯЗЬ МЕЖДУ ПАРАМЕТРАМИ РЕАКТИВНОСТИ МЮ-РИТМА ЭЭГ И УРОВНЕМ ИНТЕЛЛЕКТА У ДЕТЕЙ 4-14 ЛЕТ 40

Кобечинская В. Г., Андреева О. А.
БИОМОРФОЛОГИЧЕСКИЕ АДАПТАЦИИ РАСТЕНИЙ СТЕПЕЙ ЦЕНТРАЛЬНОГО И ВОСТОЧНОГО КРЫМА С УЧЕТОМ ВОЗДЕЙСТВИЯ АНТРОПОГЕННЫХ ФАКТОРОВ 50

Коношенко С. В., Елкина Н. М., Казакова В. В., Загноенко Н. Е., Кухарик О. Н., Мартоян М. М.
ПОКАЗАТЕЛИ ДЕСТРУКТИВНЫХ ПРОЦЕССОВ В ЭРИТРОЦИТАХ ПРИ АЛЛЕРГИИ 67

Кравчук Е. А., Просянникова И. Б., Репецкая А. И., Кадочникова В. И.
ОБЛИГАТНО-ПАРАЗИТНЫЕ ГРИБЫ РЕГИОНАЛЬНОГО ПАМЯТНИКА ПРИРОДЫ «БАКЛА», РЕСПУБЛИКА КРЫМ, РОССИЯ 74

Миронов О. А., Муравьева И. П.
СОДЕРЖАНИЕ ЛИПИДОВ И НЕФТЯНЫХ УГЛЕВОДОРОДОВ В БЕРЕГОВЫХ ВЫБРОСАХ ЦИСТОЗИРЫ СЕВАСТОПОЛЬСКОГО ПОБЕРЕЖЬЯ 85

Пиркова А. В., Ладыгина Л. В., Щуров С. В.
ФОРМИРОВАНИЕ ПОСЕЛЕНИЙ МИДИЙ *MYTILUS GALLOPROVINCIALIS* (LAMARCK, 1819) НА КОЛЛЕКТОРАХ ФЕРМЫ В БУХТЕ ЛАСПИ В ЗАВИСИМОСТИ ОТ ЭКОЛОГИЧЕСКИХ ФАКТОРОВ 92

Ребик А.А., Мадяр С.-А.И., Куличенко А.М., Павленко В.Б.
ВОЗДЕЙСТВИЕ ЦВЕТОВЫХ ТАБЛИЦ МАДЯРА: РЕАКЦИИ ЦЕНТРАЛЬНОЙ И АВТОНОМНОЙ НЕРВНОЙ СИСТЕМЫ 107

Седельникова Л. Л., Кукушкина Т. А.
ПОИСК ВТОРИЧНЫХ МЕТАБОЛИТОВ В ВЕГЕТАТИВНЫХ ОРГАНАХ *HOSTA DECORATA (HOSTACEAE)* 116

Соболев В. И.
ХАРАКТЕРИСТИКА ПРОСТЫХ ПСИХОМОТОРНЫХ РЕАКЦИЙ ПРИ ЧЕРЕДУЮЩЕЙСЯ РАЗНОМОДАЛЬНОЙ СЕНСОРНОЙ СТИМУЛЯЦИИ (ЭЛЕКТРОМИОГРАФИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ).....126

Хусаинов Д. Р., Темурьянц Н. А., Туманянц К. Н., Коренюк И. И., Хорольская К. Д.
ДИНАМИКА БОЛЕВОЙ ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТИ КРЫС-САМЦОВ И КРЫС-САМОК В УСЛОВИЯХ ЧЕТЫРНАДЦАТИДНЕВНОГО УМЕРЕННОГО ЭЛЕКТРОМАГНИТНОГО ЭКРАНИРОВАНИЯ.....139

Чмелёва С. И., Собчук Н. А.
МИТОТИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ АПИКАЛЬНОЙ МЕРИСТЕМЫ КОРНЕЙ *ZEA MAYS* L. ПОД ВЛИЯНИЕМ ПРЕПАРАТА ЦИРКОН ПРИ ХЛОРИДНОМ СТРЕССЕ.....150

Чуян Е. Н., Бирюкова Е. А., Бабанов Н. Д.
ДВИГАТЕЛЬНАЯ РЕАБИЛИТАЦИЯ ПАЦИЕНТОВ С НАРУШЕНИЯМИ МОТОРИКИ ВЕРХНИХ КОНЕЧНОСТЕЙ: АНАЛИЗ СОВРЕМЕННОГО СОСТОЯНИЯ ИССЛЕДОВАНИЙ (ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ) 163

Чуян Е. Н., Раваева М. Ю., Придатко А. И., Черетаев И. В., Шульгин В. Ф.
ПОКАЗАТЕЛИ КАРДИОРЕСПИРАТОРНОЙ СИСТЕМЫ КРЫС ПРИ ДЕЙСТВИИ 1-ГИДРОКСИЭТАН-1,1-ДИФОСФОНОВОЙ КИСЛОТЫ 179

Шайхутдинова А. А., Гарицкая М. Ю., Холодилина Т. Н.
СОВРЕМЕННОЕ ЭКОЛОГИЧЕСКОЕ СОСТОЯНИЕ ПАМЯТНИКА ПРИРОДЫ РОДНИК БЕЛОГЛИНКА (САРАКТАШСКИЙ РАЙОН, ОРЕНБУРГСКАЯ ОБЛАСТЬ) 193

Ярош А. М., Ибрагимова Э. Э., Тонковцева В. В., Бекмамбетов Т. Р.
ВЛИЯНИЕ ЭФИРНОГО МАСЛА КОТОВНИКА КОШАЧЬЕГО НА ПСИХОЭМОЦИОНАЛЬНОЕ СОСТОЯНИЕ И УМСТВЕННУЮ РАБОТОСПОСОБНОСТЬ ОБУЧАЮЩИХСЯ 200

ХИМИЧЕСКИЕ НАУКИ

Аристова Н. И., Гришин Ю. В., Панов Д. А.
ИССЛЕДОВАНИЕ ФЕНОЛЬНОГО СОСТАВА ВИНОПРОДУКЦИИ В ЗАВИСИМОСТИ ОТ СПОСОБА ПЕРЕРАБОТКИ ВИНОГРАДНОЙ ГРОЗДИ 212

Довгий И. И., Кременчуцкий Д. А., Козловская О. Н., Бежин Н. А., Проскурнин В. Ю.
ИЗУЧЕНИЕ БИОДИНАМИКИ ФОСФОРА В АКВАТОРИИ ГЕРАКЛЕЙСКОГО ПОЛУОСТРОВА С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ ИЗОТОПОВ ^{32,33}P.....221

Кацев А.М., Евстигнеев М. П., Сало В. А.,Шарипов Э. Т.
ОЦЕНКА БИОТОКСИЧЕСКОГО И ПОВРЕЖДАЮЩЕГО ДНК ДЕЙСТВИЙ КОМПЛЕКСОВ ЦИСПЛАТИНА С ФУЛЛЕРЕНОМ C_{60} С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ МОРСКИХ ЛЮМИНЕСЦЕНТНЫХ БАКТЕРИЙ И РЕКОМБИНАНТНЫХ LUX-БИОСЕНСОРОВ.....234

Сандулов Д. Б.
ПОВЕДЕНИЕ СИСТЕМЫ Cu|$CuSO_4$|Cu В СИНУСОИДАЛЬНОМ ИСКУССТВЕННОМ ПОЛЕ СИЛЫ ТЯЖЕСТИ.....243

Ткаченко Э. В., Толстенко Ю. В.
ИССЛЕДОВАНИЕ ВЛИЯНИЯ СОДЕРЖАНИЯ ВОЛОКНА НА СТЕПЕНЬ КРИСТАЛЛИЧНОСТИ И ПРОЧНОСТНЫЕ СВОЙСТВА ТЕРМОСТОЙКИХ ОРГАНОПЛАСТИКОВ 249

Цикалова В. Н., Купреева Н. А., Уржаткина А. С.
СИНТЕЗ ПЕРАЦЕТАТОВ β-*O*- И β-*S*-АРИЛГЛИКОЗИДОВ *N*-АЦЕТИЛГЛЮКОЗАМИНА В УСЛОВИЯХ МЕЖФАЗНОГО КАТАЛИЗА 255

Яковишин Л. А., Гришковец В. И.
МОЛЕКУЛЯРНЫЙ КОМПЛЕКС КВЕРЦЕТИНА С ГЛИЦИРАМОМ: СПЕКТРОФОТОМЕТРИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ 262

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ 268

СОДЕРЖАНИЕ 276